

エクソソームの選択的分離に向けたマイクロフリーフロー電気泳動デバイスの開発

Development of the micro free flow electrophoresis device for selective separation of exosomes

¹東大院工, ²ナノ医療イノベーションセンター

¹久保田涼介, ^{1,2}一木隆範

¹School of Eng. Univ. Tokyo, ²Innovation Center of NanoMedicine (iCONM)

Ryosuke Kubota, Takanori Ichiki

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

【緒言】エクソソームは直径 40~100 nm の細胞分泌型の脂質膜小胞である。エクソソームは内部に mRNA や miRNA が存在しており、由来細胞の状態を反映する可能性があるため、近年注目を集める生体粒子である¹⁾。しかし、不均質な集団であるエクソソームのみを明確に分離できる手法が確立されていなかった。そこで、本研究では抗原抗体反応によってエクソソームの電気泳動度を変化できることに着目し²⁾、変化した電気泳動度差を基にしたエクソソームの分離・分取が可能なマイクロフリーフロー電気泳動デバイス(μ FFE デバイス)の開発を目指した。

【実験・結果】Fig.1 に μ FFE デバイスの模式図を示す。本研究の μ FFE デバイスは、分離槽・電極槽間にイオン透過性隔壁として Tetra-PEG gel を導入しており、液流の遮断が可能である。このため分離に影響を及ぼさず、電極槽の緩衝液の還流により電気分解で生じる気泡を除去し安定な電圧を印加できる。作製したデバイスの分離性能評価のため、10 mM HEPES バッファ中で 1 ローダミン B と 1 mM スルホローダミン B の混合液を分離した。サンプル導入口から 4 cm の位置における蛍光強度を測定し、蛍光強度プロファイルをそれぞれのピークに分離し分離度を算出した。10 ~ 100 V まで 10 V ずつ変化した際の印加電圧と分離度の関係を Fig. 2 に示す。印加電圧と分離度の線形関係が保たれており、50 V 以降はピークの完全分離を意味する 1.5 以上の値になっていることが分かった。エクソソームの選択的分離に向けて、HER2 抗原を有する Sk-Br-3 由来エクソソームの、抗 HER2 抗体の有無による挙動変化に関する実験を行う予定である。

【参考】

[1] H. Valadi, et al., *Nat. Cell. Biol.*, **9** (2007).

[2] T. Akagi, et al., *Jpn. J. Appl. Phys.*, **53**, 06JL01 (2014)

【謝辞】本研究は、独立行政法人科学技術振興機構(JST)の研究成果展開事業「センター・オブ・イノベーション(COI)プログラム」ならびに「研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)」の支援によって行われた

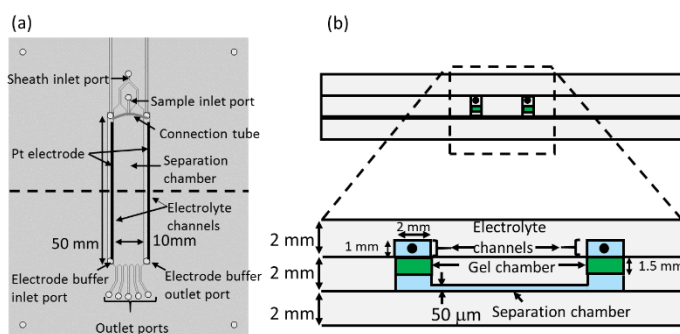


Fig 1 (a)A schematic of the μ FFE device

(b)A cross section of the μ FFE device

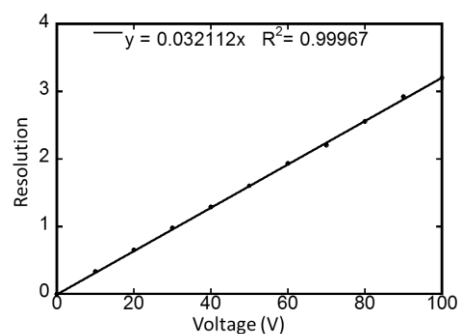


Fig 2. Resolution vs voltage using 10 mM HEPES buffer