

# 有機半導体ポリマーナノ粒子の DNA を介した on-membrane 集積化による 細胞表面マーカーの高感度検出



SATテクノロジー・ショーケース2025

## ■ はじめに

細胞膜上に発現した細胞表面マーカーは、臨床での診断に使用されている。一般的には、抗体を介して蛍光色素で標識しフローサイトメーター(FCM)を用いて解析する。しかし、この手法では低発現なマーカーの検出が困難であるため新たな蛍光増強手法の開発が求められている。そこで本研究では蛍光プローブとして、高輝度かつ生体適合性に優れ、バイオイメージングなどへの応用が検討されている有機半導体ポリマーナノ粒子 (Pdot) を用いた。さらに、ナノ粒子表面にDNAを修飾し、相補的な配列を持つDNAをリンカーとしてハイブリダイゼーションすることで3次元に集積化する技術に着目した。本研究では、DNAを介してPdotを細胞膜上で集積し、抗体を複数の粒子で超高輝度に蛍光標識することによる、細胞表面マーカーのFCMでの高感度検出を目指した (Fig.1)<sup>1)</sup>。

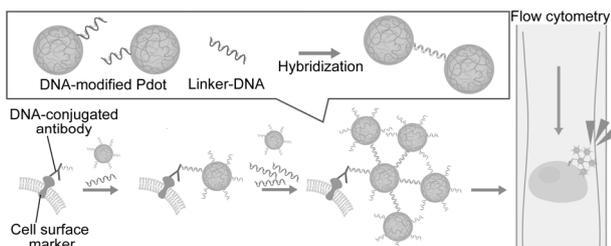


Fig.1 Schematic illustration for the on-membrane DNA-mediated assembly of Pdots

## ■ 活動内容

### 1. 実験方法

Nanoprecipitation法によりPdotを合成し、カルボジイミド反応により粒子表面にDNAを修飾した。B細胞性急性リンパ性白血病細胞株であるNalm-6細胞にDNA修飾抗CD19またはCD20抗体を結合し、リンカーDNAとDNA修飾Pdotのハイブリダイズを繰り返すことでPdotの逐次集積を行った。各段階における蛍光強度をFCMにより評価した。

### 2. 結果・考察

細胞膜上でのDNA修飾Pdot(直径22 nm)の逐次集積の各段階で蛍光強度をFCMで測定し、細胞表面マーカーの高感度検出における有用性を検討した (Fig.2)。逐次集積に伴いPdot由来の蛍光強度は有意に上昇し、本手法による高輝度化の成功が示された。逐次集積を行った場合の抗体1分子あたりに結合したPdotの体積の合計と同程度の体積を有する81 nmのPdotを用いて1

段階で標識した場合と比較しても、22 nmのPdotの逐次集積による輝度は24倍高かった。逐次的に集積することでPdotがより立体的に有利な場所に配置され、より高効率な高輝度化が実現されたと考えられる。また、共焦点レーザー顕微鏡による観察においても逐次集積による輝度の向上が確認された。加えて、より低発現で実際に診断に用いられるCD20でも高感度検出を実証し、診断での有用性を示した。

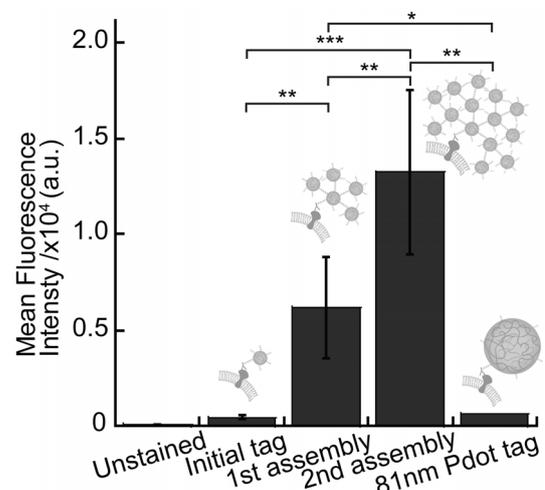


Fig.2 Fluorescent intensity of Pdots assembled on CD19 measured by FCM (n = 6, means  $\pm$  SD, \*\*\*p < 0.001, \*\*p < 0.01, \*p < 0.05)

### 3. 今後の展望

より簡便に高輝度化を実現するため、DNAの連鎖重合反応であるHybridization Chain Reaction (HCR) を利用したPdotの集積化を検討する。これに伴い、設計したHCRの進行を粗視化分子動力学シミュレーションによって予測することを試みる。

## ■ 関連情報等(特許関係、施設)

FCM を利用させていただいた、ワンストップ創薬共用ファシリティーセンター、TEM を利用させていただいた、東京大学 マテリアル先端リサーチインフラ微細構造解析部門に感謝申し上げます。

1) Y. Maeda et al., Adv. Funct. Mater., 2315160 (2024).

代表発表者 **前田 悠希(まえだ ゆうき)**  
所属 **東京大学大学院工学系研究科  
バイオエンジニアリング専攻**

問合せ先 〒113-8656  
東京都文京区弥生 2-11-16 工学部 9号館 722  
TEL: 03-5841-3353 FAX:  
Email: yuki-maeda301@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

■キーワード: (1) 有機半導体ポリマーナノ粒子  
(2) フローサイトメリー  
(3) DNA