

生体における微粒子の機能と制御
2019 年度採択研究者

| |
|------------------|
| 2020 年度 年次報告書 |
|------------------|

末吉 健志

大阪府立大学
准教授

エクソソームの由来判別・生体内動態解析のための粒子径分級および
アプタマータグ選抜・解析法の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究の目的は、エクソソームの個性を解析し、その由来や生体内動態を解析するための新たな分析法の開発である。その実現を目指して、エクソソームの微粒子径分級とアプタマー選抜、そして得られたアプタマーの解析に取り組んだ。

エクソソーム微粒子径分級においては、2019年度に原理が実証されたマイクロナノ流路デバイスを用いた精密分級法について、2020年度はデバイス改良による分級精度および単位時間当たり分級処理能力の向上を目指した。マイクロ流路あたりのナノ流路構造を原理検証デバイスの1カ所から20カ所に増加、さらにナノ流路側に微粒子を流体力学的に近づけるシースフロー構造を設計・作製し、その基礎評価を行った。マイクロ流路側の作製時に生じた構造的欠陥のため詳細な検証と性能評価・比較はできなかったが、蛍光標識ナノ粒子を用いた基礎検討段階では、大幅な分級効率向上を示唆する結果が得られた。この結果を受けて、マイクロ流路側の構造を改良した新規デバイスを制作した。

エクソソームアプタマー選抜のための高効率選抜法の開発について、ハイドロゲル充填キャピラリーデバイスを用いたアプタマー選抜法の開発に取り組んだ。その原理検証のため、2020年度はアプタマー配列報告例のあるモデルタンパク質類について、アプタマー選抜および次世代シーケンサーを用いた配列解析を行った。その結果、本法を用いて得られたアプタマー候補群には、既知のタンパク質アプタマーと類似配列が複数含まれていることが確認された。また、従来のアプタマー選抜法では1サイクル1~1.5日程度を10~15サイクル程度行う必要があったのに対して、本法による選抜は1サイクル2時間程度のみで達成された。この結果を受けて、得られたアプタマーターゲット解析によるエクソソーム評価の実現に向けて、選抜法最適化と機械学習解析用システムの構築に取り組んでいる。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Satoko Fujiwara, Kyojiro Morikawa, Tatsuro Endo, Hideaki Hisamoto, Kenji Sueyoshi
“Size sorting of exosomes by tuning the thicknesses of the electric double layers on a microfluidic device”, *Micromachines*, vol. 11, pp.458-468, 2020.