

電気化学的手法による細胞活性測定システムの開発と 和漢薬評価への応用(2)

電子技術課 浅田峯夫, 高田耕児, 牧村めぐみ*, 横山義之 中央研究所 鍋澤浩文
立山マシン(株) 内山英史, 能島信行 富山大学 小松かつ子 済木育夫

1. 諸言

近年, 和漢薬の薬効が見直され研究が盛んになっている. 本研究では, 酵母や動物細胞の細胞活性を迅速・簡便に測定するシステムの開発を行う. 測定方法として特別な前処理を必要とせず, 細胞に与えるダメージが小さい電気化学的手法を用いる. 従来の濁度による増殖活性の測定では, 生細胞と死細胞の区別ができなかったが, 本研究では生細胞と死細胞が混ざった状態で生細胞の代謝を測定する方法を開発し, 活性測定にかかる時間を短縮する.

2. 測定方法の検討

これまでの研究から, 酵母の増殖中はイオン性代謝物が増加することによって溶液中のイオン濃度が増加することが分かっている. そこで, 酵母の増殖をリアルタイム測定するために, 図1に示すように溶液中に対向電極を挿入し, 交流インピーダンス法によって溶液抵抗を測定する. 昨年度とは異なる点として, 電極に化学的に安定な白金を用いることでインピーダンス値の安定化を図った. 先ず, 容量10mLのプラスチック容器の中に, 大きさ12mm×33mmの白金電極を7mm間隔で対向させて配置した測定セルを試作した. 図2にNaCl水溶液の濃度と交流インピーダンスの測定結果を示す. 図より, イオン濃度が増加するにしたがって溶液抵抗が減少する. 溶液抵抗の測定において, 酵母増殖中のイオン濃度の変化を捉えるためには, 培養液のイオン濃度を下げる必要がある. そこで, YM液体培地で培養

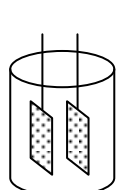


図1 測定用セル

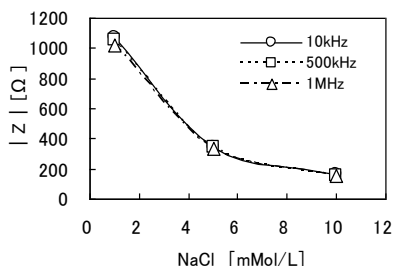


図2 NaCl溶液の交流インピーダンス

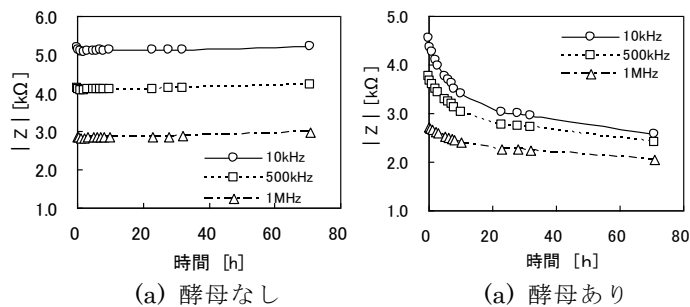


図3 酵母溶液のインピーダンス変化

した酵母を1%グルコース溶液で33倍希釈して用いた. 図3に示すとおり, 電解質(酵母なし培養液)において72時間交流インピーダンスがほぼ一定となった. また, 酵母を入れた培養液では, 1kHz~1MHzの周波数の中で6点を選んで交流インピーダンスを測定した. 酵母の増殖に伴って溶液抵抗が減少する様子が分かる. 特に, 測定周波数が3~100kHzの範囲で溶液抵抗の減少の割合が大きくなった.

3. 細胞活性測定システムの開発

細胞活性測定システムは, 酵母の増殖の時間経過をPC画面上でグラフ化することを目的とする. 測定用セルについては, 小容量で異なる溶液の同時測定が行えるように多チャンネル化について検討した. その結果, 容量5mLのプラスチック容器の中に, 大きさ10mm×10mmの白金電極を5mm間隔で対向させて配置した測定セルで8ch構成とした. また, 計測制御部は, これまでに開発されたDNA診断装置を参考にした. そこで, インピーダンス測定に関わる試料測定セルの計測制御や測定結果のPC表示のためのプログラムを開発し, 測定システムが正常に動作することを確認した.

本研究は(独)JST「重点地域研究開発推進プログラム(地域ニーズ即応型)」の成果です.

参考文献

- 1)JST「H22年度地域ニーズ即応型研究成果報告書」
- 2)若い研究者を育てる会「平成20年度研究論文集」p31~36

*現 生活工学研究所