

単一がん細胞を識別する溶液ゲート電界効果トランジスタの設計・創製 Design and development of solution-gated field-effect transistors that identify single cancer cells

東大院工 °(M1)赤尾アメル, (B4)堅道想太, 坂田 利弥

The Univ. of Tokyo, °Amer Akao, Sota Tatemichi, and Toshiya Sakata

E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

現在のがん治療において、がんの進行が進むほどその治療は難しくなっていくとされ、その早期発見が重要な課題となっている。がんの発症は、がん細胞の分裂、転移より引き起こされるが、血中を流れる転移性のがん細胞数は他の正常細胞に比べはるかに少なく、循環腫瘍細胞 (CTCs) と呼ばれている。1 mL あたりの血中に正常細胞が数十億個あるのに対し、CTCs は数十個しかないため、血中のがん細胞だけを他の正常細胞の中から識別するのは困難とされるが、がんの早期診断を見据えると CTCs を検出するバイオセンサの需要は高まっている。

そこで本研究では、多数の細胞の中から CTCs のみを特異的に検出するバイオセンサを開発することを目的とする。具体的には、バイオセンサとして溶液ゲート電界効果トランジスタ (FET) に着目し、がん細胞と特異的に反応するアプタマーをゲート電極表面に固定し電気信号により検出する。溶液ゲート FET は、イオンや生体分子固有の電荷を電気的信号として直接検出することが可能であるため標識分子を必要とせず、さらに半導体微細化技術が確立しているため集積化が可能である[1]。つまり、溶液ゲート FET のゲート電極を 1 チップに多数集積化することによって、複数の生体分子やイオンの電荷を各ゲート電極にて同時に検出することが可能である[2]。これを利用して、多数の細胞を含むサンプル溶液をアプタマーを化学修飾した集積化溶液ゲート FET と反応させ、個々のゲート電極においてアプタマーと反応する CTCs 表面の電荷を検出することで、正常細胞の中から CTCs のみを識別することが可能であると考えられる。

2. 実験方法

CTCs のモデル細胞としてヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株である CCRF-CEM を用い、アプタマー分子には CCRF-CEM と特異的に結合する sgc8c アプタマー (5'-SH-AAAAA AAAAAATCTA ACT GCT GCG CCG CCG GGA AAA TAC TGT ACG GTT AGA-3') [3] を使用した。Ta₂O₅ をゲート絶縁膜とした溶液ゲート FET を用い、測定溶液中のがん細胞濃度を変化させることで電気測定を行った。まず、ガラス基板上に Cr/Au/Cr/Ta₂O₅ の順にスパッタリングすることで

ゲート電極とし、Ta₂O₅ 表面にポリセロトニン薄膜をアンカー層、m-Maleimidobenzonyl-N-Hydroxysuccinimide ester (MBS) をスペーサー分子として、最後に sgc8c アプタマーを化学修飾した。塩橋を介して Ag/AgCl 電極を参照電極とし、ドレイン電流一定の条件で細胞濃度変化に対するゲート電圧の変化を測定することで溶液ゲート FET のがん細胞に対する電気的応答性について調査した。細胞濃度は 0, 1.0×10⁵, 3.0×10⁵, 5.0×10⁵, 1.0×10⁶ cells/mL と変化させ、各細胞濃度における細胞添加前後でのゲート電圧の変化と細胞濃度の関係について調べた。

3. 実験結果と考察

図 1 は、sgc8c アプタマー界面を有する溶液ゲート FET における、CCRF-CEM 細胞添加によるゲート電圧の変化を示す。細胞の添加によりゲート電圧が減少し、その濃度が上昇すると電圧減少も大きくなることが分かった。これは、CCRF-CEM 細胞がアプタマー分子と結合することによって、細胞表面の負電荷が Ta₂O₅ 電極の表面近傍で増加し、電荷密度の変化が生じることによるものと考えられる。当日は上記ゲート電圧変化の妥当性について議論する。

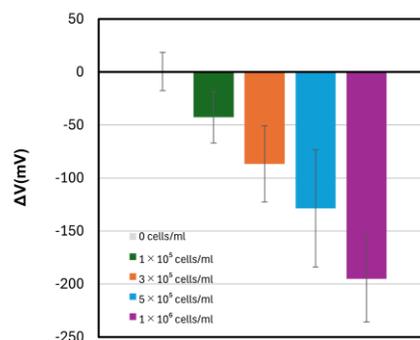


図 1 : sgc8c アプタマー界面を有する溶液ゲート FET における各細胞濃度の溶液添加時のゲート電圧の変化量

参考文献

- [1] Sakata, T. [Perspective], ACS Omega 2019, 4, 11852-11862.
- [2] Rothberg, J. et al., Nature 2011, 475, 348-352.
- [3] M. A. Tabrizi et al., Analytica Chimica Acta 2017, 985, 61-68.