

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22651049

研究課題名（和文）

DNA 機能化マイクロゲル構造体によるセルフアセンブリ

研究課題名（英文）

Self-assembly of DNA-functionalized hydrogel microstructure

研究代表者

尾上 弘晃 (ONOE HIROAKI)

東京大学・生産技術研究所・助教

研究者番号：30548681

研究成果の概要（和文）：

遠心機による高重力環境下において、マイクロハイドロゲル構造体の作製法を開発した。そのマイクロハイドロゲル構造体を利用して、(1) 表面の分子修飾可能なオイルフリーなゲル表面の維持、(2) マルチバレル管を利用することでのハイドロゲル構造体の異方化・内部区画化、(3) 磁気ナノビーズと細胞の同時封入によるゲル構造体の機能化、(4) 外部磁場に応答することによるゲル構造体のマイクロセルフアセンブリ、を達成した。

研究成果の概要（英文）：

We developed a simple synthesis method of hydrogel micro-structures under ultra-high gravity created by a centrifuge. Using this method, we achieved (1) keeping the surface of hydrogel micro-structures that can be directly modified with functional molecules, (2) creating anisotropic and multi-compartmentalized hydrogel micro-structures by using multi-barreled capillary, (3) functionalizing the hydrogel micro-structures by encapsulating both magnetic nanobeads and living cells at the same time, and (4) self-assembling the magnetic-active hydrogel micro-structures by applying an external magnetic field.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,400,000	0	2,400,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	240,000	3,440,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・マイクロ・ナノデバイス

キーワード：マイクロナノデバイス、Self-assembly、DNA、ハイドロゲル

1. 研究開始当初の背景

自然現象や生命現象にみられるような、動的で階層的な自己組織化システム（自己修復や自己複製など）を人工的に構成することは、科学者・工学者の夢である。マイクロスケ-

ルにおいても、人工的に作製したマイクロサイズのパーツを利用して、動的かつ階層的な自己組織化の実現を目指して、近年研究が始められつつある。最近注目されているのは、結合選択性や結合の可逆性、酵素の利用が可能である DNA をマイクロアセンブリの結合力

として利用しようという試みである。しかし、マイクロパーツがシリコンやガラスなどで構成される場合、その材料の剛性と表面粗さという制約から、架橋として働く DNA 間の接近効率が低く、十分なハイブリダイゼーション効果は得難い状況であった。

上記の課題解決の視点から、申請者らはかねてより、マイクロセルフアセンブリの結合力として DNA を利用する場合、ハイドロゲルがパーツの材料として有力な候補であると考えていた。これはハイドロゲルがシリコンやガラスに比べて柔軟性に優れ、表面形状が可変なため、パーツ間で生じる DNA ハイブリダイゼーションの効果向上が見込めるためである。しかし今まで、ハイドロゲルのマイクロ構造を作るためには、オイルや界面活性剤を使用せねばならず、それが DNA によるゲル表面の修飾や DNA の活性を阻害していた。そこで申請者らは、1,000-1,000,000 G という超高重力環境下にマイクロ流体デバイスを置くことにより、オイルや界面活性剤を使用することなく均一にかつ大量に、ハイドロゲルのパーツを作製できる方法を考案した。これによりゲル表面の DNA 修飾が可能となり、DNA 機能化されたマイクロゲル構造をパーツ要素とした、高次機能マイクロセルフアセンブリが実現できるはずだ、と考えた。

2. 研究の目的

超高重力を利用して作製したマイクロゲルパーツと、DNA によるゲル表面修飾法を合わせることで、セルフアセンブリ可能な DNA 機能化マイクロゲルパーツの作製法を確立する。DNA 以外にもパーツがハイドロゲルである利点を活かし、機能性材料を封入することでのパーツの機能化も探索する。これらの機能化ハイドロゲルマイクロパーツを用いて、セルフアセンブリする場を外的に制御することで、結合選択性・結合可逆性・DNA 分子演算など反映した動的・階層的なマイクロセルフアセンブリの実現を目指す。

