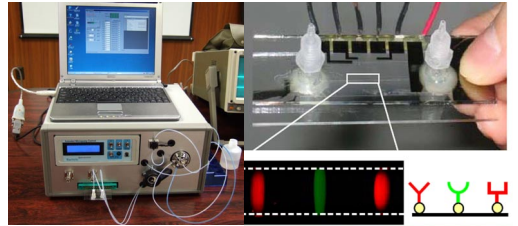


# 新規の表面改質技術「電気化学バイオリソグラフィー(注1)」を確立 使い捨て型のマイクロ流路型チップに搭載しタンパク質や細胞を “その場”で“簡単に”固定して計測できるバイオチップシステムを創出した

マイクロ流路(注2)内部でも、乾電池程度(1.7V、10秒)の直流電圧をかけることでタンパク質や細胞の固定が可能に。抗体を固定すればイムノアッセイ(免疫測定)チップが、あるいは細胞を捕集固定すれば細胞診断チップが、必要なときに必要な場所で簡単に作製できます。



▲バイオリソグラフィー試作機の外観(左)と流路内のマルチ抗体固定を実現(右)  
バイオリソグラフィー試作機(左)の差込口に流路チップ(右)を挿入し、パソコン画面上で使用する抗体を設定すると、マイクロ流路の内壁に自動的に抗体が固定される。右の例では、3種の異なる抗体が配列固定されている。

- “即答性”や“連続性”という要求に応えることができます。
- 健康分野では感染のテストや救急医療、環境分野では生物災害や大気汚染等で、原因物質をオンサイト(現場)で特定することができます。また、食品分野におけるアレルギー検出や、港・空港での検疫検査などに活用できます。

## 競合技術への強み

	精度	簡便性・汎用性	その場性(細胞培養中)	流路への搭載
フォトリソグラフィー [実用レベル]	◎ サブミクロン	△ 大型装置必要	× 有機溶剤などの細胞毒性高	×
スポットニング法 インクジェット法 [実用レベル]	○ 数ミクロン	◎ 簡便	△ 可能な場合もある	△ 可能かもしれないが、簡便でなくなる
マイクロスタンプ法 リソグラフィー [研究レベル]	○ 数ミクロン	◎ 簡便	△ 可能な場合もある	×
本研究の技術 [研究レベル]	△ 数ナノメートル	◎ 簡便(電極と乾電池のみ)	◎ 可能(本研究で実証)	◎ 本研究で実証

▲タンパク質や細胞の固定化技術における従来技術と本研究との比較表

- ①簡便性・汎用性：電気化学バイオリソグラフィーは簡便なウェットプロセスで、電極と電源(乾電池程度)だけで行えるシンプルな機構です。
- ②その場性：シンプルな機構なので使い捨て型のマイクロ流路などへ集積でき、タンパク質や細胞を“その場”で固定して計測を行えます。
- ③流路への搭載：流路の上壁に電極アレイ(配列)をつくり込むことで、流路内でも電気化学バイオリソグラフィーが行えることを実証しました。
- ④計測時間：抗体固定から計測結果を得るまでの操作に必要な時間は現在約70分ですが、装置の自動化により、目標である1時間が達成できる見通しが立ちました。

## ここがポイント

AFM(原子間力顕微鏡)(注3)、TOF-SIMS(飛行時間型二次イオン質量分析)による原子・分子レベルの表面解析や、共焦点蛍光顕微鏡(注4)観察などによって「電気化学バイオリソグラフィー」の原理解明に取り組みました。その結果、物理吸着したアルブミン(注5)分子(または静電吸着したヘパリン(注6))が、次亜臭素酸の酸化力によって基板から速やかに脱離し、タンパク質の吸着や細胞接着が局所的に誘導されるメカニズムを解明しました。また、マイクロ流路の上壁に電極アレイをつくり込むと、流路内でも電気化学バイオリソグラフィーが行えることを確認。さらに電気化学リソグラフィー操作を繰り返すことによって、流路内に複数種類の抗体を固定できることもわかりました。

マイクロ流路チップへの送液(溶液の入れ換え)と電圧印加(電気化学処理および細胞の捕集)をプログラムに沿って自動制御する装置の試作は、プレジジョン・システム・サイエンス株式会社と共同で行いました。

## ブレイクスルーへの道のり

2002年：それまではバイオチップで細胞を固定する技術を開発していたが、実際の細胞活動のダイナ

ミックス(足を伸ばしたり引っ込めたり、周囲を探りながら「自分はどうあるべきか」を逐一考えながら生きていく)に惹かれ、細胞の機能を損なわずに固定できる方法をさらに模索する。

2003年：学生の協力を得ながら試行錯誤の末、電気化学バイオリソグラフィーの基礎となる次亜臭素酸によるアルブミンの脱着現象を偶然見出し、生体材料の固定化技術への利用を着想。実証にも成功する。

