

光分解可能なケミカルリンカーの設計と合成と、 目的細胞の選択的捕捉、回収用デバイスへの応用

東理大がん医療基盤科学技術研究セ¹、東理大薬²、東理大理工³、東理大生命医科学研⁴、
○有安真也¹、向井祐人²、渡邊瑛太³、鈴木利宙⁴、堀江和峰⁴、早瀬仁則^{1,3}、安部良^{1,2,4}、
青木伸^{1,2}

背景・目的

数多くの細胞の中からターゲット細胞のみを単離、回収する技術は、疾病の診断や治療、バイオテクノロジーなどへの広い応用が期待できる¹⁾。そこで、本研究ではターゲット細胞を選択的に捕捉し、無傷で回収する手法の開発を目的とした。具体的にはターゲット細胞に対する特異的抗体を光分解性リンカーを介してシリコン基板表面に固定する。抗原-抗体反応によってターゲット細胞を捕捉した後、光照射によってリンカーを切断して、ターゲット細胞をそのまま回収することを目指した(図1)。今回は、目的細胞回収デバイスに使用可能な光分解可能なケミカルリンカーの設計と合成、それを用いた光応答性抗体修飾シリコンデバイス(図1)の開発を報告する。

光分解性ケミカルリンカーの設計と合成

光応答性抗体修飾シリコンデバイス(図1)の中で、最も重要な役割を持つ光分解性リンカーの設計と合成を行った。リンカー中の光分解ユニットには、光分解反応に頻繁に用いられている3-amino-3-(2-nitrophenyl)propionic acid (ANP)²⁾と、我々が見出した8-quinolinol sulfonate (8-QS)³⁾を選択した。ANP、および、8-QSの片側の末端にシリコン基板修飾用にトリエトキシシリル基、反対側に抗体結合用にカルボキシル基を導入した光分解性リンカーの合成を行った⁴⁾。

また、光分解効率の上昇と、使用可能波長の長波長化を目的に、8-QSの7位に臭素、ヨウ素、アミノスルホニル基、ニトロ基などの官能基を導入し、それぞれの光分解特性を分析したところ、臭素、ヨウ素体では、光分解効率が約1.5倍に上昇し、一方、ニトロ体では、使用可能波長を約30nmの長波長化に成功した。さらに、アミノスルホニル体、ニトロ体では、中性水溶液中、通常の蛍光灯の照射によっても、光分解が可能であることを見出した⁵⁾。

光応答性抗体修飾シリコンデバイスの作成と光照射によるモデル細胞の回収

合成した光分解性リンカーを介して、シリコン基板上にモデル抗体として、Anti-HEL-IgG (HEL: Hen egg lysozyme)を固定し、光応答性抗体修飾シリコン基板を作成した。各修飾反応は、赤外分光法で確認した。

次に、光応答性抗体修飾シリコン基板に対し、330nmの光照射を行い、光分解性リンカーの分解による基板表面からの抗体の脱離をEnzyme-linked immunosorbent assayにより確認した。また、高速原子間力顕微鏡により、抗体の脱離の直接的な観察に成功した。

更に、細胞表面にHELを発現させたモデル細胞(SP2/0-HEL)を調製し、我々のシリコンデバイスに導入した

ところ、SP2/O-HEL 細胞は、シリコンデバイス上に捕捉された一方で、比較として HEL を持たない SP2/O 細胞では、ほとんど吸着が見られなかった。また、SP2/O-HEL 細胞を正常マウス血液に混合して、デバイスに導入したところ、SP2/O-HEL 細胞の選択的な捕捉に成功した。さらに、基板に捕捉した SP2/O-HEL 細胞に対し、365 nm の光照射を 30 分行ったところ、SP2/O-HEL 細胞の基板に対する付着力は約 1/3 にまで減少し、容易に回収可能となった。回収した SP2/O-HEL 細胞は、トリパンブルーによる染色実験により、デバイス導入前と、ほぼ同等の生存率を示し、培養液に戻すことで、再培養も可能であった⁴⁾。

