

単一細胞解析のための生体分子ハンドリング技術の研究

研究代表者 庄子 習一

(基幹理工学部 電子物理システム学科 教授)

1. 研究課題

細胞から生体一分子を、機能を損なうことなく抽出・分離・集積し、その機能観察及び計測をリアルタイムに行う、新しいマイクロ流体システムの構築を目的とする。この目的の実現のため、細胞からオルガネラ/タンパク質を、機能は維持したまま取り出す技術の構築、細胞及びオルガネラ/タンパク質の機能を維持したまま分離するソーティング技術の構築、多サンプルの同時処理のためにマイクロ流路を三次元化する技術の構築、および、生体分子の機能を維持したまま外界刺激が可能で、ある期間生体分子の機能が維持されるIN LINE観察場の構築に関する要素技術の確立と、それら要素技術を集積化したマイクロ流体システムの構築を行う。

2. 主な研究成果

2.1 液体クロマトグラフィカラムとポストカラムミキサー

微細加工技術の進展によって、チップ上のマイクロメートルオーダーのカラムで LC (Liquid chromatography) による分離分析が可能になり、微細化に伴う装置の小型化などが期待されている。しかし、従来のLCチップでは、生体分子を蛍光検出するために事前の蛍光誘導体化が必要であり、これが複雑かつ面倒であるため在宅医療への応用の阻害となっていた。キャピラリー電気泳動 (CE: Capillary electrophoresis) の分野では、小型基板上の分離用カラムの下流にポストカラムミキサー (PCM: Post-column mixer) を設け分析対象と誘導体化試薬をオンラインで混合、反応させ自動的に検出する技術が考案されている。そこで我々は、LC 用カラムと PCM の集積化マイクロチップを提案した。マイクロチップの構造は、LC 用カラムに加えて、誘導体化試薬インレットと試薬チャネル、PCM を付加したものとした。試薬チャネルは、カラム出口と PCM 上流で合流する構造とし、PCM 内部で分析対象と誘導体化試薬が混合及び反応し、自動的に誘導体化が行われる。このマイクロチップを用いて、生体分子分析の分析フローの簡略化を行うための基礎研究を行った。

2.2 積層マイクロ流体デバイスを用いた機能性マルチファイバーの作製

近年、再生医療の分野において、血管や筋繊維などの繊維状人工組織形成の足場としてマイクロファイバーが使用されている。特にファイバーの断面構造は、細胞の接着位置や成長方向を制御するための重要な要素であり、断面構造の多様化がファイバーの機能向上のために求められている。ファイバーの生成方法として、MEMS 技術を用いてマイクロ流路構造を集積したマイクロ流体デバイスが、ファイバーの径や形状変化の容易さから有望な技術として注目されているが、作製できる形状は円筒状やサンドイッチ形状など比較的簡単な形状のものに限られ課題となっている。これらの課題を解決するために、チェック状断面ファイバー

を本研究で新しく提案した。必ず異なる相と隣り合う形状のため、従来よりも複雑な細胞ネットワークや各エリアの相互作用の形成が容易になる利点がある。本研究により中空型ファイバーとキャンディ型ファイバー等複雑な断面形状を持つマイクロファイバーを作成できることが確認できた。

2.3 アガロース天然酵素取得のための W/O/W 液滴生成デバイス

W/O/W 液滴とは 2 層のカプセル状の液滴のことで、内側は水性の溶液、膜が油でできている。W/O/W 液滴は従来の液滴と比べて、操作が簡単、二重構造によるサンプルの保護、凝集や解離の防止などの利点があるため、微細生体分子のハンドリングなど、生化学分野への応用が期待されている。液滴の生成をマイクロ流体デバイス内の十字型の 2 つの合流部で行うようなデバイスを設計し、二つ目の合流部の構造を 3 次元化することを提案した。これにより、目的の W/O/W を生成できることを確認した。

