

## マイクロアレイ・バイオチップの最新動向



伊藤 嘉浩

マイクロアレイ・バイオチップは、現在は生物科学の基礎研究分野の重要なツールとして開発が進んできたが、最近になって臨床診断分野への展開も本格化してきた。将来は、臨床診断分野で欠かせない技術になると予測される。さまざまな生体分子の分析を目指して、新しいバイオチップの開発はもちろんのこと、その製造装置、検出装置なども研究開発されている。このようなハードの発展とともに、解析データが膨大になるため、その解析法もバイオインフォマティクスの発展とともに進歩している。このような技術の進歩により、より詳細な生体情報が得られるようになると、創薬分野での研究開発に応用できるとともに、病気の予防や診断、投薬管理、予後管理などが精密に行えるようになり、QOL(Quality of Life、生活の質)の向上が進められる。また、医療への応用ばかりでなく、環境モニターへの応用へも期待がかかる。

## マイクロアレイ・バイオチップの最新動向

伊藤 嘉浩

独立行政法人 理化学研究所 和光研究所 中央研究所 主任研究員/財団法人 神奈川科学技術アカデミー プロジェクトリーダー  
1986年 京都大学大学院 工学研究科高分子化学博士後期課程  
単位所得満期退学  
工学博士  
専門：ナノ医工学、機能性高分子

### 1. はじめに

マイクロアレイは研究用にDNAから始まり、2004年8月には、DNAマイクロアレイが体外診断薬として初めて販売承認されるに至った。スイス Hoffmann-La Roche社の薬物代謝酵素多型の判別に利用するDNAチップ「AmpliChip P450」が、欧州連合で体外診断薬として販売する認可を得た。これまで、遺伝子1つずつを検査する体外診断薬はあったが、複数の遺伝子を検査する診断薬が販売承認を得たのは初めとなる。

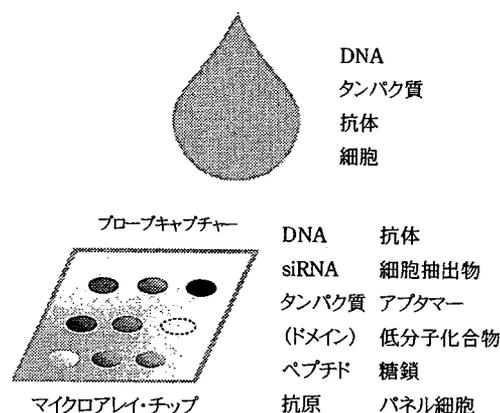
今回のDNAマイクロアレイの場合は、シトクロムP450の2D6の34種類の変異（遺伝子多型）と2C19の2種類の変異、合わせて36の変異を検出できる。このRoche社の「AmpliChip P450」は、米国Eli Lilly社の注意欠陥/多動障害（ADHD）治療薬「Strattera」など、代謝酵素

の遺伝子多型が薬物代謝に影響することが分かっている薬剤の投与時などで、診断薬として利用できる。

日本でも、東洋紡とバイオ・ベンチャーのサインポストは、糖尿病の合併症の発症予測に利用できるDNAマイクロアレイの第1世代のものが開発できていることを、明らかにしている。東芝は、リウマチ薬の効き目や副作用の発生確率を判定できるDNAマイクロアレイ開発に成功したと報じられている。

DNAマイクロアレイに限らず、マイクロアレイ・チップは、今後、研究だけのものから体外診断用へと展開されてゆくことが予想され、様々な生体分子をマイクロアレイしたものが作られるようになってきている（図1）。<sup>1-3)</sup>本稿では、研究開発が進む様々なマイクロアレイ・チップの最新

図1. これまでに開発されているマイクロアレイ・チップ



動向を概説する。

## 2. DNAマイクロアレイ

### 2.1 開発経過

マイクロアレイ・チップの歴史は、Fodor (現 Affymetrix 社会長) らが、1991年に光保護基を用いて光リソグラフィによりペプチドのマイクロアレイを報告したことに始まる。その後、1993年には同様の方法でDNAチップの作成法を報告し、これが現在のAffymetrix社のジーンチップあるいは「アフィメトリクス型」となっている。

固相法による逐次合成法で、塩基数にして数十の長さのオリゴヌクレオチドが、網羅的にスライドガラス上に配列されている。現在販売されているジーンチップには、数万種以上もの遺伝子と遺伝子断片がアレイされ、オリゴヌクレオチドを用いているため遺伝子発現解析のほか、点突然変異の検出や、ハイブリダイゼーションによる塩基配列決定 (sequencing by hybridization; SBH) などに応用することができる。

これに対し、1995年にはスタンフォード大学のBrownらが、長いDNAをそのまま正電荷をもつ膜上にスポット状に貼り付ける方法を考案した。この方法は、ゲノム解析の急激な進展ともあいまって非常に発展した。このシステムを特にDNAマイクロアレイあるいは「スタンフォード型」と呼び、Affymetrix社以外はほとんど全てこの方法で、DNAマイクロアレイを作成するようになっている。これは、点突然変異の検出には不向きではあるが、比較的長いDNA鎖を固定化して、遺伝子発現などを調べる目的で使用される。

すでに生物学の多くの研究分野ではルーチン的に使われているが、まだハード的には改良すべき点が多い。その中で、解析時間の短縮は大きな課題である。DNAマイクロアレイのハイブリダイゼーションには、時間がかかる。それを減らすために、様々な検討が行われている。<sup>4)</sup> また検出法

についても、現在は、蛍光標識してレーザー・スキャンで検出するものが主流であるが、電気化学的手法や、ナノポア式、カンチレバー式、粒子式、ナノピラー式、電界効果トランジスター式などが考案されている。<sup>5)</sup>

### 2.2 ソフトウェア

DNAマイクロアレイについては、一昔前とは違いデータ解析の重要性が増し、最近になってデータを公的に管理・保存するシステムが整備されるようになってきている。マイクロアレイを診断薬として利用するためにも、どのような検討を行い、データを取り揃える必要があるかという検討は、世界的に進められている。

米国食品医薬品局 (FDA) は、2003年2月に、複数の遺伝子多型や発現解析の検査に関するガイダンス案 (Multiplex tests for heritable DNA markers, Mutations and expression patterns; Draft guidance for industry and FDA reviewers : <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1210.html>) を発表した。

このガイダンス案は、診断薬としてマイクロアレイを開発する際の足がかりともなる。加えて、研究者の国際組織である Microarray Gene Expression Data (MGED) Society も、薬剤開発支援や、診断薬としてマイクロアレイを開発するために必要となるデータを検討し、MIAME (<http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html>) としてまとめている。

マイクロアレイ実験が標準化されると、研究者はデータをとるとMIAME指針に沿って情報を記録するようになる。データの分析に外部データが必要な場合、研究者は、必要な外部データを含むMAGE-ML文書をダウンロードし、研究室のデータベースに取り込むだけですむようになる。

MIAME対応の論文投稿は既に多くの論文誌で推奨されるようになっている。これは、DNA解

析に限らず、マイクロアレイ法の今後の発展には欠くべからざる要件であり、各方面で推奨されるべきと考えられる。

## 2.3 応用例

### 2.3.1 遺伝子発現解析

一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) を調べ、患者一人一人にあわせた個人 (テイラーメイドあるいはオーダーメイド) 医療や疾患の分子レベルでの診断、薬物の効果や毒性についての個人差の予想を行おうとするファーマコゲノミクスが、始動しつつある。<sup>6)</sup>米食品医薬品局 (FDA) は2003年11月、ファーマコゲノミクス・データ提出に関するガイドラインを発表し、新薬開発の過程において遺伝子多型のデータの提出を製薬会社に求めていく方針を明らかにした。

既がんの分野では「ハーセプチン」投与とセットになった検査が実施されており、2004年になってがん治療薬の「イレッサ」の効き目と上皮細胞成長因子受容体 (EGFR) 変異の多型との相関が明らかになってきた。

一方、がん患者の遺伝子発現がDNAマイクロアレイで解析され、予後との相関が研究され、予測に用いられようとしている。しかし、遺伝子とタンパク質の発現と分解に“時差”があることや、最近では、non-coding RNAが見出されてきている状況を考えると、プロテオーム解析によって得られたデータをマイニングする際に、DNAチップ解析のデータを参照することは難しいとする報告もある。遺伝子発現による疾患診断の有用性は今後の研究の展開を待たざるを得ない。

## 3. プロテイン・マイクロアレイ

ポストゲノムシーケンスは、プロテオーム解析ということでプロテイン・マイクロアレイ (チップ) の開発研究が近年盛んに行われるようにな

ってきている。伝統的には二次元電気泳動または二次元ゲルクロマトグラフィーと質量分析法を組み合わせて大規模に分離、同定を行う技術が用いられてきたが、最近ではプロテイン・マイクロアレイ法も適用されるようになってきた。しかし、DNAと異なり、タンパク質は複雑な構造をしており、種類も豊富なため、様々な工夫が必要であり、一筋縄ではいかない。<sup>7-12)</sup>

