



オンチップ細胞計測に関する研究

ーその2: 細胞内計測のためのナノツールの細胞導入と細胞内レーザー操作ー

○正 丸山央峰¹ 港谷恭輔² 吉田圭佑² 本田文江³ 高畑辰郎³ 正 新井史人¹

¹名古屋大学大学院工学研究科機械理工学専攻, ²東北大学大学院工学研究科バイオロボティクス専攻

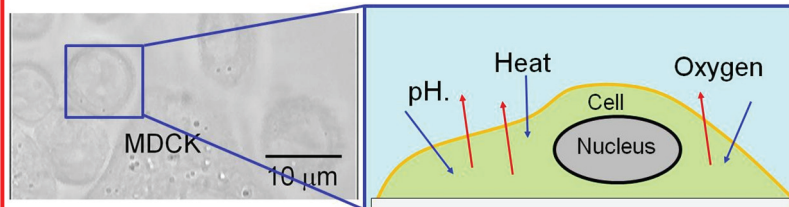
³法政大学工学部生命機能学科



細胞内計測用ナノツールを特定の細胞へ投入するには？

Background

細胞内外の物理・環境計測は細胞解析に重要



従来の細胞内計測手法

ナノプローブの挿入

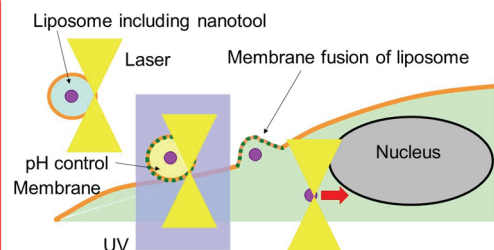
抗体修飾ナノ計測ビーズ

M. Suzuki, Biophysical J, (2007), L46
細胞の損傷の可能性有

T Nagai, Nature biotech., (2002) 20, 87
特定細胞への投入が困難

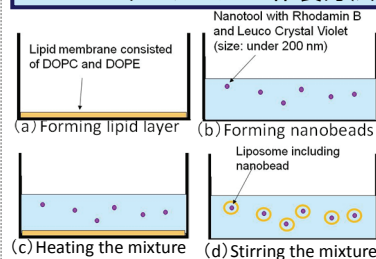
特定の細胞へのセンサの投入が困難

Concept



低pHで細胞膜と融合するリポソームにセンサを内包し、細胞表面でリポソーム内のpHを光制御することで特定の細胞へセンサを投入する。

ナノツールの作製方法

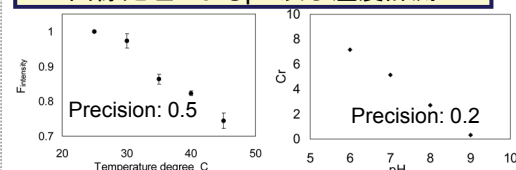


ナノツールの材料:

PEG-DA 1g
ロイコクリスタルバイオレット
ローダミンB 0.1g (0.5mg/l)

