



高感度バイオセンサ

# 体外受精卵の質量を測定するマルチ卵重計の創製



曾根 逸人  
そね はやと  
大学院理工学府 電子情報部門 教授

大学院理工学府の曾根逸人教授は、ナノメートルの領域の超微細な計測、加工技術を用いて、微量な生体物質を簡便かつ高感度に検出するセンサの研究開発に挑み、成果を積み上げてきた。現在、取り組んでいるのは体外受精卵の質量を定量的に計測する装置。未踏の分野である。実現すれば、不妊治療の成功率向上に寄与することが期待されている。

— 先生の研究分野はナノマイクロ科学ですか。

基本の技術はナノ計測、ナノ加工です。1ナノメートル(nm)は、1メートルの10億分の1で、分子のレベルです。ナノ計測は、ナノスケール(ナノ技術に適用可能な大きさの構造)を可視化することで、物質の物性や機能を探ったり、微量な物質を検出したりします。ナノ加工は、その技術を活用して、新しい構造・機能を創出したり、新しい装置を創り出したりします。

対象は主にバイオ関係ですから、人間医工学、ナノバイオという医療・生命科学の研究では、生体分子や微量な化学物質を簡便かつ高感度に検出する技術が求められています。しかし、既存技術では簡易装置は感度が低く、高感度装置は時間とコストがかかることが課題です。

## ● 表面の精密な三次元形状を計測

— ナノスケールの計測、加工を行うには顕微鏡を使うのですね。

何種類かの顕微鏡を使用します。走査型プローブ顕微鏡(SPM)は、微小な針(探針=プローブ)で試料をなぞって、その表面の精密な三次元形状が計測できる顕微鏡の総称

です。代表的なSPMは走査トンネル顕微鏡(STM)や原子間力顕微鏡(AFM)で、特にAFMは金属や半導体のみならず絶縁体のナノ構造が計測でき、しかも溶液中でも動作することから生体材料の計測もできます。また、走査型電子顕微鏡(SEM)は、電子線を試料に当てて表面を観察する装置です。光学顕微鏡と比べ倍率が高く、被写界深度(ピントの合う距離)が大きいのが特徴です。電子ビームを集束させて試料表面の任意の位置に照射できるので、この技術を利用してナノスケールの加工を行っています。

## ● カンチレバで反りや振動の力を逃がす

— バイオセンサの研究開発に用いているカンチレバやシリコン(Si)ナノワイヤという技術はどういうものですか。

まず前者について説明します。カンチレバとは「板バネ」のことです。先ほどSPMは、微小な針で試料をなぞるといいましたが、探針はカンチレバの先端につけられていて、試料から探針に力が加わるとカンチレバが反って力を逃がします。そのときの反り量を光の反射も利用しながら測定することで、試料表面の凹凸情報(3次元形状)が得られます。

この原理をバイオのセンシングに利用します。カンチレバ型センサの表面に生体分子などが付着すると共振周波数が減少するので、周波数変化から付着物質の質量が測定できます。2008年に保坂純男教授、医学系研究科和泉孝志教授(肩書はいずれも当時)、(株)東京測器研究所と共同でこのバイオセンサの試作装置を開発しました。アレルギー関連物質の抗原と抗体を測定した結果、約200フェムトグラム(1フェムトグラムは1000兆分の1グラム)という既存の水晶振動子センサより100倍以上の高感度で抗原抗体を検出することができました。

### ● 質量測定と放出されるイオン濃度の同時測定

— そのカンチレバセンサを用いて、現在取り組んでいるのが「体外受精卵のクオリティ選別を目指したマルチ卵重計の創製」ですね。

そうです。体外受精卵の質量を測定する装置を世界に先駆けて研究しています。日本では少子化の進行と高齢出産の増加が問題となっています。そのため不妊治療が増加していますが、成功率が低いことが課題です。現在は、受精卵の形態観察だけで良好胚を選別していることがその理由です。

そこで、受精卵の定量的評価を目指して、東京大学工学研究科の坂田利弥准教授と共同で、カンチレバセンサを用いた受精卵の質量測定と放出されるイオン濃度の同時測定ができるマルチ卵重計の研究を行っています。

