



NANOTECHNOLOGY RESEARCH SUPPORT AT NIH



Bioengineering Nanotechnology Initiative (SBIR)

- Nanotechnology is emerging as a field critical for enabling essential breakthroughs that may have tremendous potential for affecting biomedicine.
- Encourages team approach to nanotechnology research
- Phase I may request up to two years, \$200,000 per year
- Phase II may request up to three years, \$400,000 per year
- Applications Receipt per SBIR:
April 1, August 1 and December 1
- Competes with other SBIR applications
- <http://grants.nih.gov/grants/guide/pa-files/PA-02-125>

図 3.1-5 NIHにおけるナノテクノロジー研究の支援制度
(バイオエンジニアリングナノテクノロジーイニシアティブ (SBIR))

なお、NIHの予算は、図 3.1-6 に示すように、毎年大きな伸びを示している。

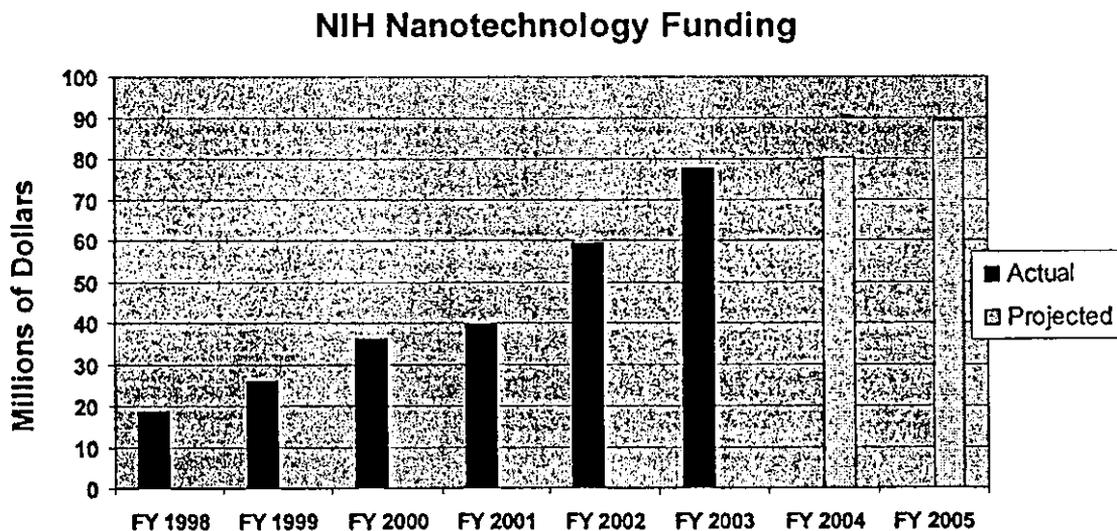


図 3.1-6 NIHのナノテクノロジー予算

さらに、NIHでは、挑戦的なプログラムとして、「イメージング」「センサー」「インプラント技術」「デリバリーシステム」の開発が挙げられている(図 3.1-7)。これらの多くは、厚生労働科研費の指定研究テーマと同じであることは興味深い。日米でともに重点課題と

して認識し、競争状態にあるといえる。



**National Nanotechnology Initiative (NNI)
Grand Challenge for Healthcare**



- Detecting Disease *Before* Health Has Deteriorated
 - Imaging
 - Sensors
- Implants to Replace Worn or Damaged Body Parts
 - Controlling interactions of synthetic and inorganic materials with the body, for effective integration
- Delivery Of Therapeutics
 - Particle Size
 - Targeting
- Research Tool correlates of the above

図 3.1-7 NIHの研究プログラム(Grand Challenge)

今回の報告の中で、具体的な研究成果として、「量子ドット (Quantumdot 社)」「多機能統合システム (UCLA)」「分子バイオセンサー&イメージング (カーネギーメロン)」「安全性評価 (コーネル)」「ナノ粒子利用 (ハーバード)」の紹介があった。

今回の調査を通じて、米国 (欧州も含めて) では、ナノテクノロジーの出口のひとつとしてバイオおよび医療を極めて有望視し、多額のリソースが割り振られている。我が国のアクティビリティを国際的にももっとアピールすべきであると考えられる。

QUANTUM DOT CORP.
Marcel Bruchez, Ph.D.

Semiconductor quantum dots are being developed for use as probes for intracellular structures. In this study, they were used to label the breast cancer marker Her2 on the surface of fixed and live cancer cells, to stain actin and microtubule fibers in the cytoplasm, and to detect nuclear antigens inside the nucleus. Quantum dots offer several advantages over the organic dyes typically used for comparable studies.

Nature Biotech., 2003, 21:41-46

0 s 20 s 60 s 120 s 180 s

QUANTUM DOT

NATIONAL CANCER INSTITUTE

図 3.1-8 NIH プログラムの成果 (量子ドット: Quantum Dot 社)

Integrated multifunctional systems.

The detection chip includes: i) a chamber inlet where saliva is introduced ii) phase shifted electric fields that enable traveling wave dielectrophoresis which focuses the stream of cells in the microfluidic flow channel for subsequent separation; iii) flow with specific amplitudes and frequencies of the AC electric field for the separation of cell from proteins and; iv) the detection chamber that includes the different ligand for simultaneous optical detection of multiple analytes.

Provided by Drs. David Wong and Chih-Ming Ho. UCLA

Sample Reservoir

Sample Inlet

Layer of Induced Fluorescence

Dielectric micro mixer

Electro-actuated flow

Flow-through chamber or detection chamber with surface immobilization

Sample Separator

3.1-9 NIH プログラムの成果 (多機能統合システム: UCLA)

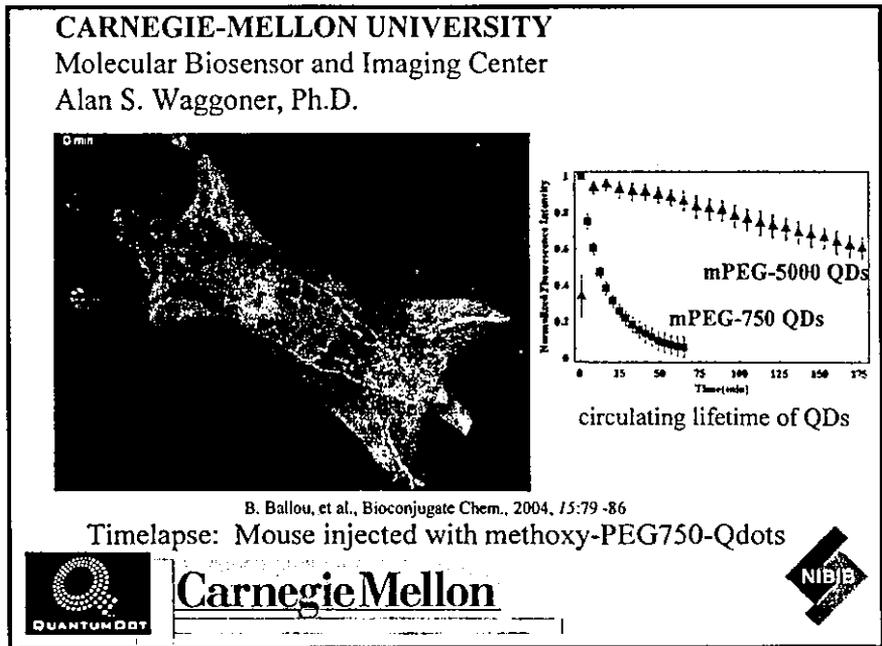


図 3.1-10 NIH プログラムの成果 (分子バイオセンサー&イメージング：カーネギーメロン大学)

