

プラズモニックチップで捕捉されたエキソソームの蛍光顕微鏡観察

(関西学院大¹) ○富上 眞¹・福富 一真¹・名和 靖矩¹・田和 圭子¹

Fluorescence imaging of a single exosome captured with plasmonic chip (¹*Kwansei Gakuin University*) ○Makoto Tokami,¹ Kazuma Fukutomi,¹ Yasunori Nawa¹, Keiko Tawa¹

Exosomes, which are extracellular endoplasmic reticulum, play an important role in intercellular communication and can predict future diseases. Detection of single exosomes is required because of heterogenous properties containing various proteins and RNAs, but it is difficult due to exosome size of 100 nm in diameter. Therefore, fluorescence microscopic observation of fluorescently labeled exosomes has been performed using a plasmonic chip that enhances the electric field. A plasmonic chip is a glass substrate covered with a thin metal film with a wavelength-sized periodic structure. In our laboratory, capture interface has been prepared on a Bull's eye-type plasmonic chip and fluorescently labeled exosomes have been observed under a microscope. In this study, after capturing exosomes on the chip, APC-labeled anti-CD9 antibody was added and single exosomes were evaluated.

Keywords : *Exosome, Plasmon, Fluorescence microscopy, immunoassay*

細胞外小胞体であるエキソソームは、細胞間のコミュニケーションにおいて重要な役割を担っており、罹患する疾病が予測できる。エキソソームは様々なたんぱく質やRNAを含み性質が不均一であるために、単一エキソソームでの検出が望まれるが、直径 100nm という小ささのため、その検出は難しい。そこで、プラズモニックチップを基板に用いて、蛍光標識された単一エキソソームの蛍光顕微鏡観察を行った。プラズモニックチップとは、波長サイズの周期構造を持っている金属薄膜で覆われたガラス基板であり、電場増強効果により蛍光を増強する。これまで当研究室では、ピッチ 480nm の Bull's eye 型プラズモニックチップ上にエキソソームを捕獲する系を調製し、蛍光標識エキソソームを界面に結合して顕微鏡下で、単一エキソソームの評価を行ってきた。本研究では、エキソソームをチップに捕獲した後、エキソソームに含まれる膜たんぱく質 CD9 に対する蛍光標識抗体(APC-Anti CD9)を加え、単一エキソソームの検出を行った。

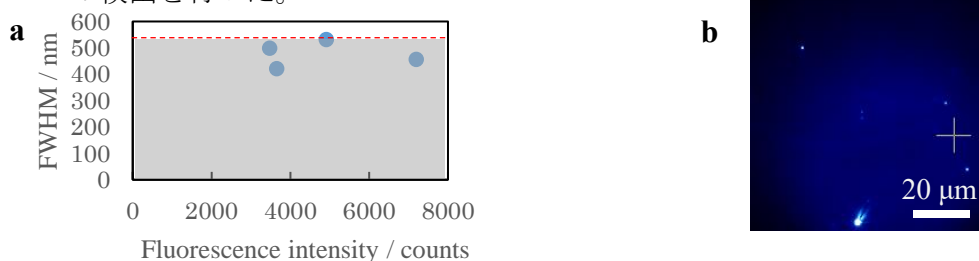


Fig1. (a) Full width at half maximum (FWHM) analysis for 1400 fM exosome solution, red broken line corresponds to threshold for a single exosome, (b) Fluorescence image for 1400 fM exosome solution. Bar corresponds to 20 μm.