

## 光照射で細菌が集まるハニカム基板を開発 物質生産やウイルス検出へ期待

有用細菌を生きのまま高密度に集める技術はさまざまな用途で期待されています。金属ナノ薄膜にレーザー光を照射したときに生じる発熱が引き起こす対流を利用して微小な物質を集める方法は近年盛んに研究されていますが、平らな基板では広範囲の熱伝導により大半の細菌が死滅してしまうという難点がありました。

大阪府立大学 LAC-SYS 研究所の床波志保副所長、飯田琢也所長らが細菌を濃縮する基板として着目したのは、ハチの巣や昆虫の複眼などで見られるハニカム構造です。

マイクロメートルサイズの水滴を

鋳型として細孔が密に並んだハニカム状のポリマーフィルムを自己組織的に作製し、その表面を厚さ50ナノメートルの金でコートした、高効率の光発熱基板を開発しました(図1)。その隔壁に裏側から赤外レーザーを照射すると細孔内には熱を伝えず効率良く対流を発生し、細菌を細孔に捕捉できます(図2)。

棒状でべん毛を持つ緑膿菌と、皮膚常在菌の一種である黄色ブドウ球菌で試したところ、80~90パーセントと高い生存率で1平方センチメートル当たり100万~1000万個の高密度で細菌を捉えられました(図3)。また、

電流を発生する細菌の一種であるシュワネラ菌で実験したところ、レーザーの照射点を増やすほど電流密度が増大することがわかり、有機物を代謝して電子を放出する機能を保ったままシュワネラ菌が濃縮されていることが示されました。

有用細菌を高密度に濃縮して微生物デバイスとして利用すれば、有機物の分解による下水処理やバイオエタノールなどの物質生産への利用が見込まれます。細菌の代謝機構の基礎研究にも貢献できる他、悪性細菌やウイルスの検出などにも利用可能です。