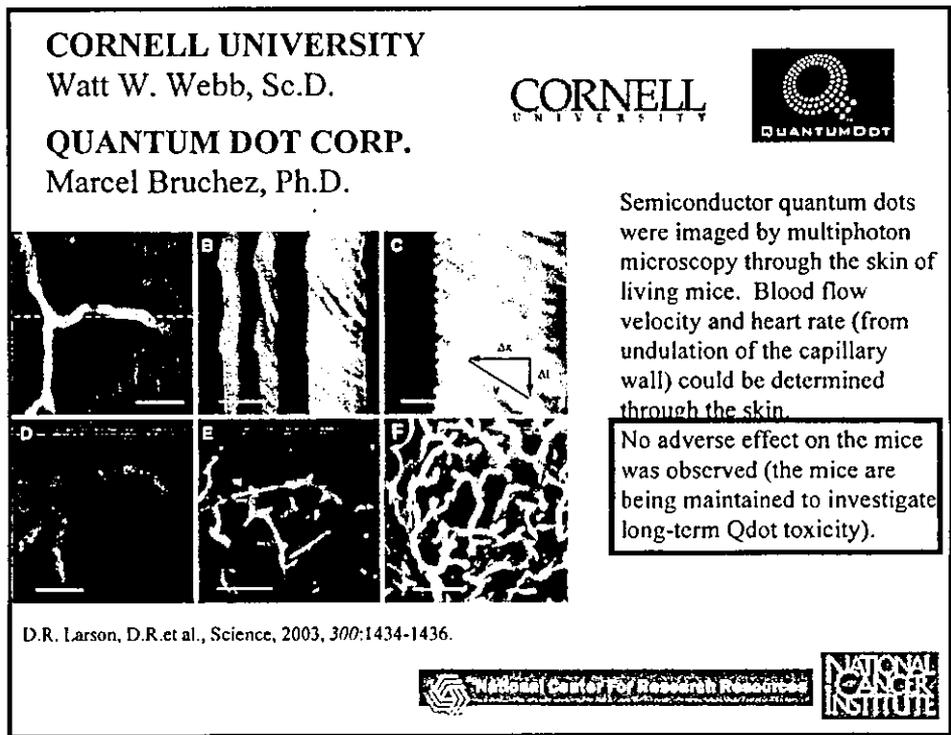


図 3.1-11 NIH プログラムの成果 (安全性評価：コーネル大学)

Mass. General Hosp. University Medical Center
Harvard Med. School the Netherlands
Ralph Weissleder Jean de la Rosette

M.G. Harisinghani, et al.,
 NEJM, 2003, 348:2491-2499

Nanoparticles (dextran-coated iron oxide crystals – Combidex, Advanced Magnetics) injected into the circulation travel to the lymph nodes. Metastatic tumors growing in the nodes interfere with particle distribution, and this can be detected by MRI. 80 men undergoing surgery or biopsy for prostate cancer had MRI exams both with and without the nanoparticles before surgery. 33 of the men actually had metastatic lymph nodes. MRI with the particles identified all 33, whereas MRI without the particles missed more than half of them.

図 3.1-12 NIHプログラムの成果 (ナノ粒子利用 : ハーバード大学)

(2) COMS (Commercialization of Micro and Nano System Conference) 2004

COMS (Commercialization of Micro and Nano System Conference)に関するシンポジウムが、下記の要領で開催された。

日 時 : 2004年8月29日～9月2日
 場 所 : Shaw Conference Centre, エドモントン、アルバータ州、カナダ
 会 長 : Roger Grace (Roge Grace Associates, USA)
 Chris Lumb (Micralyne, Inc., Canada)
 ディレクター : James Wylde (Mancef, Canada)
 Carol Steel (Mancef, USA)
 Gary Kachamoski Leigh Hill
 参加者 : 約 270 名

