

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19206046

研究課題名（和文）生体一分子リアルタイム機能解析のためのマイクロ流体システムの構築
研究課題名（英文）Development of Micro Fluidics Systems for Real Time Function Analysis of Single Biomolecules

研究代表者

庄子 習一（SHOJI SHUICHI）

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：00171017

研究代表者の専門分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：計測システム、微細プロセス技術、バイオデバイス

1. 研究計画の概要

本研究では、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. 研究の進捗状況

(1) 一細胞培養デバイス

対象とする細胞を 1 個単位でトラップし、培養できるマイクロ流体システムについて研究を行い、マイクロ流路に半円型の細胞とラップ構造を設けることにより、1 細胞単位で培養できるデバイスを試作した。また、細胞導入流路と培養液流路を分離し膜で隔てる構造にすることで長時間の安定な培養が行えるデバイスを実現した。さらに効率化をはかるため多数の細胞を 1 個単位でトラップし、培養できるマイクロ流体システムについて研究を行った。流路の構造や並列化構成を最適化することにより、512 個のトラップ構造に 80%以上の確率で細胞を固定できた。その後細胞導入流路に蛍光ラベル剤や界面

活性剤を流すことにより、識別可能な生体分子の抽出が効率的に行えることを確認した。

(2) 細胞内生体分子抽出デバイス

特定の細胞より生体分子を機能維持した状態で抽出するデバイスについては、マイクロバルブ構造を応用し、ナノスケールの突起構造を用いる方式を考案した。試作デバイスによりオルガネラ・リボソームの形状の維持および抽出効率の向上も確認できた。

(3) 生体分子分離・集積デバイス

細胞・生体分子の分離・集積を目的とした 1 入力 2 出力型マイクロソータの並列化・最適化について研究を進め、PDMS 2 層 + ガラス基板の構造に 3 次元並列流路を形成した 8 並列構造のマイクロ流体システムを作成した。これにより、E.coli Cell の分離について応答速度 10-20msec、成功率 85-95%を実現できた。さらに、同時に多種類の生体分子を分離・集積可能な 1 入力 - 4 出力マイクロソータを試作した。3 種類の蛍光タンパクでラベル化した E.coli Cell の分離を応答速度 10-20msec、成功率 80%以上で実現できた。

(4) 多サンプル同時処理のためのマイクロ流体制御システム

集積回路のメモリのアドレスラインの考え方を応用して少ない圧力空気のコントロールラインで多数のバルブを独立に制御できる LSI のアドレスシング手法を取り入れた 2 種類の動作方式を採用したニューマチック型マイクロバルブアレイした。256 個のバルブを集積化したマイクロバルブアレイのプロトタイプを PDMS 3 層構造で作製し、大規模マイクロ流体システムの制御プロトコルを確認した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

特定の細胞から生体一分子を機能を損なうことなく抽出・分離・集積するシステムについて、当初の予定の通り各工程の実現する高機能デバイスの開発に成功している。また、並列処理による高効率化のためのマイクロ流体システムの基礎技術の確立も達成できた。

4. 今後の研究の推進方策

今後は、これまで得られた知見をもとに具体的な目標を立てて生体一分子観察を実現するためデバイスを選択・改良して、マイクロ流体システムとして構築する。そのため、バイオテクノロジー応用のシーズを持つ学内外の研究協力者との連携を密にする予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

1. H. Sugino, K. Ozaki, Y. Shirasaki, T. Arakawa, S. Shoji, T. Funatsu, “On-Chip Microfluidic Sorting with Fluorescence Spectrum Detection and Multiway Separation”, Lab on a Chip 2009, 2009, 1254-1260 (査読有)
2. H. Shinohara, Y. Takahashi, J. Mizuno, S. Shoji, “Fabrication of Post-Hydrophilic Treatment-Free Plastic Biochip Using Polyurea Film”, Sensors & Actuators A, Vol.154, 2009, 187-191 (査読有)
3. H. Shinohara, T. Suzuki, F. Kitagawa, J. Mizuno, K. Otsuka, S. Shoji, “Polymer Microchip Integrated with Nano-Electrospray Tip for Electrophoresis-Mass Spectrometry”, Sensors and Actuators B 132, 2008, 368-373 (査読有)
4. K. Kawai, M. Kanai, T. Munaka, H. Abe, A. Murakami, S. Shoji, “Parallel and Passive Distribution to Arrayed Microwells Using Self-Regulating Pinched Flow”, Sensors and Materials, Vol.20, No.6, 2008, 281-288 (査読有)
5. T. Arakawa, T. Sameshima, Y. Sato, T. Ueno, Y. Shirasaki, T. Funatsu, S. Shoji, “Rapid Multi-Reagents Exchange TIRFM Microfluidic System for Single Biomolecular Imaging”, Sensors and Actuators B 128, 2007, 218-225 (査読有)

[学会発表](計48件)

1. K. Ozaki, H. Sugino, T. Arakawa, Y.

Shirasaki, T. Funatsu, S. Shoji, “High Performance Multiple E. Coli Cell Sorting System Using Thermosensitive Hydrogel and Fluorescence Spectrum Detection”, The 13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences: μ TAS 2009, 2009.11.04, Jeju, Korea

2. M. Noguchi, T. Arakawa, Y. Yamaguchi, S. Shoji, “Large Scale Micro Fluidic Systems for Sequential Trapping, Labeling and Content Extraction of Single Cells”, The 15th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems: Transducers 2009, 2009.06.22, Denver, USA
3. K. Kawai, M. Fujii, S. Shoji, “Precise Titration Microfluidic System Using Sub-Picoliter Droplet Injection”, 22nd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems: MEMS 2009, 2009.01.27, Sorrento, Italy
4. H. Sugino, Y. Nara, Y. Shirasaki, T. Arakawa, S. Shoji, T. Funatsu, “High Performance Parallel Bioparticle Sorter with 3-Dimensional PDMS Chip”, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences: μ TAS2008, 2008.10.14, San Diego, USA
5. T. Arakawa, Y. Shirasaki, D. Yamazaki, T. Funatsu, S. Shoji, “Cell Rupture Microfluidic Device Using Nano Needle Allay for Damage-Free Extraction of Organelles”, The 12th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences: μ TAS2008, 2008.10.13, San Diego, USA

[図書](計5件)

1. 庄子習一、川合健太郎、(株)シーエムシー出版、BIO INDUSTRY 第27巻 第3号、2010、7頁、22-28
2. 庄子習一、(株)テクノシステム、「MEMS/NEMS工学全集(Fundamentals and Applications of MEMS/NEMS Engineering)」、2009、8頁、727-734
3. 庄子習一、技術教育出版社、マイクロ・ナノ化学チップと医療・環境・バイオ分析、2009、9頁、16-24
4. 庄子習一、荒川貴博、川合健太郎、シーエムシー出版、バイオテクノロジーシリーズ 細胞分離・操作技術の最前線、2008、9頁
5. S. Shoji, H. Sato, R. Zengerle, Elsevier Science Ltd., Comprehensive Microsystems, 2007