

チップ上のバイオ実験室

山田 真澄

微細加工技術によるバイオ微小実験系の構築は、研究が活発になり早や10年が経過した。今や「手のひらサイズの、チップ上の実験室」は、生化学分析から細胞培養、さらには微小動物の操作に至るまで盛んに研究されている。

初期の有名な例として、ハーバード大のWhitesidesらによる、一個の細胞の左右を異なる化学物質によって処理する研究が挙げられる¹⁾。マイクロ流路内の底面に単一の動物細胞を接着させ、安定な層流によって細胞の左右のミトコンドリアを別々の色素で染色し、その動きを観察する、という非常にシンプルであるが画期的な実験系であった。当時、マイクロ流路と言えばマイクロチップ電気泳動がほとんどであった頃であり、目からうろこが落ちるようなインパクトを感じた記憶がある。また同じ頃、東大(当時)安田らは、1個の大腸菌を直径数10 μm のチャンパー内で培養し、その個々の増殖の様子を詳細に観察した²⁾。このように当初は一部の研究者による先駆的研究がなされていたが、マイクロ流路の有用性が認識されるにつれ、さまざまなバイオ実験への応用がなされてきた。たとえば細胞の操作に限っても、単一細胞の培養や解析、正確かつ連続的なソーティング、高効率な形質転換など、枚挙にいとまがない。最近ではMITのVoldmanらが、正確にペアリングした2種類の細胞からハイブリドーマを作製している³⁾。流路中に、細胞を1つだけトラップできる凹部と、2つトラップできる凹部を多数作製しておき、まず1種類目の細胞をトラップし、次に流れの方向を変化させ、最終的に2種類の細胞を一つずつペアしてトラップする。その後細胞融合すると、通常は数%である細胞融合の確率が50~70%まで向上した。

動物細胞やバクテリアなどを対象とした研究で用いられるマイクロ流路サイズは、一般的には数 μm ~数100 μm 程度であることが多い。しかしたとえば、ショウジョウバエの胚、線虫、植物の根など、少し大きな対象の操作を可能とする、マイクロ流路を用いたユニークな応用研究例も多数報告されている。

シカゴ大のIsmagilovらは、分岐を有する流路内にショウジョウバエの胚(長さ500~600 μm)を固定化し、その前方と後方を、それぞれ温度の異なる流れに置き、時

間的・空間的な環境を制御して、発生のダイナミクスに対する影響を評価した⁴⁾。その結果、高温部分において発生の段階が促進され細胞の密度が上昇する一方で、最終的なパターン形成は環境要因に対して比較的影響を受けにくいことを見いだしている。微小な閉鎖的空間のフロー系利用によって初めて、1 mmに満たない対象物の局所的な温度を変化させることができたと言える。

また、一般的なモデル動物であるが、動きまわるために正確な操作が難しい線虫(*Caenorhabditis elegans*)を、流路内の流れを用いて物理的に固定化する手法もいくつか報告されている。その先駆けは、MITのYanikらによるものであり、マイクロ流路中の流れを制御して、線虫をトラップして薬剤による刺激を与える、あるいはソーティングすることが可能となった⁵⁾。その後類似の研究として、流路内にトラップした線虫にレーザーを照射し、神経を切断した時の影響の評価も報告されている⁶⁾。プラスチックのかごを2つ重ねた自作の器具を用いてラットを固定化すると注射を打ちやすい、という手法をどこかで読んだ記憶があるが、その縮小版であるとも言えよう。

さらにマイクロ流路の応用研究として、シロイヌナズナの根に対する、薬物の局所的刺激による生長や形態変化の制御システムなども開発されている⁷⁾。このように、マイクロ流路という実験装置を用いることによって、これまでは簡単には実現できなかったミクロスケールのバイオ操作とその応用が次々と提案されている。今はまだ、微細加工技術や流路技術の研究者が応用分野の開拓を行っている段階であるため、このような「チップ上の実験室」が生物学者・生物工学者に使われる機会はそれほど多くない。しかし、今後はバイオ研究室でのスタンダードツールとして広く使用される可能性がある。

- 1) Takayama, S. *et al.*: *Nature*, **411**, 1016 (2001).
- 2) Inoue, I. *et al.*: *Lab Chip*, **1**, 50 (2001).
- 3) Skelley, A. M. *et al.*: *Nat. Methods*, **6**, 147 (2009).
- 4) Lucchetta, E. M. *et al.*: *Nature*, **434**, 1134 (2005).
- 5) Rhode, C. B. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 13891 (2007).
- 6) Guo, S. X. *et al.*: *Nat. Methods*, **5**, 531 (2008).
- 7) Meier, M. *et al.*: *Lab Chip*, **11**, 2147 (2011).