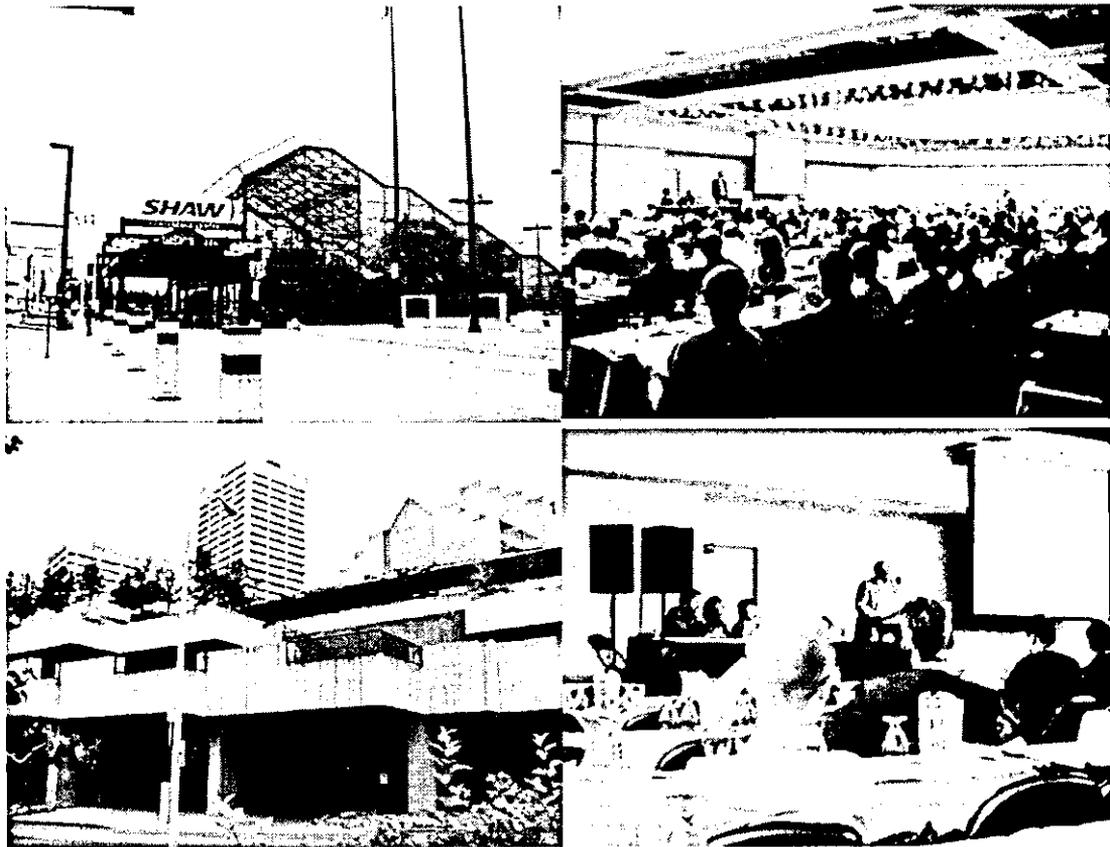


図 3.1-13 COMS2004 の会場の外観と会議の様子

COMS 2004 のプログラムは、下記の通りである。また、表 3.1-2 に示す企業の展示があった。

Keystone Sessions

Session2-Coms retrospective

Session3.1 - Industry Overview

Session3.2 - Large industrial users

Session4.1 - Tools of the trade: MNT design & production tools

Session4.2 - " On the move "

Session5.1 - Building a successful MNT region

Session5.2 - " For life: " Bio and life sciences applications

Session9.1 - Tech transfer

Session9.2 - Business models

Session9.3 - " There' s still plenty of microsystems integration today "

Session11 - " Panel Discussion - The Challenges of microsystems integration today "

Session12 - " Panel Discussion - Equipment vendors: how well are they meeting the

needs of MEMS/Nano industry today?"

Session13.1 -Reliability and standards

Session13.2 -Part B: Emerging industrial applications - defense, homeland security

Session13.3 -Foundries

Session14.1 - " Some assembly required "

Session14.2 -Part B: Emerging industrial applications - defense, homeland security

Session14.3 -MST applications: microfluidics, sensors

Session16 -Panel: growing strong MNT clusters: implications for K-12 education

Session17.1 -Workforce development: comparative approaches

Session17.2 -Social implications of nanotechnology

Post conference workshop: commercial applications of the LIGA technique

表 3.1-2 COMS の展示会出展企業

Alberta Innovation and Science	MESA+Institute for Nano Technology
ASME International	Micraly Inc.
Bennington Microtechnology Center	Micronews
Brewer Science	MiniFAB
CANEUS	NanoMEMS Edmonton Inc.
CMC	National Institute for Nanotechnology
Coventor	Olympus Partnership Development Group
DeMont and Breyer	Phoseon Technology
Development Agency East Netherlands	Protoron Mikrotechnik GmbH
Digital Matrix Corporation	R&D Magazine/Micro Nano Newsletter
Edmonton Economic Development Corporation	Sandia National Laboratories
Edmonton Journal	Sensors
Elbau Electronics	SmallTimes
EnablingMNT and MST News	Soft MEMS LLC
EV Group	Surface Technology Systems plc
Honeywell	SUSS Miro Tec
Intellisense Software Corporation	Umiocore
IVAM	University of Alberta
M+W Zander	Washington Technology Center
MANCEF	Western Economic Diversification
MEMSCAP	

この会議におけるナノメディシン関係の報告は、以下の通りであった。

①Electronic Mosquito (血液サンプリングのMEMS デバイス)

カルガリー大学から、シリコンの微細加工技術を利用した、無痛針の報告があった。Electronic Mosquito として、商標の登録も進めているようであった。概念図を図 3.1-14 に、微細加工の様子を図 3.1-15 に示した。しかしながら、図 3.1-16 に示すように、駆動電圧は、200V を想定しており、耐久性や安全性の点でも開発途上の技術という印象を持った。血液サンプリングの MEMS デバイスとしてはまだ R&D レベルであるが会議の中でも無痛針のニーズは大きいことはコンセンサスとなっており、今後とも注目する必要がある。

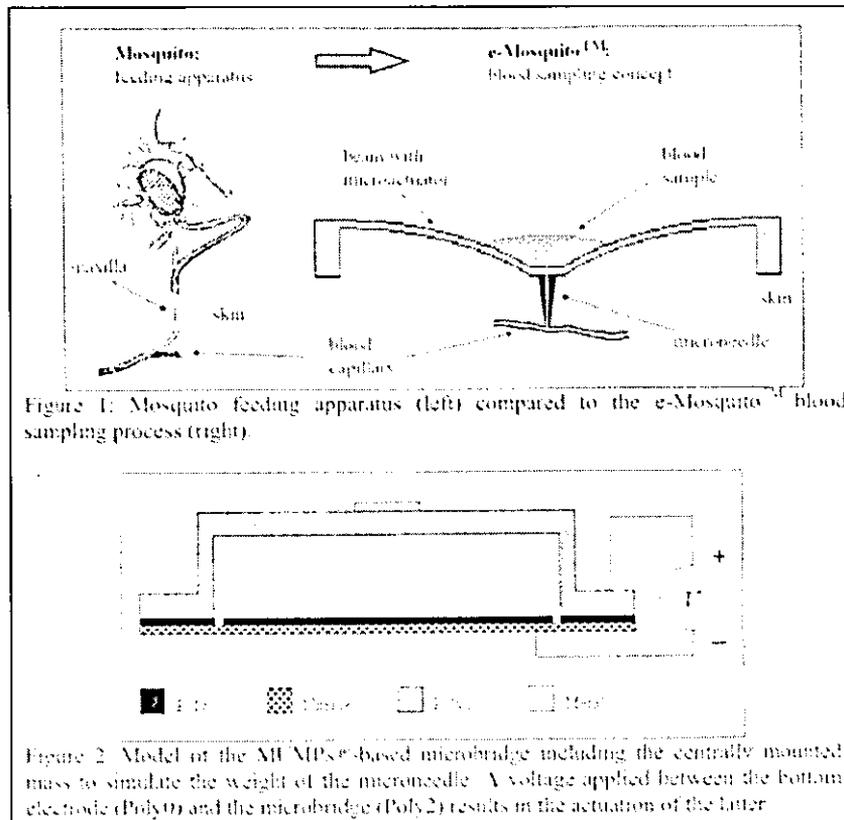


図 3.1-14 Electronic Mosquito (EM) の概要 (G.Gatticker, University of Calgary)

