

SPR・インピーダンス同時測定による生細胞モニタリングに向けた 電気化学インピーダンス法の基礎検討

Electrochemical Impedance Method toward Multimodal Measurement of Living Cell using SPR and Impedance

立命館理工¹, 広大医², [○]吉崎恭平¹, 柳瀬雄輝², 宇野重康¹

Ritsumeikan Univ.¹, Hiroshima Univ.², [○]Kyohei Yoshizaki¹, Yuhki Yanase² and Shigeyasu Uno¹

E-mail: re0051ke@ed.ritsumei.ac.jp, suno@fc.ritsumei.ac.jp

1. 導入

近年、再生医療の需要増大に伴い、iPS 細胞などの研究への注目度が高まっている。また、新薬開発や新たな細胞解析技術に対する需要が恒常的に存在する。この分野で細胞解析を行うためには、標識物質を使わず、細胞を傷つけない高精度な測定が望ましい。現在、このような測定方法としてインピーダンス応答解析法 [1], SPR (Surface Plasmon Resonance) イメージング測定法が存在する [2]。これら 2 つの測定を同時に行うことで、異なる物理現象を同時に測定して解析することができ、各々の測定では観測できなかった細胞の挙動が明らかになると期待される。

本研究では、インピーダンスと SPR イメージングの同時測定を想定した櫛型金薄膜電極を用いて、インピーダンス経時変化を観察することで、刺激物質や破砕物質が生細胞に及ぼす影響を解析した。

2. 実験方法

本実験では、Fig. 1(a) に示された櫛型金薄膜電極を用いて、RBL-2H3 細胞 (Rat basophilic leukemia) を含む溶液に刺激物質 (DNP-HSA) と破砕物質 (Triton-X100) を投入した時のインピーダンス経時変化 (直流バイアス 0V, 交流振幅 0.5mV, 周波数 10.01kHz, 測定時間 3060s) を観察した。この電極は BK7 ガラス基板上に WE (Working Electrode) と CE (Counter Electrode) の各 125 本の Finger を Fig. 1(b) のように交互に並べた 2 電極構造である。電極上に溶液を固定するためにシリコンカップを設置し、測定器と電極の接続には鱈口クリップを用いた。恒温槽は細胞が活発になる 37°C とした。周波数は細胞の形状変化によるインピーダンス値の変化率が大きい 10 kHz を選択した [3]。

予め、シリコンカップ内に緩衝液として PIPES buffer を滴下しておき、測定開始から 770s 経過時に RBL-2H3 細胞を投入し、2040s 経過時に刺激物質を滴下し、2820s 経過時に破砕物質を滴下した。測定器は ALS/CH Instruments Model 610DR を用いた。

3. 結果と考察

生細胞のインピーダンス経時変化の結果を Fig. 2 に示す。測定開始から 2040s 経過時に刺激物質を滴下すると、全体のインピーダンス値が 8% 程度上昇している。本実験で用いた RBL-2H3 細胞は Fig. 2 中に図示されているように、刺激物質に反応すると細胞と電極との接地面積が広がるように形状変化する。これにより電極界面での様子が変化し、インピーダンス値が増加したと考えられる。2820s 経過時に破砕物質を滴下して以降、全体のインピーダンス値が下降している。これは破砕物質を滴下すると細胞膜が壊れ、細胞が消滅したことによるものと考えられる。

4. 結論

櫛型金薄膜電極を用いて、刺激物質や破砕物質による生細胞の形状変化を示すインピーダンス値の経時変化を観察できた。この結果から、SPR イメージング測定との同時測定を想定した櫛型金薄膜電極を用いた生細胞インピーダンス応答解析は可能であると確認できた。今後は SPR イメージングとの同時測定を行っていく。同時測定が実現することで、再生医療や新薬開発などの医療分野の促進が期待される。

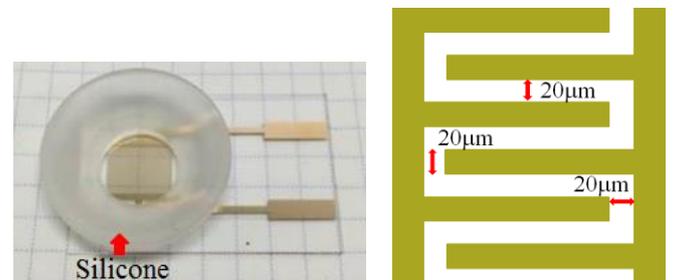


Fig. 1 Sensor chip to measure living cells impedance: (a) Photograph of sensor chip, (b) Schematic diagram of comb electrode.

Table. 1 Parameter of living cells impedance.

DC Bias	Amplitude	Quiet Time	Measuring Time	Frequency
0V	5.0mV	2s	3060s	10.01kHz

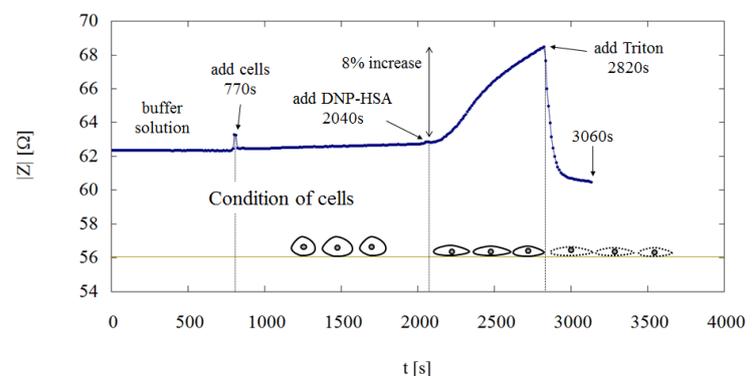


Fig. 2 The time courses of living cells impedance.

参考文献

- [1] 柳瀬雄輝他, 第 75 回応用物理学会秋季学術講演会 (2014) 20p-A2-8.
- [2] Y. Yanase *et al.*, Japanese Journal of Optic. **44** [6] (2015) 227.
- [3] J. Mamouni and L. Yang, Biomedical Microdevices **13** (2011) 1075.