

## ●——バイオマーカー応用へ向けたエクソソームの高感度評価法

エクソソームは生細胞から放出される直径 30~150 nm の細胞外小胞の一種であり、がんを中心とした様々な疾病に関与している。エクソソームは血液や尿などの体液中に産生細胞に由来する多様な生体分子を含んだ状態で浮遊しており、非侵襲性で感度の高い疾患バイオマーカーとして期待されている。そのため近年では、臨床応用を目的としたエクソソームの迅速かつ高効率な分離・解析手法が精力的に研究されている。

エクソソームの代表的な分離手法としては、小胞のサイズを識別する超遠心法が知られている。超遠心法は比較的大量のサンプル処理が可能であるが、サンプル内に共存する浮遊タンパク質等の夾雑成分<sup>きょうざつ</sup>の除去が難しい。また、エクソソームに特有の表面タンパク質抗体を固定化した磁気ビーズを使ったアフィニティー法もある。この手法により得られたエクソソームは超遠心で回収されるエクソソームよりも純度が高く、イムノプロットや miRNA アレイなどによる機能評価が容易である。

しかしながら、エクソソーム中に存在する生体分子は極微量であり、貴重な臨床サンプルから得られるエクソソームの解析は困難を極める。例えば、Wan らの報告によると、 $1.4 \times 10^9$  個のエクソソームから回収される RNA はわずか 348.5 ng である<sup>1)</sup>。したがって、高純度で回収されたエクソソームを感度よく検出し、分類できる手法が求められる。最近の研究で Li らは、CD9 抗体を固定化した磁気ビーズによるアフィニティー精製によりエクソソームを回収し、表面増強ラマン散乱法 (Surface Enhanced Raman Scattering : SERS) によってその化学特性を評価する非破壊的な高感度エクソソーム解析法を開発した<sup>2)</sup>。SERS は金属基板上の局在表面プラズモン共鳴により、通常のラマン分光法よりも数桁以上高い感度を提供することができるため、無標識の微量分析に有効である。Li らは、この手法を利用することで、乳がん患者と健常者間の血清サンプル中に存在するエクソソーム間で 100 % に近い特異性を見いだすことに成功した。今後、今回紹介した例のように優れた分離技術とスペクトロメトリーの合わせ技によって、精密かつ高感度なエクソソーム解析法が精力的に開発されることで、エクソソームのバイオマーカー応用が大きく進展することが期待される。

1) Y. Wan, G. Cheng, X. Liu, S. J. Hao, M. Nisic, C. D. Zhu, Y.

Q. Xia, W. Q. Li, Z. G. Wang, W. L. Zhang, S. J. Rice, A. Sebastian, I. Albert, C. P. Belani, S. Y. Zheng : *Nat. Biomed. Eng.*, 1, 0058 (2017).

2) G. Li, N. Zhu, J. Zhou, K. Kang, X. Zhou, B. Ying, Q. Yi, Y. Wu : *J. Mater. Chem. B*, in press (2021).

〔京都大学大学院薬学研究科 (兼)国立研究開発法人  
医薬基盤・健康・栄養研究所 金尾英佑〕

## ●——イオン液体マトリックスを用いた MALDI-TOF-MS による高分子量ポリロタキサンの解析

ポリロタキサン (polyrotaxane, PR) は、スライド可能な複数の環状分子をひも状の高分子が貫通した構造を有する。特に、シクロデキストリン (cyclodextrin, CD) とポリエチレングリコール (polyethylene glycol, PEG) 鎖で構成された PR (CD-PR) は、特異な応力-伸長特性を示す環動ゲルや、可動性を活用した自己修復材料としての利用など、新機能性材料としての応用が期待されている。CD-PR の特性は化学構造、平均分子量、CD と PEG との相対モル比に大きく依存するため、様々な手法で解析を行う必要がある。

MALDI-TOF-MS は高分子の構造解析において有用な手法の一つであるが、マスディスクリミネーションや、固体マトリックスが高分子量の PR に適していない問題があった。近年、高分子量化合物に適した高分解能の検出器が開発され、この検出器を組み合わせた MALDI-TOF-MS では、非常に幅広い分子量領域 (最大 200 万 kDa) の検出が可能となった。また、固体マトリックスと比べ、再現性が高いイオン液体マトリックス (ionic liquid matrix, ILM) の研究もここ数年進んでいる。

これらの背景を踏まえ、紹介する研究では 3-アミノキノリン型の ILM (3-AQ-based ILM) をマトリックスに用い、高分解能検出器を利用した MALDI-TOF-MS 測定により、高分子量 (最大 70 万 kDa) の CD-PR の解析が行われた。ILM の種類によりスペクトル形状は大きく異なり、実験に用いられた 3 種の ILM の中で、CD-PR の解析には 3-AQ/CHCA が最適であることがわかった。また、ポリカプロラクトンが修飾した  $\alpha$ CD-PR の解析では、SEC から得られた  $M_n$  と値がよく一致し、本手法は化学修飾された  $\alpha$ CD-PR の解析にも有用であることがわかった。

さらに、空孔の内径が大きい  $\gamma$ CD と PEG で構成された  $\gamma$ PR の解析が行われた。高強度で、メインシグナルの 121 kDa と、マイナーシグナルの 230 kDa が観測された。約 2 倍の関係にあり、これは 2 本鎖形状によるものと考えられる。この  $\gamma$ PR の測定結果から、複数鎖の形状が含まれていたとしても、本手法を使えば一本鎖形状なのか複数鎖形状なのか識別できること、 $\gamma$ PR

の主成分は一本鎖形状であることがわかった。

NMR および SEC に本手法を組み合わせることで、PR の構造解析において複数鎖形状の識別が可能となった。分子レベルでの精密な解析のため、質量分析手法の

さらなる進展が期待される。

1) Y. Yamazaki, S. Nakaya, K. Ito, K. Kato : *J. Am. Soc. Mass Spectrom*, **31**, 1180 (2020).

〔徳島大学大学院社会産業理工学研究部 押村美幸〕

~~~~~

### 原稿募集

トピックス欄の原稿を募集しています

内容：読者の関心をひくような新しい分析化学・分析技術の研究を短くまとめたもの。

執筆上の注意：1) 1000 字以内（図は 1 枚 500 字に換算）とする。2) 新分析法の説明には簡単な原理図などを積極的に採り入れる。3) 中心となる文献は原則として 2 年以内のものとし、出所を明記する。

なお、執筆者自身の文献を主として紹介する

ことは御遠慮ください。又、二重投稿は避けてください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]