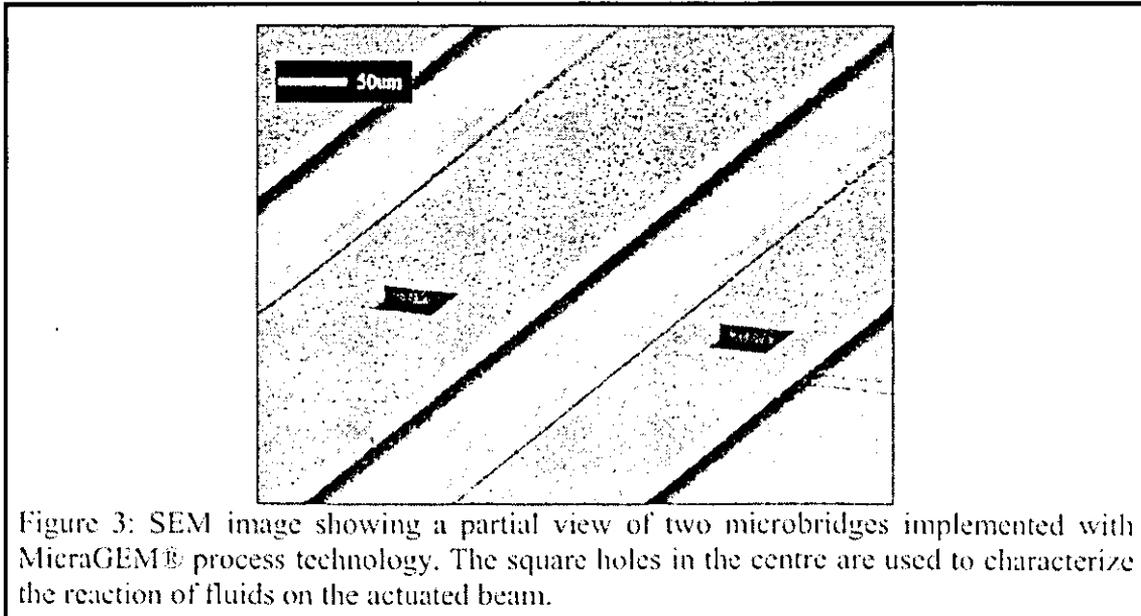


図 3.1-15 Electronic Mosquito (血液サンプリングの MEMS デバイス)

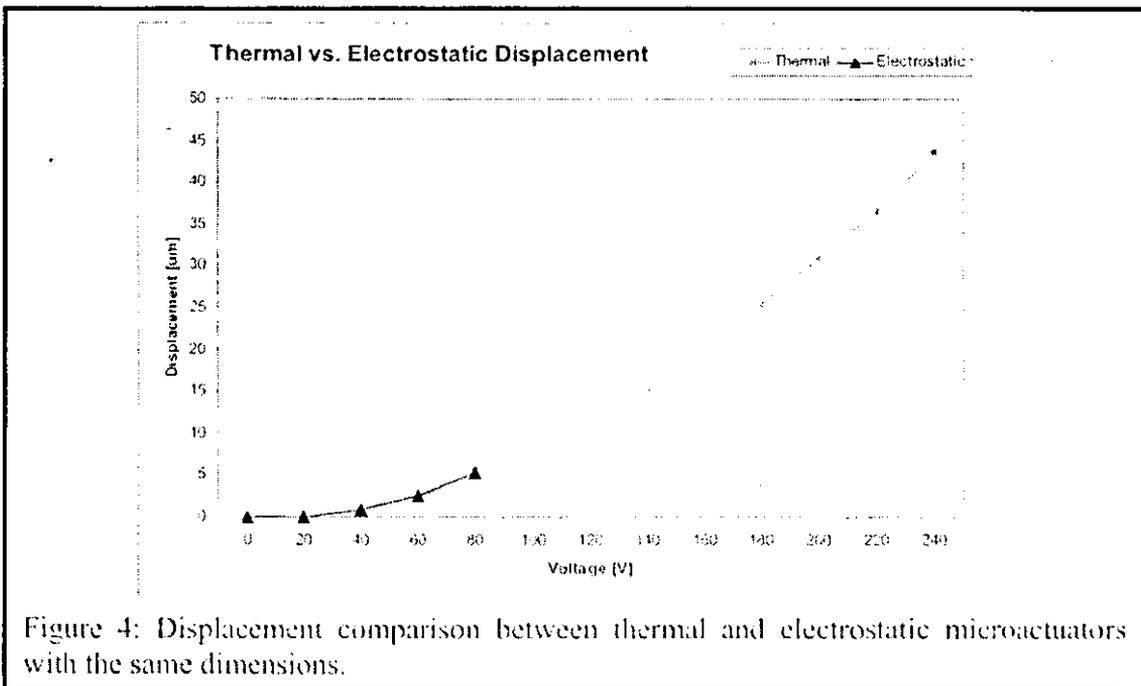


図 3.1-16 Electronic Mosquito (血液サンプリングの MEMS デバイス)
(G.Gatticker, University of Calgary)

②医用診断イメージングのための Si Ultrasound™ の商業化

Sensant Corp. (SanLeandro, CA, USA)から、40mm×30mmのSiの3Dプローブを開発したとの報告があった。そのパフォーマンスはピエゾの次の世代の技術と捉えられている(2005年以降に入れ替わると予測している)。

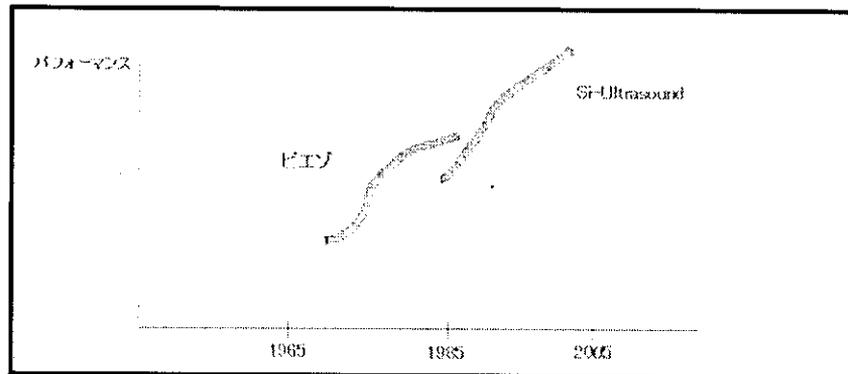


図 3.1-17 超音波イメージングの研究開発動向

同社によれば、2005年10月に最初の製品をオーダーするとのマイルストーンであった。なお、この研究は、DARPA、ONR、陸軍、NSFからの資金提供を受けたとのことであった。

③ナノ粒子とCNTを用いたバイオセンシングプラットフォーム(J.H.T. Luong, NRC, Canada, Univ. Waterloo)

フェムト秒レーザーの溶相レーザーアプリケーションでナノ粒子を生成し、化学/バイオセンサーとして応用するとの報告があった。直径2~3nmの白金ナノ粒子とSWCNTを電気化学センサーに応用(Hydrogen Peroxide)、ナフィオン+SWCNT+白金ナノ粒子(グルコースセンサー)、Cuナノ粒子(直径4~8nm)+SWCNT(酵素レス、電気化学センサー)に応用するとの計画であった。