Snyderのグループは、酵母タンパク質にニッケル結合性をもつオリゴヒスチジンを導入し、ニッケル被覆スライドガラスに5,000種以上をマイクロアレイし、タンパク質間相互作用を調べ、カルモデュリンに結合する33の新たなタンパク質を発見し、フォスファチジルイノシチドに結合する52のタンパク質を見出した。<sup>9)</sup>Invitrogen社は、プロテオーム・アレイ (高密度タンパク質マイクロアレイ、4,088種のタンパク質が12,000スポットの中に搭載) を、2004年8月には日本市場を含む全世界で発売した。

タンパク質全てではなく、タンパク質ドメインをマイクロアレイする例が報告されている。Espejoら<sup>13)</sup>は、グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST) と種々のタンパク質相互作用ドメインを融合し、ニトロセルロース膜被覆ガラススライドにマイクロアレイし、蛍光ラベル化ペプチドとの相互作用を調べ、予想通りの結合パターンを得た。翻訳後修飾の有無も判定できた。NewmanとKeating<sup>14)</sup>は、タンパク質マイクロアレイを使って、ヒトのロイシンジッパー転写因子からの49種のコイルドコイル・ストランドの相互作用を調べた。強い相互作用は6%ほどで、いくつかこれまでに知られていなかった相互作用も発見された。

膜タンパク質マイクロアレイについてもいくつか報告がある。<sup>15)</sup>膜タンパク質は、分離が困難な上に、活性を維持するのも難しい。Fangら<sup>16)</sup>やGroversとBoxer<sup>17)</sup>は、側方拡散で脂質が混

ざり合わないような「囲い」を作ること、二分子膜を二次元上に維持でき、膜タンパク質を組み込むことができることを示している。このように細胞膜を忠実にチップ上に再現できるような系は、膜タンパク質の機能発現のために重要な手法と考えられる。

また、ゲノム解析とは異なり、複雑なプロテオーム解析のために新しい検出法と組み合わせたチップの開発も行われている。<sup>18)</sup> Applied Biosystemsは、400ターゲットを同時に表面プラズモン共鳴 (SPR) イメージングによって解析できる8500Affinity Chip Analyzerの販売を行っている。

一方、Biacoreは、Brucker Daltonsと共同で、SPR-MSを開発している。これはBiacore3000のSPRシステムとMALDI-ToF, MALDI-ToF/MS/MSやLC-ESI MS/MSなどの質量スペクトロスコーピー (MS) を組み合わせたものである。また、Ciphergen Biosystemsは、SELDI-TOF-MSの応用性を高めたSEND ProteinChip Arraysの新しいラインナップを提供している。

次節で述べる抗体マイクロアレイの逆、リバーサ・アレイの研究が、タンパク質相互作用を調べるために行われている。これは、細胞抽出液をマイクロアレイし、この上に多種類の抗体を作用させるもので、ZeptoSens社では、384の異なる細胞抽出物のタンパク質をアレイしたチップを開発している。<sup>18)</sup>

一方、Michaudらは抗体の特異性を評価するためのプロテインマイクロアレイ<sup>19)</sup>を報告している。約5,000の酵母タンパク質をガラススライド上に載せ、その上に11種類のポリクローナルあるいはモノクローナル抗体を作用させた。その結果、どの抗体も交差性がはっきりわかった。これは、抗体選別やデザインに有用な方法と考えられる。

#### 4. 抗体マイクロアレイ

プロテオーム解析用に、多くの企業が抗体マイクロアレイの製品化を計画して盛んに研究開発が進められている。<sup>18,20)</sup> 現在のところ、BD Bioscience Clontech Antibody Microarray 500が、500以上のモノクローナル抗体をマイクロアレイし、特異的なタンパク質をアッセイできるものとして最大である。これは、細胞質および膜タンパク質と広い範囲で検出でき、情報伝達系、細胞周期調節、遺伝子転写系、アポトーシス研究に用いることができる。分析は、DNAマイクロアレイのCGH解析と同様、2つのサンプルの比較として行われ、タンパク質量の多寡としてデータが得られる。

Sigma-Aldrichは224種の抗体をニトロセルロースで被覆したスライドガラス上に固定化し、細胞情報伝達測定用のPanoramaAbマイクロアレイキットを開発している。この場合も検出は、細胞や組織から抽出されたタンパク質に蛍光色素Cy3やCy5で標識し、2種類の標識タンパク質を混合してアレイにスポットして標準的な蛍光スキナーを使って測定が行われる。

このような定性的な抗体マイクロアレイに対し、Schleicher&Schuell Bioscienceは、FAS-TR Quant TH1/TH2を定量的な抗体マイクロアレイとして売りだしている。マイクロプレートELISAに比べて迅速で低価格なアッセイが可能となる。ニトロセルロース被覆ガラススライド上で56サンプル各々について9つのサイトカインの定量が可能となっており、解析用のソフトウェアもある。

この他に、EMD Biosciencesは、Proteoplex™ 16-Well Human Cytokine Array Kitを、Novagennoブランドで販売し始めた。これは、15サンプルについて同時平行で、12種類のヒト・サイトカインを定量できるものである。

## 5. アプタマー・マイクロアレイ

アプタマーは、ラテン語のaptus（適合する）から派生した造語で、試験内進化法（in vitro selection）あるいはSystematic Evolution of Ligands by EXponential enrichmentの下線部をとってSELEXと呼ばれる方法で作成される抗体と類似の分子認識機能をもつ核酸である。<sup>21)</sup>

コロラド大学のGoldとTuerk、ハーバード大学のSzostakとEllingtonによって1990年に独立に発見された。Goldは、現在はSomalogic社となる会社を興し、アプタマーを用いたタンパク質解析チップを提案している。彼らは特にフォトアプタマーと呼ばれるアプタマーを調製し、それらをマイクロアレイし、その上に血液やタンパク質溶液を接触させた後、Antibody-Linked OligoNucleotide Assay (ALONA)、あるいはアプタマーには結合せず、タンパク質のリシン残基にだけ反応する染料でタンパク質だけを染める方法での検出を目論んでいる。<sup>22)</sup>また、北京の中国科学院のFangらは、DNAにインターカレートするルテニウム錯体の結合状態が、アプタマーがタンパク質を相互作用するか否かで変化することを利用した検出法を提案している。<sup>22)</sup>FangやEllingtonらは原子間力顕微鏡（AFM）を用いた検出法も研究中である。<sup>22)</sup>

まだ、決定的な方法論が見出されていないものの、アプタマーは抗体とは違う特徴をいろいろ備えている。今後大きく展開されるものと期待される。

## 6. 低分子マイクロアレイ

低分子化合物をアレイしたチップは、解析の手段ではなく、医薬のハイ・スループット・スクリーニングのために研究されている。<sup>23)</sup>チップ上で様々な有機化合物を合成し、その中から医薬として有望な化合物をスクリーニングしてゆく方法は、コンビナトリアル・ケミストリーとして進展

してきており、Schreiberらの研究が注目を集めている。<sup>24)</sup>

最近では、この他にも有機化学的な側面からのマイクロアレイ研究は多くなされており、<sup>25)</sup>ケミカルゲノミクス（化学遺伝学）として世界で研究が行われるようになってきている。<sup>26)</sup>

## 7. 抗原マイクロアレイ

ほとんどの自己免疫応答の抗原特異性の機構はまだ解明されていない。そこで、自己抗体応答を測定するための自己抗原マイクロアレイがRobinsonら<sup>27)</sup>によって報告されている。

8つの異なる自己免疫疾患に対応する196種類のタンパク質、ペプチド、その他の生体分子をポリリジン被覆ガラススライドに1152個マイクロアレイした。自己免疫疾患の患者の血清タンパク質を蛍光標識して、抗原認識パターンを調べたところ、自己抗体は、各々の疾患に正確に一致していた。

さらに、このマイクロアレイを自己抗体のエピトープ・マッピングに使うことを考え、髄索プロテオームをマイクロアレイし、自己免疫脳脊髄炎の自己抗体のエピトープ解析をすることができた。<sup>28)</sup>未知の自己免疫疾患の解明にも繋がるのが期待される。Luekingら<sup>29)</sup>はヒト・タンパク質マイクロアレイを使って自己免疫疾患血清の解析を行い、興味深い結果を得ている。最近、サルHIVの430のペプチド・タンパク質のマイクロアレイを用いて、ワクチン接種に対する免疫応答を調べると、生存率との関係が予測できる結果となった。<sup>30)</sup>

