

抗 CSV アプタマーを介した腫瘍細胞のシグナル増幅型検出

(熊本大院先端¹・熊本大院生命²・(株)オジックテクノロジーズ³) ○津久井 瑞貴¹・森 萌音¹・北村 裕介¹・中島 雄太¹・岩槻 政晃²・熊本 清太郎³・安田 敬一郎³・勝田 陽介¹・中西 義孝¹・井原 敏博¹

Detection of tumor cells by the amplified signal through anti-CSV aptamer (¹*Faculty of Advanced Science and Technology, Kumamoto University*, ²*Faculty of Life Sciences, Kumamoto University*, ³ *OGIC Technologies Co., Ltd.*) ○Mizuki Tsukui,¹ Mone Mori,¹ Yusuke Kitamura,¹ Yuta Nakashima,¹ Masaaki Iwatsuki,² Seitaro Kumamoto,³ Keiichiro Yasuda,³ Yousuke Katsuda,¹ Yoshitaka Nakanishi,¹ Toshihiro Ihara¹

Tumor cells shed from primary and metastatic cancers into blood (circulating tumor cells, CTCs) are considered to be the roots of metastases and are emerging as a novel target for prognostic marker. CTCs undergoing epithelial mesenchymal transition (EMT) highly express CSV (Cell Surface Vimentin) on their cell membranes. In this study, we tried to detect mesenchymal CTCs using anti-CSV aptamer combining with entropy-driven catalysis, EDC.

Keywords : Nucleic Acid; DNA aptamers; DNA Circuit; Tumor cells; Liquid Biopsy

原発腫瘍組織から血管中に浸透し、全身を循環する腫瘍細胞 (circulating tumor cell、CTC) は、転移の主因と考えられており、近年、新たな診断マーカーとしても注目を集めている。以前より当研究室では、固形がんの細胞表面に高発現することが知られている上皮細胞接着因子 (EpCAM) に着目し、そのアプタマーと触媒的発光増幅技術 (エントロピー駆動型 DNA サーキット、EDC) とを組み合わせた CTC の高感度簡易検出系の構築に取り組んできた。しかし、上皮間葉転換を経て EpCAM の発現量が著しく低下した CTC の存在も報告されている。このような細胞では、細胞膜上に CSV (Cell Surface Vimentin) が高発現しているため、本研究では抗 CSV アプタマーを利用し、間葉系の性質を有する腫瘍細胞の検出を試みた。

Fig. 1 に示す通り、 1×10^5 個の T24 (ヒト膀胱癌細胞: CSV 高発現細胞) と MDA-MB-453 (ヒト乳癌細胞: CSV 低発現細胞) に対し、タグ付抗 CSV アプタマーを添加し、洗浄後、マスク/トリガー二本鎖 (タグとの鎖交換によりトリガー鎖を放出する) を添加した。その後、上澄みを回収し、タンデム二本鎖複合体 (蛍光オフ) と燃料 DNA の混合溶液に添加した。T24 では発光増幅がみられ、その発光は目視にて確認可能であった。タグ付きアプタマー未添加の場合、ならびにアプタマー配列をスクランブル化したタグ付きの DNA を添加した場合には発光は観察されなかった。また、MDA-MB-453 からはいずれの場合も発光はみられなかった。以上の結果より、腫瘍細胞に結合した抗 CSV アプタマーを介し、特異的に発光が増幅していることがわかった。

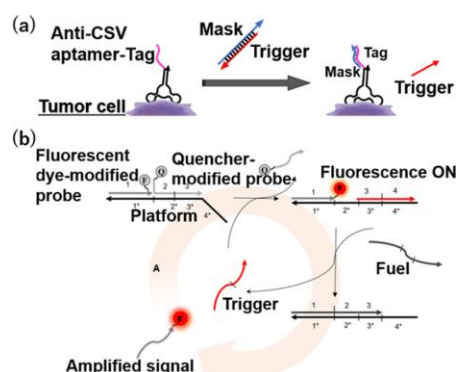


Fig. 1. (a) Anti-CSV aptamer-mediated strand exchange on cancer cells. (b) Signal amplification by entropy-driven catalysis, EDC.