そのほかに、ナノ粒子とCNTを用いたバイオセンシングプラットフォームに関する報告もあった。

会議全体を通じて、MEMSおよびナノテクノロジーの商業化については全ての人が模索状態であるとの印象を持った。ビジネスシナリオや技術移転の話もあったが、今後の取り組み次第であるとの感が強い。また、バイオ・医療応用は、重要な分野と認識されているが、成果の発表数は驚くほど少なかった。実用化の道筋が見えないこともあるが、「センサー→

チップ→診断装置」というロードマップは示されている（表 3.1-3）。

より具体化することが、この分野に研究者を引き込むために必要であろう。

表 3.1-3 COMS2004 で示された技術ロードマップ (Timeline for Commercialization)

	Now	2005	2010	2020
Electronics		Nanochips Microdisc drivers 3d high definition Displays Mobile Video Satellite Phone	Organic transistors High Density Memories, Components Manufactured by molecular Manipulation	Molecular ultra high performance Computers, self assembled molecular devices Holographic projection TV & Mobile phones
Materials	Nano coatings Sunscreens, cosmetics, carbonnanotube s fibers	Smart materials clothes Resistant fibers	Anti-corrosion coatings. Efficient fuel cells	Designer molecules Programmable protein catalysts Designer Chemicals
Life Science		Biosensors & lab on a chip diagnostics	Biochips for proteomics, targeted drug delivery, artificially grown implants	Designer bio-diagnostics on chips at point of need
Sensors, Devices Instruments	Environmental monitoring and detection systems	Improved accuracy GPS systems, detection	Pollution control Personal monitors	Global monitoring Space and satellites

この会議でも、ナノテクノ研究者と応用分野を担当する研究者（医学研究者や機械エンジニアなど）との情報のやり取りが少ないことが危惧された。ナノメディシンフォーラムの取り組みの重要性を感じた。

会議の最後に、ナノテクノロジーの今日的課題として下記が示された。

- Toxicity of nanoparticles

- Self-replication
- Convergence (NBIC) > transhumanism
- Medical diagnostic, DNA diagnostic
- Military use
- Existing and new questions, some too far away for direct TA
- Existing and new questions, some too far away for direct TA
- Mostly deepening of existing divides: technological, military, economic
- And deepening of medical-ethical questions

安全性（毒性）に関しては、MEMS の立場からは、あまり大きな問題として捉えられておらず、英国王立科学院、カナダ等の動きをウォッチしているというレベルであった。しかしながら、ナノバイオ、ナノメディシンでは今後大きな関心を引きそうであり、注意深く見守る必要があるといえる。

(3) μ TAS2004 (Micro Total Analysis systems 2004, 8th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences)

2004年9月26日～30日にスウェーデンのマルメにて開催された μ TAS2004(Micro Total Analysis systems 2004, 8th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences)の動向を調査した。

μ TAS は、1994年のエンスヘーデ（オランダ）での開催を端に発する、半導体微細加工技術を利用したマイクロ・ナノテクノロジーの基礎とバイオ・化学への応用に関する会議である。この会議では、MEMS に代表される微細加工技術・材料化学を専門とする研究者と、分析化学者や細胞・分子生物学者、臨床医学者といったライフサイエンスを専門とする者が一堂に集合して開催されるのが特徴である。下記のように初期は隔年での開催であったが、2000年以降は毎年開催されるようになり、今回で8回目の開催を迎えることとなった。

1994年：エンスヘーデ（オランダ）

1996年：バーゼル（スイス）

1998年：バンフ（カナダ）

2000年：エンスヘーデ（オランダ）

2001年：モントレー（アメリカ）

2002年：奈良（日本） [1]

2003年：スコーパーレー（アメリカ）[2]
2004年：マルメ（スウェーデン）[3]
2005年：ボストン（アメリカ：予定）
2006年：東京（日本：予定）

[1] Y. Baba, S. Shoji, A. van den Berg (Editors): *Micro Total Analysis Systems 2002*, Kluwer (2002), pp. 1-983.

[2] M. A. Northrup, K. F. Jensen, D. J. Harrison (Editors): *Micro Total Analysis Systems 2003*, TRF (2003), pp. 1-1346.

[3] T. Laurell, J. Nilsson, K. Jensen, D. J. Harrison, J. P. Kutter (Editors): *Micro Total Analysis Systems 2004*, RSC (2004), vol. 1 pp. 1-684., vol. 2 pp. 1-604.

第1回の会議は30件程度の研究発表と160名程度の参加者によるワークショップで始まった μ TASであるが、その後、発表件数・参加者数ともには年々増加している。特に、毎年開催されるようになった2000年以降は、発表申込み件数は、230件(2000年)、350件(2001年)、460件(2002年)、550件(2003年)、657件(2004年)と急激に増えている。本会議においては、発表者は、はじめに2ページのアブストラクトを提出後、そのアブストラクトが日米欧の第一人者11-13名からなるプログラム委員会により厳正な審査を受け、その審査をパスした者のみが発表を許され、プロシーディングを作成・発表するという過程を経る。2000年当初は、採択率は80%弱であったが、年々審査が厳しくなっており、今回の μ TAS2004においては、657報のアブストラクトが投稿され、そのうちの422報が採択されており、採択率はわずか65%であった。これらの採択された発表のうち、口頭発表に選ばれるのは、これらの中からわずか60件であり、2004年に口頭発表に選ばれたのは、発表申込みの10%以下と非常に狭い門になっている。また、採択された発表者は、3-4ページのプロシーディングを執筆し、全発表のプロシーディングを収載した本[1-3]が、国際学会にあわせて刊行され、参加者全員に配布される。これらの本は、ここ3年間は、1000ページを超える大冊になっている。

このように、この学会は、世界的に非常にレベルの高い発表のみが許される学会であり、この学会の内容を知ることは、当該分野の研究の最先端を知る上で、非常に重要である。さらに、本会議の発表は、本として出版されるので[1-3]、この本を読むことにより、当該分野の最新情報を知ることが可能である。

本学会の参加者も年々増加しており、2000年には450名程度であった参加者は、2002年にははじめて700名を超え、本年は740名余りを集めるまでになった。このように、本学会は、マイクロ・ナノテクノロジーの基礎とバイオ・化学への応用に関連する国際会議では、世界で最も権威があり最も大きい会議であり、世界中の研究者が、最も注目する会議の一つとなっている。