また、環境のアレルゲンをマイクロアレイした研究は、Whiltshireら<sup>31)</sup>、Kimら<sup>32)</sup>、Fallら<sup>33)</sup>によって報告されている。ただし、様々な抗原を同一の方法で固定化するのは困難で、Fallら<sup>33)</sup>は、アレルゲンによっては基板上に固定化できないものがあつたことを認めている。これに対し、最近

伊藤らは、光固定化法という新しい方法をマイクロアレイ製造に導入し、様々なアレルゲンを固定化できることを報告している。<sup>34)</sup>

## 8. ペプチド・マイクロアレイ

ペプチド・マイクロアレイは前述のようにFodorらによって最初に実現されたものであるが、光マスクが高価であること、合成に時間がかかること、高レベルのクリーンルームが必要などの問題があった。そこで、新しい固定化法がいくつか報告されている。<sup>34,35)</sup> Pelloisら<sup>36)</sup>は、デジタル光リソグラフィと脱保護時の光生成酸を用いることでペプチドの効率的で応用範囲の広いパラレル合成を報告している。

最近ではready-to-useの製品も多く出回るようになってきており、タンパク質キナーゼと基質との相互作用のようなタンパク質相互作用の検出などに用いられるようになってきている<sup>18)</sup>。

オランダのPepscan Systemsは、タンパク質キナーゼの同定とアッセイ用に1,200個のペプチドをアレイしたPepChipを提供している。ドイツのJerini Peptide Technologiesは、20,000個まで可能なPepStarペプチドチップを提供するとともに、キナーゼ基質のリン酸化部位を同定するためのPhosphoSite-Detectorマイクロアレイキットも販売している。読み取り（検出）は、リン酸転移を放射性同位元素あるいはリン酸化チロシン特異的抗体で行う。SigmaのPEPscreenプラットフォームはエピトープ、タンパク質-タンパク質相互作用あるいはタンパク質-リガンド相互作用のマッピングに使用されている。

## 9. 糖鎖マイクロアレイ

「第三の生体分子」といわれる糖鎖のマイクロアレイも最近作成されるようになってきた。これまでに分子量20万以上の多糖の、オリゴ糖、および単糖のマイクロアレイが報告されており、糖

鎖ゲノミクスの分野での応用が行われようとしている。<sup>2,25,37)</sup>

## 10. 細胞解析用のDNA、siRNA、抗体、タンパク質マイクロアレイ

まず、遺伝子の機能を評価するために様々なプラスミドDNAをマイクロアレイし、その上で細胞を培養して発現を観測する方法が開発された。<sup>38)</sup> この方法は、DNAを溶解させた数nl程度のゼラチン水溶液をスライドガラス上にマイクロスポットティングして乾燥させ、そのスポットを遺伝子導入用のリポフェクション試薬で処理する。その上に接着依存性細胞を播種し、このスポット上で増殖した細胞に、各スポットのゼラチンに封入した各種プラスミドDNAを取り込ませて形質転換した細胞マイクロアレイを作成するものである。

192種類の異なるcDNAを発現する細胞マイクロアレイを用いて、形質点幹細胞の表現型の変化からチロシンキナーゼ情報伝達にかかわるタンパク質やアポトーシス、細胞接着に関与するタンパク質のcDNAが同定された。加藤ら<sup>39)</sup>も同様の取り組みを行っている。本間ら<sup>40)</sup>は、スライドガラスを用いず、マルチウエルを用いて同様な取り組みを行っている。

これらは接着依存性細胞の結果であるが、長棟ら<sup>41)</sup>は、非接着性細胞を用いて同様の試みを行っている。彼らは、BSAコートしたスライドガラスをポリエチレングリコールオレイルエーテル-NHSで処理した基板上で、非接着依存性細胞を増殖可能な形で容易に固定化できることを見出した。そこで、インクジェットプリンターを用いてリポフェクション試薬とプラスミドDNAの混合液を、この基板上にマイクロスポットし、その上に非接着依存性細胞を固定化培養することで形質転換非接着依存性細胞マイクロアレイを作製することに成功した。遺伝子の代わりに、薬剤や抗原をスポットし、この上で肥満細胞を培養し、

種々の抗アレルギー薬や、アレルギー物質のスクリーニングを計画している。

さらに、最近明らかになってきたsiRNAについてもマイクロアレイしてその上で細胞を培養する研究は行われており、マイクロアレイ技術は日進月歩で拡大し、応用されている。<sup>42,43)</sup>

伊藤らは、各種細胞診断や細胞のプロファイリングに利用できることを明らかにしてきている。<sup>34,44,45)</sup>これは、様々な生体高分子（タンパク質、抗体、多糖）、合成高分子をマイクロアレイして、その上で細胞の接着、増殖、分化を観察するものである。また、抗体マイクロアレイ上で血球表面の抗原を、従来のフローサイトメトリー法を代替して、測定しようとする試みも報告されている。<sup>46)</sup>通常のフローサイトメトリーが最大6種類同時測定が可能であるのに対し、この場合、アレイした抗体の種類だけマルチ解析できる特徴がある。

### 11. 細胞マイクロアレイ

生体分子をマイクロアレイして細胞を相互作用させるのではなく、細胞そのものをプローブとしてマイクロアレイして、生体分子との相互作用を調べるシステムを伊藤らは提案している。<sup>34)</sup>それは、血清中の抗体の有無を調べるためにパネル血球をマイクロアレイしたものである。輸血のための血液分析では、血球の血液型だけでなく、血清中の抗体の型が問題になる場合がある。このような抗体は不規則抗体と呼ばれ、通常はパネル血球との凝集反応で調べられるが、熟練を要する。パネル血球のマイクロアレイでは、各血球上への抗体の結合量を測ることで抗体パターンを容易に判別できるというものである。

### 12. 組織マイクロアレイ

プローブを固定化してターゲット分子を検出する通常のマイクロアレイとは異なるタイプとなる、組織マイクロアレイも近年盛んに用いられる

ようになってきた。<sup>47)</sup>1枚のスライドに数百の組織切片を載せることができ、全部の処理に1枚分わずかの液で染色でき、組織ライブラリーを1枚の組織マイクロアレイスライドにまとめることができるので、解析にかかる労力と試薬を節約できる特徴がある。腫瘍プロファイル、がん細胞の遺伝子増幅スクリーニング、cDNAアレイによるディファレンシャルエクスペリメンテーション、マーカーによる予測、抗体検査、FISH、IHC、mRNA ISH等に適していると考えられている。

最近では、一つの組織内あるいは一種類の細胞に対して複数の解析を一度に行うことを目的としたMultiplex-immunostain chip (MIチップ)も開発されてきている。<sup>48)</sup>

### 13. 最後に

このように、DNAマイクロアレイから始まり、生体分子から細胞、組織まで様々なマイクロアレイが開発されるようになってきている。臨床応用のためには、具体的にマイクロアレイするコンテンツ（バイオマーカー）をどのように集めてゆくかが今後ますます重要になる。

#### 引用文献

- 1) 伊藤嘉浩、バイオサイエンスとインダストリー、62,171(2004)
- 2) 伊藤嘉浩、「コンビナトリアルバイオエンジニアリングの最前線」シーエムシー、P.252 (2004)
- 3) 「バイオチップの最新技術と応用」シーエムシー (2004)
- 4) 近藤恭光、田代英夫、「バイオチップの最新技術と応用」シーエムシー、p.90 (2004)
- 5) 坂田利弥、宮原裕二、バイオサイエンスとインダストリー、62,577(2004)
- 6) 石垣恒一ら、日経バイオビジネス、p.44(2004)
- 7) P.Mitchell, Nat. Biotechnol., 20, 225

