

生田 幸士

名古屋大学大学院工学研究科・教授

光駆動ナノマシンを用いた新原理バイオ計測ツールの研究

1. 研究実施の概要

本研究の目的は、申請者らが基本概念を独自に着想提案し、実証モデルの試作に成功している「光駆動マイクロ・ナノマシン」技術を基盤とした「細胞生物学研究用のナノマニピュレータ」と、同じく独自のデバイス概念を起点として研究を進めてきた「新原理バイオ化学 I C チップ群」の実現にある。さらに再生医療用マイクロナノデバイスの基礎技術も構築されつつある。

前者は、昨年までに実証した生細胞の個別操作と、 pN 以下の超微小反力の計測に加え、新規開発した蛍光ナノ光造形法を用いて、力計測を 100Hz 以上のリアルタイム高速化に成功した。さらにマイクロ構造物の形状と光駆動特性の関係を理論的に解析し、光駆動ナノマシンの利点を最大限に活かす設計手法を実現した。現在、細胞生物物理学の研究者と応用を進めている。

後者、バイオ化学 I C チップは、指先サイズで合成、分析を問わない汎用マイクロ化学デバイスである。欧米のマイクロ T A S 等と違い、輸液や検出など大半の化学操作機能をマイクロチップ化してきた。本年度は指先サイズのリアルタイム P C R を開発した。さらに、本研究室から提案開発してきた膜流路デバイスは、新原理バイオ計測だけでなく再生医療の基盤デバイスとなる研究に到達した。磁性を持つ光硬化樹脂を新開発し、複数種類の 3 次元磁気マイクロアクチュエータと独創的なマイクロポンプの開発にも成功した。

2. 研究実施内容

1. 光駆動ナノロボットの力計測の高速化

ローダミン、量子ドットなどの各種蛍光色素を分散させた光硬化樹脂を 2 光子ナノ光造形法で硬化させてミクロンサイズの 3 次元構造を造る「蛍光 2 光子ナノ光造形法」を考案し、 100nm の分解能で任意色の蛍光を有する 3 次元マイクロ構造を作製することに成功した。本手法を用いて、光駆動ナノロボットのトラッピングポイントだけを蛍光標識することにより、トラッピングポイントを高速に検知することができるようになった。その結果、細胞操作中の細胞からの反力を 100Hz 以上

