

リポソームセンシングにおける NaCl 添加による パーキンソン病原因物質 α シヌクレイン凝集体検出感度向上 Improvement of sensitivity of α Synuclein fibril as causative agent of Parkinson's disease by adding NaCl into buffer solution of liposome sensor

京工繊大・電気電子¹, 京都大・医²○(B)紙谷 虎太郎¹, (M2)小林 亮子¹, 澤村 正典², 山門 穂高², 野田 実¹Kyoto Inst. Tech.¹, Kyoto Univ.²°K. Kamitani¹, R. Kobayashi¹, M. Sawamura², H. Yamakado², M. Noda¹E-mail: b7121017@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

パーキンソン病 (PD) は原因物質である α シヌクレイン(α Syn)が単量体 (モノマー) の状態から凝集, 線維伸長し, 重合体 (オリゴマー, フィブリル) に変化することで神経毒性を獲得し発症する。そのため PD の早期診断に α Syn 重合体の検出が重要である。我々はリポソーム固定化カンチレバーセンサを用いた α Syn フィブリルの検出技術を開発し, さらに α Syn 単量体を加えて α Syn フィブリルを増幅させることにより[1,2], 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[3,4]。また, 並行して, 水晶振動子マイクロバランス(QCM: Quartz-Crystal-Microbalance)でも α Syn フィブリルの検出を行い, カンチレバーセンサでの測定結果との整合性を確認してきた[5]。

最近になり Na^+ などのイオンの存在が α Syn 単量体の凝集を促進させることが報告されている[6]。本研究では NaCl 溶液をバッファとして使用し PBS と比較することで, α Syn の凝集過程がより高感度に QCM で検出できるか検討した。

【実験内容と結果】

QCM センサとして, initium 社製の AFFINIX QN μ を用いた。センシング分子である DPPC リポソームは QCM 振動子の Au 電極表面に SAM を介して固定した(Fig. 1)。QCM のセンサセル内を NaCl 溶液 400 μ L で満たしたものに, 単量体は入れずにターゲットである α Syn フィブリル溶液のみを注入した。NaCl 溶液の濃度は 0.5 M, 1.0 M と変化させ, α Syn フィブリル溶液の濃度は PBS バッファ中で QCM 検出最小濃度であった 7 pM とした。NaCl バッファでの結果と PBS バッファでの結果を比較した(Fig. 2)。NaCl バッファの方が, PBS バッファの時より周波数変化が大きくなることが分かった。また, NaCl 溶液の濃度が高いほど検出感度が向上した。この結果から, NaCl 溶液をバッファとして用いることで, α Syn フィブリルの検出感度が向上する可能性が示唆された。

(本研究の一部は科研 19K22964, 20H00663 の助成を受けて行った)

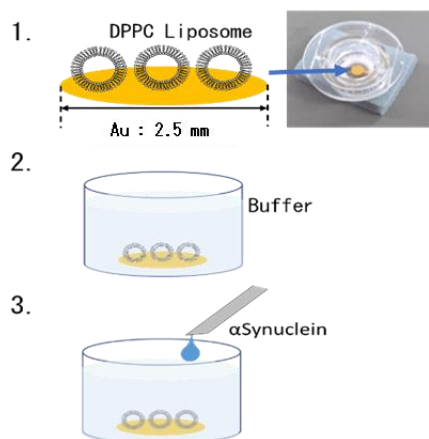


Fig. 1 Immobilization of liposome on the surface of QCM oscillator and introduction of target α Syn solution into QCM cell.

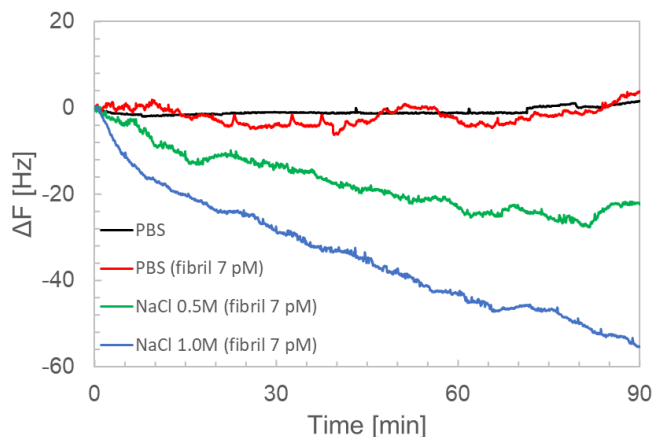


Fig. 2 Time courses of the shift of resonance frequency of QCM oscillator added with a trace amount of fibrillar α Syn (7 pM). Black and red line's show the case of PBS buffer only. Green and blue one's indicate those with NaCl 0.5 M and 1 M, respectively.

【参考文献】

[1] Gabriela P. Saborio et al., : Nature 2001, 810-813.

[3] 小林亮子 他 : 2019 秋応物 19a-E203-1

[5] 小林亮子 他 : 2020 春応物 12a-A408-6

[2] G. Fairfoul et al., : Ann Clin Transl Neurol. 2016, 812-818.

[4] R. Kobayashi et al., : IEEE SENSORS 2019, C3L-A-2, 1274.

[6] R. Ramis et al., : Biomacromolecules 2020, 5200-5212.