B373

FT-IR 顕微分光とラマン顕微分光によるバイオイメーシングの意味付け

○三好 憲雄¹、山田 哲史²、小川 透²、木下 英荘² (¹福井医大・医・病理(1)、²福井医大・医・口外)

赤外線吸収や反射スペクトル情報は、振動分光学と言われ、生体内の分子指紋領域とも言われ、今後、生体内での生化学的定量分析能を伴うバイオイメーシングにまで、発展可能であると言える。そのためには、数々のバイオイメーシングの解釈が、慎重に行なわれる必要がある。また、スペクトルピークの合理的な帰属と生体成分の特定が困難であるものの、FT-IR 顕微鏡とラマン顕微鏡による両者のバイオイメーシングを検討した。また、空間分解能には限界があるものの、従来の組織像との対応で、両者の相補性を最大限に活用して、生物学的意味付けを試みたので、報告したい。扱うサンプルには、実験腫瘍モデルや動脈硬化層、歯や髪の毛、爪、腎臓結石等を凍結薄切切片したサンプルをBaF₂の透過板に載せて、各々の顕微鏡で観測した。組織内蛋白質の二次構造の成分比率の変動と腫瘍壊死との関連性、コレステロールの沈着部位と石灰化部との関係、シュウ酸カルシウムとリン酸カルシウムの済み分けと他の成分例えば有機酸とリン酸カルシウム、コレステロールとシュウ酸カルシウムとの相互関係及び親和性などが、少しずつ分かりつつあるので、広く生体成分間での相互作用が、今後バイオイメーシングを通して解明されつつある。その詳細に付いて報告する予定である。

N. Miyoshi, T. Yamada, T. Ogawa, and H. Kinoshita : Biooical Meaning for Bioimaging by FT-IR spectro-microscopy and Raman spectro-microscopy.

B375

昇温型温度感受性ハイドロゲルを用いた生体分子ソーターの開発

○白崎 善隆¹、田中 純一²、関口 哲史²、庄子 習一²、月田 承一郎³、船津 高志¹ (¹早大・理工・物理、²早大・理工・電生、³京大院・医)

生命科学研究において細胞内の大半の生命活動を担うタンパク質の機能解析は、極めて重要な意味を持っている。タンパク質はその機能を発現させるためにオルガネラなどの超分子複合体を形成しているため、超分子複合体ひとつひとつの構成要素を解析することが重要である。本研究では蛍光標識した特定の生体分子または超分子複合体を単離・精製し、その構成要素や機能を解析することを目標としている。このうちで最も問題となるのは、任意の生体分子を高効率で分離することである。私たちは半導体微細加工技術を用いて製作した微小流路において昇温型温度感受性ハイドロゲルを試料とともに流し、溶液の局所加熱を流路分岐で行うことでゾルーゲル相転移を誘起して流れ制御を行う、マイクロソーターを開発した。このソーターにおける温感性ゲルのゾルーゲル相転移に所要する時間は、ゾル化、ゲル化ともに3ms程度であった。また、試料の蛍光を検出してから分離するまでの一連の作業を33ms以内で行うことができた。

Y. Shirasaki, J. Tanaka, T. Sekiguchi, S. Shoji, S. Tsukita, and T. Funatsu : A biomolecular sorter using thermosensitive hydrogel in micro flow system

B374

MEMS技術を用いた脂質平面膜アレイチップ

○鈴木 宏明、野地 博行、竹内 昌治 (東大生研)

ポストゲノム研究が重要となっている現在、DNA マイクロアレイチップの概念を応用した、タンパク質アレイチップが市場に登場しつつある。しかし、これらのほとんどは可溶性のタンパク質をターゲットとしたもので、物質輸送や免疫反応などに重要な役割を果たす膜タンパク質の機能解析およびセンサー応用は依然困難である。

本研究では、マイクロ加工技術を用いて作製した微小孔(直径100ミクロン程度)のアレイに、脂質溶液およびバッファを供給するマイクロ流路を集積化した、人工脂質平面膜のアレイチップの実現に取り組む。シリコン酸化膜の両側に単結晶シリコンの活性層が存在するSOIウエハを用い、シリコン酸化膜層に小孔群を、その両側の活性層部分に流路をパターニングした後、ガラスをボンディングすることによりアレイチップを製作する。

半導体加工技術を応用したリソグラフィ技術を用いているため、小孔径および脂質溶液注入量の正確な制御が可能となり、また、アレイ化も容易に実現できる。特定の化学物質に対する反応等を調べる際にも、微量な試薬の正確な制御が可能となる。従って、従来のペインティング法やLB法などの平面膜作成法に比べて再現性が向上し、また、アレイ化によって処理能力を大幅に改善できる。

本発表では、平面膜アレイチップの特性について論じる。今後は、本デバイスに銀・塩化銀電極層を集積化し、膜電位の測定・印加による膜タンパク質(ATP合成酵素やイオンチャネル等)の活性測定を行う。将来的には、多チャンネルのイオンセンサーや、ドラッグスクリーニングへの応用を目指す。

H. Suzuki, H. Noji, and S. Takeuchi : Planar lipid membrane array chip fabricated by MEMS technology

B376

マイクロ加工技術を用いた蛋白質のパターニング

○熱田 京子、野地 博行、竹内 昌治 (東大生産研)

MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) は、バイオや化学など様々な分野との融合が図られている。特に化学反応・検出をマイクロチップ上で行う、 μ TAS (Micro total Analysis systems) と呼ばれる分野の発展は目覚しく、DNAチップやマイクロ流体デバイスなどへの利用が盛んに行われている。

蛋白質のチップ化も例外ではなく、基板上にマイクロサイズで蛋白質をパターニングすることが試みられている。一つのチップ上にアレイ状にパターニングすることにより、その反応の場所を確定できるため効率よく反応・解析が行える。本研究では、活性を保持したまま蛋白質(酵素)をマイクロサイズで安価で簡単にパターニングすることを目的としている。パターニングした酵素が活性を保持しているかどうかを、その場で目視により確認することが可能なF1ATPaseを利用した。

半導体加工技術とドライエッチングにより、Si基板上に種々のサイズの微細構造のパターンを作成した。それにPDMSをスピンコートし型取りすることで、微細な穴がパターニングされたPDMSメッシュを作成した。このPDMSメッシュをスライドガラスに貼り付け、そこにF1を注入し、PDMSを剥がすことによりF1をスライドガラス上にパターニングした。

本講演では、100 μ m程度のPDMSメッシュを用いてF1パターニングを行い、F1の回転を観察した結果を報告する。

K. Atsuta, H. Noji, S. Takeuchi : Protein patterning by micro fabrication technology