リン脂質リポソーム固定化カンチレバーセンサによる パーキンソン病原因物質αシヌクレインの検出

A detection of α-Synuclein as causative agent of Parkinson disease by phospholipid liposome-immobilized cantilever microsenseor

京工繊大・電気電子[1]，京都大・医[2]，新潟大・自然科学[3]
○(B)小林 亮子[1]，澤村 正典[2]，山門 穂高[2]，寒川 雅之[3]，山下 馨[1]，野田 実[1]
Kyoto Inst. Tech.[1], Kyoto Univ.[2], Niigata Univ.[3]
°R. Kobayashi[1], M. Sawamura[2], H. Yamakado[2], M. Sohgawa[3], K. Yamashita[1], M. Noda[1]
E-mail: b5121503@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

パーキンソン病の原因物質である α シヌクレイン(αSyn)タンパク質は，その性質や機能がまだ多く不明であるが，アルツハイマー病原因物質のアミロイドβ(Aβ)タンパク質と同様に線維伸長・凝集化[1]を生じる(Fig. 1)。単量体(モノマー)から重合体(オリゴマー，フィブリル)へと凝集化することで病原性を獲得すると考えられている。しかし、当現象を再現性良く検知でき、臨床応用に至る診断手法は今のところ存在せず，単量体と重合体との区別ができるような測定技術が求められている。我々のカンチレバーセンサでは，カンチレバー表面に固定したリン脂質リポソームと αSyn との相互作用により発生する表面ストレスによる撓みを歪ゲージの抵抗変化から検出できる可能性がある。本研究では，αSyn を同センサで検出，その経時特性を得ること，同時により低濃度での線維伸長・凝集の検出を目的とした。

【実験内容と結果】

今回のカンチレバーセンサでは，自己組織化単分子膜（SAM）で修飾したカンチレバー表面に DPPC リポソームを固定化した。検出対象は，PBS 溶液に添加したリコンビナント αSyn のフィブリルで，100 nM，10 nM，1 nM に調製した。各 αSyn フィブリル溶液を数μL 溶液保持構造付きのリポソーム固定化カンチレバー(Fig. 2 左上挿入)上に導入し，抵抗変化の経時測定を行った。Fig. 2 にそれぞれの濃度での抵抗変化率を示す。参照する αSyn 無添加 PBS 溶液の抵抗変化率は，ほぼ 0 ppm であり，100 nM では約 30 分経過後から抵抗値は上昇し，90 分頃まで単調増加した。90 分で約 350 ppm となった。10 nM では 100 nM よりも増加は緩く，50 分後約 100 ppm で飽和した。1 nM では増加開始は遅れ，約 100 分後から抵抗値は上昇し，約 120 分後に約 80 ppm で飽和した。

以上の結果，αSyn 溶液の抵抗変化率は，一定時間経過後に上昇し，その後飽和することが示された。この特性は Aβ での測定結果と類似しており[2]，同じ濃度の Aβ(1-40)に比べると，上昇，飽和が始まる時間がかなり短いことから，αSyn フィブリルとリポソームは Aβ (1-40)に比べ相互作用しやすいと考えられる。今回はフィブリル状態の αSyn を測定したが，さらにモノマー状態の αSyn，モノマーからオリゴマー、そしてフィブリルに変化する過程を検出する予定である。

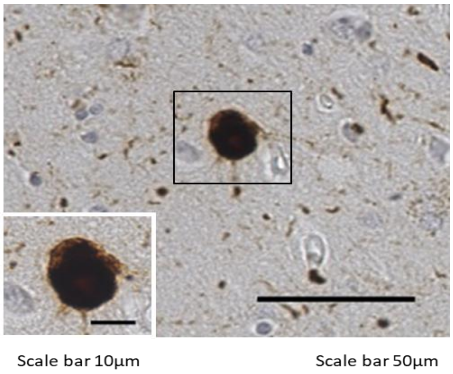

Fig. 1. Top view of abnormal αSyn aggregation in human patient.

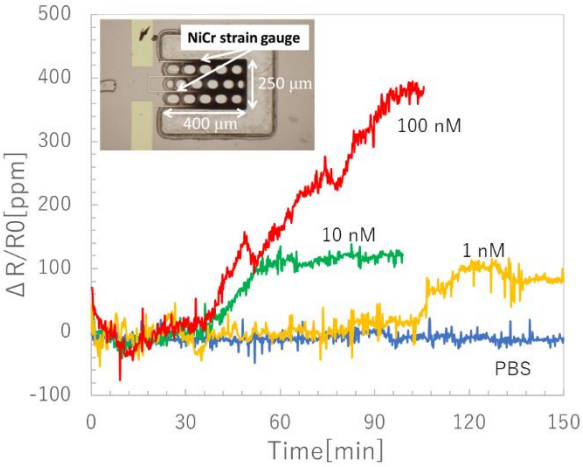

Fig. 2. Time courses of change rate of gauge resistance of cantilever sensor for recombinant αSyn in PBS solvent (0, 1, 10, 100 nM).

【参考文献】
[1] 八木寿梓，後藤祐児，「α-Synuclein(PARK1/4)の機能・構造・線維形成」，医学のあゆみ, Vol. 247, No. 10 (2013) 993-998.
[2] 谷口智哉 他: 2016 秋応物 15a-B8-5.