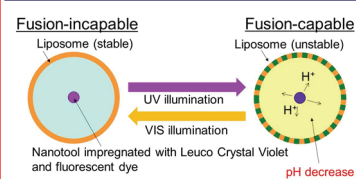
細胞融合リポソームの材料:
DOPC 0.01g
DOPE 0.01g

画像処理によるpH及び温度計測



温度計測:
ローダミンB
pH計測:
BCG

ツール導入の原理



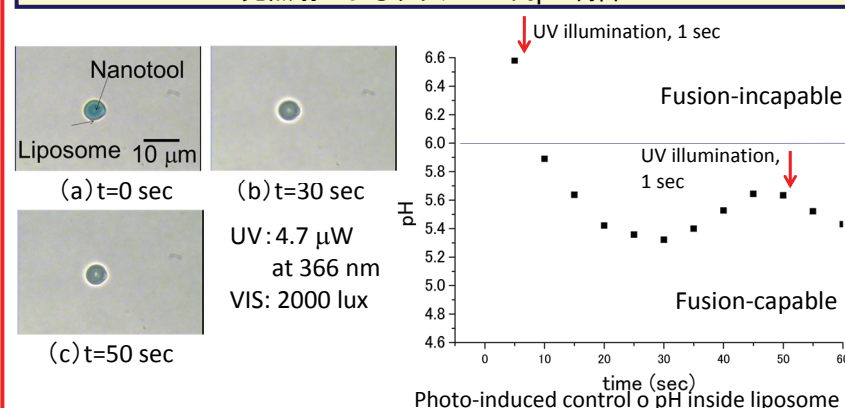
LCV導入量とpH変化量の関係

$$10^{-pH_2} - 10^{-pH_1} = \frac{M_{LCV}}{\rho_{gb}} \times \left(\frac{D}{d} \right)^3 \times 10^{-3} \times \frac{m_{gb}}{m_{LCV}}$$

d: ツールの直径[m], D: リポソームの直径[m]
V1: ツールの体積[m³], V2: リポソームの体積[m³]
pH1: リポソーム内の初期pH, pH2: リポソーム内の目的pH
 ρ_{gb} : ツールの密度[g/ml], M_{LCV} : LCVの分子量, U_{LCV} : LCVの濃度[g/m³]
 m_{gb} : ツール1個の質量[g], m_{LCV} : ツール1個に含まれるLCVの質量[g]

Experiment

光照射によるリポソーム内pH制御

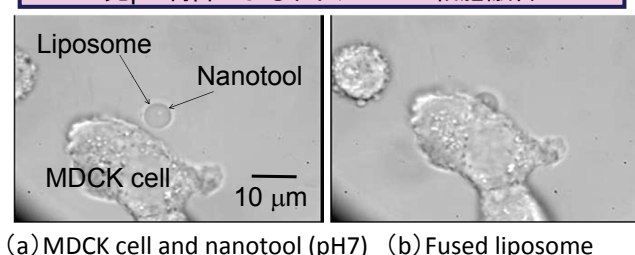


光pH制御によるリポソームの特定細胞への付着率

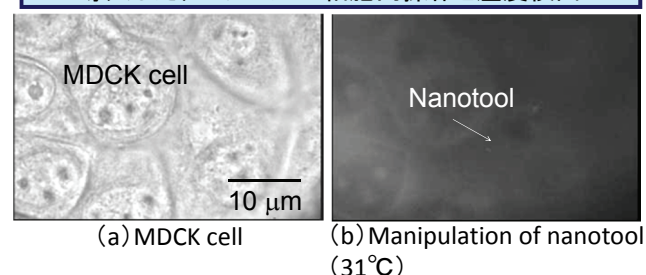
ゲルとLCVの混合比	成功率(UV無)	成功率(UV有)
$m_{LCV}/m_{gb} = 0.1$	0 %	95 %

ナノツールの特定細胞への投入に成功
ナノツールの細胞内操作と温度検出に成功

光pH制御によるリポソームの細胞融合



導入したナノツールの細胞内操作と温度検出



謝辞: 本研究は科学技術振興事業団の戦略的基礎研究推進事業「CREST」の研究領域「最先端レーザー等の新しい光を用いた物質材料科学、生命科学など先端科学のイノベーションへの展開」の研究課題「光ピンセットによる核内ウイルスRNA輸送と染色体操作〜ウイルスゲノム除去への挑戦〜」の支援によるものです。

Reference: Hisataka Maruyama, Kyosuke kotani Keisuke Yoshida, Ayae Honda, Tetsuro Takahata Fumihito Arai, On-chip Cellular Measurement -Part 2: Injection and Laser Manipulation of Nanotool for Intracellular Measurement-, Proc. of Robomec2010, pp. 154(2A2-A01), Asahikawa, 2010.

本研究に関するお問い合わせ先: 丸山 央峰 (Hisataka Maruyama)

E-mail: hisataka@mech.nagoya-u.ac.jp, URL: http://www.biorobotics.mech.nagoya-u.ac.jp/, TEL: 052-789-4493, FAX: 052-789-5213

〒464-8603 名古屋市千種区不老町 名古屋大学大学院工学研究科 機械理工学専攻 新井研究室