3. 共同研究者

東京大学・大学院・教授	船津 高志
早稲田大学・理工学術院・教授	本間 敬之
早稲田大学・研究院・助教	尹 棟鉉

4. 研究業績

4.1 学術論文

1. D.H. Yoon, D. Tanaka, T. Sekiguchi, S. Shoji, "Microfluidic Stamping on Sheath Flow", *Small*, Vol. 12, No.24 (2016) pp. 3224-3228, DOI: 10.1002/smll.201600552
2. Y. Song, K. Takatsuki, T. Sekiguchi, T. Funatsu, S. Shoji, M. Tsunoda, "Retention and Bandwidths Predictions by Fast Gradient Elution Chromatography Using a Pillar Array Column", *Chromatography* (2016), 6 pages, DOI: 10.15583/jpchrom.2016.008
3. M. Isokawa, K. Takatsuki, Y.T. Song, K. Shih, K. Nakanishi, Z. Xie, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, T. Funatsu, S. Shoji, "Liquid Chromatography Chip with Low-Dispersion and Low-Pressure-Drop Turn Structure Utilizing a Distribution-Controlled Pillar Array", *Analytical Chemistry* (2016)
4. Y. Nozaki, T. Kanai, A. Matsuo, D. Tanaka, I. Yuito, T. Takeuchi, T. Sekiguchi, S. Shoji, "Fabrication Process of Fluidic Devices for Producing Fine Droplets", *The 16th International Conference on Nanotechnology, (IEE NANO 2016)*, 2016.08.22-25, Sendai (2016) pp.795-798
5. M. Isokawa, K. Nakanishi, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, T. Funatsu, S. Shoji, M. Tsunoda, "Fifty-Second Analysis of Oxidative Stress Markers in Human Plasma Using Amide-Modified Liquid Chromatography Chip", *The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS 2016)*, 2016.10.09-13, Dublin, Ireland (2016) pp.583-584
6. T. Sakurai, R. Iizuka, Y. Nakamura, J. Ishii, A. Kondo, A. Iguchi, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, S. Shoji, T. Funatsu, "In Vitro Selection of Novel Peptide Agonists for Human Somatostatin Receptor Subtype-2 Using a Water-In-Oil Microdroplet Platform", *The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS 2016)*, 2016.10.09-13, Dublin, Ireland (2016) pp.593-594

7. K. Kobayashi, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, S. Shoji, "Complex Check-Like Cross-Sectional Flow Formation for Fiber-Shaped Materials", The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2016), 2016.10.09-13, Dublin, Ireland (2016) pp.836-837

4.2 総説・著書

なし

4.3 招待講演

1. 庄子習一、関口哲志、水野潤、「早大 MEMS 技術の紹介と小型発電デバイスへの応用例」、東北大学金属材料研究所・ナノ・ライフ創新研究機構 連携協定締結記念シンポジウム、仙台、2016.09.01 (2016)
2. 庄子習一、「MEMS 関連の国際研究開発はどこに向かっているのか」、MEMS センシング & ネットワークシステム展「MEMS 協議会フォーラム」、横浜、2016.09.15 (2016)

4.4 受賞・表彰

なし

4.5 学会および社会的活動 (MS 明朝体、11 ポイント)

化学とマイクロ・ナノシステム研究会 評議委員

科学技術振興機構 CREST 研究領域事後評価委員

NEDO 技術委員 (インフラ維持管理・更新等の社会課題対応システム開発プロジェクト)

マイクロマシンセンター 国内外技術動向調査委員会 委員長

電子情報技術産業協会 センシング技術専門委員会委員

5. 研究活動の課題と展望 (MS ゴシック、太字、11 ポイント)

本研究では、MEMS やナノ／マイクロ流体工学の研究を通して、化学・生化学分野で実際に応用できるシステムの開発を目的としている。これまでの研究では、デバイス単体の研究を中心に進めて、研究レベルでは実用的なものも作成できるようになった。今後は、集積システム化の研究が重要となり、機能を持つデバイスとおしの接続による影響などを中心に研究を進める予定である。