エクソソーム高感度検出のための表面修飾の検討

Preparation of surface for high-sensitivity detection of exosomes

東大工 [1], ナノ医療イノベーションセンター[2]
岩谷晶子 [1], 倉持宏実 [1], 木下ひろみ [1], 滝口裕実 [1], 一木隆範 [1, 2]
The University of Tokyo [1], Innovation Center of NanoMedicine (iCONM)[2]
Akiko Iwaya[1], Hiromi Kuramochi[1], Hiromi Kishita[1], Hiromi Takiguchi[2], Takanori Ichiki[1,2]
E-mail: iwaya@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

脂質二重膜から構成されるエクソソーム(直径 30–100 nm)は、その内容物(miRNA など)や膜発現タンパク質が由来細胞の性質と対応づけられるため、疾病の早期診断用バイオマーカーとして注目されている。エクソソームの化学的組成に関する情報を得るためには、表面増強ラマン散乱(SERS)法のような高感度な振動分光法が用いられる。しかし、エクソソームの単離および精製は困難であり、先行研究では夾雑物の混入が課題となっている。我々は、エクソソームを選択的に固定するポリエチレングリコール (polyethyleneglycol ; PEG) 脂質誘導体[1]が修飾されたチップを開発し、エクソソームを原子間力顕微鏡（AFM）で評価した[2]。本研究は夾雑物が少ない状態におけるエクソソームの SERS 測定を目指し、Si 基板上に金ナノ粒子（AuNP）および PEG 脂質誘導体が集積した表面形成のための予備的検討を行った。

Si 基板上をシランカップリング剤 (3-aminopropyl-triethoxysilane ; APTES) 水溶液で処理し (1%, pH4, 70 ℃)、Si 表面をアミノ基で修飾した。アミノ基修飾基板を AuNP 懸濁液に浸漬(6×10^{12} particle/ml,5 min)し、アミノ基修飾表面上に AuNP を吸着させ、走査型電子顕微鏡(SEM)で基板の観察を行った。さらに AuNP 吸着基板上に Rhodamine 6G(1 μM, 2 μl)を滴下、乾燥させラマン分光測定を行った(励起光 532 nm,50mW)。Fig.2 においてアミノ基修飾基板上に AuNP が吸着している様子が観察できた。Fig.3 において AuNP 吸着基板上では Rhodamine 6G 由来と思われるピークが確認できた。本研究はエクソソームの SERS スペクトル取得を目指し、AuNP 吸着基板を作製、評価した。今後は金ナノ粒子表面上への PEG 脂質誘導体修飾および基板上のエクソソームの評価を行う。

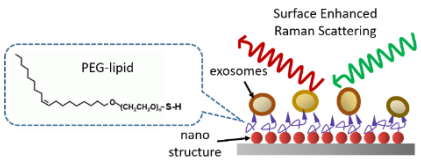

Fig 1. PEG-lipid/Au nanoparticle modified surface for exosome detection by SERS

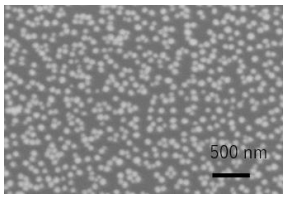

Fig 2. Image of AuNP absorbed chip

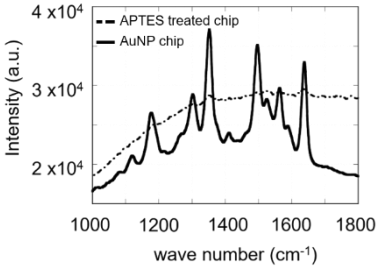

Fig 3. Raman spectra of Rhodamine 6G on AuNP absorbed chip

参考文献

[1]. K. Kato *et al.*, Bio Techniques, **35**, 1014-1021 (2003).
[2] 横田秀輔他，第 64 回応用物理学会春季学術講演会(2017)，大久保喬平他，第 65 回応用物理学会春季学術講演会(2018)，岩谷晶子他，第 65 回応用物理学会春季学術講演会(2018)