

セルロースナノファイバー紙の乾燥収縮を利用した単一細胞外小胞解析

(名大院工¹・名大未来社会²・JST さきがけ³・北大院工⁴・阪大産研⁵・北大 IGM⁶・QST⁷) ○川口 彰太¹・安井 隆雄^{1,2,3}・嶋田 泰佑¹・神谷 由紀子¹・浅沼 浩之¹・真栄城 正寿⁴・渡慶次 学⁴・古賀 大尚⁵・村上 正晃⁶・馬場 嘉信^{1,2,7}

Single extracellular vesicle analysis with drying shrinkage of cellulose nanofiber paper (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²InFuS, Nagoya University, ³JST CREST, ⁴Graduate School of Engineering, Hokkaido University, ⁵SANKEN, Osaka University, ⁶IGM, Hokkaido University, ⁷QST) ○Shota Kawaguchi¹, Takao Yasui^{1,2,3}, Taisuke Shimada¹, Yukiko Kamiya¹, Hiroyuki Asanuma¹, Masatoshi Maeki⁴, Manabu Tokeshi⁴, Hirotaka Koga⁵, Masaaki Murakami⁶, Yoshinobu Baba^{1,2,7}

Single Extracellular Vesicle analysis is a method to analyze proteins and nucleic acids contained in extracellular vesicles (EVs) one particle at a time. Unlike other methods, single EV analysis is expected to improve the early detection and diagnosis of diseases because it can analyze a low sample volume and simultaneously obtain information on the site and extent of disease. However, the technology for simultaneous detection of substances inside and outside the membrane of a single EV without crushing is still under development. In this study, we developed a technology to detect nucleic acids inside EV without crushing by membrane fusion of EV and lipid nanoparticle (LNP) containing probes, utilizing the drying shrinkage of cellulose nanofiber (CNF) paper. We encapsulated molecular beacons (MBs), which bind specifically to specific miRNAs and emit fluorescence, in LNPs as probes, applied them to CNF paper together with EVs, and allowed it to dry. As a result, particles extracted from the CNF paper showed an increase in particle size and fluorescence intensity, as well as a change in surface charge, suggesting that MBs were introduced into the target particles via membrane fusion.

Keywords : *Extracellular vesicles, Cellulose nanofiber, Lipid nanoparticles*

単一細胞外小胞解析は、細胞外小胞 (EVs) に含まれるタンパク質や核酸を 1 粒子ずつ解析する手法である。単一 EV 解析は他の手法とは異なり、低サンプル量で解析可能な上、疾病の発生部位と程度の情報を同時に取得できるため、疾病の早期発見や診断精度の向上が期待される。しかし、EV を破壊せずに膜内部の核酸やタンパク質を検出する技術は未だ開発途上である。そこで本研究では、セルロースナノファイバー (CNF) 紙の乾燥収縮を利用した、EVs とプローブを内包した脂質ナノ粒子 (LNP) の膜融合により、EV を未破砕で内部の核酸を検出する技術を開発した。

実際に、特定の miRNA と特異的に結合し、蛍光を発するモレキュラービーコン (MB) を内包させた LNP と、対象の miRNA を内包する EVs を CNF 紙に塗布し乾燥させた結果、CNF 紙より抽出した粒子の粒子径分布や表面電荷、蛍光強度の変化から、膜融合を介して MB が検出対象の粒子内部に導入されたことが示唆された。