

## 細胞ゲート FET によるアレルギー反応検出の計測原理の検証：細胞/基板ナノギャップにおける界面 pH 挙動の蛍光評価

Verification of detection principle of allergic response using cell-coupled gate field effect transistor: Fluorescence evaluation of interfacial pH behavior at cell/substrate nanogap

東京大学工学系研究科<sup>1</sup> ○佐竹 皓宇、Haoyue Yang、齋藤 暁子、坂田 利弥

School of Engineering Univ. of Tokyo<sup>1</sup>, ○Hiroto Satake, Haoyue Yang, Akiko Saito, Toshiya Sakata

E-mail: [sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp](mailto:sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp)

【緒言】我々の研究グループでは、イオン感応型電解効果トランジスタ (Ion-Sensitive Field-Effect Transistor; ISFET) を用いて、そのゲート電極上に細胞を培養した際の際の多様な細胞挙動を *in situ* に計測することに成功してきた。特に、 $Ta_2O_5$  からなるゲート絶縁膜上に IgE 修飾したラット好塩基球性白血病細胞 (RBL-2H3) を継代して抗原を添加した場合、ゲート界面電位の低下としてアレルギー反応を検出できることを報告してきた[1]。このような電位の低下は、脱顆粒によって細胞内のヒスタミンが細胞/ゲート電極界面のナノギャップ領域 (~100nm) に放出されたことで、ナノギャップ領域における pH が上昇したことに起因するものであると考えられた。しかしながら、このナノギャップ領域における pH 挙動はこれまでに FET 以外の手法を用いて検証されておらず、真に FET がアレルギー反応による界面 pH の変化を検出しているかは不明であった。一方で、我々の研究グループでは、細胞の代謝活動により細胞/ゲート電極界面で水素イオンの蓄積が生じ、ナノギャップ領域の pH を低下させることを蛍光評価により証明してきた[2]。そこで本研究では、同様の蛍光評価手法を用いて、アレルギー反応に基づく細胞/ゲート電極界面の pH 挙動を蛍光観察することで、上記の ISFET によるアレルギー反応検出原理が妥当であるかの検証を行った。

【実験方法】細胞/ゲート電極界面のモデルとして、細胞/ガラス基板界面における pH 挙動を計測した。ガラスボトムディッシュ上に RBL-2H3 を継

代し、培地にラット由来 anti-dinitrophenol (DNP) IgE モノクロナール抗体を付与し一晩培養した。細胞外 pH インジケータとして Fluorescein DHPE を細胞膜表面に標識した後、抗原として DNP ラベル化ヒト血清アルブミン (DNP-HSA) を添加しアレルギー反応を誘起した際の細胞/ガラス界面近傍での蛍光比強度 (488, 458 nm の励起光でそれぞれ励起させた際の蛍光強度の比) の変化を共焦点レーザー顕微鏡を用いて計測した。計測結果を pH-蛍光比強度の検量線と対応させることで界面 pH を評価した。

【結果と考察】アレルギー反応が生じた際に、細胞/ガラス界面のナノギャップ領域で pH の上昇が確かに生じていることが確認された (Fig.1)。この結果は、ISFET によるアレルギー反応検出が界面 pH 変化を計測することに基づくという、提唱された検出原理の妥当性を支持するものである。

【参考文献】 [1] H. Yang et al., *Anal. Chem.* **89**, 12918 (2017). [2] H. Satake et al., *Nanoscale*, **10**, 10130 (2018).

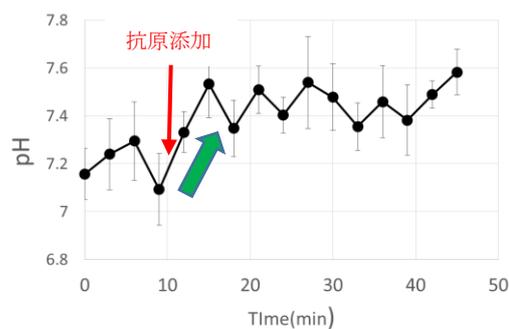


Fig.1 抗原添加による界面 pH 変化 (蛍光観察)