— どんな仕組みですか。

カンチレバは平坦な板パネなので、集束イオンビーム(FIB)装置で穴加工やカーボン堆積による板を形成して、受精卵を搭載保持できるホルダー型カンチレバを作製しました。図1は培養液中でマウス受精卵を搭載した画像です。図2は受精卵搭載前後のカンチレバの共振周波数変化の測定結果で、質量を計算すると4.4 ngが得られました。しかし、この値は受精卵の固定が不十分なため、全質量が測定できていないと考えています。このことは、図3のように有限要素解析(FEM)によるシミュレーションを行って、固定の有無による共振周波数変化の違いを確認しています。現在、受精卵の固定法、カンチレバ変位測定システムなどの研究を進めています。

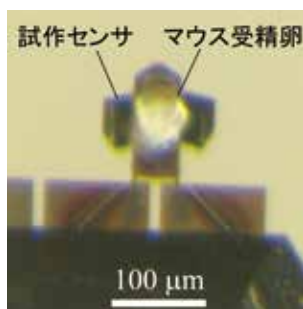


図1 マウス受精卵搭載後のホルダー型カンチレバ

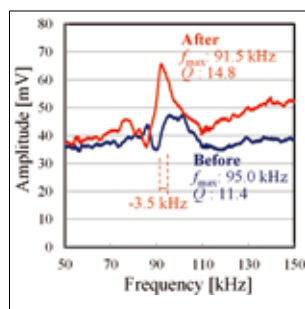


図2 マウス受精卵搭載前後の共振周波数測定結果

### ● ナノワイヤ表面に付着した生体分子を検出

— もう一つのテーマがSiのナノワイヤセンサですね。

ナノワイヤとは、文字通り線状の物質です。開発したのは、図4のようにトランジスタのチャネル部をSiナノワイヤにした構造で、その内部を流れる電流変化から、ナノワイヤ表面に付着した抗体やDNAなどの生体分子を検出するセンサです。

我々は、電子線描画装置と高密度プラズマエッチング装置を用いた電子線リソグラフィによって、図5に示す幅約16.2 nm、長さ約20 μmのSiナノワイヤを作製し、6 aM(アトモラ;  $10^{-18}$  mol/L)の超低濃度の免疫グロブリンG(IgG)の検出に成功しました。

この検出に使用した溶液の濃度が「アトモラ」で、「アト」は10のマイナス18乗のことです。「モル」は物質の単位で、1モルはアボガドロ数( $6.0 \times 10^{23}$ 個)の対象物質の分子数に相当します。そして、1モルの生体分子が、1リットルの液体に溶けたものを「モラ」と呼んでいます。測定に用いたのは1滴の溶液(約10 μL; マイクロリットル)なので、その中に存在する僅か36個のIgGが検出できたことになります。この結果は、これまでに報告されているナノワイヤセンサの中で最高感度です。

ナノワイヤセンサの研究は、これまで共同で研究してきた張慧先生が発展させています。

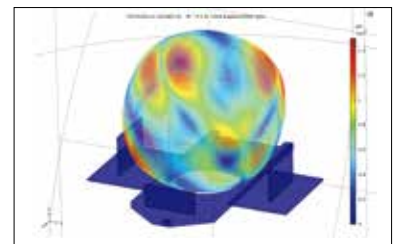


図3 受精卵搭載ホルダー型カンチレバの有限要素解析結果

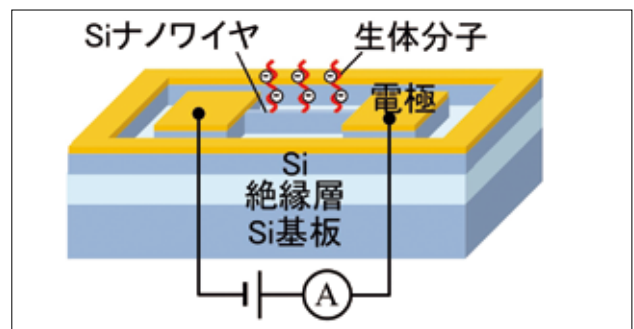


図4 Siナノワイヤセンサ模式図

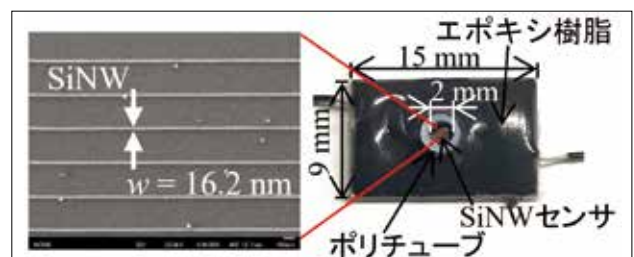


図5 Siナノワイヤ(幅16.2 nm)のSEM像(左)と試作センサ外観(右)