- (2002)
- 8) G. MacBeath and S.L. Schreiber, *Science*, 289, 1760 (2000)
- 9) H. Zhu, et al., *Science*, 293, 2101 (2001)
- 10) R.F. Service, *Science*, 294, 2080 (2001)
- 11) G. MacBeath, *Nat. Gen.*, 32, 526 (2002)
- 12) R.F. Predki, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 8, 8 (2004)
- 13) A. Espejo, et al., *Biochem. J.*, 367, 697 (2002)
- 14) J.R. Newman and A.E. Keating, *Science*, 300, 2097 (2003)
- 15) 片山佳樹, *Dojin News*, 108, 10, 2003
- 16) Y. Fang, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 2394 (2002)
- 17) J.T. Groves and S.G. Boxer, *Acc. Chem. Res.*, 35, 149 (2002)
- 18) Protein arrays, *Nature*, 429, 101 (2004)
- 19) G.A. Michaud, et al., *Nat. Biotechnol.*, 21, 1509 (2003)
- 20) 伊藤嘉浩、山辺敏雄、「抗体エンジニアリングの最前線」、*シーエムシー*、p.97 (2004)
- 21) 伊藤嘉浩、福崎英一郎、「抗体エンジニアリングの最前線」、*シーエムシー*、p.115 (2004)
- 22) C.M. Henry, *Chem. Eng. News*, March 29, p.32 (2004)
- 23) 叶直樹, *化学と工業*, 56, 1259 (2003)
- 24) F.G. Kuruvilla, et al., *Nature*, 416, 653 (2002)
- 25) 今野博行、「コンビナトリアルバイオエンジニアリングの最前線」*シーエムシー*、p.273 (2004)
- 26) 及川雅人, *化学*, 59(8), 33 (2004)
- 27) W.H. Robinson, et al., *Nat. Med.*, 8, 295 (2002)
- 28) W.H. Robinson, et al., *Nat. Biotechnol.*, 21, 1033 (2003)
- 29) A. Lueking, et al., *Mol. Cell Proteomics*, 2, 1342 (2003).
- 30) H.E. Neuman de Vegvar, et al., *J. Virol.*, 77, 11125 (2003)
- 31) S. Whiltshire, et al., *Clin. Chem.*, 46, 1990 (2000)
- 32) T.E. Kim, et al., *Exp. Mol. Med.*, 34, 152 (2002)
- 33) B.I. Fall, et al., *Anal. Chem.*, 75, 336 (2003)
- 34) 伊藤嘉浩ら, *高分子論文集*, 61, 501 (2004)
- 35) B.T. Housemann, et al., *Nat. Biotechnol.*, 20, 270 (2002)
- 36) J.P. Pellois, et al., *Nat. Biotechnol.*, 20, 922 (2002)
- 37) 久野敦ら、「バイオチップの最新技術と応用」*シーエムシー*、p.161 (2004)
- 38) J. Ziauddin and D.M. Sabatini, *Nature*, 411, 107 (2001)
- 39) 加藤功一ら, *生物工学*, 81, 473 (2003)
- 40) 本間紀美、落合孝広、「バイオチップの最新技術と応用」*シーエムシー*、p.211 (2004)
- 41) 長棟輝行ら「ゲノミクス、プロテオミクスの新展開」、*エヌティーエス*、p.1043 (2004)
- 42) S. Mousses, et al., *Genome Res.*, 13, 2341 (2003)
- 43) 三宅正人, *バイオベンチャー*, 4, 22 (2004)
- 44) Y. Ito and M. Nogawa, *Biomaterials*, 24, 3021 (2003)
- 45) Y. Ito, et al., *Biomaterials*, 26, 211 (2005)
- 46) L. Belov, et al., *Cancer Res.*, 61, 4483 (2001)
- 47) 小賀厚徳, *バイオベンチャー*, 4, 18 (2004)
- 48) 古屋智子ら, *バイオベンチャー*, 4, 31 (2004)

再生医療材料

(独)理化学研究所  
伊藤 嘉浩



脳死者からの臓器移植を可能にする法律が日本では1997年に制定されました。しかし日本では、まだ脳死移植は2004年現在で30件にすぎません。古くから脳死移植を行う欧米でも、ドナー不足は深刻です。再生医療は、このような臓器不足を補うとともに、細胞そのものを医薬のように用いて、パーキンソン病や糖尿病を含むさまざまな治療に応用しようとするものです。再生医療のより広い展開のために、高分子素材に期待がかかっています。

れ、これも大きな話題となっています。

さて、このように社会的に注目を集める再生医療ですが、高分子材料は医療用材料として古くからかかわってきました。図1にその経緯を示します。合成高分子から作られた人工臓器と、免疫抑制剤の開発で可能となった臓器移植が20世紀後半の新しい医療となってきました。そして80年代になり、人工臓器と臓器移植の中間に位置するバ

94

1997年のイギリスでのクローン羊「ドリー」の誕生と98年のアメリカでのヒト胚性幹 (Embryonic Stem, ES) 細胞 (マスメディアでは万能細胞と呼ばれることも多い) の樹立は、再生医療という新しい医療の可能性を生み出しました。これらの出来事は、科学や技術に関する興味だけでなく、社会的に倫理的問題をも提起し、大きな衝撃となって研究や応用段階での法律の整備も行われるようになってきています。ヒトES細胞は、2003年には日本でも世界で6番目に樹立され、大きな話題として取り上げられました。04年から国産のヒトES細胞を用いた研究が始まりました。アメリカの04年大統領選では、ヒトES細胞研究は争点の一つにまでなりました。一方、クローン胚技術のヒトへの応用は、04年2月に韓国で初めて成功し、04年7月に日本の総合科学技術会議が基礎的研究のゴーサインを多数決で決議したことが報じら

イオ(ハイブリッド)人工臓器である培養(人工)皮膚が臨床応用されるようになりました。合成高分子をマトリックスとしてヒト皮膚細胞を培養したものです。80年代後半になると生分解性高分子を利用したティッシュ・エンジニアリング

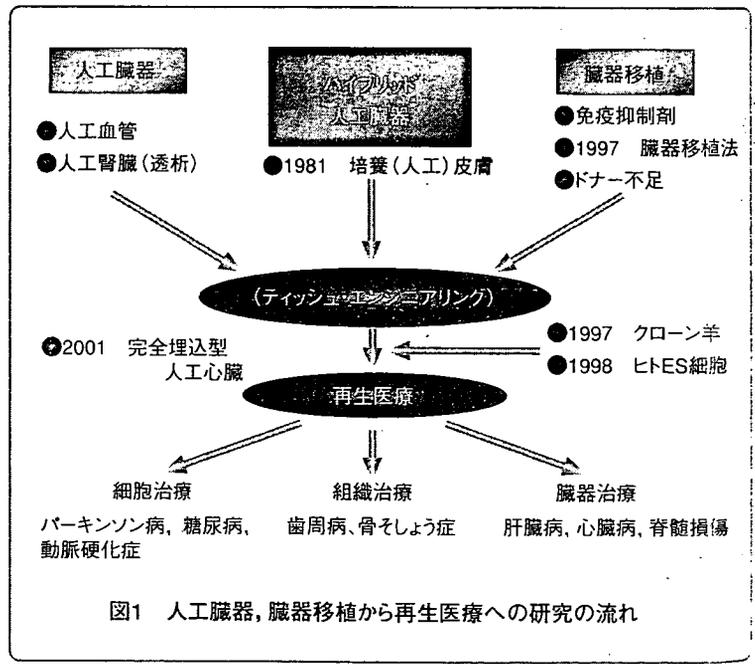


図1 人工臓器、臓器移植から再生医療への研究の流れ



ティッシュ・エンジニアリング 1980年代後半からハーバード大学バカンティ博士やMITのランガー博士らによって提唱された。生分解性材料で3次元構造物(マトリックス)を作り、生体内外で組織再生を促進する方法。マトリックス、細胞成長因子と細胞の3者をバランスよく制御する工学。

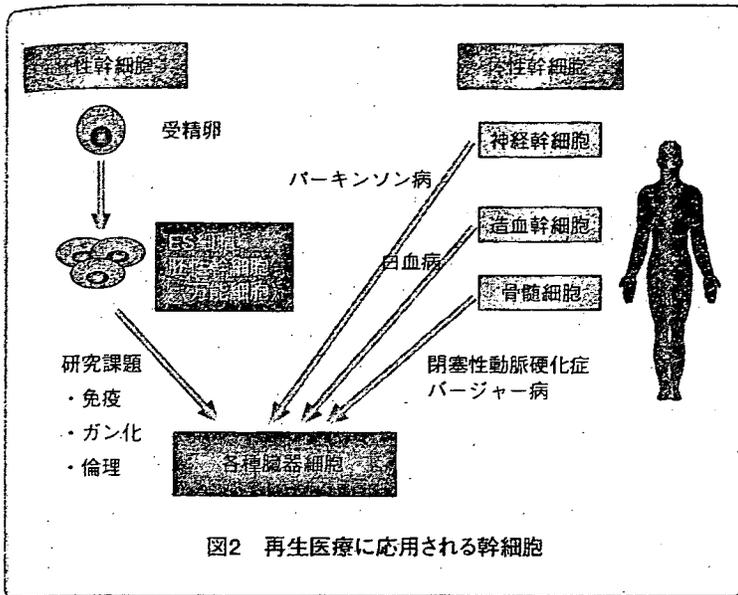


図2 再生医療に応用される幹細胞

### 1. 再生医療

再生医療は、「幹」細胞技術を医療に応用しようとするものです。幹細胞とは、多分化能をもち自己複製可能な細胞です。図2に示すように、再生医療で重要となる幹細胞は二つに分類することができます。ES細胞については、前述のようにまさに応用に向けた研究が始まったところです。これに対して、最近、成人の体の中にも体性幹細胞が存在することが報告されるようになり、再生医療のブームが世界に広がりました。体性幹細胞として、古くから知られているものには造血幹細胞があり、これは既に多くの骨髄、末梢血、臍帯血移植が行われ、患者の造血系を再生できることがわかっています。また、患者自身の骨髄を使った壊死組織の再生治療は03年から高度先進医療に認定され、幹細胞を本来ある場所と異なるところに移植して治療することも臨床で行われるようになってきました。