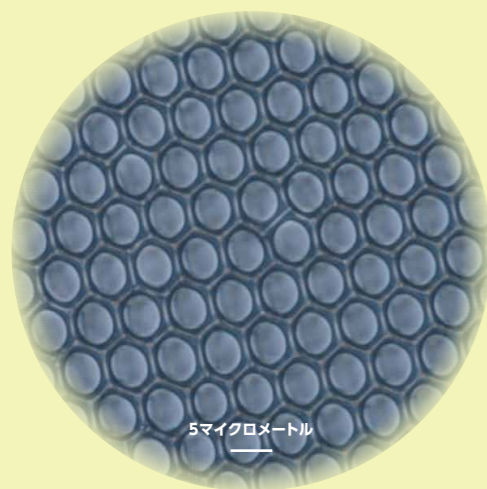


図1 ハニカム基板の顕微鏡写真

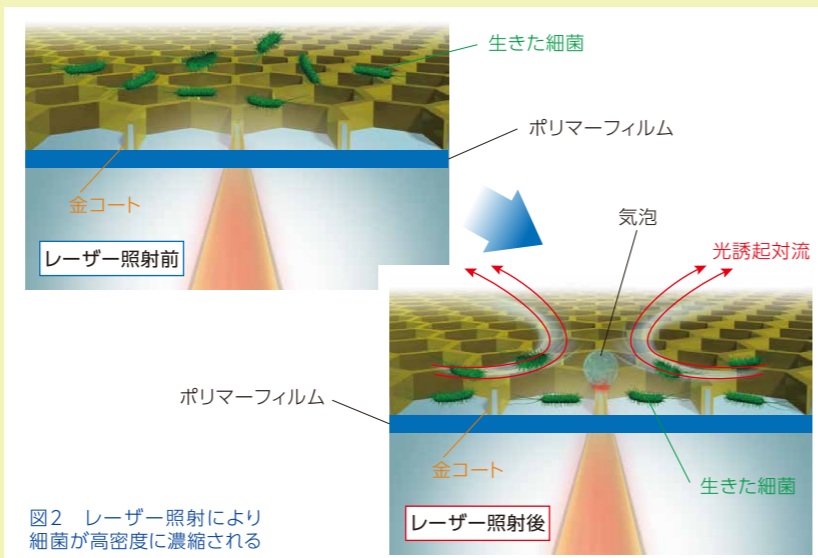


図2 レーザー照射により細菌が高密度に濃縮される

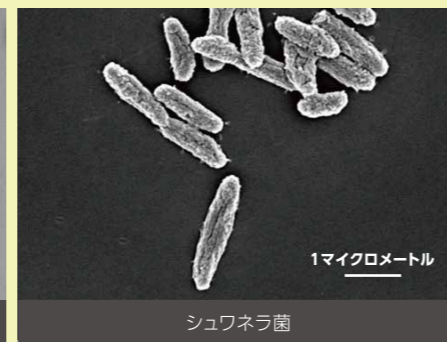


図3 実験に用いた細菌

## わずか1分子の活性から酵素の種類を識別 疾患の早期発見へ新たな道筋

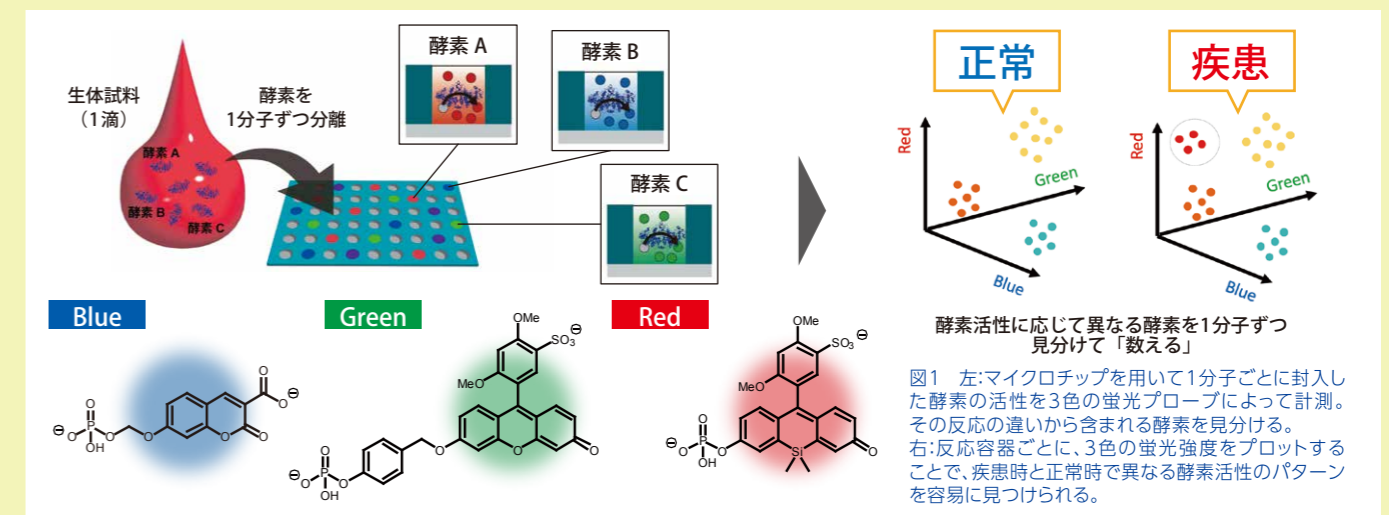


図1 左:マイクロチップを用いて1分子ごとに封入した酵素の活性を3色の蛍光プローブによって計測。その反応の違いから含まれる酵素を見分ける。右:反応容器ごとに、3色の蛍光強度をプロットすることで、疾患時と正常時で異なる酵素活性のパターンを容易に見つけられる。

酵素は生体内でさまざまな化学反応を触媒するたんぱく質で、生命の維持には欠かせません。生体内に数千種類以上が存在するといわれ、疾患と関連して活性に異常が生じる酵素も見つかります。血液中に含まれる疾患関連酵素は疾患を早期に発見するための指標(バイオマーカー)として広く用いられていますが、検出感が低く、ごく少量しか存在しない酵素を見つけないことは困難でした。東京大学大学院薬学系研究科の小松徹特任助教らの研究グループは、分野の異なる2つの技術を組み合わせ、この問題を解決しました。

鍵となる技術の1つが酵素1分子の

活性計測で、1000兆分の1リットル程度の反応容器に酵素1分子を封入して活性を調べる方法です。数十万個の反応容器が並ぶマイクロチップに希釈した酵素溶液を流し込むことで酵素を封入し網羅的に解析しますが、血液のように多種類の酵素を含む試料の場合、それぞれの容器にどのような酵素が入っているかまではわからず、よく似た活性を持つ酵素を区別することはできませんでした。

そこで組み合わせるのが、活性の違いから酵素の種類を識別する技術です(図1)。酵素と反応すると蛍光を発する複数の蛍光分子(蛍光プローブ)を用いて、それぞれの色の蛍光強度を反応

容器ごとに計測してグラフ化します。蛍光プローブの構造は色ごとに少しずつ異なるため、わずかな反応性の違いから酵素の種類を見分けられるのです。

この方法を使い、肝臓障害などさまざまな疾患と関連するリン酸エステル加水分解酵素の1種であるALPを、由来組織によるわずかな違いによって区別して検出することに成功しました(図2)。また、糖尿病患者の血液では、小腸由来のALPで活性が高くなっていることも見いだしました。

さらに、この方法を脂質や核酸を代謝するENPPという酵素群にも適用し、これまで血液からは検出されていなかったENPP-3というサブタイプを検出しました。その活性は膵臓がん患者で有意に高まることも突き止めています。

1分子レベルの活性から酵素を高感度で検出し、識別する技術の開発により、疾患の要因や指標となる酵素の発見への新たな道筋が示されました。今後、革新的なバイオマーカーの探索や確度の高い診断技術の開発など、早期診断につながる新たな技術基盤の確立が期待されます。

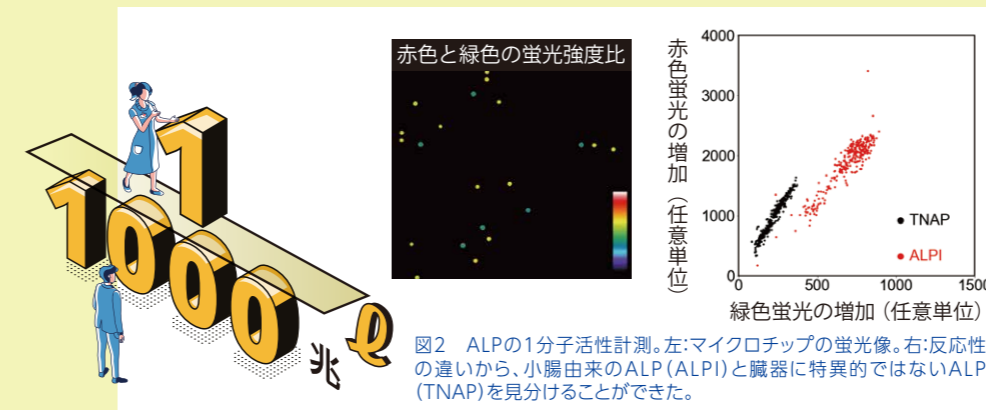


図2 ALPの1分子活性計測。左:マイクロチップの蛍光像。右:反応性の違いから、小腸由来のALP(ALPI)と臓器に特異的ではないALP(TNAP)を見分けることができた。