

## カップ形状微小電極への細胞捕捉と電気化学発光計測による 細胞表面発現分子検出技術の開発

Detection of cell surface molecules with acquisition of cells into cup-shaped  
microelectrodes and electrochemiluminescence measurement

東京農工大工学部<sup>1</sup>, 産総研細胞分子工学研究部門<sup>2</sup>, 産総研健康医工学研究部門<sup>3</sup>,  
東京農工大大学院工学府<sup>4</sup>

栗山 愛理<sup>1</sup>, 内山 卓生<sup>1,2</sup>, 鎌田 智之<sup>3</sup>, 加藤 大<sup>3</sup>, 小島 直<sup>3</sup>, 山村 昌平<sup>3</sup>, ○金 賢徹<sup>1,2,4</sup>

Fac., Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.<sup>1</sup>, Cell. Mol. Biotechnol. Res. Inst., AIST<sup>2</sup>,

Health Med. Res. Inst., AIST<sup>3</sup>, Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.<sup>4</sup>

Airi Kuriyama<sup>1</sup>, Kohki Uchiyama<sup>1,2</sup>, Tomoyuki Kamata<sup>3</sup>, Dai Kato<sup>3</sup>, Naoshi Kojima<sup>3</sup>,

Shohei Yamamura<sup>3</sup>, ○Hyonchol Kim<sup>1,2,4</sup>

E-mail: kim-hc@aist.go.jp

細胞集団中から標的となる細胞を検出する場合、標的細胞表面にのみ発現するマーカー分子を指標とした検出方法がしばしば用いられる。例えば、血中循環がん細胞（CTC）の検出では、上皮細胞接着分子（EpCAM）など正常血球細胞は発現しておらず CTC では発現していると考えられている細胞表面マーカー分子を蛍光抗体で標識して検出する方法が主流であるが、マーカー分子の発現量が低い CTC を見逃してしまう問題がある。そのため、EpCAM などに加えて様々な種類のマーカー分子を併用して検出する方法が試されているが、がん細胞の多様性のため、如何なるマーカー分子セットを使用しても低発現 CTC を見逃す可能性を排除できず、この問題を本質的に解決するには検出技術を高感度化する他ない。細胞表面分子検出で広く用いられる蛍光計測法の感度を凌駕する候補技術のひとつに、電気化学発光（ECL）計測法がある。ECL 計測では励起光が不要であるため背景光ノイズを極限まで抑えられ高感度検出が達成されているが、一方で ECL は一般に電極表面ごく近傍（数 nm）でのみ生じるため、細胞（直径約 10μm）のような大きな構造物の表面分子検出には不向きであった。

そこで本研究では、細胞と同程度の直径でお椀形状をした「カップ形状微小電極」を作製し、細胞表面の広範囲を電極表面に密接させることで、ECL 計測法により細胞表面分子を検出する技術の開発を目指した。細胞と同直径程度のポリスチレン粒子を鋳型として、スパッタと真空蒸着によりナノカーボン膜とニッケル薄膜を粒子上半球部分に形成した後、加熱により鋳型ポリスチレン粒子を取り除くことで、内面が超低ノイズナノカーボン電極、外面がニッケル製の 2 層構造のカップ形状微小電極を得た。EpCAM を発現するヒト乳がん細胞株をモデルとして、ECL 基質であるルテニウム錯体を修飾した抗 EpCAM 抗体をがん細胞と反応させることで、EpCAM 発現がん細胞をルテニウム錯体標識した。このがん細胞をカップ形状微小電極の凹面窪みに捕捉して電圧を印加した結果、ECL が検出され、がん細胞表面に発現する EpCAM を本技術により検出することに成功した。本技術を応用することで、将来的にマーカー分子微量発現 CTC などこれまで検出困難であった標的細胞を正確に捉えることが可能になると期待している。