

リポソーム固定化カンチレバーセンサを用いた ヒト由来 α シヌクレイン線維化の検出

Detection of fibrillization of human-derived α -Synuclein by liposome-immobilized cantilever microsensor

京工繊大・電気電子¹, 京都大・医², 新潟大・自然科学³

○(M1) 小林 亮子¹, 澤村 正典², 山門 穂高², 寒川 雅之³, 野田 実¹

Kyoto Inst. Tech.¹, Kyoto Univ.², Niigata Univ.³

°R. Kobayashi¹, M. Sawamura², H. Yamakado², M. Sohigawa³, M. Noda¹

E-mail: m9621026@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 (α Syn) は単量体 (モノマー) から重合体 (オリゴマー, フィブリル) へと凝集, 線維伸長することで病原性を獲得するため, α Syn 重合体の検出は早期診断に有用である。現在臨床応用を目指して多くの研究で用いられている ELISA 法は高感度検出が可能であるが, ラベル分子修飾が必要であり, また重合 α Syn に特異的かつ高感度に結合する抗体が限られているという欠点がある。我々はリポソーム固定化カンチレバーセンサを用いて, α Syn フィブリルの検出技術を開発し, さらに RT-QuIC 法[1]と組み合わせた測定により, マウス由来 α Syn フィブリルにおいて数百 fM レベルでの高感度検出が可能であることを示してきた[2] (Fig. 1)。一方で, ヒト由来 α Syn は凝集性が低いため高感度での検出には困難が予想された。

本研究では, ヒト由来 α Syn を対象として, ラベルフリーカンチレバーセンサを用いてマウス由来 α Syn と同等の感度での検出が可能かを検証した。より高感度かつ安定した新しいヒト由来 α Syn フィブリルの検出手法を開発し, 臨床応用に繋げることを本研究の目的とする。

【実験内容と結果】

まずヒト α Syn モノマー溶液 (7 μ M) で抵抗変化率を測定した。次に 7 μ M モノマー溶液と極低濃度のフィブリル溶液を体積比 1:1 の割合で混合した溶液で抵抗変化率を測定した (Fig. 2)。モノマーのみの場合, マウス α Syn と同様に濃度が 7 μ M と高濃度であるが, 抵抗変化率に上昇は見られなかった。フィブリル溶液と混合した場合, ヒト α Syn フィブリル濃度 7 pM で測定すると約 80 ppm の抵抗値上昇を認めた。マウス α Syn とヒト α Syn の測定結果を比較すると, 抵抗値の上昇時間と, 抵抗変化率の飽和した値に大きな差はなかった。以上より, ヒト α Syn でもマウス α Syn と同程度の検出力があると確認できた。上記の結果から, ヒト α Syn フィブリルの検出力が十分にあることが確認でき, 今後は実際のパーキンソン病患者の髄液または血液中での α Syn フィブリルの検出を予定している。さらに, 現在使用のリン脂質, 添加モノマーは各々 1 種なので, 検出対象分子識別化のためにセンサアレイチップ内で他種脂質, モノマー種での検出を予定している。

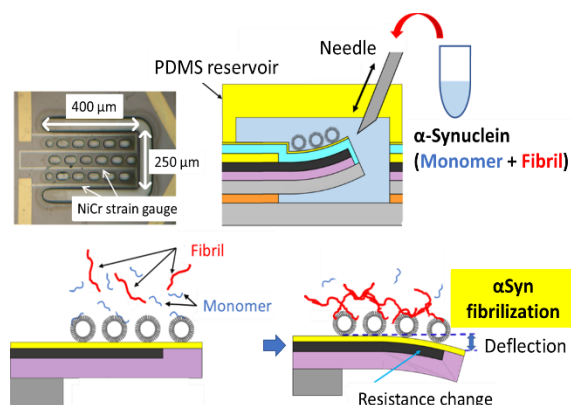


Fig. 1 Mimicking of RT-QuIC on the surface of liposome-immobilized cantilever sensor.

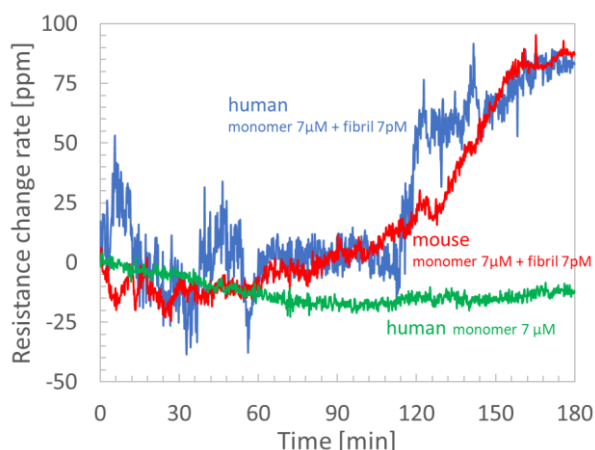


Fig. 2 Time courses of change rate of gauge resistance of cantilever sensor for recombinant α Syn fibril (human-derived: 0, 7 pM, mouse-derived: 7 pM) added in 7 μ M monomeric α Syn, respectively, with RT-QuIC method.

【参考文献】

- [1] G. Fairfoul et al., "Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies", *Annals of Clinical and Translational Neurology* 3(10) (2016), pp. 812–818.
- [2] 小林亮子 他: 2019 秋応物 19a-E203-1