

課題番号 : F-16-KT-0095
 利用形態 : 技術補助
 利用課題名(日本語) : 創薬スクリーニングを目的としたマイクロ流体デバイスの開発①
 Program Title(English) : Development of Microfluidic Device for Drug Screening
 利用者名(日本語) : 田淵 友樹, 平井 義和
 Username(English) : T. Tabuchi, Y. Hirai
 所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻
 Affiliation(English) : Dep. of Micro Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

1. 概要(Summary)

イオンチャネルは主に細胞膜上に存在し、膜電位など細胞内外の環境変化を感知してイオンの流出入を行うことにより、細胞の生理機能を制御する膜たんぱくである。イオンチャネルの異常は脳神経系や心臓の疾患を引き起こすため、有力な創薬標的であると考えられている。そこでイオンチャネルの解析を可能とするデバイスの開発を目指し、京都大学ナノテクプラットフォームの設備を利用して微細加工を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

高速マスクレス露光装置, ドライエッチング装置, プラズマ CVD 装置, レーザダイシング装置

【実験方法】

窒化膜チップの作製プロセスを Fig. 1 に示す。高速マスクレス露光装置を用いてパターンを描画し、ドライエッチング装置を用いて窒化膜をエッチングした。Si 結晶異方性エッチングにより窒化膜ダイアフラムを作製した後、プラズマ CVD 装置を用いて酸化膜を成膜し、最後にレーザダイシング装置を用いてチップ化した。

次に、作製した窒化膜チップ上でイオンチャネルの固定化を行った(Fig. 2)。カルボン酸を有する自己組織化単分子膜(SAM)を酸化膜上に成膜し、N-ヒドロキシコハク酸イミド(NHS)とエチル(ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)を導入してカルボン酸を活性化した後、KcsA チャネルを導入してアミド結合によりSAM表面に固定化した。

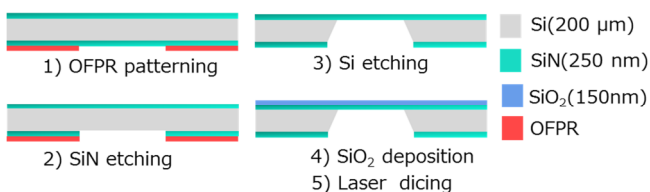


Fig.1 Fabrication process.

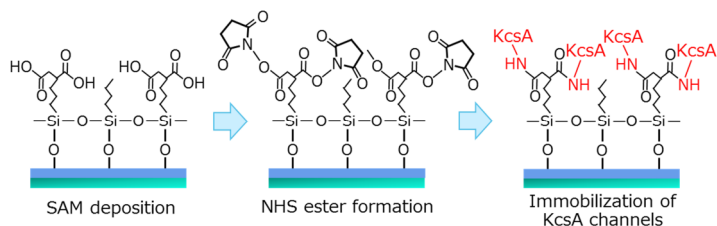


Fig.2 Immobilization process of KcsA channels.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

作製したチップは 10 mm 角サイズの中に 4 つの 3 mm 角窒化膜を有する(Fig. 3(left)). このチップの酸化膜を成膜したダイアフラム上で、蛍光標識した KcsA カリウムイオンチャネルの固定化プロセスを実施した結果を Fig.3(right)に示す。ダイアフラム全面で蛍光が観察されており、イオンチャネルたんぱくがダイアフラム上に固定化されていることがわかる。これより、本実験で作製した窒化膜ダイアフラムがイオンチャネル修飾の基板として有用であることが示された。

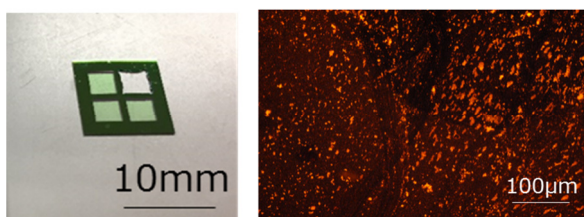


Fig. 3 A fabricated chip & Fluorescence image of immobilized KcsA channel.

4. その他・特記事項(Others)

- ・共同研究者: 福井大学医学部 清水啓史。
- ・受賞: 田淵 友樹ら、第7回国際ナノ・マイクロアプリケーションコンテスト(iCAN'16) 国内大会【1位】/ 国際大会【特別賞】

・関連論文: K. Tahara, *et al.*, *Procedia Engineering*, vol. 168 (2016), pp.1394–1397.

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許(Patent) なし。