



2022年10月6日

大阪公立大学

科学技術振興機構 (JST)

光の力で抗原抗体反応を加速！

2京分の1グラムの微量タンパク質を3分で検出成功

<ポイント>

- ◇光の力^{*1}により、分子認識機構^{*2}の一種である抗原抗体反応を加速する新原理を発見。
- ◇レーザー光を3分照射するだけで数十アトグラムの極微量タンパク質を検出可能。
- ◇がん、認知症、感染症などさまざまな病気の超早期診断にも応用可能。

<概要>

大阪公立大学 研究推進機構 協創研究センター LAC-SYS 研究所の飯田 琢也 所長、床波 志保 副所長らの研究チームは、生体中の分子認識機構の一種である抗原抗体反応の光誘導加速^{*3}に関する新原理を発見しました。

本研究は、標的タンパク質とこれに選択的に結合する抗体を修飾したプローブ粒子を人間の毛髪や細動脈と同程度の幅の流路に導入し、赤外レーザー光をわずか3分間照射することで従来のタンパク質検査技術の約100倍の高感度の検出を可能とし、数十アトグラム ($ag = 10^{-18}g$ 、100京分の1グラム) レベルでの迅速微量計測に世界で初めて成功しました (図1)。今回計測した最小濃度 0.31pg/mL のタンパク質分散液の場合、濃度と測定領域を通過した液量 (300nL) から換算して 46.5ag (約2600個)、つまり約2京分の1グラムの標的タンパク質をわずか3分間で計測できたことに相当します。タンパク質は遺伝子 (DNA、RNA) のようにPCR法で増幅できませんが、狭小空間に閉じ込めてレーザー照射するだけの簡単な操作によって濃縮して反応を加速させることで、迅速かつ高感度に検出ができることを実証しました。

本研究成果は、2022年10月6日、「Communications Biology」にオンライン掲載されます。

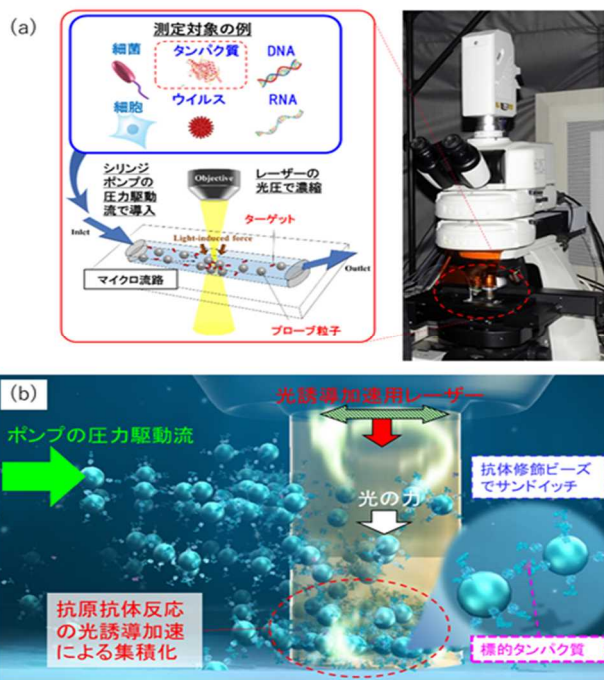


図1：(a) マイクロフロー光誘導加速システムの概略
(b) タンパク質を微量検出する原理のイメージ

抗原抗体反応は生体の防御機能である免疫に関する極めて重要な生化学反応です。床波副所長との物理・化学・生物の分野を超えた共同研究を通じて、歴代の大学院生達や研究員の協力も得て、この反応を光の力で制御する新原理を解明しました。特に、レーザー照射するだけで高感度・迅速に微量マーカーの計測ができ、超早期診断の革新に繋がると期待しています。



飯田琢也 教授/所長

<研究の背景>

がん、認知症、微生物感染症など多くの疾患の早期診断法の一つとして、抗原抗体反応に基づく検査法（イムノアッセイ）による微量タンパク質の分析が重要な役割を果たしています（たとえば、人間ドックの各種がんを対象とした血液検査や、新型コロナウイルスの抗原検査でも抗原抗体反応が使われています）。しかし、タンパク質は DNA 検査で用いられる PCR 法のような増幅が困難であり、インキュベーション（抗原抗体反応を静置して待つ工程）や洗浄など複雑な処理が必要かつ、熱に弱いという課題がありました。従来からさまざまな検出法が考案されていますが、たとえば、新型コロナウイルス感染症の抗原検査などに用いられる汎用的なイムノクロマト法（抗原抗体反応を用いた簡便、迅速な検査方法の一つ）では感度が低く、研究現場で用いられる ELISA 法（enzyme-linked immunosorbent assay, 酵素結合免疫吸着法）は高感度ではあるものの多工程で 5~6 時間を必要としていました。また、研究チームによる従来の光濃縮検出研究では、光の力で捕捉した金属ナノ粒子集合体の発熱効果による対流（J. Phys. Chem. C 2014）と圧力駆動流による補助の下、5~10 分の短時間でフェムトグラム（fg=10⁻¹⁵g、1000 兆分の一グラム）オーダーの微量タンパク質の計測に成功（APL Photon. 2019）していましたが、熱によるタンパク質の変性が課題でした。

