がん細胞検出のためのポリマー製マイクロ空間作製

Preparation of polymeric microspaces for cancer cell detection 1. 阪府大院工, 2. 阪府大院理, 3. N2RC

O川口 諒太朗¹, 沼田 紘志¹, 田村 守², 中瀬 生彦³, 飯田 琢也², 床波 志保¹ Grad. Sch. Eng.¹, Grad. Sch. Sci. of Osaka Pref. Univ.², N2RC.³

[°]Ryotaro Kawaguchi¹,Koji Numada¹, Mamoru Tamura², Ikuhiko Nakase³, Takuya Iida², Shiho Tokonami¹

E-mail: tokonami@chem.osakafu-u.ac.jp

【緒言】従来の細胞検出は標識物質を必要とし、多くの工程と時間を要する。これらの問題を解決するため本研究では、標的がん細胞の鋳型を有する過酸化ポリピロール(OPPy)膜と誘電泳動法を組み合わせたがん細胞の迅速かつ簡易な検出法の開発を行った。また、OPPy 膜による細胞認識メカニズムを明らかにするための理論解析を行った。

【実験】自血病由来細胞(CCRF-CEM)を含むピロール溶液中で水晶振動子(Au)を作用極として定電位電解することにより、電極上に CCRF-CEM を取り込んだポリピロール(PPy)膜を作製した。得られた PPy 膜に溶解処理および過酸化処理を施すことで、CCRF-CEM の鋳型を有する OPPy 膜を作製した。がん細胞検出は、OPPy膜修飾電極に細胞溶液を滴下し、交流電圧を印加した際の共振周波数変化を QCM で追跡することにより行った。また、OPPy膜修飾リングディスク電極(Au)に蛍光染色を施した細胞溶液を滴下し、交流電圧を印加することで誘電泳動による細胞挙動を観察した。理論解析は、細胞の表面化学構造(SCS)と鋳型内の分子認識サイト(MRS)をモデル化し、分布密度等をパラメータとして細胞挙動のシミュレーションを行った。

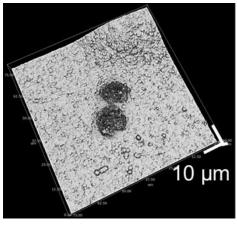


Fig. 1 Confocal laser scanning microscope image of CCRF-CEM cavities on OPPy film.

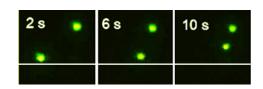


Fig. 2 Fluorescence microscope observation of cells under applying DEP forces.

【結果】共焦点レーザー顕微鏡像により、OPPy 膜は直径約 10 µm の細孔を持ち、細胞表面の約 40 %が膜へ転写されていることが明らかになった(Fig.1)。 蛍光顕微鏡観察から、誘電泳動力により細胞が標的がん細胞の鋳型へと誘導される様子が観察された(Fig.2)。CCRF-CEM の鋳型を有する OPPy 膜に対し 4 種類の白血病由来細胞を添加したところ、検出対象である CCRF-CEM に対してのみ数分以内に共振周波数の大幅な減少が見られた。理論解析結果から、SCS と MRS の分布密度が一致する時、鋳型への細胞の束縛が高確率で生じることが明らかとなり、細胞鋳型膜が細胞の表面化学構造を認識することで高選択的ながん細胞検出が達成されたと考えられる。