

マイクロ化学チップとMEMSのバイオ応用

生命体工学研究科 生体機能応用工学専攻 准教授

久米村 百子



4月より生命体工学研究科に着任いたしました。紙面をいただきましたので、これまで行ってきた研究と、関連分野についてご説明いたします。

1 大学院で学んだマイクロ化学チップとその有効性

大学・大学院では、分析化学を学び、当時新しい実験ツールとして注目されていたマイクロ化学チップの研究を始めました。マイクロ化学チップは、プラスチックやガラス基板に数十から数百マイクロメートルの幅の溝を切り込み、その中で主に分析化学実験を行うものです。マイクロ加工によって作製します。この微細構造の中で、試料の分離、濃縮、

反応、検出まで複数のステップを実施できます。特に、マイクロスケールでは、物質の拡散距離が小さいため、反応が平衡に達する時間が、従来法より数十倍から数百倍短くてすむのです。2000年頃、マイクロ化学チップ研究の初期には、様々な化学プロセスがチップ内で試されたものです。実験室で行っていた作業を数センチメートル角のチップ内で行えることから、オンサイト測定や、その場診断ができる利点もあります。

近年では、化学反応に限定せず、生体由来の試料の反応を行うチップ研究が盛んに行われています。

マイクロ化学チップの利点の一つとして、検出に必要な試料量や試薬量が少ない点もあげられます。バイオ試料のサイズは、例えば、細胞の直径は、10から20マイクロメートルです。容器と中に入れるもののサイズ比を考えると、マイクロチップ内部の微小空間はちょうどいい大きさ

です。また、マイクロ流路の中で、液滴を形成し、この中でバイオ反応を行うこともできます。1つ1つの液滴の中に、標的とする物質、これと反応するタンパク質などを閉じ込めて反応・検出します。DNAの増幅や酵素反応、抗原・抗体の選択的な結合反応など、様々な目的に利用できます。液滴が試験管と同じ役割になって、様々な組み合わせの試料を大量に作り、それぞれの結果を知ることができるのです。

2 シリコン製ナノピンセットによる様々なバイオ試料の計測

大学院卒業後は、東京大学生産技術研究所 藤田博之研究室にて研究員とし勤務し、この間にシリコンのマイクロ・ナノ加工技術により作製するデバイスを学びました。MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) と呼ばれる電気で動く微小な機械です。MEMSは、例えば加速度センサや、ミラーとして産業部品にも利用されていますが、これをバイオロジーへ応用する BioMEMS の研究に従事しました。シリコンナノピンセットは、生体分子を捕捉して、その硬さや粘弾性などの機械的

な特性を計測する、試料をハンドリングできるセンサです。試料をつかむプローブ、プローブを駆動させるアクチュエータ、変位を検出するセンサから構成されます。現在のデバイスは、1,500Hz付近に共振周波数を持つように設計しており、振動は、バネ・マス・ダンパ系のモデルにより表現できます。試料を捕捉した後の周波数変化を、モデルを使って計算することで、試料の硬さ・粘弾性を求めることができます。