本学会が開催され始めた当初は、ヨーロッパと北米からの発表が多数で、日本からの発

表はあまり多くなかったが、2000年ぐらいからだんだん発表件数が増加しはじめ、2002年には日本で開催されたこともあり、発表件数は、アメリカ（109件）に次ぐ2位（95件）になった。さらに、2003年にも2位となり、ついに、本年は、日本からの発表件数が124件と、開催以来、初めてアメリカの発表件数（116件）を上回り、当該分野における世界1位の研究アクティビティーを有していることが明らかとなった（図3.1-17）。これらのことは、文部科学省の支援を受けた日本における大学・研究機関の研究が進展したことのみなならず、経済産業省、厚生労働省、農林水産省の国プロの進展による産学官連携型の研究が急激に進展したことによるものと思われる。

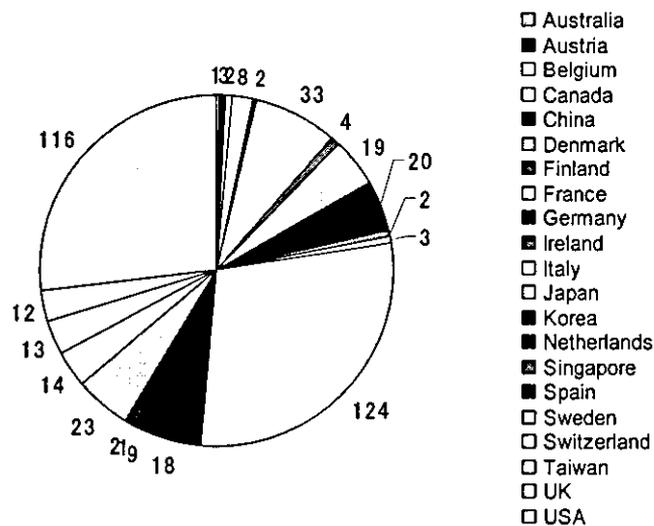


図 3.1-17 各国の発表件数

本学会でのバイオ関連の発表は、年々増加してきており、 μ TAS2004 では、発表の全体構成は下記のようにあり、ポストゲノム時代を反映してか、細胞を対象とした研究が多く見受けられた。

9月27日（月）

粒子ソーティング

プレナリースピーチ I (Toshio Yanagida, Osaka University, Japan)

粒子ソーティング

モーター分子

細胞ポジショニング

MEMS

プレナリースピーチ II (Gyorgy Marko-Varga, AstraZeneca R&D Lund,

Sweden)

流体ポンプ I

プロテオミクス

9月28日(火)

プレナリースピーチ III (Owe Orwar, Chalmers University of Technology, Sweden)

細胞培養 I

ナノチャンネル

粒子

光学検出

プレナリースピーチ IV (Ivar Giaever, Nobel Laureate, Rensselaer Polytechnic Institute and Applied BioPhysics Inc., USA)

流体ポンプ II

タンパク質結晶化

9月29日(水)

プレナリースピーチ V (Linda Griffith, Massachusetts Institute of Technology, USA)

細胞溶解

分離

遺伝子解析

NMR

プレナリースピーチ VI (Fred E. Regnier, Purdue University, USA)

2層系

MS との連結

9月30日(木)

細胞培養 II

分析

マイクロフルイディクス

オンチップモニタリング

この中で特に将来的に臨床応用の可能性が高く、新規性を有する下記9件の発表についてその詳細を報告する。

- ・ 高性能肝組織再構築のためのマイクロリアクター
- ・ 全ゲノムハイスループット RNAi スクリーニングのためのショウジョウバエ胚自動インジェクションシステム
- ・ マイクロチャンネル中に配向させた微小管上を移動するキネシンによるナノピ

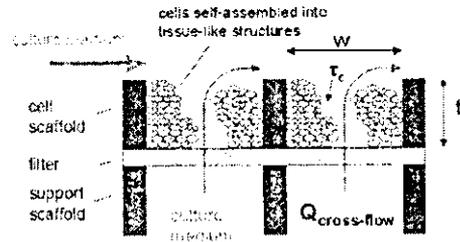
ーズの一方向性輸送

- ・ ナノ構造物と1分子操作のための細胞サイズの脂質容器の利用
- ・ マイクロフルイディクスを用いた *in vitro* タンパク質発現系のマイクロ化への新しい取り組み
- ・ 高アスペクト比ナノプリント技術により作製したナノピラーを用いた免疫アッセイチップ
- ・ 穿通センサー付きマイクロ注射針による針入度測定
- ・ チャンネル間マイクロ構造による全血からの血漿の分離と解析
- ・ ディスクによる全血の連続的遠心分離

① 高性能肝組織再構築のためのマイクロリアクター (Massachusetts Institute of Technology, USA)

肝細胞は、薬物代謝に代表されるような多くの機能を有しているが、*in vitro* にて培養を行うとこれらの肝細胞特有の機能はすぐに失われてしまう。これは、肝臓臓器中の毛細管床の大きさが、直径 0.5 mm 程度（肝細胞 10-20 個程度）であり、この中を血液が循環しているのに対して、*in vitro* における培養系においてはこの大きさがかなり小さく、血液に比べて培養液の酸素運搬能力が低下するためである。ゆえに、*in vitro* にて培養を行った肝細胞を、肝毒性や C 型肝炎のような慢性疾患のモデル系として利用することには限界があった。そこで、本研究では、肝機能を失うことなく肝組織を再構築するためのマイクロリアクターを作製した。*in vitro* においても肝機能を維持させるには、細胞間でのシグナル伝達や化学因子、物理的力など、肝細胞の *in vivo* における環境を再現しなければならない。これを実現するために、このマイクロリアクターにおいては、臓器（肝臓）中の個々の毛細血管床における組織の質量分布と同程度の組織単位（ $\sim 0.02 - 0.12 \text{ mm}^3$ ）を多数配置した構造中に肝細胞を分布させることとした（図 3.1-18）。いくつかのマイクロリアクターのデザインと肝組織の形態形成観察から、 $300 \times 300 \times 230 \text{ }\mu\text{m}$ 程度のチャンネルが最適であるという結果を得て、図 3.1-19 のようなチャンネルを作製した。このマイクロリアクターによりラット肝細胞を培養したところ、数日程度で 3 次元の組織構造の形成が確認された。これらを正常な生細胞のみが染色されるトルイジンブルー染色を行ったところ、ほとんどの細胞が正常であることが明らかとなった。一方、死細胞も観察されたが、これらはマクロファージにより貪食されていることも明らかとなった（図 3.1.20）。これらのことから、このマイクロリアクターが *in vivo* の微小環境を再現し、この中で肝組織が再構築されていることがわかった。また、*in vivo* の肝細胞、コラゲナーゼにより分散させた培養肝細胞、マイクロリアクターにより培養した肝細胞のそれぞれのアルブミン遺伝子の発現レベルをリアルタイム RT-PCR により調べたところ、分散させた培養肝細胞では大きくダ

