

電界集中型細胞融合デバイスによる抗体産生細胞の大量取得

西垣内 康宏

モノクローナル抗体は、その特異性や親和性の高さから、ある特定の抗原を検出するための実験用試薬としてだけではなく、がん治療用医薬品、免疫診断薬の中核材料として利用されているなどその応用範囲が急速に拡大している。

モノクローナル抗体の作製は、(1) マウスに抗原を注射 (2) 脾臓細胞とミエローマを融合し、ハイブリドーマを作製 (3) ハイブリドーマの中から目的の抗体を産生しているクローンのみを選別して培養し、この細胞が産生する抗体を回収、の3工程からなるが、工程 (2) の脾臓細胞とミエローマの融合の効率が非常に低い (10^{-6} ~ 10^{-4}) ため、モノクローナル抗体の取得効率は低い。

一方、本研究室ではオリフィス部の電界集中を利用した電界集中型細胞融合法を用いることによって Jurkat 細胞などの融合を高収率で行うことに成功している。

そこで、電界集中型細胞融合法を脾臓細胞とミエローマとの融合にも適用して、融合を高収率で達成する技術を確認することを本研究の目的とする。

まず、細胞融合過程が観察しやすく容易に融合を繰り返すことのできる 1:1 細胞融合デバイスを用いて、脾臓細胞とミエローマを電界集中型細胞融合法によって融合した結果、電圧の値によっては安定して融合することを確認した。

次に、既存のオリフィスシートを用いて大量並列細胞融合を試みたが、シートのオリフィスの形状が、十分な電界集中を起こせないものであったため、脾臓細胞とミエローマの融合には適用できなかった。

そこで、オリフィス部に十分な電界集中が起きる、オリフィス径が小さく(径約 3 μm)かつ薄い(厚さ約 3 μm) SU8 オリフィスシートを作製した。

しかし、この SU8 オリフィスシートは現像時に溶解せずに残った SU8 がオリフィスの一部を塞いで細胞同士の接触を妨げてしまうため Jurkat 細胞の融合はできなかった。現像方法を改善するなどして、現像時にオリフィスの一部を塞ぐ SU8 を取り除かなければならない。

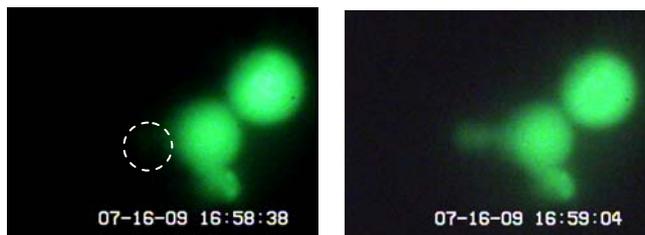


Fig. 1 脾臓細胞とミエローマの融合の様子

左がパルス印加前、右がパルス印加後の画像である。

図中の円の箇所には蛍光フィルタによって見えないが、脾臓細胞があり、緑に染色した細胞がミエローマである。パルスを印加すると二つの細胞が融合してミエローマの細胞質が脾臓細胞へと移動したのがわかる。

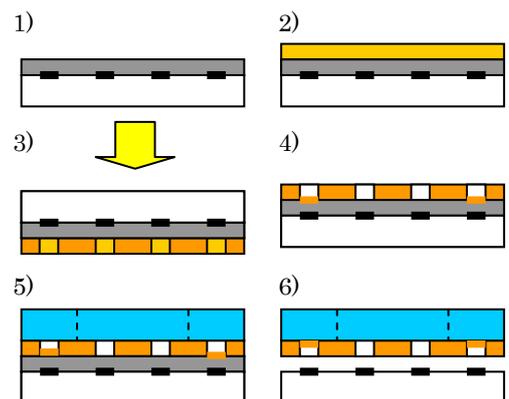


Fig. 2 SU8 オリフィスシート作製手順

- 1)マスクにゼラチンをコート
- 2)SU8 コート
- 3)露光
- 4)現像
- 5)シリコンゴムを貼り付ける
- 6)剥離