

## カップ型微小電極を用いた非接着細胞表面分子計測技術の開発

Development of a technology to detect surface molecules on non-adherent cells by using

### Cup-shaped microelectrodes

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>

○佐々木 太朗<sup>1,2</sup>, 内山 阜生<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>1,4</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>

○Taro Sasaki<sup>1,2</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>1,4</sup>

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

血球や血中循環がん細胞など非接着細胞の表面分子の検出や、細胞膜に局在するタンパク質の可視化は、がんなどの疾患の検査に応用が可能であると考えられている。しかし、現在主に用いられている蛍光による検出では、検査対象となる細胞における標的分子の発現量によっては感度が不十分であり、偽陰性などの結果をもたらすことがある。そのため、より感度の高い検出方法が求められる。ルテニウム錯体 ( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ) を用いた電気化学発光(ECL)は、電極で酸化され  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$  となったルテニウム錯体に対して、共反応物であるトリプロピルアミン (TPA) が同様に酸化された TPA ラジカルが反応し、ルテニウム錯体を励起させ、それが基底状態に戻るときに光を発する現象である。この反応は電極への電圧印加により誘起されるため、励起光が必要なく、検出の際のバックグラウンド光ノイズを大きく減らすことができることから検出感度が高い一方、電極表面で酸化された TPA ラジカルの半減期が短いため、電極近傍の数~数百 nm 程度の範囲でしか発光せず、特に血液中の細胞のような非接着細胞の表面分子の検出や可視化には不向きであった。そこで本研究では、ECL 法を用いて非接着細胞の表面分子を検出するために、電極と細胞との接触面積が大きくなるよう、細胞と同直径程度のカップ型の微小電極を作製した。ルテニウム錯体を修飾した抗体と細胞を反応させた後に細胞を基板上的カップ型微小電極に捕捉し、TPA 存在下の溶液中で電圧を印加することで、ECL の発光により非接着細胞の表面分子検出を行った。計測の対象としては、血中循環がん細胞の検出マーカーとして広く利用されている上皮細胞接着分子 (EpCAM) を用いた。

はじめにルテニウム錯体を TPA とともに溶液に添加して電圧を印加した結果、ルテニウム錯体濃度に依存した輝度の発光が検出されたことから、カップ型微小電極が ECL 計測用電極として機能することが確認された。次に、EpCAM を標的としてルテニウム錯体修飾抗体を反応させたヒト乳がん由来細胞(MCF-7)をカップ型微小電極に捕捉して電圧を印加したところ、EpCAM の検出を示唆する結果が得られた。これらの結果は、カップ型微小電極を用いることで、非接着細胞の表面分子検出に、高感度である ECL 計測が適用可能であることを示している。