ウンレギュレーションされていたのに対して、マイクロリアクターにより培養した肝細胞では、より *in vivo* の肝細胞に近い発現レベルであることがわかった (図 3.1-21)。



w - length scale of cell self-organization $\sim 300 \mu\text{m}$
 t - length scale for oxygen diffusion $\sim 200 \mu\text{m}$
 $Q_{\text{cross-flow}}$ - flow of cell culture medium $\sim 1 \mu\text{l/channel/min}$
 τ_c - shear stress on cells $< 1 \text{ dyne/cm}^2$ [4]

図 3.1-18 高性能肝組織再構築マイクロリアクターの構造と各パラメーター。

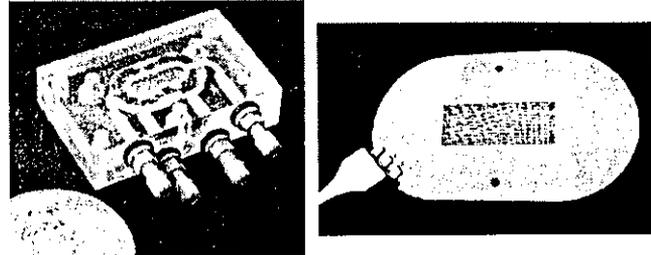


図 3.1-19 300 x 300 x 230 μm のチャンネルを 4 x 10 アレイ化したマイクロリアクター (左図) と、20 x 50 アレイ化したもの (右図)。

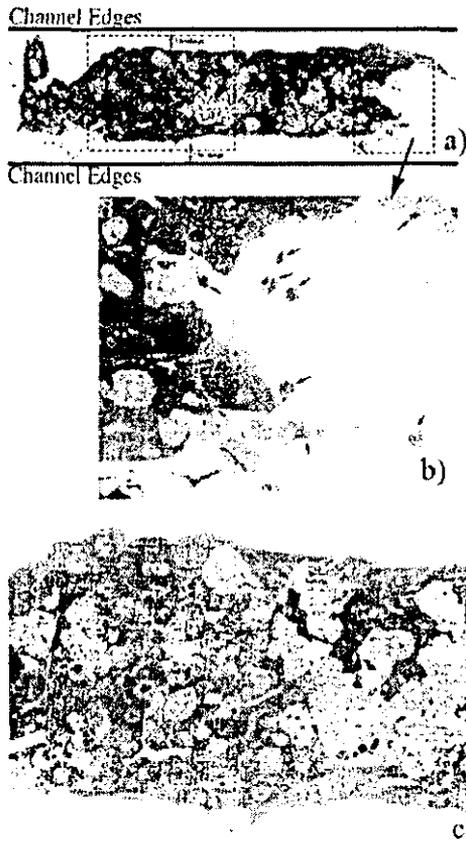


図 3.1-20 (a) ポリプロピレン製マイクロリアクター内で再構築された肝組織の組織切片をトルイジンブルー染色した結果。(b, c) (a)のそれぞれの部分を拡大した画像。

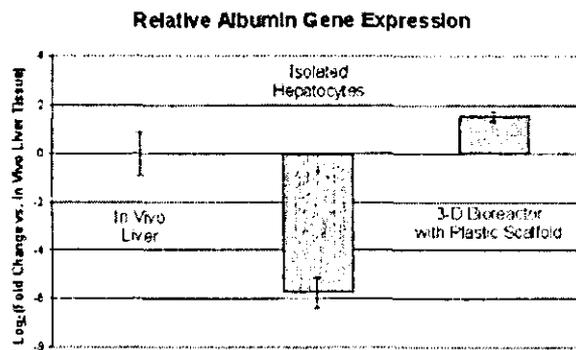


図 3.1-21 *in vivo* の肝細胞、培養した肝細胞、マイクロリアクターにて再構築した肝細胞のアルブミン遺伝子の発現レベルを、リアルタイム RT-PCR により調べた結果。

② 全ゲノムハイスループット RNAi スクリーニングのためのショウジョウバエ胚自動インジェクションシステム (Stanford University, USA)

ショウジョウバエゲノムの全塩基配列が 2000 年に発表された後、特定の遺伝子を破壊する RNA 干渉 (RNAi) が、遺伝子の機能を調べるための強力なツールとして用いられている。通常の RNAi 実験においては、60 pl 程度の dsRNA (2 本鎖 RNA) を 100 から 200 のショウジョウバエ胚に 60 分程度かけて手動でインジェクションしているが、この操作は非効率的であり信頼性の低いものである。本研究では、これらの問題点を解決すべく、自動インジェクションシステムを開発した。マイクロ加工により作製したインジェクターは圧電素子による圧力センサーを内蔵しており、インジェクション時の圧力をモニターできるようになっている (図 3.1-22)。アガロースゲル上に分散させたショウジョウバエ胚を、接着性物質を塗布したスライドガラス上に転写した後、画像解析コンピューターによりその 2 次元位置情報を取得し、インジェクターの位置とあわせてアライメントを行った後、インジェクションを行う。7 x 7 mm² における位置情報取得のためのスキヤニングは 2.5 分、100 個のショウジョウバエ胚へのインジェクションは、7 分以内に完了した。図 3.1-23 は、緑色食品色素をインジェクションした結果であり、96% 以上の胚へのインジェクションが確認できた。また、分節遺伝子である *armadillo* に相当する dsRNA をこのインジェクターにより自動的にインジェクションしたところ、歯状突起帯が完全に破壊されることを確認した (図 3.1.24)。将来的にはこの自動インジェクションシステムにより、現在の 10 倍の RNAi スクリーニングの高速化が期待できる。

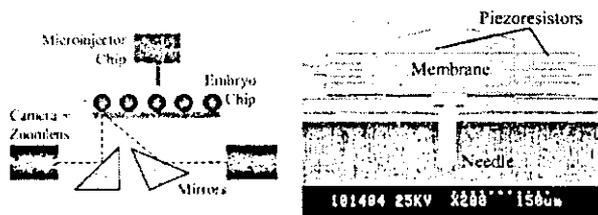


図 3.1-22 自動インジェクションシステム (左図) と圧力センサー内蔵インジェクターの電子顕微鏡写真 (右図)。

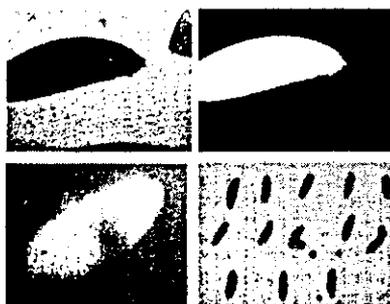


図 3.1.23 ショウジョウバエ胚の位置情報取得 (上図) と、緑色食品色素をインジェクションした結果 (下図)。

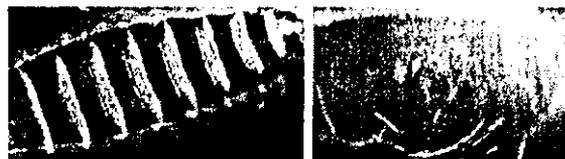


図 3.1.24 野生型ショウジョウバエ胚に見られる歯状突起帯 (左図) と、分節遺伝子 *armadillo* に相当する dsRNA をこのシステムにより自動的にインジェクションした結果 (右図)。

