

正倒立蛍光顕微鏡による Bull's eye 型プラズモニックチップ上の単一エキソソーム検出

(関西学院大理工¹) ○福富 一真¹, 下川床 政也¹, 田和 圭子¹

Detection of single exosomes on a Bull's-eye plasmonic chip with the Upright-Inverted Fluorescence Microscope (Kwansei Gakuin Univ.¹) ○Kazuma Fukutomi¹, Masaya Shimokawadoko¹, Keiko Tawa¹

Exosome is one of the extracellular vesicles released from a cell. In our laboratory, plasmonic chip which is a wavelength-sized periodic-pattern substrate coated with a thin metal film can provide the enhanced fluorescence has been used to detect single exosomes. In this study, exosomes labeled with fluorescence-labeled detection antibodies were detected on upright-inverted fluorescence microscope for quantitative evaluation, and different types of membrane proteins were detected. The plot of number of bright spots for APC-labeled CD9 against exosome concentration under the fluorescence microscope with transmitted light showed a good linear relationship. In transmitted system, more sensitive quantitative evaluation of exosomes was able to conduct.

Keywords : single exosome; fluorescence microscopy; plasmon

エキソソームは疾病予測に役立つと考えられる細胞から分泌される直径～100 nmの小胞体の1つである。当研究室ではこれまでに、銀薄膜で成膜された波長サイズの周期構造を持つプラズモニックチップを用いて蛍光標識検出抗体で標識された単一エキソソームを蛍光顕微鏡で検出できることを示してきた。異なる濃度で調製されたエキソソーム溶液とエキソソームを含まないコントロール溶液の蛍光像をそれぞれ観察し、プラズモニックチップ上で表れた輝点の半値幅解析を行い、単一エキソソームを判別した。本研究では、CD9とCD81の2種類の膜タンパク質を用いて単一エキソソームの検出を行っ

た。さらに、落射型と透過型の蛍光顕微鏡像を比べ、より高精度な検出法を検討した。エキソソーム濃度に対する輝点数のプロットでは、検出膜タンパク質がCD9でもCD81でも線形関係が見られ、そして透過型蛍光像は落射型よりコントロールでの輝点数を抑えることができた。よって、透過型観察ではより正確かつ高感度にエキソソームの定量評価が行えたといえる。

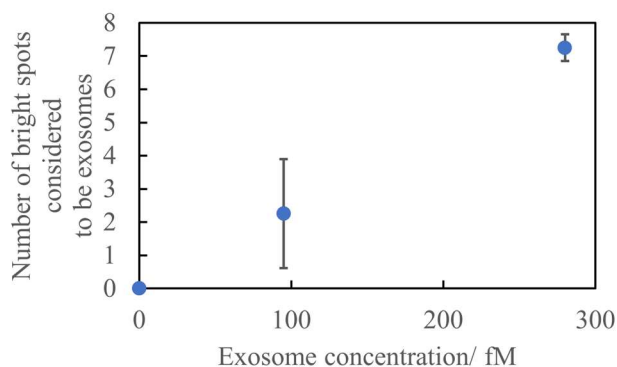


Fig.1. The plot of number of bright spots for APC-labeled CD9 against exosome concentration under the fluorescence microscope with transmitted light