

再生軟骨細胞基質産生測定に向けた硫酸化グリコサミノグリカン計測センサの創製
Development of semiconductor-based biosensor to measure sulfated glycosaminoglycan for monitoring of Extracellular Matrix synthesis by regenerative chondrocytes

¹東京大学大学院工学系研究科、²ハーバード大学メディカルスクール

佐竹 皓宇¹、齋藤 暁子¹、加治佐 平¹、水野 秀一²、坂田 利弥¹

School of Engineering, Univ. of Tokyo¹

Department of Orthopedic Surgery Harvard Medical School, Brigham and Women's Hospital²,

[○]H.Satake¹, A.Saito¹, T.Kajisa¹, S.Mizuno², T. Sakata¹

satake@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

[はじめに]整形外科領域において関節症は最も患者数の多い疾患の一つである。現在は局所の軟骨損傷に対し再生医療として自家培養軟骨移植法が開発され臨床応用されている。また培養軟骨細胞に静水圧を負荷することで細胞外基質の生合成が促進されることが水野らの研究により明らかとなり[1]、これを応用した治療法も臨床応用に近づいている。一方で基質産生のメカニズムは不明な点が多く、今後治療法の最適化を進めるにあたっては再生軟骨細胞の基質産生の様子を非侵襲的かつリアルタイムにモニタリングする技術が必須である。

前回までの報告でTa₂O₅/SiO₂をゲート絶縁膜とするnチャネルデプレッション型の電界効果トランジスタ(Field Effect Transistor; FET)を使用することで、基質産生時にウシ軟骨細胞の呼吸活性をゲート表面電位の変化として計測可能であることを報告した。本研究ではFETセンサ技術を使用しつつ、電極表面を改質することで基質産生によって生じるプロテオグリカンの主要構成物質である硫酸化グリコサミノグリカン(sulfated glycosaminoglycan; sGAG)を電気的にとらえるセンサの開発を行った。これにより基質産生を複数の指標で評価可能な複合センサの開発を将来的に目指す。

[実験方法]φ=1cm のガラスリングを固定した金電極を 1mM15-Carboxy-1-pentadecanethiol の溶液に 25℃で一晩浸漬させることで、金表面にカルボキシル基を末端に有する自己組織化単分子膜(Self-Assembled Monolayers; SAMs)をチオール結合により化学修飾した。基板を洗浄後 1.6mM トリイジンブルー、100mMWSC の溶液に室温で一晩浸漬させ、脱水縮合反応によりトリイジンブルーを SAMs 表面に固定した。その後未処理の金電極、カルボキシル基 SAMs のみ固定した金電極、トリイジンブルー固定金電極の三種をそれぞれ伸長した Extended gate FET を作製し、代表的な sGAG であるコンドロイチン硫酸添加による電気特性について調査した。

[実験結果]Fig.1 に各種電極のコンドロイチン硫酸に対するゲート表面電位変化を示す。未処理の金電極は高濃度のコンドロイチン硫酸に対して電位の大きな低下を示すものの、カルボキシル基末端 SAMs 処理により、コンドロイチン硫酸に対する電位応答を抑制することが可能となった。さらに、カルボキシル基末端にトリイジンブルーを化学的に固定した金電極では、低濃度のコンド

ロイチン硫酸から大きな電位変化を抽出することが可能となった。これは塩基性染色剤であるトリイジンブルーの正電荷とコンドロイチン硫酸の負電荷の静電相互作用によるものであると考えられる。以上より、カルボキシル基を表面に有する電極とトリイジンブルー固定電極における電位差は sGAG を特異的に計測可能であることを示す。

[参考文献] [1] S. Mizuno et al., Journal of Cellular Physiology 193:319–327 (2002)