このように着々と進歩する再生医療ですが、さらに発展させるためには今後解決していかなければならない課題がいくつかあります。その中で、材料の新しい性能を利用した再生医療技術が期待されています。

### 2. 細胞機能制御基材の基礎

まず、これまでに可能となった高分子材料による細胞機能制御を図3に示します。第1には、材料への生物活性の付与を行うことができます。高分子材料に細胞接着性を付与できることは古くから知られていましたが、成長因子やサイトカインを固定化することにより、成長や分化といった生物学的な高次な

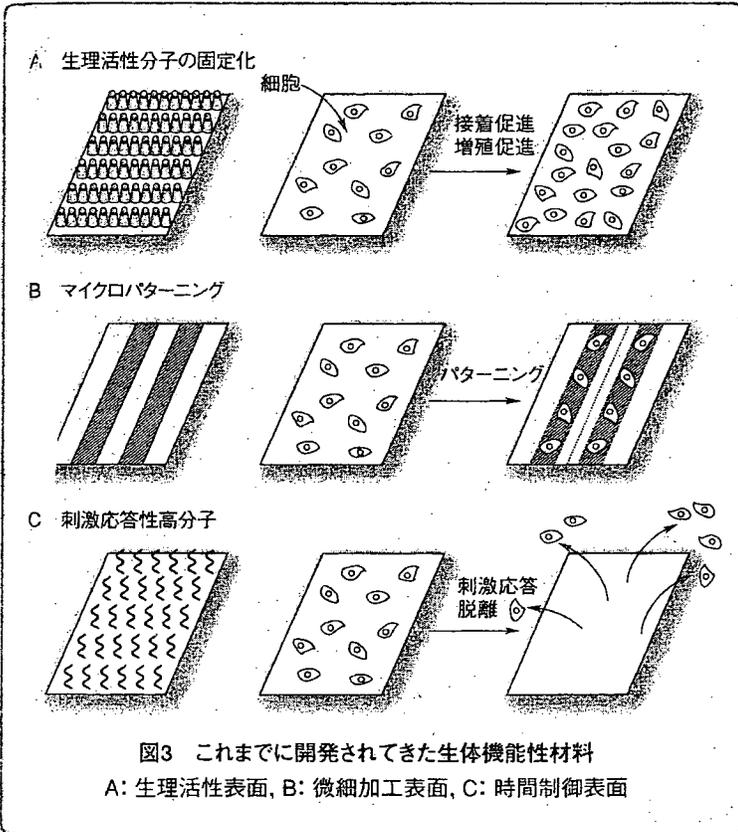


図3 これまでに開発されてきた生体機能性材料  
A: 生理活性表面, B: 微細加工表面, C: 時間制御表面

グが提唱されるようになりました。そして20世紀が終わろうとする頃に、上述の医学上の2大発見により再生医療が生まれてきたのです。

95



細胞によって産生され、細胞間の情報伝達を行う。成長因子やサイトカインの存在により、細胞の増殖、分化、アポトーシス、運命が制御される。生体内では、異なるタイプの細胞は異なる生物活性を発揮する。このように、細胞の増殖、分化、アポトーシス、運命が制御される。生体内では、異なるタイプの細胞は異なる生物活性を発揮する。このように、細胞の増殖、分化、アポトーシス、運命が制御される。

機能も制御可能であることがわかってきました。第2には、最近盛んになった微細加工技術を用いて、空間的に細胞を特定領域に培養することができるようになりました。第3には、刺激応答性の材料を使って、酵素分解をせずに細胞を回収する技術も開発されてきています。

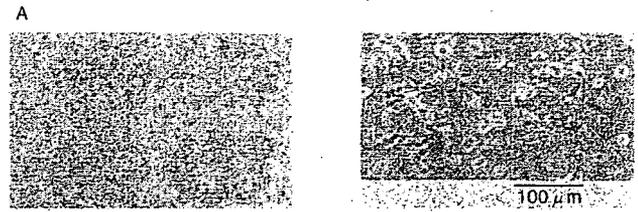
さらに、これら3つの基礎的な材料機能を複合させ、機能の異なる細胞をマイクロパターン状に培養したり、細胞増殖を促進して大量に培養してから刺激応答で回収したりするなど、新しい原理の材料が開発されてきています(図4)。

そして、このような原理を応用した再生医療への試みが行われています。第1は、幹細胞体外培養基材への応用で、第2はティッシュ・エンジニアリングのスカフォールド(足場)への応用です。

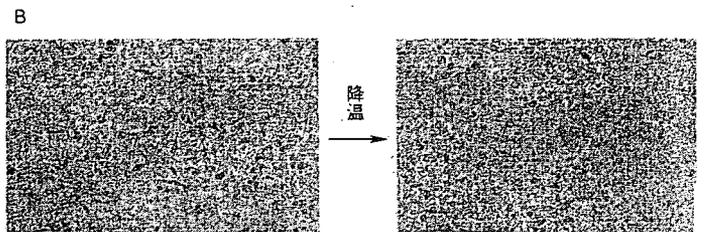
### 3. 幹細胞の体外増幅用材料

幹細胞培養は、研究上は確立されている場合もありますが、ヒト幹細胞の培養になると、ほとんど応用的な研究が進んでいません。それは、一般に幹細胞は培養が難しく、単独での培養が困難なため

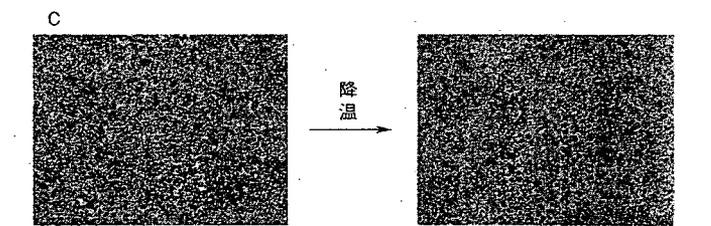
で、**保育細胞**、**フィーダー細胞**と呼ばれる細胞を共存させる必要があるためです。研究用の場合、たとえ培養する幹細胞がヒト由来であっても、保育細胞として異種細胞由来(多くはマウス)細胞を共存させて行われていました。しかし、このような異種細胞との混在のもとで培養されたヒト細胞を医療に用いる場合は、未知の病原体(ウイルスやプリオンなど)の心配があります。幹細胞培養を異種動物由来細胞の共存なしに可能にすることは、再生医療の展開のため



A: 生理活性表面+微細加工表面。(左)インシュリンをマイクロパターン状に固定化した表面では細胞増殖が促進されている(右)神経成長因子を固定化したストライプ上では、神経細胞が分化して神経突起を形成している



B: 生理活性表面+時間制御表面。温度応答性高分子であるポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)をグラフト化した表面にインシュリンを固定化すると、細胞成長を促進した後、冷蔵庫に入れて温度を下げると、進展していた細胞が丸くなり基材から離れ、回収できる



C: 時間制御表面+微細加工表面。温度応答性高分子をマイクロパターン状に固定化してその上で細胞を培養してから冷蔵庫に入れると、温度応答性高分子の固定化領域の細胞だけ剥がして回収することができる

図4 生体材料機能を組み合わせて細胞機能制御した例

めの重要な課題の一つとなっています(図5)。このためには、保育細胞の機能を模した表面、あるいはまったく異なる発想からなる表面を人工的に作成して、幹細胞の培養が可能になるようにする必要があり、鋭意開発が行われています。

### 4. ティッシュ・エンジニアリング用材料

造血幹細胞や神経幹細胞は、細胞1個1個のまま細胞医薬のように用いて治療に使うことが



保育細胞  
フィーダー細胞

単独では生存・増殖できない細胞を培養する場合、一般的に保育細胞あるいはフィーダー細胞を培養して共存させる。保育細胞は、培養中に細胞の増殖を抑制する栄養因子を供給する役割を担う目的で培養される。場合によっては、培地中の増殖因子を多く供給し、細胞に直接栄養して働く場合の意味合いも含む。

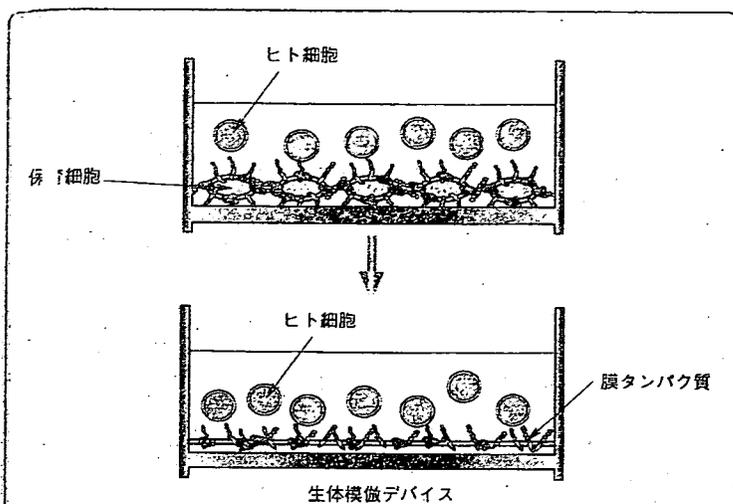


図5 幹細胞の培養

従来のES、造血幹細胞培養では、異種動物由来細胞が保細胞として使われてきた。病原体などの問題があるため、保細胞を必要としない人工保育層の構築へ向けた研究が行われている。例えば、保細胞膜に存在する膜タンパク質を固定化した材料が考えられている。