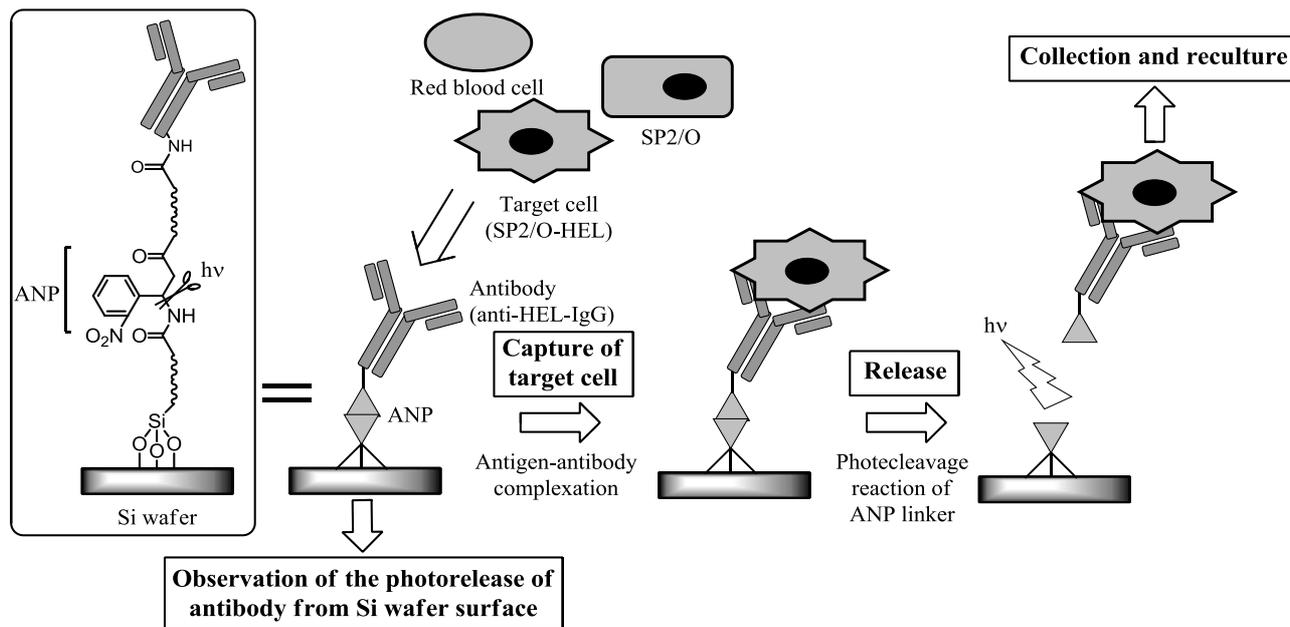


図 1. 光応答性抗体修飾シリコンデバイスによる目的細胞の選択的捕捉と光照射による回収

まとめと今後の予定

我々は目的細胞の無傷での回収を目指し、光分解可能なケミカルリンカーの設計と合成、及び、それを用いた光応答性抗体修飾シリコンデバイスの作成を行った。作成したデバイスは光照射により、基板表面に固定した抗体を脱離可能であることが分かった。また、修飾した抗体に対する抗原を持つ細胞を選択的に捕捉し、光照射で容易に回収可能であること、さらに、回収後に再培養可能であることを見出した。今後は、より光分解効率の高いケミカルリンカーの設計と合成、及び、それを用いたデバイス構築を行う予定である。

参考文献

- 1) Nagrath, S. et.al. *Nature*, **2007**, *450*, 1235–1239.
- 2) Brown, B. B.; Wagner, D. S.; Geysen, H. M. *Molecular Diversity*, **1995**, *1*, 4–12.
- 3) (a) Ohshima, R.; Kitamura, M.; Morita, A.; Shiro, M.; Yamada, Y.; Ikekita, M.; Kimura, E.; Aoki, S. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 888–899. (b) Kageyama, Y.; Ohshima, R.; Sakurama, K.; Fujiwara, Y.; Tanimoto, Y.; Yamada, Y.; Aoki, S. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 1257–1266.
- 4) Ariyasu, S.; Hanaya, K.; Watanabe, E.; Suzuki, T.; Horie, K.; Hayase, M.; Abe, R.; Aoki, S. *Langmuir* **2012**, *28*, 13118–13126.
- 5) Ariyasu, S.; Hanaya, K.; Tsunoda, M.; Kitamura, M.; Hayase, M.; Abe, R.; Aoki, S. *Chem. Pharm. Bull.* **2011**, *59*, 1355–1362.