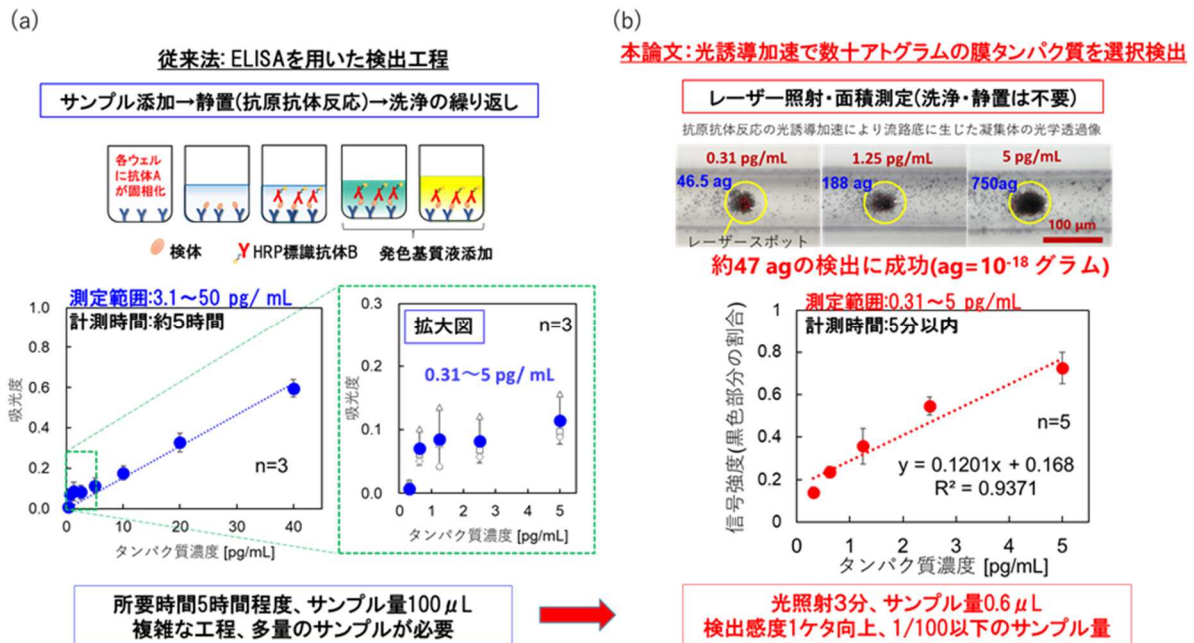


図2: (a) 従来技術としての ELISA 法の工程と測定例。吸光度で評価。(b) 本論文で解明したマイクロ流路中の抗原抗体反応の光誘導加速の原理を用いたタンパク質の微量検出の測定結果。多層部分の割合を評価。

<研究の内容>

本研究では、人間の毛髪（太さ 70~80 μm）や細動脈（直径 100~200 μm）と同程度の幅のマイクロ流路中（本論文では流路幅 100 μm を使用）にレーザー照射し、光の圧力により標的分子とプローブ粒子の衝突確率を高めることで、液体試料を含む流路の底面など固液界面における微量タンパク質（アトグラムレベル）の抗原抗体反応を捕捉する光誘導加速の新原理を提案しました（図2、図3）。この原理を、複数種類の膜タンパク質に適用したところ、ある種の膜タンパク質ではわずか3分間のレーザー照射により、300 nL（1 nL は 1 mL の 100 万分の 1、つまり 300 nL は 1 cm 角のサイコロの体積の約 333 分の 1）の微量サンプル中で 47-750 ag

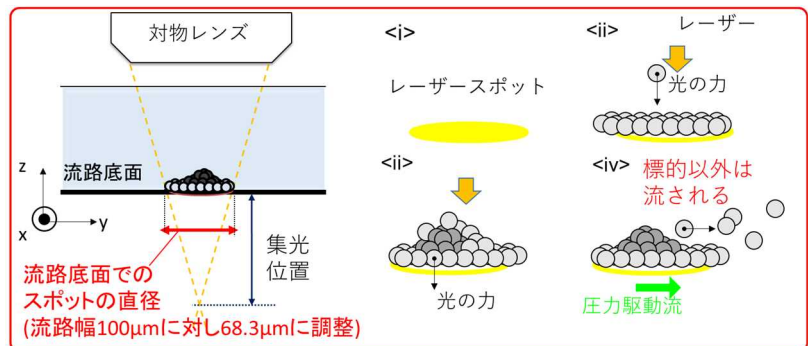


図3: デフォーカスしたレーザースポット径で抗原抗体反応を加速し、プローブ粒子とタンパク質 3 次元的な集合構造を形成する過程の概念図。

の標的タンパク質の検出に前処理を一切行わず成功しました。この結果は、従来のインキュベーションや洗浄などの多工程のために検出に数時間を要する ELISA などのタンパク質検出法に比べ、サンプル量 100 μ L の約 300 分の 1 以下かつ、約 100 倍の高感度と超高速特異検出を実現したことを意味します。本成果は、生体内の細胞や組織におけるタンパク質の構造・機能を総合的に研究する学術分野であるプロテオミクスの発展や、多様な生化学反応の制御によるハイスループットなバイオ分析の革新的なプラットフォーム構築を促進し、がん・認知症・微生物感染症などのさまざまな疾病の超早期診断に関する新機軸を与えるものです。

