

マイクロフロー光濃縮による細胞外小胞の表面状態の高感度検出

Sensitive Detection of Surface State of Extracellular Vesicles by Microflow Optical Condensation

大阪公立大院理¹, 大阪公立大 LAC-SYS 研(RILACS)², 大阪公立大院工³, 阪大院基礎工⁴

○藤原 佳奈^{1,2,3}, 高木 裕美子^{1,2}, 田村 守^{2,4}, 中瀬 生彦^{1,2}, 床波 志保^{2,3}, 飯田 琢也^{1,2*}

Grad. Sch. Sci.¹, RILACS², Grad. Sch. Eng.³ in Osaka Metro. Univ., Grad. Sch. Eng. Sci. in Osaka Univ.⁴

°Kana Fujiwara^{1,2,3}, Yumiko Takagi^{1,2}, Mamoru Tamura^{2,4}, Ikuhiko Nakase^{1,2}, Shiho Tokonami^{2,3}, Takuya Iida^{1,2*}

E-mail: t-iida@omu.ac.jp

細胞外小胞(EV; extracellular vesicle)は細胞から分泌される直径 100 nm 程度のナノ粒子である。癌など様々な疾病に関連する RNA を含み、表面には複数種類の膜タンパク質を発現しており、その迅速、高感度、特異的(選択的)な検出が切望されている[1]。近年、光誘起力と流体力学的な作用を利用して DNA やタンパク質の高感度な特異検出をわずか数分で実現する光誘導加速の研究が盛んである[2, 3]。また、マイクロ流路中の狭小空間でレーザーとの相互作用確率を高めて光圧による抗原抗体反応の加速に成功した例もある[4]。我々はこの系に着目し、レーザー光の集光位置を光軸方向に変化させ光圧の作用範囲と強さを変調することで、EV の検出感度の制御と迅速計測ができることを解明してきた[5]。本研究ではこれらの背景を受け、がん細胞由来の EV に注目し、その表面に発現している膜タンパク質の発現量の差異を迅速かつ高感度に検出できるはずとの着想の下でマイクロフロー光濃縮による検出を行った。

具体的には、膜タンパク質 A, B それぞれに特異的に結合する抗体 A, B をマイクロビーズに修飾し(プローブ粒子 A, B)、各膜タンパク質の発現量の差を光濃縮下で評価した。Fig. 1(a)に示すように、EV とプローブ粒子を圧力駆動流によってマイクロ流路に連続的に導入し、流路上方から Mie 散乱波長のレーザーを照射することで流路底の固液界面に光圧(主に散乱力)によりプローブ粒子の光誘起集積を試みた。EV を介したプローブ粒子同士の結合により多層化した立体構造が観察され、この多層構造のサイズは ELISA の検出下限 $1.25 \mu\text{g/mL}$ より低濃度にもかかわらず EV 濃度と正の相関があった。特に、プローブ粒子 A, B それぞれを用いた場合に検量線の傾きに差が見られ(Fig. 1(b))、この大小関係はタンパク質検出法の従来法である ELISA の結果と一致することから、アフィニティーを保ったまま光誘導加速ができていることを示唆している(複数種類のがん細胞由来の EV で発現量の差異を確認できた)。一連の成果は検出に 5~6 時間かかる ELISA に対し、わずか 5 分のレーザー照射で 1~2 桁高感度に EV の表面状態を評価できる可能性を示しており、多様なバイオマーカーの精密計測の革新的な指導原理を与えるものである。

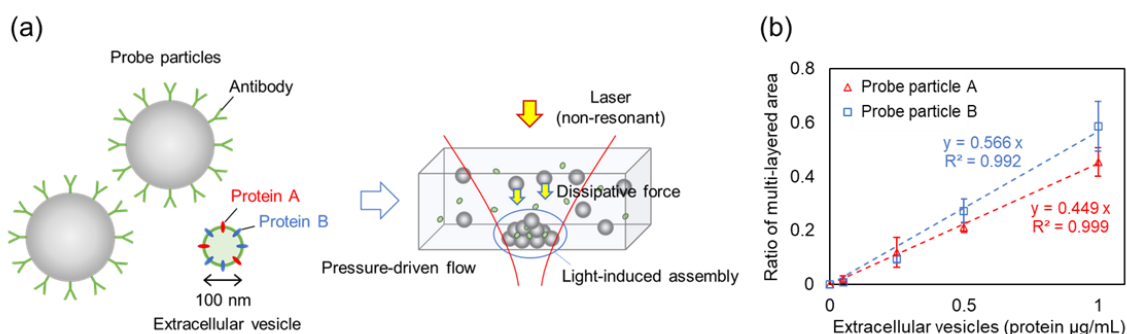


Fig.1 (a) Schematic diagram of selective light-induced detection of extracellular vesicles between probe particles coated by antibodies in a microchannel. (b) Ratio of multi-layered area of each probe particles A and B at EV concentration.

- [1] A. Hoshino, et al., *Cell*. **182**, 1044 (2020).
- [2] T. Iida, Y. Nishimura, S. Tokonami, et al., *Sci. Rep.* **6**, 37768 (2016).
- [3] M. Ueda, S. Tokonami, T. Iida, et al., *APL Photon.* **4**, 010802 (2019).
- [4] T. Iida, S. Hamatani, Y. Takagi, K. Fujiwara, M. Tamura, S. Tokonami, under review (2022).
- [5] K. Fujiwara, Y. Takagi, M. Tamura, I. Nakase, S. Tokonami, T. Iida, submitted (2022).