

移植前診断に向けたイオン感応型透明ゲートトランジスタの創製と評価

Development and Evaluation of Ion-sensitive Transparent Gate Transistor for Cell Quality Evaluation

東京大学大学院工学系研究科 ○西村 光太郎, 宮澤 雄弥, 齋藤 暁子, 加治佐 平, 坂田 利弥
 School of Engineering Univ. of Tokyo ○K.Nishimura, Y.Miyazawa, A.Saito, T.Kajisa, T.Sakata
 E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 諸言

体外受精による不妊治療や家畜改良において、良好な体外受精卵の選別は産子率、受胎率向上に重要であり、従来の顕微鏡による形態の評価に加え、代謝など細胞活性に関わる呼吸量変化を客観的に評価可能なデバイスが求められる。これまでに、透明半導体 IGZO, 透明電極 ITO, およびイオン感応性絶縁体 SiO₂ を用いたイオン感応型透明ゲートトランジスタ (Ion Sensitive Transparent Gate Transistor; IS-TGT) を作製し、図 1 に示す溶液下での pH 応答性を確認した。このように IS-TGT は FET として細胞呼吸計測に利用できるほか、透明性により倒立型顕微鏡での観察が可能である。そこで本研究では、IS-TGT を用いて実際に HeLa 細胞やウシやマウスなどの体外受精卵の呼吸量計測、および形状観察をリアルタイムで行い、IS-TGT の細胞機能計測への応用の可能性を検討するとともに対象となる細胞の形態・機能に応じたデバイスの設計・創製を行う。

2. 実験方法

IS-TGT はガラス基板上に IGZO, ITO, SiO₂ の各薄膜を適宜マスクを施した上で RF スパッタリングすることで作製した ($W/L = 360\mu\text{m}/10\mu\text{m}$)。作製した IS-TGT はリアルタイム測定により 56 mV/pH の感度で pH に応答することを確認した。同様に作製した 2 つの IS-TGT を UV 滅菌し、ポリ L リジンコートをした後、HeLa 細胞をそれぞれ 3×10^5 cells/mL の濃度で播種し、1 日培養した。次に HeLa 細胞の培地交換を行い、倒立型顕微鏡を内蔵したインキュベーター内に移動し、一方は測定 2 時間前に Anti-Fas/CD95 0.4 μL , Cycloheximide 0.5 μL を含む 50 μL の DMEM(+10%PBS) を 20 μL 添加しアポトーシスを誘導した (A)。他方は比較用に 20 μL の DMEM を加え同じインキュベーター内で通常培養した (B)。その後 24 時間、電気測定およびタイムラプス撮影を行った。

3. 実験結果

アポトーシスを誘導した系 A では、測定開始後 4 時間~10 時間にかけてアポトーシスによる細胞の形状変化が観察され、同時に行った電気測定においても、開始 4 時間後からゲート表面電位の低下が確認された。一方でアポトーシスを誘導しない系 B ではゲート表面電位の増加が見られた。IS-TGT は細胞呼吸の結果生じた水素イオン濃度の変化に応答するため、アポトーシスの有無によりゲート電位変化に明確な差が生じたと考えられる。今後は、GFP-LC3 を遺伝子導入した HeLa 細胞のオートファジーや、ウシやマウスの胚の形態変化など、多岐の細胞・細胞機能を対象に適切な IS-TGT の構造の検討も含め、観察と測定を行う予定である。

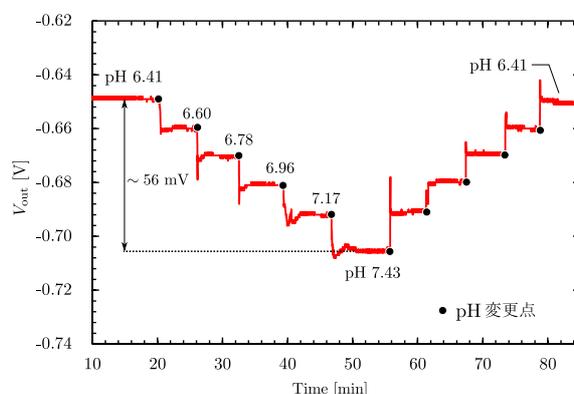


図 1: 作製した IS-TGT の pH 応答