

希少細胞の高感度捕捉・選択的脱離回収フィルターの開発

生活資材開発課 寺田堂彦*1

1. 緒言

日本では毎年 100 万人以上ががん罹患し、30 万人以上が死亡するといわれている。他方で、医療技術の進歩により、早期（ステージ I）に発見された場合は、治癒することが可能である（5 年生存率 80~90%）。血中循環腫瘍細胞（CTC）は、がん患者の血中に流れる腫瘍由来の細胞であり、早期発見のためのバイオマーカーの一つとして注目されている。しかし、CTC は、罹患した人の血中に低濃度（~数個/10⁵~10⁷ 血球細胞）でしか存在しないため、この細胞を高感度に検出することは容易ではない。

ナノマテリアルは、その形態自体が細胞へのシグナルとして機能し、接着や分化といった挙動に影響することが知られている。本研究課題では、血液検査によって CTC を高感度に検出するために、CTC の表面たんぱく質に対する抗体を担持したナノファイバーの開発に取り組んできた。可滅菌性および臨床での使用実績（人工透析膜）という観点から、ナノファイバーの素材としてポリエーテルスルホン（PES）を選択し、エレクトロスピンニング法によりナノファイバーが作製できることは既に報告した。

本年度は、PES 表面の改質により、抗体等の機能性分子を担持するための表面修飾について検討した。

2. 実験方法

PES（BASF 社製 E6020P）を N-メチル-2-ピロリドン（NMP）を主成分とする混合溶媒に溶解し、紡糸実験およびスピコート法によるフィルム作製に供した。作製したファイバーおよびフィルムに対して、表面に官能基を発生させるために酸素プラズマ処理を行った。プラズマ処理後のファイバーに対してヒドラジド標識ストレプトアビジンを結合させ、ビオチン標識された蛍光色素を標識することによって化学修飾の可否について検討した。

3. 実験結果および考察

スピコートフィルムに対して酸素プラズマ処理を施し、液滴法により接触角の変化を測定したところ、温和な処理条件（出力 50 W、1 min、酸素流量 30 ml/min.）であっても接触角は急激に低下（未処理 76°、処理後 37°）したことから、表面に何らかの官能基が発生したと推定された。化学修飾の標的となるカルボキシ基の存在を確認するため、ジエチルカルボジイミドとピリジン存在下でトリフルオロエタノールを反応させ、エックス線光電子分光法によりフッ素原子の定量を行ったところ、フッ

素の原子濃度は約 0.8 atomic %であった。この結果から、酸素プラズマ処理によって PES 表面にカルボキシ基が発生したと判断した。また、出力 50 W の温和な条件であれば、PES ファイバーは繊維の形態を維持できるが、80 W と 110 W に出力を上げると繊維は破断、消失することを確認した。酸素プラズマ処理（出力 50 W、1 min、酸素流量 30 ml/min.）を PES ファイバーに施し、表面に発生したカルボキシ基を標的として、EDC/NHS を用いてヒドラジド標識されたストレプトアビジンを反応させた。その後、ビオチン標識された FITC（緑色の蛍光色素）を結合させ、蛍光観察を行ったところ、繊維の発光が確認された（図 1）。

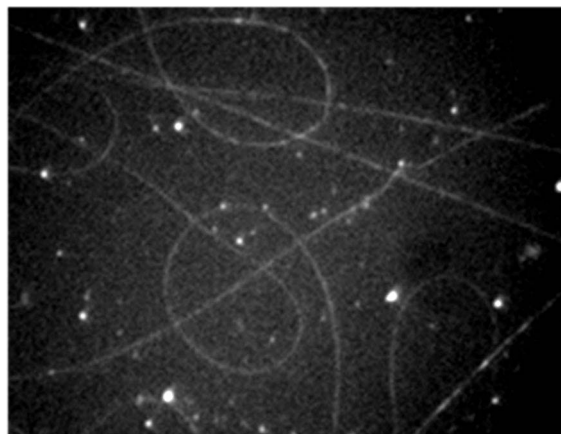


Fig. 1 Fluorescence micrograph of the FITC-labelled electro-spun PES fibers

このことから、PES ファイバー表面のカルボキシ基とヒドラジドとが結合し、PES ファイバー表面にストレプトアビジンを導入可能であること、さらには、PES ファイバー表面に導入したストレプトアビジンへビオチン標識分子が結合することを確認した。以上の結果より、ビオチン標識抗体等の種々の機能性分子を、PES ファイバー表面に固定できると結論づけられた。

4. 結言

ナノファイバーを破断させない程度の温和な条件での酸素プラズマ処理により、PES 表面に官能基を発生させ、その官能基を化学修飾の標的として利用することができた。これにより、PES ナノファイバーに抗体等の様々な機能性分子を担持させることが可能である。

謝辞

本研究は、JSPS 科研費 JP19K12858 の助成を受けたものです。ここに謝意を表します。

*1 現 企画調整課