3. 研究の方法

セルフアセンブリに用いる DNA 機能化マイクロゲルパーツの準備として、(1) 超高重力環境を利用したオイルフリーなマイクロゲルの作製手法の開発、(2) DNA 表面修飾によるマイクロゲル構造体の機能化の2項目を主に行う。高重力環境を利用するために、ガラス管を加工し直径 100 μm 程度の微小なノズルを遠沈管内部に固定する機構を作製し、ガラス管からアルギン酸ナトリウムの微小液滴を遠心力を用いて射出することで、マイクロゲルパーツを作製する。

作製したゲルパーツをセルフアセンブリ

させるために機能化する方法として、アルギン酸ナトリウム表面の一本鎖 DNA による化学修飾を試みる。具体的にはアルギン酸分子のカルボキシル基と、アミノ基修飾された DNA 分子を EDC による反応により化学的な結合を試みる。その他にもパーツ内部を区画化して内部に磁気ビーズなどの機能性ナノ粒子を封入することで、磁場に応答してのセルフアセンブリの可能性も探索する。

4. 研究成果

遠心機を用いてマイクロデバイスに高重力をかけ、その際の物理現象を利用して、マイクロサイズのゲルビーズを作製する手法の開発を行った。具体的には、先端が 20-150 μm 程度のガラス管を遠心チューブの中に固定する装置を作製し、ガラス管内にアルギン酸ナトリウムを充填し、遠心チューブ下の塩化カルシウム溶液に打ち出すことで、オイルや紫外線を用いずに均一直径のゲルビーズの作製に成功した(図1:概念図)。作製したゲルビーズは、直径が 20-200 μm 程度であった。また、ガラス管先端を塩化カルシウム溶液表面に浸けることにより、ビーズ形状ではなく、ファイバー形状のアルギン酸のマイクロゲル構造が得られることも、見いだした。

セルフアセンブリするハイドロゲルユニットに異方性や選択特異性を持たせるために、ビーズ内部および表面に異種類の材料を区画化して配置することに成功した。具体的には、ガラスキャピラリーを複数種類(3つ, 4つ, 6つなど)束ねたマルチバレル管を用い、それぞれのキャピラリーに異なる材料(異なる蛍光波長を持つ)ナノビーズを封入し、最大6区画までビーズ内に非対称的な材