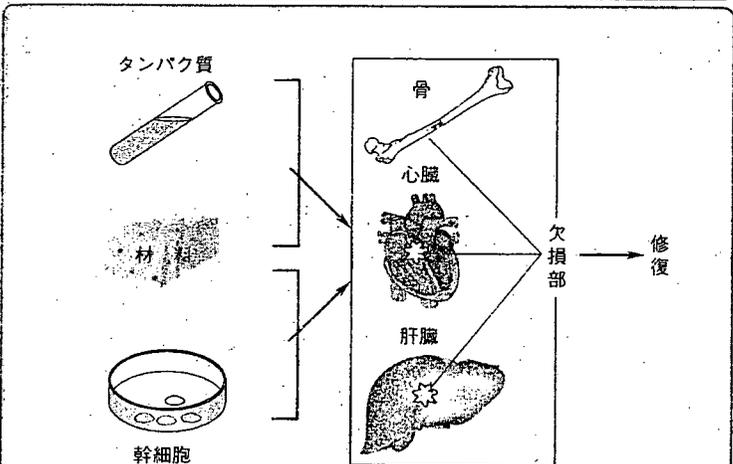


図6 2次元マトリックスを利用した試み

生分解性の3次元マトリックスと細胞成長因子、生分解性の3次元マトリックスと幹細胞とを組み合わせ、生体の欠損部位を補填し、修復を図ることが行われている。

できますが、皮膚や骨のような組織、心臓や肝臓のような臓器の再生には3次元構造を構築する必要があります。そのためには、ティッシュ・エンジニアリングが必要になってきます。現在、3次元マトリックスに成長因子やサイト

カインのようなタンパク質を複合化し、生体組織を活性化させて細胞浸潤を促進する材料の開発や、組織細胞や幹細胞を組み込んだ多孔性生分解性材料を生体に埋め込んで欠損部を修復しようとする取り組みが行われています(図6)。3次元構造形成には、さまざまな生分解性高分子、タンパク質、細胞の3つの組み合わせが鍵となります。生体組織は単調に同一の機能の細胞が集合したものではありません。さまざまな機能を担う細胞を有機的に組織するシステムが必要になります。そして生体組織が修復された後は、分解されてなくなってしまうようなマトリックスが望まれています。

最近では、高分子材料を埋め込み用のマトリックスとして使うのではなく、図3の刺激応答性材料上に細胞だけからなる細胞シートを作り、シートのまま剥がして生体修復に使う方法なども開発されてきています。

このように再生医療は高分子材料を使って進歩しています。医学・生物学の領域では幹細胞の機能解明が急速に展開しています。再生医療材料の研究開発にも、これらの知見を生かして、今後さらに高性能化が図られるものと期待されます。

伊藤 嘉浩 (いとう よしひろ)  
 独立行政法人 理化学研究所 中央研究所 伊藤  
 ナノ医工学研究室  
 研究内容  
 (財) 神奈川科学技術アカデミーの伊藤「再生  
 医療ハイオリアクター」プロジェクトにて、  
 再生医療へのハイオマテリアルの応用を研究  
 中。その他に、新しいマイクロアレイ・チップ  
 の創成やコンビナトリアル・ハイオエンジ  
 ニアリングについても研究を進める。

連絡先  
 E-mail: y-ito@riken.jp



デバイス

**マイクロコンタクトプリンティング法**  
**Micro-contact Printing Method**

マイクロコンタクトプリンティング( $\mu$ CP)法は、1993年、米国ハーバード大学の Whitesides, G. M. のグループによって最初に報告された。ソフトリソグラフィー(soft lithography)の一手法である<sup>1)</sup>。ソフトリソグラフィーの用語の由来は、柔らかいゴム状プラスチックでマイクロスタンプを作成することであり、曲面へのプリントも可能となる。 $\mu$ CP法の特徴は、そのスタンプを使って、自己集積能を持つ分子をインクに用いて単分子層(SAM: Self Assembled Monolayer)をマイクロパターン状に形成させるものである。このスタンプの使用により、マイクロパターンを安価で簡単にコピーすることができる。

その原理を図1に示す。まず、従来法の光リソグラフィーや電子線リソグラフィーによって作製した微細加工マスターに、室温で、液状のポリジメチルシロキサン(PDMS)プレポリマーを流し込む。そして加熱し、

固化させてPDMSスタンプを得る。次に、このスタンプ表面に分子を吸着させ、基板に密着(コンタクト)することで、パターン化した凸部に対応した分子の膜を基板上に作製する。

例えば、ヘキサデカンチオールをインクとする場合、約2mMのエタノール溶液につけた後、10~20秒間コンタクトさせる。長時間(30秒間以上)コンタクト基板とさせると、ヘキサデカンチオールが拡散して明瞭なパターンができなくなる。最近では本方法により、10nmの分解能までのパターンが報告されている。

PDMSは無機のシロキサン骨格に有機のメチル基を側鎖につけたもので、スタンプの素材にはこれ以外にも、ポリウレタン、ポリイミドなども用いることができる。また、これまでは、主にチオール基を末端に持つ有機分子を金基板上にパターン化することが多かったが、銀や銅の上にも同様にパターン化された。また、アルキルシロキサンの水酸化表面へのパターン化や、コロイド粒子や高分子をインクとして用いて、疎水性相互作用でマイクロパターン状に吸着させることも報告されている。

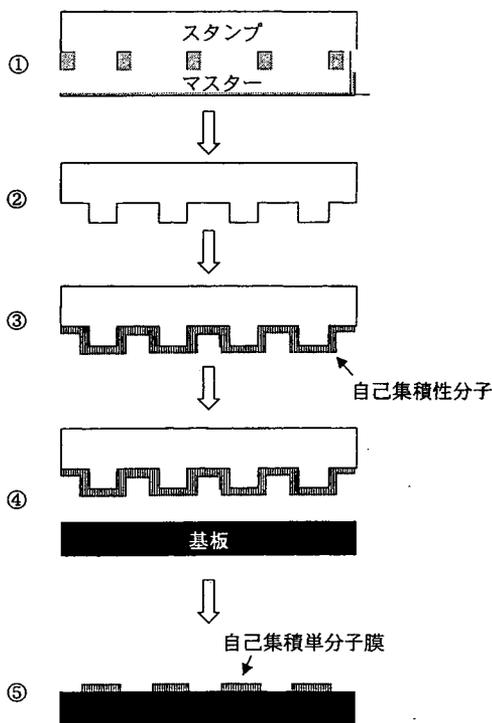


図1 マイクロコンタクトプリンティング( $\mu$ CP)の原理

- ①マスターにポリジメチルシロキサン(PDMS)プレポリマーを流し込んだ後、固化させる。
- ②固化させたPDMSをマスターから剥がす。 ③PDMS表面上に自己集積性分子を吸着させる。
- ④PDMSを基板に接触させる。
- ⑤PDMS凸部の分子が転写され、自己集積単分子膜(SAM)のマイクロパターンが形成される。

(伊藤 嘉浩)

## マイクロパターン技術

### 13.1 はじめに

再生医工学では、生体組織の再生が重要なテーマとなる。生体組織は、細胞がマイクロメートルスケールで秩序立った構造を形成して成り立っている。マイクロパターン化は、生体と材料の相互作用を微細なレベルで研究するうえで、そして生体組織を微細なレベルから再生するうえで重要な要素技術として研究されてきた<sup>1),2)</sup>。そして最近では、ゲノミクス、プロテオミクス、セロミクス解析のため、あるいはドラッグスクリーニングのためのマイクロアレイシステムとしての研究も盛んに行われるようになってきた<sup>3)</sup>。

本章では、まずマイクロパターン素材と技術について述べたあと、生体分子を用いたマイクロパターン化、マイクロアレイの応用、さらにこれらマイクロパターン材料の医工学分野での応用について述べる。