③ マイクロチャンネル中に配向させた微小管上を移動するキネシンによるナノビーズの一方方向性輸送 (CIRMM/IIS, The University of Tokyo, Japan)

キネシンは、微小管上を ATP の加水分解によりすすべるように移動するモータータンパク質であり、精緻な分子モーターとしての活用が期待されている。本研究では、微小管をマイクロチャンネル上に配向させることで、人為的に制御可能な新しいナノ輸送システムの構築を行っている。キネシンは、微小管上のマイナス端からプラス端に向かって動くため、単にマイクロチャンネル上に配向させただけでは、その動きは両方向性になってしまう。そこで、キネシンでコーティングしたマイクロチャンネル内に配置した微小管を ATP により運動させ、その過程において溶液を流すことによりその流れでプラス・マイナス端を同じ側に配向させる方法をとっている (図 3.1.25)。これにより、マイクロビーズの一方方向への輸送を実現している。(図 3.1.26) このような、生体高分子とマイクロ流体デバイスの融合 (ハイブリッド化) は、ナノテクノロジーのトップダウンアプローチの限界を打破するための新しいアプローチといえる。

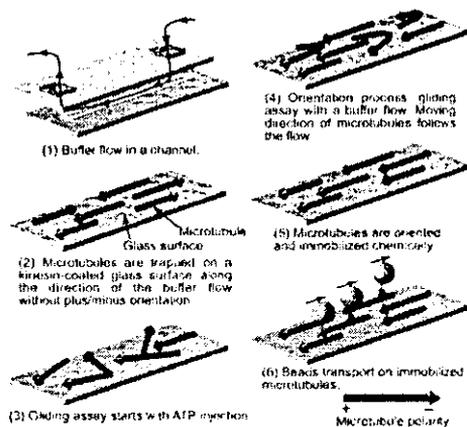
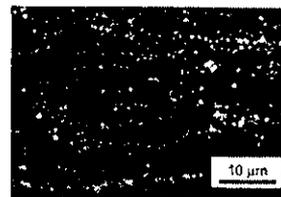
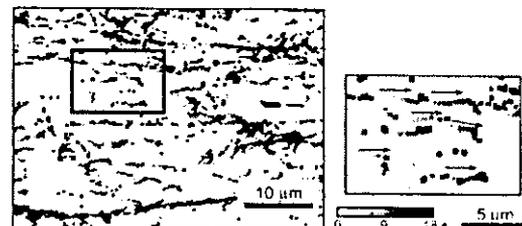


図 3.1-25 マイクロチャンネル内の溶液の流れを利用した微小管の配向法。



(a) The original picture of bead assay corresponding to Fig. 2-(6). Beads (320 nm in diameter) movement on oriented and immobilized microtubules. Right-hand side is the upstream of buffer flow, which means beads are transported to right-hand side of the picture



(b) Superposition of 10 pictures from (a) (c) Closeup view
図 3.1-26 (a) 微小管上をスライドするキネシンをコーティングしたビーズ。(b) 2秒おきに10回撮影したビーズ画像を重ね合わせた画像とその拡大図 (c)。

④ ナノ構造体と1分子操作のための細胞サイズの脂質容器の利用 (LIMMS/CNRS-IIS, The University of Tokyo)

従来、MEMS 技術により作製したシリコンやガラス基板上のマイクロ空間が化学・生化学反応場として利用されてきた。本研究では、非常に大きなりボソームに目的物質を封入し

て反応場として用いるとともに、そのリポソームをマイクロ流体デバイスにより自在にマニピュレーションできる技術を確立した。この巨大なリポソーム（直径 5 μm 以上）中に、 λ -DNA（図 3.1-27）や蛍光ビーズ（図 3.1-28）を 1 分子レベルで封入することに成功しており、リポソーム内部に存在する DNA は、外部溶液に加えた酵素反応の影響を受けないことがわかり、脂質膜が外部環境に対するバリアーとして働くことが示唆された。また、マイクロ流体デバイス上に作製したマイクロ電極アレイによる誘電泳動もしくは電気浸透流により、このリポソームを自在に運搬できた。（図 3.1-29）これを応用することで、異なる物質を内包したリポソームを融合することも可能となり、ナノ構造体の自己組織化や DNA からの遺伝子発現を、より制御した環境で実現することが期待される。



図 3.1-27 リポソーム中に封入した λ -DNA の蛍光画像。

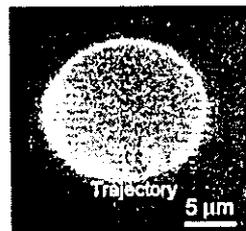


図 3.1-28 リポソーム中に封入した直径 200 nm の蛍光ビーズのブラウン運動の軌跡。

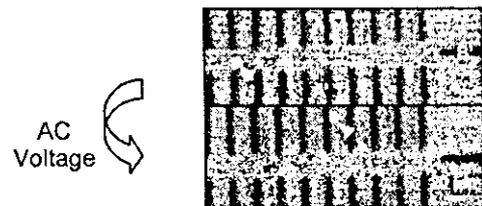


図 3.1-29 誘電泳動と電気浸透流によるリポソーム（矢印）の運搬。

⑤ マイクロフレイディクスを用いた *in vitro* タンパク質発現系のマイクロ化への新しい取り組み (Institute for Analytical Sciences, Germany)

ポストゲノム時代において中核をなすプロテオミクス研究では、新規タンパク質や改変タンパク質を用いたタンパク質の機能解析が、これからの分子バイオテクノロジーや創薬における重要なテーマである。このタンパク質の機能解析においては、近年開発された無細胞系タンパク質発現システムが強力なツールとなるとみられており、本研究では、マイクロ流体デバイスを利用することにより、タンパク質発現の高効率化と高感度検出によりハイスループットなタンパク質機能解析を実現した。本研究においては、緑色蛍光タンパク質 (GFP) を組み込んだプラスミドを用い、共焦点顕微鏡を使用することによりその発現を高感度に検出している。本システムの特徴としては、鋳型 DNA とタンパク質発現に必要な細胞抽出物の混合比を任意に変更可能な分岐型マイクロチャンネルを用いていること、さらに混合した溶液を油層に流し込むことで Water in oil 型のエマルションを生成させ、反応溶液量を制御することが可能な点である。（図 3.1-30、3.1-31）タンパク質発現は、DNA における PCR 増幅のように単純なものではなく、タンパク質ごとにその発現効率が異なるなど多数の要因が関連しており、本システムのような正確に試薬量を制御でき、定量的検出が可能であるシステムの開発が必須である。