

2023 年度年次報告書

革新的光科学技術を駆使した最先端科学の創出

2021 年度採択研究代表者

猪瀬 朋子

京都大学 白眉センター

特定准教授

ナノワイヤー単一細胞機能制御診断法の開発

## 研究成果の概要

本研究では、ナノワイヤー単一細胞内視鏡技術を応用し、同一プラットフォーム上かつ高い時間空間分解能で、単一細胞内への物質導入と単一細胞内の特異的な物質発現量検出が可能な新たな手法の開発を目指す。2023年度の研究成果は下記のとおりである。

### 1. 単一細胞内物質導入システム構築

2023年度は、タンパク質融合クマリンを固相上に表面修飾し、まずはバルク状態にて光照射による固相上からのタンパク質切り離し実験を行った。その結果、固相上においても、光照射強度や時間に依存した量でタンパク質が固相から切り離されることを確認した。さらに、これまでに作製した複数の異なる置換基を有するクマリンを用いてタンパク質の切り離し実験を行ったところ、光切断効率とともに、加水分解耐性にも違いがあることが確認された。今後このシステムを用いて細胞内でタンパク質導入実験を行う際には、加水分解耐性があり、かつ光分解効率の高いクマリン分子を用いる予定である。

### 2. 単一細胞内物質定量検出システム構築

ナノワイヤー表面上に修飾した TNF- $\alpha$ 抗体を介して吸着した TNF- $\alpha$ -mCherry について、TNF- $\alpha$ -mCherry の濃度とナノワイヤー上で観察される蛍光が消光するまでの減衰定数の関係性を調べたところ、濃度依存性があることを確認した。また、TNF- $\alpha$ -mCherry の検出限界濃度は、おおよそ用いている抗体の TNF- $\alpha$ に対する結合解離定数と同程度であることを確認した。この結果を元に、TNF- $\alpha$ -mCherry 発現細胞に対し、ナノワイヤーを細胞膜に押し当ててその後検出される蛍光消光から減衰定数を求めることで、細胞膜に発現している TNF- $\alpha$ -mCherry の局所的な発現濃度を見積もることができた。今後は、細胞内で発現するタンパク質を標的にして、細胞内タンパク質の局所的な検出実験を進める予定である。

## 【代表的な原著論文情報】

- 1) Peeters, W. Toyouchi, S. Fujita, Y. Wolf, M. Fortuni, B. Fron, E. Inose, T. Hofkens, J. Endo, T. Miyata, Y. Uji-i, H. Remote Excitation of Tip-Enhanced Photoluminescence with a Parallel AgNW Coupler, *ACS Omega*, **8**, 38386–38393, (2023)
- 2) Zhang, Q. Murasugi, T. Watanabe, K. Wen, H. Tian, Y. Ricci, M. Rocha, S. Inose, T. Kasai, H. Taemaitree, F. Uji-i, H. Hirai, K. Fortuni, B. Selective Detection of Intracellular Drug Metabolism by Metal-Organic Framework-Coated Plasmonic Nanowire, *Adv. Optical Mater.*, **11**, 2300856, (2023)