

# 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

本研究では、「マイクロスケール～サブミクロンスケールの柔らかい（壊れやすい）生体分子の選択的ハンドリングと処理をマイクロ流体デバイス技術により行う事」を目的とする。具体的には、多数の同種の微小サンプルのうち特異的な機能を発現する希少サンプルのみをピックアップし、次工程での利用・応用が可能となるような「特異的サンプルピックアップ用マイクロ流体デバイス」の開発、およびピックアップされた特定サンプルに対して「選択的に薬物処理等が可能なマイクロ流体デバイスシステムの開発」を行う。本研究の遂行により、従来技術では困難であった、特異的機能を持つ単一細胞内オルガネラの機能解析や、特殊な微量たんぱく質等の分析・解析が可能となり、いままで不明であった各種微小器官や細菌等の働きの解明が飛躍的に進むことが期待される。

## 2. 主な研究成果

### 2.1 液体クロマトグラフィの高機能分離カラムの作成技術

液体クロマトグラフィ（LC: Liquid chromatography）の分離カラムとしてシリコンマイクロピラーを用いたデバイス開発を続けている。カラムの分離効率向上にはシリコンピラー表面の多孔質化が有効であるが、従来は陽極化成や化学気層成長法（CVD）が用いられてきた。これらシリコン表面の多孔質化はマイクロチップの製作工程を複雑にする上に、マイクロ構造の再現性に問題がある。そこで、シリコンピラー構造作成に用いる Deep Reactive Ion Etching (Deep-RIE) 装置を用いて、ピラー構造作成後に表面ポーラス化を行う新しい方法を開発した。印加電力、エッチングガスの流量、チャンバ内圧力等の条件を最適化することで、所望のポーラス構造形成が可能になった。この方法で作成した分離カラムを用いた蛍光試料の分析において保持時間の改善を確認した。

### 2.2 液体クロマトグラフィカラムとポストカラムミキサーの改良

昨年度に引き続き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を LC に適用する研究を進めた。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ンネル、PCM を付加した集積化チップを作製した。その際、COMSOL Multiphysics®（COMSOL 社、Ver. 5.2a）を用いて数値流体力学（CFD: Computational Fluid Dynamics）解析を行った結果を基にデバイス構造の設計を行った。PCM のダイヤモンドピラー構造の形状を変えてデバイスを作製し、混合効率の変化を評価した。具体的にはダイヤモンド構造のアスペクト比に

より、混合効率と横方向分散の違いを計測してピラー構造の最適化をはかった。

### 2.3 マイクロ液滴ソーティング技術の開発

マイクロ流体デバイスを用いた生体分子のハンドリングには、生体分子を包含した微小液滴を用いることが有効である。生体分子の抽出には、液滴内の生体分子の検出に基づき外的な力を液滴に加えて分離するアクティブソーティングと液滴の形状や物理的性質により自動的に分離するパッシブソーティングがある。これまで我々は並行レール構造を用いた独自のパッシブソーティングを開発し、液滴分離を行ってきたが、レール構造によって生じる液滴の変形により分離精度が十分とは言えなかった。そこで並行レール構造のかわりにドット状のドットレール溝構造を一部用いることにより、分離精度の向上をはかった。また、2分岐分離行動を3段接続することにより、大きさにより液滴を8つのグループに分離するデバイスを作製し評価を行った。これにより従来よりも4倍程度の分離精度の向上が実現できた。

### 2.4 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技術

昨年に引き続き、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の研究を進めた。これまで、コア形状を変化させることで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可能性を示してきた。さらに、コアの形状を固定し各材料の導入流速を制御することにより、様々な内部断面形状のアガロースファイバーの作成が可能であることを証明した。

## 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・研究員・教授   | 関口 哲史 |
| 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. 中西完貴、簗城森幸、尹棟鉉、関口哲志、庄子習一、「二重凹角構造ピラーアレイを応用した超撥水性表面の低コスト量産プロセスの開発」、電気学会論文誌E Vol.137 No.6 (2017) pp.165-168, DOI: 10.1541/ieejsmas.137.165 (電子版掲載日: 6/1)
2. D.H. Yoon, Z. Xie, D. Tanaka, T-Sekiguchi, S. Shoji, “A High-Resolution Passive Droplet-Phase Sample Sorter Using Multi-Stage Droplet Transfer”, RSC Advances 2017, 7 (2017) pp.36750-36754, DOI: 10.1039/C7RA05556K (電子版掲載日: 7/25)
3. D. Tanaka, S. Sawai, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, T. Akitsu, S. Shoji, “Synthesis of an Azo-Mn(II) Complex with Mild pH Control Using a Microfluidic Device”, RSC Advances 2017, 7 (2017) pp.39576-39582, DOI: 10.1039/C7RA06089K (電子版掲載日: 8/14)
4. W. Kawakubo, D. Tanaka, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, K. Takahashi, T. Akitsu, S. Shoji, “Extremely Efficient and Non-Hazardous Bromo Group Addition Reaction Using Simple Microfluidic Devices”, The 3rd Conference on Microfluidic Handling Systems (MFHS 2017), 2017.10.04-06, Enschede, The Netherlands (2017) pp.144-147 (発表日: 10/5)

5. D. Tanaka, W. Kawakubo, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, T. Akitsu, S. Shoji, “Crystallization of Zinc(II) Complex Containing Lysozyme by Super Water Repellent Doubly Reentrant Structure Umbrella Pillar Array”, The 3rd Conference on Microfluidic Handling Systems (MFHS 2017), 2017.10.04-06, Enschede, The Netherlands (2017) pp.132-135 (発表日 : 10/6)
6. M. Isokawa, K. Nakanishi, T. Kanamori, H. Zhuang, H. Yamazaki, T. Sugaya, D.H. Yoon, T. Sekiguchi, T. Funatsu, S. Shoji, M. Tsunoda, “A Micromachined Liquid Chromatography Chip with a Pillar Array Mixer for Post-Column Derivatization in the Analysis of Neurotransmitters”, The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences ( $\mu$ TAS 2017), 2017.10.22-26, Savannah, Georgia, USA (2017) (発表日 : 10/23)
7. D.H. Yoon, D. Tanaka, T. Sekiguchi, S. Shoji, “Mechanical Reinforcement of Low-Concentration Alginate Fibers by Microfluidic Embedding of Multiple Cores”, Macromolecular Materials and Engineering 2018 (2018) 1700516 (5 pages), DOI: 10.1002/mame.201700516 (電子版掲載日 : 1/15)

#### 4.2 総説・著書

なし

#### 4.3 招待講演

なし

#### 4.4 受賞・表彰

1. 「IEEE-NEMS 2017 Best Student Paper Award」、坂本暁祐、“Highly Bendable Transparent Electrode Using Mesh Patterned Indium Tin Oxide for Flexible Electronic Devices”
2. 「IEEE CPMT Japan Chapter Young Award of ICEP 2017」、上林拓海、“Fabrication of Self-Standing Curved Film with Pillar Arrays by Large Area Spherical Soft-UV Imprint Lithography”

#### 4.5 学会および社会的活動

1. International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems 2017 (Transducers'2017) 国際論文委員会委員長
2. 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
3. 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

本研究では、引き続き 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行っている。単一細胞解析の要求に即したの技術開発を進め、さらに新たな機能を持つデバイス開発を行う必要がある。実用化を目指す上では集積システム化の研究が重要となり、マイクロ流体デバイス間の整合性に関する研究をさらに進める必要がある。