

スマートフォン暗視野顕微鏡を用いた、金ナノ粒子凝集観察による 炎症性バイオマーカーC 反応性タンパク質(CRP)の簡易検出

【概要】

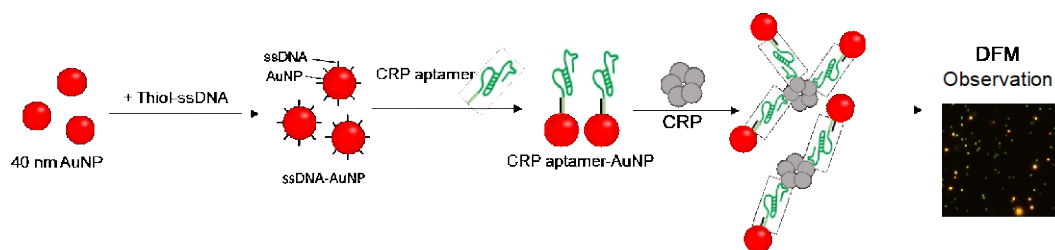
C 反応性タンパク質(CRP)は、炎症や組織障害のバイオマーカーとして広く使用されているタンパク質です。血液中の CRP 濃度が高い(5 mg/L (約 50 nM)以上)と、炎症や感染の可能性が示唆されるため、感染症や心筋梗塞、肺疾患、がんなど、様々な疾病の診断補助に広く使用されています。本研究では、CRP に特異的に結合する DNA アプタマーを修飾した金ナノ粒子が、CRP 存在下で形成する凝集体を暗視野顕微鏡で観察・分析することで、CRP を検出できることを示しました。特に、単一クラスターレベルでの金ナノ粒子観察が可能な、スマートフォンを用いた暗視野顕微鏡を開発し、50 nM 以上の CRP の簡易検出に成功しました。本研究成果により、疾病や炎症の重症度を簡易に評価できる技術への応用が期待されます。本研究成果に関する論文は、英国王立化学会(RSC)の学術雑誌「Sensors & Diagnostics」に採択され、オンラインで公開されました(2024 年 12 月 23 日(日本時間))。

【詳細】

C 反応性タンパク質(CRP)は、炎症や組織障害のバイオマーカーとして広く使用されているタンパク質です。血液中の CRP 濃度が高い(5 mg/L (約 50 nM)以上)と、炎症や感染の可能性が示唆されるため、感染症や心筋梗塞、肺疾患、がんなど、様々な疾病の診断補助に広く使用されています。これまでは、抗体を用いた検出が主に行われてきました。

我々はこれまでに、金ナノ粒子がターゲット分子依存的に示す凝集を、溶液色変化や暗視野顕微鏡下での輝点色変化などで評価することによる分子検出手法を開発してきました(例:プレスリリース 2021 年 3 月 25 日、2023 年 10 月 20 日)。本研究では、CRP に特異的に結合する DNA アプタマーを金ナノ粒子表面に修飾し、5 つのサブユニットからなる CRP に結合したときに形成する金ナノ粒子集合体を、暗視野顕微鏡で単一クラスター解析することにより、CRP 検出する手法を開発しました。その結果、CRP 存在下で、より明るい金ナノ粒子輝点が観察されました。とくに、炎症や、感染の目安となる、50 nM 以上の CRP の検出に成功しました。

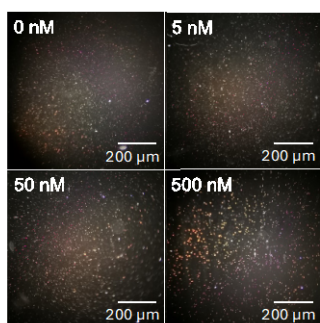
また、本研究では、医療現場で、簡易な機器などにより迅速に検査を行う POCT (Point of Care Testing)の実現に向けて、スマートフォンを用いた簡易型暗視野顕微鏡を開発しました。今回、ステージ位置調整システムを導入することで、CRP 存在下で形成される、金ナノ粒子集合体の単一クラスター解析が可能になり、スマートフォンを用いた暗視野顕微鏡による 50 nM CRP 検出に成功しました。これらの成果により、疾病や炎症の重症度を簡易に評価できる技術への応用が期待されます。



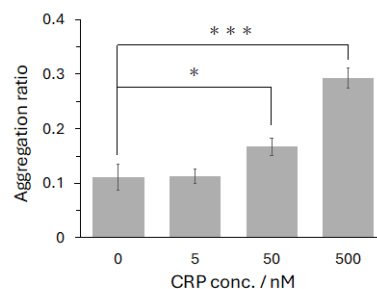
CRP存在下におけるDNAアプタマー修飾金ナノ粒子の集合体形成



スマートフォン暗視野顕微鏡



CRP存在下における暗視野像



CRP検出

図: DNAアプタマー修飾金ナノ粒子の単一クラスター解析によるCRP検出

【研究体制と支援について】

本研究は、愛媛大学大学院理工学研究科を中心に、愛媛大学プロテオサイエンスセンター(PROOS)、理化学研究所との共同研究として行われました。また、研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業、愛媛大学リサーチユニット「先端ナノ・バイオ分析研究ユニット」の支援を受けました。

【論文タイトルと著者】

掲載誌: Sensors & Diagnostics

DOI: 10.1039/D4SD000329B

題名: Detection of C-reactive protein using single cluster analysis of gold nanoparticle aggregates using dark-field microscope equipped with smartphone

著者: Nanami Fukuzumi, Takako Nakagawa, Gen Hirao, Atsushi Ogawa, Mizuo Maeda, Tsuyoshi Asahi and Tamotsu Zako*

責任著者: 座古保(愛媛大学)

【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学大学院理工学研究科(理学部化学コース)

教授 座古 保(ざこ たもつ)

Mail: zako.tamotsu.us@ehime-u.ac.jp