### 13.2 マイクロパターン素材

これまでにマイクロパターン化処理が施されてきた素材にはシリコン、ガラス、高分子材料（プラスチック）がある<sup>4)</sup>。

シリコンは集積回路の加工で歴史があり、微細加工で最もよく用いられる。典型的な単結晶ウエハは直径 75~200 mm で厚みが 0.25~1.0 mm である。その優れた電気的性質に加えて機械的特性も優れていることから微細加工に適している。初期の研究では微細加工シリコンと細胞との相互作用を調べたものがあつたが、現在では、透明でないことやコストもかかることから基材としては汎用されず、マスター/モールドとして使用される場合が多い。

ガラスはシリコンほど微細加工技術の集積はないが、透明であることからさまざまに用いられている。組成から、融合シリカとボロシリケートに分類され、前者は純粹の無定形二酸化シリコン (SiO<sub>2</sub>) で 1580°C まで耐え、自家蛍光も非常に低い特徴がある。後者の例としてはパイレックス® が知られ、融合シリカより非常に安価で、シリコンよりも安価である。

高分子材料は最も安価で大量生産に適している。しかし、マスター/モールドとしてシリコンやガラスを必要とする。また、精密な微細加工は困難な場合が多く、自家蛍光がしばしば問題となる場合がある。

このように、それぞれの素材には特徴がある。シリコンはおもに凹凸マイクロパターンの形成に、ガラスや高分子材料は凹凸パターンだけでなく、マイクロパターン化表面修飾あるいは生体分子固定化に用いられてきた。ガラスはシランカップリング処理などにより表面が有機化され、高分子材料と同じように用いられる場合も多い。

### 13.3 マイクロパターン化法

マイクロパターン化は図 13.1 のように凹凸や親水・疎水のような 2 元系と、多種類の生体分子を微小領域に固定化した多元系に分けられる。材料の微細加工としては古くから 2 元系パターン化が行われてきたが、1990 年代に DNA チップを代表とするマイクロアレイバイオチップが応用されるようになると、さまざまな多元系パターン化が行われ、いまやバイオテクノロジー分野では欠くことのできない技術になってきた。

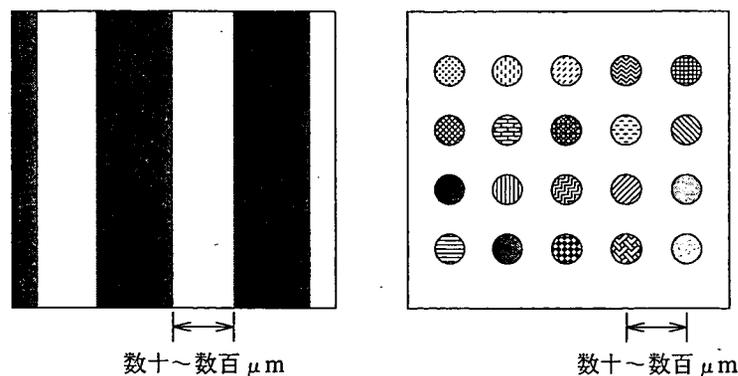


図 13.1 2 元系 (左) と多元系 (右) マイクロパターン化

#### 13.3.1 2 元系マイクロパターン化

2 元系のマイクロパターン化のために、これまでに多くの方法が考案されてきた<sup>5)</sup>。そして 2 元系は、さらに 2 次元平面をマイクロパターン化する場合と、3 次元あるいは 2.5 次元に幾何学的な凹凸をマイクロパターン化する場合に分類される (図 13.2)。

〔1〕 平面マイクロパターン 平面をマイクロパターン化する基本的な方法を図 13.3 にまとめる。これまでさまざまな方法により、親水・疎水性のマイクロパターン化や生体分子の固定化・非固定化領域のマイクロパターン化が行われてきた。

1) 光リソグラフィ法 最も一般的な方法は、光リソグラフィ法である。これは、光

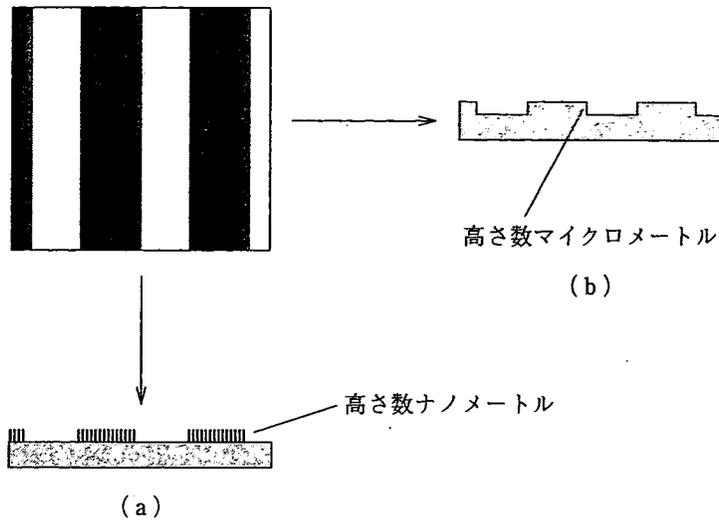


図 13.2 2元系マイクロパターン化。図 (a) は表面性質 (親水・疎水や生体分子固定化・非固定化) のマイクロパターン化。図 (b) は幾何学的マイクロパターン化

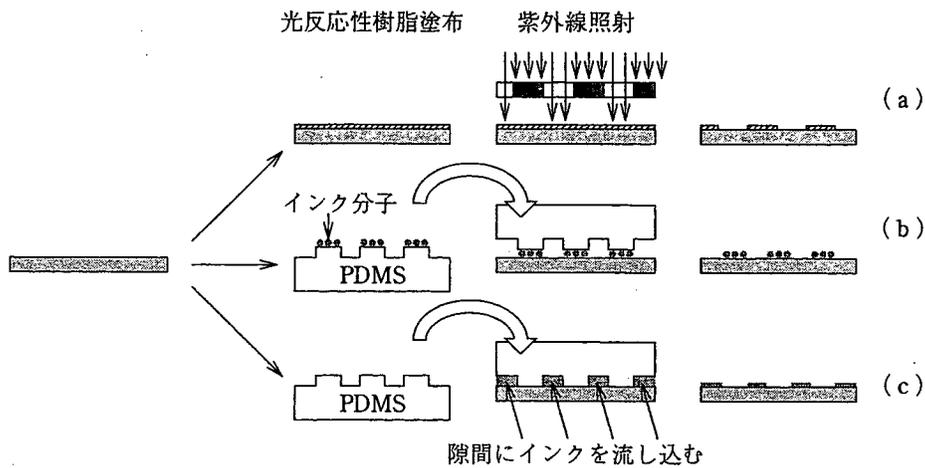


図 13.3 平面上の2元系マイクロパターン化の方法。図 (a) は光リソグラフィ。図 (b) はソフトリソグラフィの一つ、マイクロコンタクトプリンティング法。図 (c) はソフトリソグラフィの一つ、マイクロ流路を用いる方法。

反応性の高分子樹脂 (フォトレジスト) を用いる。図 13.3 (a) で示すように、光反応性高分子をキャストしたのち、乾燥し、UV 光をマスクを介して照射することにより行われる。マスクには UV 光を通す透明ガラスにマイクロパターン状にクロムを蒸着したものがよく使用される。透明部分だけを UV 光が透過し、光反応性高分子が反応して架橋が起こり、マイクロパターンが形成されることになる。光マスクにはマイクロメートルレベルからサブマイクロメートルレベルのパターンができる。

2) ソフトリソグラフィ法 ハーバード大学の Whitesides らのグループが中心に開発してきているもの<sup>6),7)</sup>で、微細加工した透明で弾性体のポリジメチルシロキサン (PDMS)

を用いることから、こう名づけられた。その一つは、マイクロコンタクトプリンティング法で、これは図 13.3 (b) に示すように、微細加工したモールドに液体の PDMS を流し込み、架橋させて固体の PDMS スタンプを作成する。できあがったスタンプの凸部分に自己集積性の分子をインクとして塗り、基材に押し付け転写を行う。柔らかいスタンプを用いているため曲面への転写も可能で、何回も押すだけで作成できる。一度スタンプを作成すれば、安価になるなどの利点がある。現在では、数十ナノメートルレベルのパターンの形成が可能になり、転写する分子も自己集積性の低分子化合物から、吸着性の高分子化合物まで応用範囲が広がってきている。

そのほかの方法としてマイクロ流路を用いた方法なども使われる (図 13.3 (c))。この場合も PDMS スタンプを用いるが、スタンプの凸部分でなく、スタンプ凹部分と基材の隙間にインクを流して転写を行う。

3) 傾斜パターン化 さらに、図 13.4 に示すような傾斜パターン化 (グレイ) もさまざまな方法で作成されるようになってきている<sup>9)</sup>。グラデーションパターンの光マスク、マイクロ流路を使った傾斜化、処理時間の制御によるアナログ的な傾斜化などが行われている。また、マイクロパターンの粗密によって傾斜を作成するデジタル的な傾斜パターンも作成されている。これら傾斜パターンは細胞の運動性を検討したり、固定化分子の表面濃度依存性を検討する際に有用となる。