のサンプリングレートで検出することができるようになった。

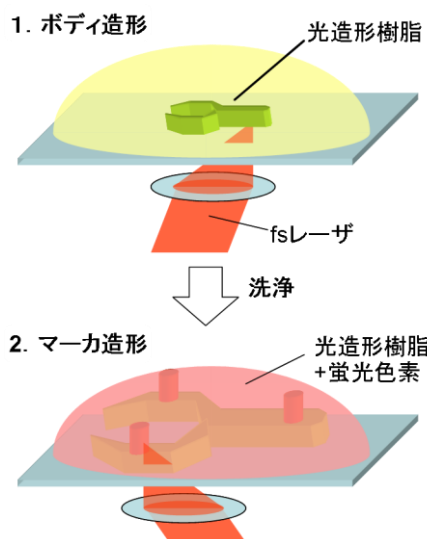


図1 蛍光ナノ光造形法の原理

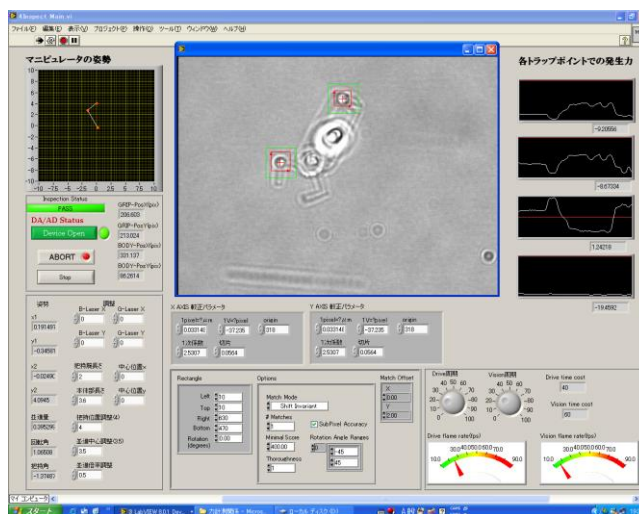


図2 細胞操作と高速力計測を併せ持つ制御システム

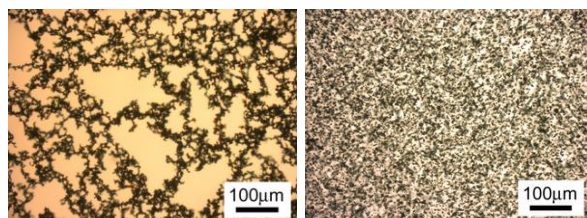


図3 磁性粒子混合光硬化樹脂(左)従来(右)増粘剤添加

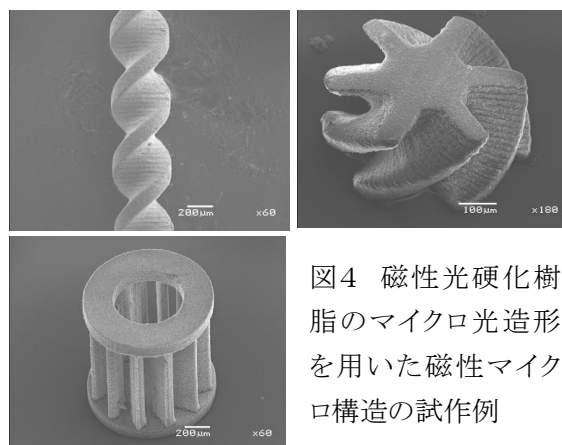


図4 磁性光硬化樹脂のマイクロ光造形を用いた磁性マイクロ構造の試作例



図5 (左)マイクロ遊泳デバイス (右)磁性スクリーユマイクロポンプ

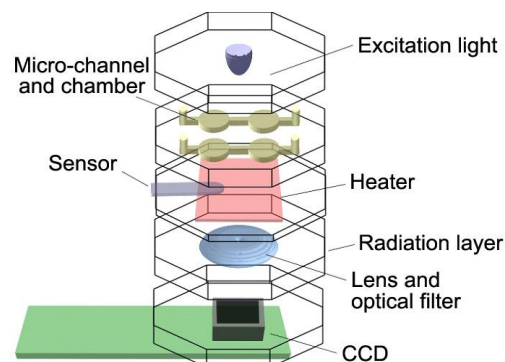


図6 リアルタイムPCRチップコンセプト

2. 磁性光硬化樹脂の開発と応用デバイス (原著論文 1, 3)

従来困難であった高い磁性を持つ光硬化樹脂を開発した。通常、フェライト、希土類磁石などの微細粒子を高濃度に光硬化樹脂に混合すると凝集する。そこで、適切な増粘剤を加えることで、超微小な磁性粒子が均一に分散した光硬化樹脂を開発した(図 3)。その結果、任意の3次元形態の磁性マイクロ構造が作製可能となった(図4)。

応用として、スクリュー型マイクロアクチュエータとマイクロメンボを試作した(図5)。本アクチュエータを用いたマイクロポンプの開発にも成功し、任意の流速で液体を送ることも可能となった。

将来、本手法を用いて多様なマイクロポンプやアクチュエータが実現できる。本プロジェクトのバイオ化学ICチップやマイクロTASなど各種マイクロ化学デバイスの流体駆動系を大幅に高度化できる。

3. 指先サイズのリアルタイムPCRチップ

CO2インキュベータ機能を持つ化学ICチップの開発に成功した。大型のインキュベータを使用しないで生化学実験ができるようになった。さらに本技術を発展させ、高速リアルタイムPCR用の温度制御化学ICを開発した(図 6)。ITO膜を利用した加熱ヒータを持ち、温度センサとチャンバー内の温度分布を均一にする工夫をした(図7)。小型であるため熱放散が早く、市販のPCRに比べ数倍もの高速温度サイクルを実現している。