研究開始当初は、DNAを対象としたので、試料を捕捉するプローブを先鋭化しています。溶液中のDN

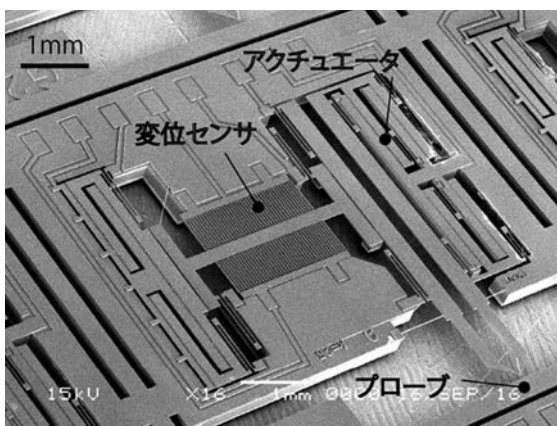


図1 シリコンナノピンセット

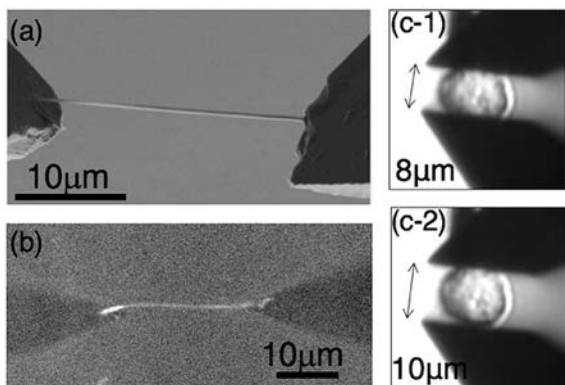


図2 プローブに捕捉した試料
(a) DNA 束(SEM 像)、(b) 微小管、(c) 繊維芽細胞

A 分子を、誘電泳動によってプローブ間に捕捉したのち、測定を行います。大量の DNA が捕捉された場合は、共振周波数の変化量はより大きく、少ない DNA の場合は小さな変化になります。試料の連続的な機械特性変化をモニタリングすることもできます。例えば、DNA をあらかじめプローブに捕捉しておき、これを DNA 分解酵素に浸すと、徐々に DNA が切断され、捕捉された DNA 全体の硬さが弱くなる様子（共振周波数が減少していく様子）が観察されます。遺伝子情報を持つ重要な生体素子である DNA と、これに影

響を与える物質との反応を明らかにするために役立つと考えています。

ナノピンセットの大きな特徴は、直接物質を掴んで運ぶことができる、という点であり、同じ研究室に所属したタルハン・チャータイ研究員は、これを生かした研究も行いました。微小管とキネシンは、神経伝達物質の搬送を担うタンパク質で、我々の体内では、ファイバ状の微小管の上を、キネシンが移動して物質を運んでいます。電車で例えれば、微小管がレール、キネシンが車両です。微小管が進む向きも、精密に決まっています。この生体内で起きている物質搬送システムを取り出して、物を運ばせてみようという試みです。ナノピンセットのプローブにタンパク質と接着しやすい物質をあらかじめつけておき、微小管を捕捉します。一方で、ガラス基板にも、接着物質を塗布しておき、捕捉した微小管を慎重に基板に押し当てることで、微小管を平面上に配置します。この上に、あらかじめビーズを付加したキネシンを入れると、アデノシン三リン酸 (ATP) を動力源として、キネシンが、微小管上を移動します。

ピースサイズは、500 ナノメートルですが、80 ナノメートルのキネシンが運ぶと考えると大きな荷物です。任意に配置したレール（微小管）上でも、キネシンによって物質を搬送させることができました。[1]

3 細胞の機械特性と細胞内の

タンパク質との関連性を調べる

現在は、単一細胞を対象とした研究を行っています。細胞は球状なので、プローブのデザインを平坦な形に設計しました。また、細胞把持では、単純に平坦な 2 枚の板で細胞を挟み込むため、共振するプローブに加えて、挟み込むプローブが駆動するよう、デバイス内部に、2 つのアクチュエータを組み入れています。

この MEMS ピンセットでは、細胞の全体的な硬さを計測しています。細胞の種類・生体内の細胞の位置によって、機械特性に差があるのか、これもおもしろい問題だと思っています。がん細胞（血管内循環腫瘍細胞）についてみると、転移する際には、組織から血管へと移動します。この現象は、がん細胞が、健全な細胞と比較して柔らかい特性を持つのではないかと仮説を想起させます。

がん細胞が周辺の組織を柔らかくしながら移動しているという研究もあり、検証が望まれます。がん細胞と健全な細胞との、硬さの違いの有無を明らかにするために、細胞一つ一つについて MEMS ピンセットで細胞の機械特性を計測し、遺伝子発現解析を行う一連の作業を確立しようとしています。遺伝子発現解析では、細胞にあるタンパク質がどのくらいの量なのか、知ることができます。つまり、細胞の機械特性に大きく関わる細胞骨格などのタンパク質量がわかります。そこで、遺伝子発現量と、その細胞の硬さの相互関係を見出そうというものです。もし、相関が見いだせれば、細胞の硬さを計るだけで、がん細胞かどうかを判定することができるようかもしれません。現在はこの一連の工程を検証中です。

微小空間、微細構造を生かした研究はもっと広がりたいと思います。もし、マイクロチップや MEM を使ったらもっとおもしろいことができそう、という方がいらっしやいましたら、ぜひ一緒に研究させてください。

[1] M. C. Tarhan et al., Small, 13, 1701136, 2017.