<期待される効果・今後の展開>

本成果は、1 滴の血液など微量の体液から、がん・認知症・微生物感染症などに関連する物質の検出や新規疾患マーカーの発見を促進し、さまざまな病気の超早期診断システムの開発にブレークスルーを産み出す可能性を示唆するものです。現在、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）未来社会創造事業のプロジェクトの中で、医療機関と患者由来サンプル中のがんマーカー計測に関する発展的な共同研究も進めています。これらも踏まえ、数年以内での基本システム開発を目指し、臨床現場での初期検証を 5 年以内に達成したいと思っています。

また、関連の成果の一部を BioJapan 2022（会期：2022 年 10 月 12-14 日、会場：パシフィコ横浜）（<https://jcd-expo.jp/ja/>）にて展示予定です（小間番号 C-47）。ご興味がある方はお立ち寄り頂ければ幸いです。

<資金情報>

本研究は JST 未来社会創造事業「低侵襲ハイスループット光濃縮システムの開発（JPMJMI18GA、JPMJMI21G1）」（研究開発代表者：飯田琢也）、JST 創発的研究支援事業「バイオミメティック電極による外場誘導型エコシステムの創成（JPMJFR201O）」（研究代表者：床波志保）、科研費基盤研究(A)(17H00856、21H04964)（研究代表者：飯田琢也）、大阪府立大学キープロジェクト（「LAC-SYS プロジェクト 一次世代バイオフォトンクスが拓く未来」）などの支援の下で実施されました。

<用語解説>

※1 光の力（光誘起力）：光が物質に及ぼす電磁気学的な力の総称直進するレーザー光を物質に照射すれば、「押す」力を与えることができ、レンズで強く絞ったレーザー光の強度の強いスポット付近に物質を捕捉することができる。

※2 分子認識機構：水素結合、金属配位相互作用、疎水性力、分子間力、 π - π 相互作用、ハロゲン結合、静電気力、ファン・デル・ワールス力などの非共有結合的な比較的弱い相互作用によって、ホスト分子（本研究のプローブ粒子表面の抗体に相当）およびゲスト分子（本研究のターゲットタンパク質に相当）が高い相補性を示して選択的（特異的）に結合する機構（「鍵と鍵穴モデル」で例えられる場合もある）。本研究で対象とした抗原抗体反応や、DNA や RNA など核酸のハイブリダイゼーションなどが挙げられる。特に、抗原抗体反応は、抗原となるタンパク質などの抗原決定基（エピトープ）と抗体決定基（パラトープ）の結合による可逆反応で、生体内では B 細胞が異物である抗原を受取り、それに特異的に結合する抗体を産生することで液性免疫に寄与することが知られている。

※3 光誘導加速：主にレーザー光を、分子認識機構を付与したプローブ粒子や基板に照射して光の力や光誘起対流を発生させて、対象となるナノスケールおよびマイクロスケールのサイズ領域の生体関連物質を濃縮し、生体分子間の衝突確率を飛躍的に高めることで分子認識を加速して高効率化する原理と技術。

<掲載誌情報>

【発表雑誌】 Communications Biology

【論文名】 Attogram-level Light-induced Antigen-antibody Binding Confined in Microflow

【著者】 Takuya Iida, Shota Hamatani, Yumiko Takagi, Kana Fujiwara, Mamoru Tamura and Shiho Tokonami

【掲載 URL】 <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03946-0>

【研究内容に関する問い合わせ先】

大阪公立大学

大学院理学研究科/LAC-SYS 研究所

教授/所長：飯田琢也（いいだ たくや）

TEL：072-254-8132

E-mail：t-iida[at]omu.ac.jp

大阪公立大学

大学院工学研究科/LAC-SYS 研究所

准教授/副所長：床波志保（とこなみ しほ）

E-mail：tokonami[at]omu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ先】

大阪公立大学 広報課

担当：國田（くにだ）

TEL：06-6605-3411

E-mail：koho-list[at]ml.omu.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL：03-5214-8404

E-mail：jstkoho[at]jst.go.jp

【JST 事業に関する問い合わせ先】

科学技術振興機構 未来創造研究開発推進部

小泉輝武（こいずみ てるたけ）

TEL：03-6272-4004

E-mail：kaikaku_mirai[at]jst.go.jp