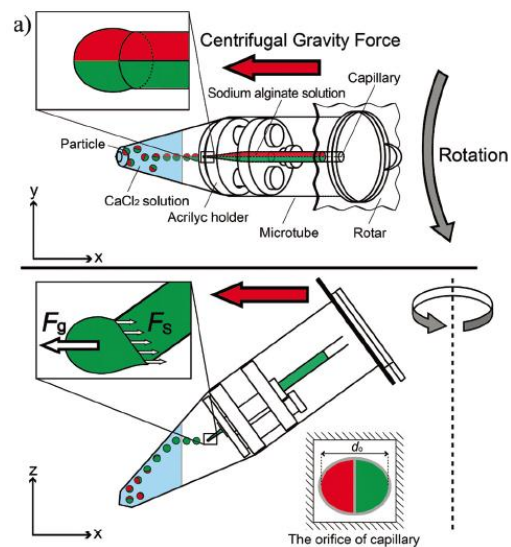


図1. 遠心機を利用したハイドロゲルマイクロパーツ作製法の概念図。

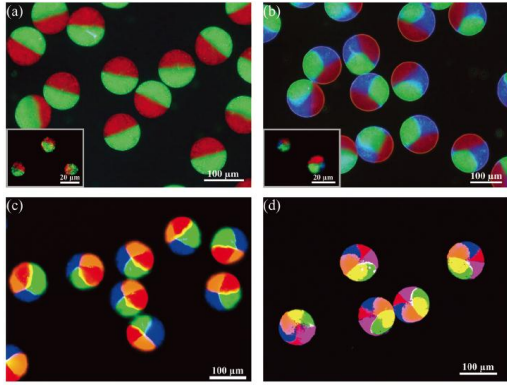


図 2. 2～6 区画に内部区画化したハイドロゲルマイクロパーツ。

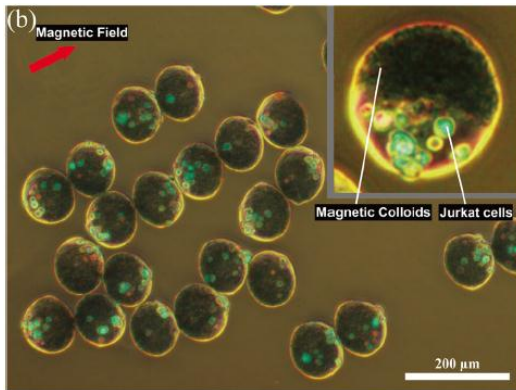


図 3. 細胞と磁気ビーズを封入したマイクロゲルパーツの外部磁場に応答した自己配列。

料の配置を行うことに成功した (図 2). この成果は、材料科学・工学で最も権威のある国際誌である *Advanced Materials* に掲載され、またマイクロ加工と化学システムの国際会議である、microTAS においても口頭発表に採択された。

区画化技術の応用として、いままで同時封入が難しかった磁気に応答するナノビーズと、生体材料の代表である細胞 (Jurkat) の同時封入に成功した。封入後に細胞の生死判定を行ったところ、90%の高い生存率で細胞が生きていることが判明した。これは、従来のゲルへの細胞封入に関する生存率を凌ぐ高い値であり、また同時に磁気ビーズという、いままで細胞との同時封入が難しかった材料との共存を実現できた。

上記のビーズを溶液中で外部磁場内に置くことにより、ハイドロゲルマイクロビーズのセルフアセンブリを実現した。封入した磁気ビーズは外部磁場に応答し、ビーズ同士が磁場方向に一直線にならぶ「パールチェーン」構造が観察できた (図 3)。これにより、遠心機を利用した新規のシステムによって作製された機能的なハイドロゲルビーズを、外部環境に応答する形で自己組織化されるという、当初の目的が達成された。

5. 主な発表論文等

(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 1 件)
査読あり

(1) Kazuki Maeda, Hiroaki Onoe, Masahiro Takinoue, Shoji Takeuchi, "Controlled synthesis of 3D multi-compartmental particles with centrifuge-based microdroplet formation from a multi-barrelled capillary," *Advanced Materials*, Vol. 24, pp. 1340, 2012.
DOI: 10.1002/adma.201102560

〔学会発表〕 (計 5 件)

(1) 前田一輝, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, "DNA ナノカプセル構築へ応用可能な遠心マイクロゲルビーズ作製法の開発," 計測自動制御学会 システム・情報部門 学術講演会 (SSI2011), 国立オリンピックセンター, Nov. 21, 2011.

(2) Kazuki Maeda, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe, Shoji Takeuchi, A Centrifuge-Based Droplet Shooting Device for the Synthesis of Multi-Compartmental Microspheres under Ultra-High Gravity, Fifteenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (microTAS), Seattle, USA, Oct. 1, 2011.

(3) 前田一輝, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, "遠心機を用いたマイクロゲルビーズ生成法," バイオ・マイクロシステム研究会, 東京工業大学, Jun. 30, 2011.

(4) 前田一輝, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, "DNA マイクロカプセルのためのマイクロゲルビーズ作製法の開発," 分子ロボティクス研究会, 東京工業大学, Jun. 24, 2011.

(5) 稲森貴一, 尾上弘晃, 瀧ノ上正浩, 竹内昌治, 遠心機を利用した一細胞封入ゲルの作製, 第 11 回東京大学生命科学シンポジウム, 東京大学, Jun. 4, 2011.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 液体ゲル化装置及び液体ゲル化方法
発明者: 竹内昌治、尾上弘晃、瀧ノ上正浩、

稲森貴一、前田一輝
権利者：国立大学法人 東京大学
種類：特許
番号：特願 2011-041487
出願年月日：平成 23 年 2 月 28 日
国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾上 弘晃 (ONOE HIROAKI)
東京大学・生産技術研究所・助教
研究者番号：30548681

(2) 研究分担者

瀧ノ上 正浩 (TAKINOUE MASAHIRO)
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・
講師
研究者番号：20511249

(3) 連携研究者

なし