

## 電気化学発光計測によるがん細胞表面発現マーカー分子検出技術の開発

### Detection of marker molecules expressed on cancer cell surfaces based on electrochemiluminescence measurements

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

内山 阜生<sup>1,2</sup>, 栗山 愛理<sup>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>1,4</sup>

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

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

Kohki Uchiyama<sup>1,2</sup>, Airi Kuriyama<sup>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>1,4</sup>

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

血液など多数の細胞が存在する中から目的の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に対して標識を行い可視化検出する方法がしばしば用いられる。典型的な標識法のひとつは蛍光標識抗体を用いる方法であり、血中循環がん細胞(CTC)検出を例とすると、上皮細胞接着分子(EpCAM)などCTCに発現していると考えられている細胞表面マーカー分子に対する蛍光標識抗体を用いて標的細胞(CTC)を標識・可視化・検出するが、マーカー分子の発現量が低いCTCを見逃してしまう場合もあるなど、検出感度のさらなる向上が求められている。その実現候補のひとつとして、電気化学発光(ECL)計測法の利用が挙げられる。ECL計測では励起光が不要なため背景光ノイズを極限まで抑えられ、蛍光計測の検出感度を凌駕する高感度検出が達成されている。一方、ECLは一般に電極表面ごく近傍でのみ生じるため、直径約10 $\mu\text{m}$ の細胞のような大きな構造体への適用は困難であった。

そこで本研究では、細胞の形状に合わせた電極を作製して細胞表面の広範囲を電極表面に密接させることで、細胞表面マーカー分子の検出にECL計測を適用することを考えた。細胞と同直径程度のポリスチレン粒子を鋳型として、アンバランスドマグネトロンスパッタ法と真空蒸着法により電極材料となるナノカーボン薄膜とニッケル薄膜を粒子上半球領域に形成した。その上で加熱により鋳型ポリスチレン粒子を除去し、導電性粘着材の表面に転写することで、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が開口部を露出した状態で基板上に配置されたチップを作製した。EpCAMをモデルマーカー分子とし、同分子発現量が低く蛍光計測では検出が難しいヒト乳がん細胞株に対して、ECL基質であるルテニウム錯体を修飾した抗EpCAM抗体を反応させ、カップ形状微小電極の凹面窪みに細胞を捕捉して電圧を印加した結果、ECLによりがん細胞表面に微量発現するEpCAMを検出することに成功した。この結果は本技術の検出感度の高さを示しており、今後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がん細胞を高感度検出することが可能な技術になり得ると期待している。