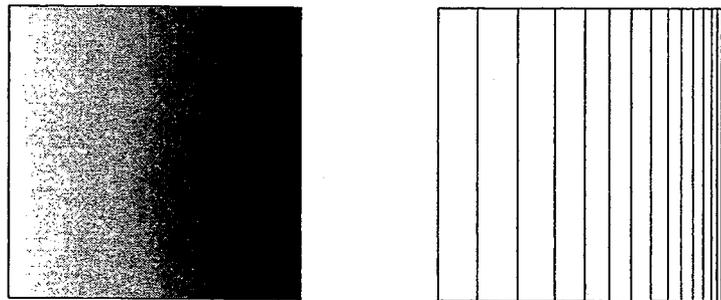


図 13.4 傾斜表面の作成。アナログ的傾斜 (左) とデジタル的傾斜 (右)

〔2〕 立体的マイクロパターン 立体的、3 次元的マイクロパターン化、特にシリコン加工は、マイクロマシニングとも呼ばれ、エッチングと蒸着で表面に立体的な凹凸パターンを形成する。最も一般的な方法は図 13.5 に示すような方法である。フォトレジストを表面に均一に塗布し、マイクロパターンを投影露光する。フォトレジストにはネガ型とポジ型があり、前者は感光部が難溶性になり、後者は可溶性になる。したがって、現像するとネガ型では露光した部分が、ポジ型では露光しない部分が基板に残される。残されたレジストをマスクとして非被覆領域をエッチング、イオン注入、あるいは金属蒸着して、最後にレジス

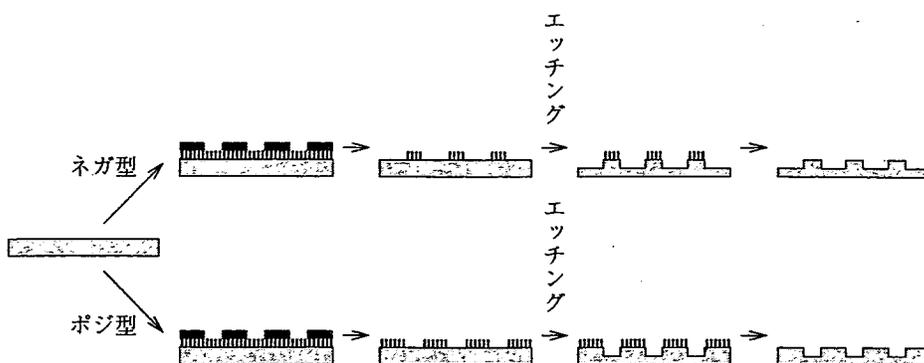


図 13.5 光リソグラフィの方法。ネガ型では光硬化レジストを使用し、ポジ型では光分解型レジストを用いる。

トを除去することによって最終的に凹凸パターンを作成できる。光源には、紫外線、エキシマーレーザー、電子線、イオンビーム、X線（シンクロトロン放射光）などが用いられる。

そのほかに、マイクロ切削などの機械加工、電解・放電加工、電子ビーム加工、レーザー加工、イオンビーム加工のようなマイクロ電気加工、イオンプレーティング、気相成長法（CVD）、最近ではレーザー加工、RIE（reactive ion etching）、FIB（集束イオンビーム加工）、FAB（fast atom beam）などの微細加工技術が開発されてきている<sup>9)</sup>。光マスクを用いないレーザー加工や電子線加工は、時間はかかるものの、さまざまなパターンが自由に描ける特徴がある（図 13.6）。

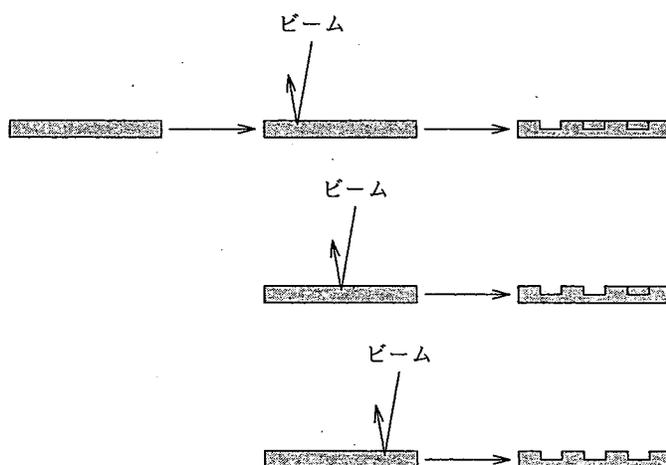


図 13.6 光マスクを用いずに集束ビームを用いて立体的なマイクロパターン化を行う

高分子材料の加工では、図 13.7 に示すような射出成型法、プレス法、ホットエンボス法などが知られている。比較的古くからの成型法であるが、微細加工技術の進歩に伴い、マイクロレベルからナノレベルまでの加工が可能となってきており、ナノインプリント法とも呼ばれるようになってきている。

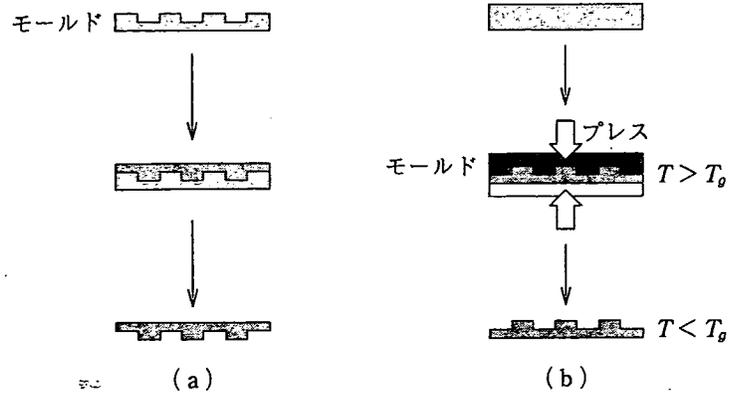


図 13.7 高分子樹脂の微細加工。図 (a) は射出成型，金型（モールド）に樹脂を流し込み成型。図 (b) はナノインプリント法。樹脂をガラス転移点 ( $T_g$ ) 以上にまで加熱し，モールドを押し付けて成型し，ガラス転移点以下にしてから離型。

### 13.3.2 多元系マイクロパターンニング（マイクロアレイ）

マイクロアレイバイオチップのためのマイクロパターンニング，すなわち多元系マイクロパターンニングは，1990年にFodorらが光リソグラフィ法を用いてペプチドのマイクロアレイを作成したことに始まる（図13.8）<sup>3)</sup>。彼らは，ペプチド固相合成を光保護基を用いて行うことで，マイクロレベルで領域ごとに別々の配列のペプチドを作ることに成功した。のちに，DNAのマイクロアレイに応用され，これが，ジーンチップとしていまや世界中で遺伝子解析に用いられている。

このように，チップ上で生体分子を合成しながら多元系を作成していく（Fodorらが設立したアフィメトリクス社にちなんで，アフィメトリクス型と呼ばれる）ほかに，既存の生

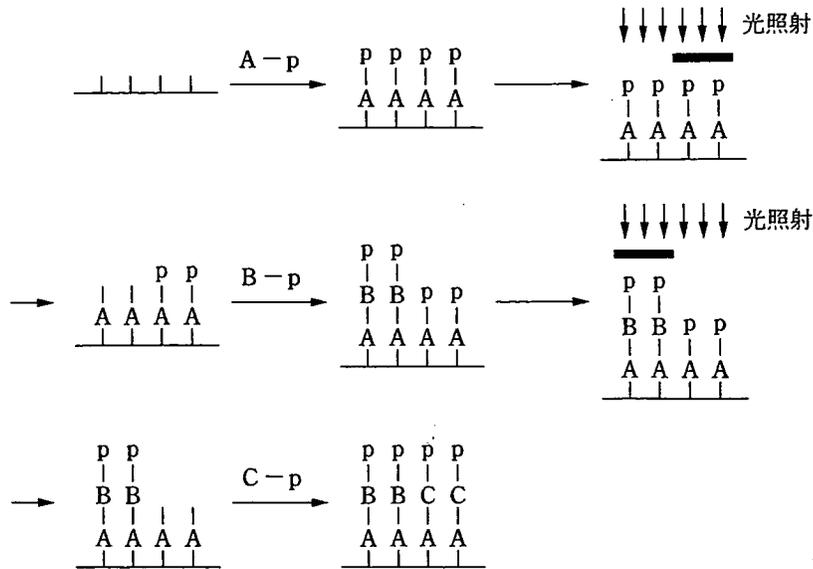


図 13.8 光リソグラフィを用いたマイクロアレイ作成法。図中の A~C は塩基あるいはアミノ酸を，p は光照射によって解離する光保護基を示す。