

## 平成 20 年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名： 北斗電工株式会社

研究リーダー所属機関名： 東北大学

課題名： 無侵襲的細胞機能診断システムの開発

### 1. 顕在化ステージの目的

細胞膜に発現した受容体(膜タンパク質)は種々の疾病に関連しており、その機能評価は病気の早期診断、効果的治療に大きく関わっているが、簡便な探索手法が存在しないのが現状である。そこで、顕在化ステージにおいて、細胞膜に発現した受容体(膜タンパク質)の簡便な探索手法の開発を目的とし、酵素抗体標識法と高感度走査型電気化学顕微鏡(SECM)により細胞表面上に点在するサブ $\mu\text{m}$  オーダの膜タンパク質の同定を、イオンコンダクタンス顕微鏡(SICM)により膜タンパク質の形状測定を、細胞にダメージを与えずに、2つの情報を同時に得ることできる「高感度電気化学複合イオンコンダクタンス顕微鏡」の試作を行う。

### 2. 成果の概要 研究実施者の完了報告書より抜粋

#### 大学の研究成果

電気化学情報を得るために必要なリング電極(内径:100 nm, 外径:300 nm)と、形状情報を得るために必要な開口(半径 100 nm)を有する複合機能微小電極の製造法を確立し、電極として問題なく機能することを確認した。開発した複合機能微小電極と高感度電気化学複合イオンコンダクタンス顕微鏡を用いて以下のことを検証した。光学顕微鏡では、識別が困難であったCHO、MCF-7、C2C12細胞の微細な凹凸形状測定とともに $\mu\text{m}$  オーダの高さ情報を得られること、CHO細胞に発現した膜タンパク質の細胞上皮成長因子レセプター(EGFR)の同定及びイオンコンダクタンスの検出によるCHO細胞の形状測定の同時測定。

#### 企業の研究成果

高感度電気化学複合イオンコンダクタンス顕微鏡のハードウェアとしては、最小検出電流レンジが10 pAのアナログ部及び50 nm/パルスのステッピングモータを組み込んだ複合機能微小電極駆動部の設計・製作を行った。また、膜タンパク質の電気化学測定による画像化とイオンコンダクタンスによる形状画像化及び垂直方向の形状変化に追従性の高いPI制御による複合機能微小電極 細胞表面間距離一定制御のソフトウェアの設計・製作を行った。今回開発した高感度電気化学複合イオンコンダクタンス顕微鏡により、アルカリフォスファターゼの酵素活性の画像化と形状の同時測定及びPDMS 200 nm の深さライン測定が可能であることを検証できた。

### 3. 総合所見

一部未達成の項目もあるが全体的には達成度は高い。要素技術としての先端開口径 100nm の電極や電流レンジ 10pA、パルス駆動ステップ 50nm 等を仕上げ、高感度電気化学複合イオンコンダクタンス顕微鏡を、装置として完成させ、測定例も本装置の有効性を示した。