2004年：上記着脱現象における表面反応の詳細について定量的な解析を進める一方、その応用として低侵襲で簡便という長所があるウェット系リソグラフィーへの適用可能性を模索。バイオリソグラフィーの新領域開拓に取り組む。その結果、細胞遊走(注7)のその場ナビゲーションを実現。この方法はバイオリソグラフィーのオプションとして認識され、MRS Bulletinなどでも紹介される。

2005年：この頃、活発化していたバイオ計測プラットフォームとしてのマイクロ流路チップの開発・実用化において、流路内壁のバイオ化学機能の制御が困難であることがボトルネックと認識する。電気化学バイオリソグラフィーがマイクロ流路に搭載できることに気づき、On-Demandバイオ固定システムの創出を念頭に平成17年度産業技術研究助成に応募し採択される。

2006年：研究開発目標を着々と達成。パターンニング精度の向上(線幅5μm以下、誤差5%以下)、抗体や細胞の流路内パターンニング、複数抗体の配列固定によるマルチイムノアッセイ(注8)などを実現。一方、細胞の固定に要する時間短縮のため、誘電泳動(注9)を組み合わせたプロセスを開発。少数の細胞をすべって捕集して接着させることを可能にする。

2007年：株式会社東北テクノアーチの紹介によるプレジジョン・システム・サイエンス株式会社の協力のもと、バイオリソグラフィー試作機1号機を完成。電気化学バイオリソグラフィー、誘電泳動、溶液交換や洗浄などが、PC画面上の入力操作に従って半自動的に連続して行われる装置を実現する。

## ■サクセス・キー

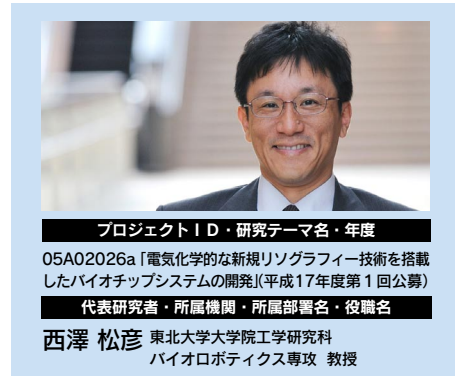
「細胞接着をダイナミックに制御したい!」という私のこだわりがスタートで、同じこだわりを共有する優れた共同研究者たちとの地道な実験によって「成功の尻尾」をつかむことができた。さらに予想外の新現象を見出す幸運に恵まれました。

展示会などに積極的に参加して技術を紹介したことで、改善・改良のヒントを得たことも大きな鍵でした。株式会社東北テクノアーチによる確かなサポート、特許出願、試作機製作のパートナー紹介なども欠くことのできない要素です。

## ■ネクスト・ストーリー

タンパク質や細胞を流路内局所に固定することを可能とし、一連の操作を半自動的にPC制御下で行えるバイオリソグラフィー試作機の作製に到達しました。将来的には血球細胞の形態診断や、培養細胞を用いる薬剤アッセイ(分析・評価)や化合物の安全性試験などの基盤装置として実用化を検討します。現時点では作製したバイオチップを顕微鏡下で評価していますが、今後は計測システムの一体化にも取り組みます。具体的にはQCM(水素振動子を利用した計測装置)を流路チップに組み込める見通しが立っているため、抗体の固定から計測までを1台で行えるオールインワンの小型装置を開発し、オンサイト計測を実現するのが最終目標です。

- (注1) バイオ固定化技術の一種。ヘパリンやアルブミンを吸着させた基板に近づけた微小電極で次亜臭素酸を生成すると、電極の近傍にだけタンパク質や細胞が接着する現象を利用する。
- (注2) ガラス、金属、プラスチックなどの基板上に約10μm～約1mmの幅で設けられている流路。
- (注3) 試料と探針の原子間に働く力(原子間力)を検出して画像を得る顕微鏡。
- (注4) 蛍光標本を詳細に観察、解析する顕微鏡で、焦点の合った画像成分のみを抽出できる。
- (注5) 血清に含まれるタンパク質の一種。これを物理吸着させると、他のタンパク質の吸着を防ぐ効果を示す。
- (注6) 血液の抗凝固薬のひとつで、これもタンパク質の吸着を防ぐ効果を示す。
- (注7) 細胞が組織内を自由に移動すること。
- (注8) 多種類の抗原に対する免疫計測を同時に行うこと。
- (注9) 荷電粒子または分子が電場(電界中)を移動する現象。あるいは、それを利用した解析手法。



プロジェクトID・研究テーマ名・年度  
05A02026a「電気化学的な新規リソグラフィー技術を搭載したバイオチップシステムの開発」[平成17年度第1回公募]  
代表研究者・所属機関・所属部署名・役職名  
西澤 松彦 東北大学大学院工学研究科  
バイオロボティクス専攻 教授