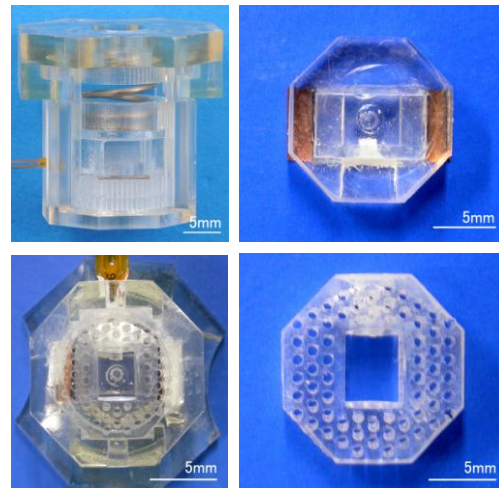


図7 試作リアルタイム PCR チップ群

4. 再生医療用生分解性ナノ多孔質カプセルの開発

エレクトロスピンニング法でナノファイバーを作製することは従来も行われているが、我々は、電場を精密制御することで、ファイバー状ではなく、ナノ繊維表面を持つマイクロカプセルを作製することに成功した(図8)。さらに、溶液条件、環境湿度を調整することで、カプセルの表面構造を制御することにも成功した。生分解性のポリ乳酸などを使用し、再生医療に使用可能な3次元微細構造の作製にも成功した。細胞の培養実験にも成功している(図9)。

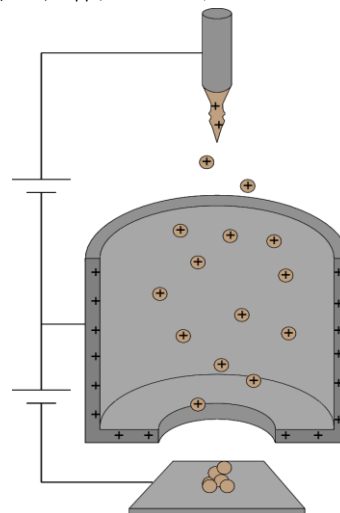


図8 電場制御エレクトロスプレー法

5. 光硬化樹脂の細胞適合化プロセスの解明 (原著論文 4)

機械強度、硬化安定性に優れている市販工業用光硬化樹脂を、常識に反して、軟化温度以上の高温でバイクする特殊なポストキュア法で、細胞適

合化に成功した。ポストキュアの保持温度と保持時間と、細胞培養特性を詳細に実験し、最適ポストキュア条件を見出した(図 10)。マイクロ構造では軟化温度以上でも、重力の影響が小さいため、ほとんど変形はしないことを実証した。スケール効果をうまく用いたテクニックの一つとなった。

この処理をすることで、マイクロ光造形法で作製する各種バイオ化学ICチップに、細胞適合性を付与することができた。マイクロリアクタ化学IC内での細胞培養や、生化学合成に道が開けた。

6. 新 MeME 法による世界最小径水圧方式能動カテーテル

これまでに、微小血管内でのカテーテル治療を容易にする、世界最小 $\phi 300\mu\text{m}$ の水圧駆動カテーテルを実現し、さらに、このカテーテルを作製するため、新規微細加工法「MeME-X プロセス」を開発してきた。本年度は、極細径カテーテル先端の屈曲範囲を大幅に増大させるため、新構造セグメント薄膜ベローズ構造を考案した。これにより、極細径でありながら、従来の10倍近い 180° 以上の広い屈曲範囲を有し、かつ、屈曲時の径変化が少ない水圧駆動カテーテルが実現された(図11)。本カテーテルは、電気や熱を用いないため、漏電、発熱を起こす危険性が無い。さらに、屈曲時の径変化が小さいため、操作時の血管損傷リスクも低減される。

