

生体における微粒子の機能と制御
2019年度採択研究者

2021年度 年次報告書

末吉健志

大阪府立大学 大学院工学研究科
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、提案し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、分級精度および単位時間当たり分級処理能力の向上に取り組んだ。作製した新規デバイスを用いた基礎評価によって、蛍光標識ポリスチレンナノ粒子の 50 nm ごとの粒子径分級が実証された。また、特に小さいナノ粒子 (50 nm 以下) 分級条件において、イオン強度低下に基づく電気浸透流速速度上昇に起因すると推測される、粒子径選択的な濃縮効果が観察された。加えて、旧デバイスと比較して単位時間当たり 2 倍以上の大幅な分級効率向上が示唆された。これらの結果を受けて、エクソソーム粒子径分級法を確立するための最適化とエクソソーム実試料への応用を進めている。

エクソソームアプタマー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、モデルタンパク質類やエクソソームを標的としたアプタマー選抜を試みた。その結果、獲得されたアプタマー候補群には、標的分子に対する特異的結合能を示すものが含まれており、本法の有効性が実証された。また、 10^{15} サイクル程度の選抜を要した従来法に対して、本法では最少で 1 サイクル、少なくとも 3 サイクルあればアプタマー選抜可能であることが確認された。また、エクソソームに対する選抜結果では、既知の膜タンパク質アプタマーに類似の配列モチーフを持つ核酸が得られた。以上の結果を受けて、獲得したアプタマー候補群配列解析に基づく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) Junku Takao, Tatsuro Endo, Hideaki Hisamoto, Kenji Sueyoshi

“Direct measurement of initial rate of enzyme reaction by electrokinetic filtration using a hydrogel-plugged capillary device”, *Analytical Sciences*, 37, pp.1439-1446, 2021

2) Masahide Wada, Tatsuro Endo, Hideaki Hisamoto, Kenji Sueyoshi

“Fractionation of single-stranded DNAs with/without stable preorganized structures using capillary sieving electrophoresis for aptamer selection”, *Analytical Sciences*, 37, pp.799-802, 2021