

利用課題番号 : F-13-BA-29  
 利用形態 : 技術代行  
 利用課題名 (日本語) : 好中球の殺菌活性を指標としたストレス測定デバイスの構築  
 Program Title (English) : Development of mental stress evaluation device using neutrophil sterilizing function  
 利用者名 (日本語) : 山岸杏奈  
 Username (English) : A. Yamagishi  
 所属名 (日本語) : 筑波大学 数理物質科学研究科 ナノサイエンス・ナノテクノロジー専攻  
 Affiliation (English) : Division of Nano-Science and Nano-Technology, Faculty of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

### 1. 概要 (Summary) :

近年、重度の精神疲労などに代表される非運動性ストレスが、免疫機構あるいは運動能力の発揮に影響を及ぼす事が指摘されている。本研究では、このような非運動性ストレスがヒト免疫機構に及ぼす影響の中で特に好中球の貪食能に着目し、それを指標とした新しいストレス評価法の確立を試みた。好中球の貪食能は、好中球-大腸菌混合液体培地において菌体数が溶存酸素濃度と相関関係にあることを利用し、その変化を今回作製した微小酸素電極を備えた電気化学マイクロデバイスにより測定した。

### 2. 実験 (Experimental) :

**【利用した主な装置】** レーザー描画装置・スパッタリング装置

微小酸素電極は、スパッタリングによる金属薄膜形成とフォトリソグラフィによる微細パターンニングによって作製し、ガラス基板の上にカソード (白金) とアノード (銀) の電極パターンを形成した。ここで使用したクロムマスクは、レーザー描画装置を用いて作製した。本デバイスにおいては、内部電解液用チャンバーとサンプル溶液用チャンバーの間は厚さ 30  $\mu\text{m}$  の酸素透過膜で仕切られており、サンプル溶液中の溶存酸素のみが透過膜を介して内部電解液へ移動する。ここで、デバイスに $-1.0\text{V}$ を印加するとカソード上で酸素の還元反応が起こり、その電流値を計測した。

### 3. 結果と考察 (Results and Discussion) :

ストレス評価は、好中球-大腸菌混合培地において、好中球の貪食による大腸菌数の変化を定量化することで行う。まず作製したデバイスを用いて、異なる密度に調製した大腸菌液の酸素濃度測定を行った。その結果、菌体数と検出電流値の間には明らかな相関が見られた。これは大腸菌数の増加に伴って消費酸素量も

増加し、サンプル溶液中の溶存酸素分圧が低下することを示している。

続いて、ヒト前骨髄性白血病細胞より分化誘導した好中球と大腸菌、そしてサイトカイン  $\text{IFN-}\gamma$  とを混合したサンプルを調整した。好中球と大腸菌の混合比率は 1 : 4~5 とし、混合後、大腸菌貪食のための時間として 37  $^{\circ}\text{C}$  で 1 時間培養した後、溶液中の酸素濃度測定を開始した。その結果、好中球の有無により検出電流値に差が見られた。更に、 $\text{IFN-}\gamma$  添加により、顕著な検出電流値の差が見いだされた。これらの結果は、サイトカイン添加による好中球の貪食能の変化を捉えたものである。このように、本研究で作製したデバイスを用いる事で、微量の好中球サンプルを元にその貪食能を定量化することに成功した。

### 4. 今後の課題 (Future tasks) :

デバイスの更なる微細化・高感度化。

### 5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation) :

なし。

### 6. 関連特許 (Patent) :

なし。

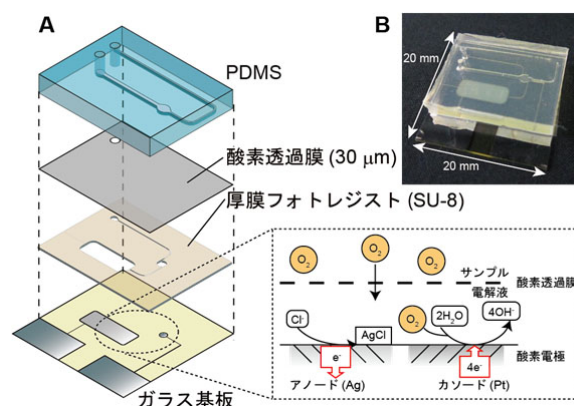


Figure 1. Schematic image of device. (A) Exploded view and (B) photograph of device.