

## ヒト乳がん細胞 SK-BR-3 由来細胞外ベシクルのオンチップ免疫電気泳動

On-chip immunoelectrophoresis of extracellular vesicles derived from human breast cancer SK-BR-3 cells

東大院工, °花村奈未, 赤木貴則, 一木隆範

Graduate School of Engineering, University of Tokyo, °Nami Hanamura, Takanori Akagi, Takanori Ichiki

E-mail: nami@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

**【緒言】** 乳がんは日本において女性の浸潤性がん原発部位の第 1 位であり、簡便かつ正確な診断技術が探求されてきた[1]。乳がんのバイオマーカーの候補として近年、直径 30~100 nm の細胞外ベシクルが注目を集めている。細胞外ベシクルは表面に由来細胞の情報を反映する糖タンパク質を有しており、これを分析することで疾患細胞の有無という診断に有益な情報が得られると期待される。我々はオンチップ免疫電気泳動法を用いて、細胞培養上清から抽出した細胞外ベシクルの抗体との反応性を 1 粒子レベルで評価できることを示してきた[2]。今回は乳がんの悪性度の指標として一般的に利用される Her2 タンパク質の評価への応用可能性を検討するために、HER2 タンパク質過剰発現株である SK-BR-3 細胞由来ベシクルの免疫電気泳動実験を行なった。

**【実験方法】** ヒト乳がん細胞 SK-BR-3 をコンフルエントまで培養し、無血清培地に交換し、24 時間後に上清を回収した。分画超遠心法を用いて細胞外ベシクルを回収し、PBS(pH=7.4)で懸濁した。細胞外ベシクルサンプルに抗ヒト Her2 抗体を室温で 90 分作用させた後、オンチップ免疫電気泳動法を用いてゼータ電位を測定した。コントロールとして IgG を用いた。

**【結果と考察】** 細胞外ベシクルのゼータ電位の平均±標準偏差は、IgG では $-6.3 \pm 2.5$  mVであった (Fig. 1a)のに対し、抗ヒト HER2 抗体作用後は、 $-0.60 \pm 3.4$  mVであった (Fig. 1b)。細胞外ベシクル表面の HER2 タンパク質に抗ヒト Her2 抗体が特異的に結合し、ゼータ電位が正の方向へシフトしたものと考えられる。

**【結言】** オンチップ免疫電気泳動システムは、ヒト乳がん細胞 SK-BR-3 培養上清由来ベシクル表面の Her2 タンパク質の分析に有用であることが示された。

**【参考】** 1) Ayako Matsuda *et al.*, Jpn J Clin Oncol 2013, 43

2) 花村奈未 他、2013 年秋季応用物理学会予稿

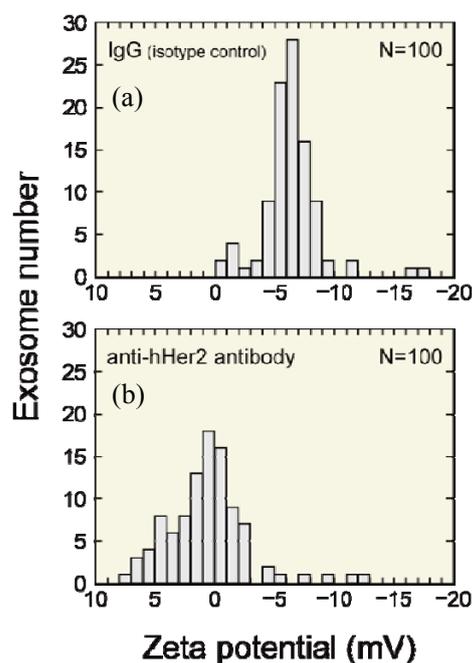


Fig.1 Zeta potential distributions of extracellular vesicles derived from human breast cancer SK-BR-3 cells treated with IgG control (a) and with anti-hHER2 antibody (b).