

造血幹細胞のクオリティー評価を目指した半導体バイオセンシング技術の研究開発

Development of semiconductor-based biosensing technology for quality evaluation of hematopoietic stem cells

東京大学大学院工学系研究科¹、東京大学医科学研究所²○田伏 佑規¹、岡村 敏志²、齋藤 暁子¹、加治佐 平¹、大津 真²、坂田 利弥¹School of Engineering Univ. of Tokyo¹, Institute of Medical Science Univ. of Tokyo²○Y. Tabuse¹, S. Okamura², A. Saito¹, T. Kajisa¹, M. Otsu², T. Sakata¹sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

正常な血液を作ることが困難な患者に対して行われる造血幹細胞移植において、その細胞の活性は実際に移植させないと分からず、現状の技術では数ヵ月の期間を要する。本研究では造血幹細胞のクオリティー評価において、その呼吸活性をバイオマーカーとして考えた。実際に胚発育過程においてミトコンドリアの成熟が酸素消費の上昇と一致していることが見出されており、呼吸量が体外受精における卵子や胚のクオリティー評価の有益な指標となることが示唆されている⁽¹⁾。細胞はグルコースなどの栄養分を取り込むと種々の代謝経路を通して細胞呼吸を行い ATP を合成するが、同時に CO₂ の放出を伴う。CO₂ が水溶液に溶解込むことで、細胞/ゲート界面における閉じた空間の H⁺ 濃度の変化、つまり inter-pH (interfacial-pH) 変化を半導体原理により計測できる⁽²⁾。本研究では FET (Field Effect Transistor : 電界効果型トランジスタ) を用いて、短時間、非侵襲での造血幹細胞クオリティー評価に向けた新規のバイオセンシング技術を提案する。

2. 実験方法

造血幹細胞の呼吸活性測定の前に予備実験として同じく浮遊細胞である、CCRF-CEM 細胞 (ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞 T リンパ球由来) を用いて pH 変化の測定を行った。ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) のゲート電極上に、20μL の滴状 (ドロップ) の RPM 培地中で、約 4000 個 (終濃度 20 万個/mL) をインキュベーター内で 37℃、CO₂ 濃度 5% の条件下でおよそ 1 日間培養した。この時のゲート表面電位の変化 ΔV_G をリアルタイムモニタリング装置により計測した。

3. 実験結果・今後の方針

生きた細胞を計測したチャンネルでは、培養液のみや死細胞を計測したチャンネルに比べ、1 日後の ΔV_G が約 5~10mV 増加することが分かった。これは細胞の呼吸に伴う inter-pH 変化を捉えたものだと考えている。今後は、細胞の呼吸量変化を誘導するため、代謝活動に影響を及ぼす栄養条件を変え測定し、細胞クオリティー評価のための指針を検討したい。また、造血幹細胞の培養においても呼吸量を計測し、実際にマウスに移植することで呼吸活性の良い幹細胞がより高い造血能を有するのかなど、その相関関係について明らかにしていく予定である。ただし、造血幹細胞は解糖系を使ってエネルギー産生を行っているため⁽³⁾、乳酸の濃度の増加を計測することになるが、この場合も inter-pH 変化の計測が可能であると考えている。

参考文献

(1) H. Yoshida et.al, J. Reprod. Engineer 13 (2010), 7-14. (2) T. Sakata et al., Anal. Chem. 85 (2013), 6633-6638. (3) K. Takubo et.al, Cell Stem Cell, 12, (2013), 49-61.