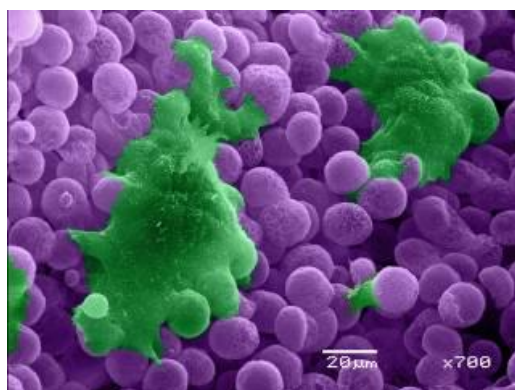


図 9 生分解性ナノ多孔質カプセルに播種した細胞

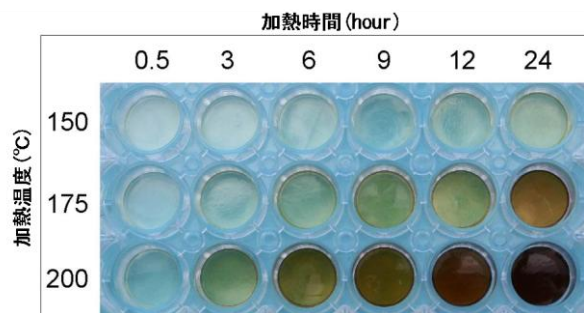


図10 細胞適合化された化学ICチップ

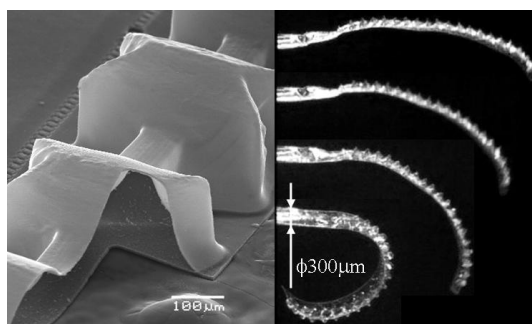


図 11 薄膜ベローズ断面と屈曲の様子

3. 研究実施体制

(1)「生田」グループ

①研究分担グループ長: 生田幸士 (名古屋大学大学院、教授)

②研究項目

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

1. .Kengo Kobayashi, Koji Ikuta, “Three-dimensional magnetic microstructures fabricated by microstereolithography” , Appl. Phys. Lett., 92, 262505, 2008
2. Tadahiro Hasegawa, Kenichiro Nakashima, Fumiyuki Omatsu and Koji Ikuta, "Multi-directional Micro Switching Valve Chip with Rotary Mechanism", Sensors and Actuators: A. Physical 143, pp.390-398, 2008
3. 小林謙吾, 生田幸士, ハイブリッドマイクロ光造形法の高分解能化, 日本機械学会論文集 C 編, 74(747), pp.2809-2815, 2008
4. 生田幸士, 田中訓史, 安藤豊, 井上佳則, “マイクロ光造形法への細胞適合性付与プロセスの開発” , 日本コンピュータ外科学会誌, 10(4), pp.507-512, 2008
5. Furuichi T, Tatsumi H, Sokabe M, “Mechano-sensitive channels regulate the stomatal aperture in *Vicia faba*” , Biochem Biophys Res Commun, 366, pp.758-762, 2008.
6. Toyota M, Furuichi T, Tatsumi H, Sokabe M, “Cytoplasmic calcium increases in response to changes in the gravity vector in hypocotyls and petioles of *Arabidopsis* seedlings” , Plant Physiol 146, pp.505-514, 2008
7. Hayakawa K, Tatsumi H, Sokabe M, “Actin stress fibers transmit and focus force to activate mechanosensitive channels” , J Cell Sci, 121, pp.496-503, 2008
8. Hiroaki Hirata, Hitoshi Tatsumi, Masahiro Sokabe, “Mechanical forces facilitate actin polymerization at focal adhesions in a zyxin-dependent manner” , J. Cell Science, 121, pp.2795-2804, 2008
9. Ito S, Kume H, Naruse K, Kondo M, Takeda N, Iwata S, Hasegawa Y, Sokabe M, “A novel Ca^{2+} influx pathway activated by mechanical stretch in human airway smooth muscle cells” , Am J Respir Cell Mol Biol, 38(4), pp.407-413, 2008
10. Yasui F, Miyazu M, Yoshida A, Naruse K, Takai A, “Examination of signalling pathways involved in muscarinic responses in bovine ciliary muscle using YM-254890, an inhibitor of the Gq/11 protein” Br J Pharmacol, 154(4), pp.890-900, 2008
11. Hyakutake T, Hashimoto Y, Yanase S, Matsuura K, Naruse K, “Application of a numerical simulation to improve the separation efficiency of a sperm sorter” , Biomed Microdevices, Biomed Microdevices 11(1), pp.25-33 (2009) (Feb)
12. Iwata M, Suzuki S, Hayakawa K, Inoue T, Naruse K, “Uniaxial Cyclic Stretch Increases Glucose Uptake into C2C12 Myotubes through a Signaling Pathway Independent of

Insulin-like Growth Factor I” , Horm Metab Res, 41(1), pp.16-22, 2009

13. Suemori T, Morimatsu H, Mizobuchi S, Morita K, Katanosaka Y, Mohri S, Naruse K.: “Impairment of leukocyte deformability in patients undergoing esophagectomy”, Clin Hemorheol Microcirc. 41(2), pp.127-136 (2009) (Jan)

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数：5 件（CREST 研究期間累積件数：5 件）

(3) その他

ナノの世界展－極微のロボットが動く，朝日新聞大阪本社，2008 年 7 月 23 日-26 日