受精卵質量測定のためのホルダ型ピエゾ抵抗カンチレバの試作と評価

Fabrication of Holder-Type Piezoresistive Cantilever for Mass Measurement of Fertilized Egg and Its Evaluation

○曾根 逸人[1]、川上 智之[1]、齋藤 暁子[2]、須藤 寛文[1]、保坂 純男[1]、坂田 利弥[2]
(1. 群馬大院理工、2. 東京大院工)
°Hayato Sone[1], Tomoyuki Kawakami[1], Akiko Saito[2], Hirofumi Suto[1], Sumio Hosaka[1], Toshiya Sakata[2] (1.Gunma Univ., 2.Univ. of Tokyo)
E-mail: sone@el.gunma-u.ac.jp

【研究背景】生殖補助医療における体外受精卵の選別は医師による形態観察が一般的で、定量的な選別はマイクロタクタイルによる弾性測定[1]、細胞ベーストランジスタを用いたリアルタイムモニタリング[2]が報告されているだけである。そこで、我々は受精卵をカンチレバ上に搭載して質量モニタリングを行うことを提案し、集束イオンビーム(FIB)を用いて市販のピエゾ抵抗カンチレバ上に加工を施してホルダ型ピエゾ抵抗カンチレバの試作を行った。培養液中で試作カンチレバへのマウス受精卵の搭載を試みた結果、カンチレバの根元に搭載することはできたが、カンチレバ中央へ搭載することはできず、質量測定に至らなかった[3]。本研究では、ホルダ型カンチレバの構造を改良し、マウス受精卵の搭載および質量測定を行った。

【実験方法】ホルダ型ピエゾ抵抗カンチレバは、受精卵をカンチレバ中央まで誘導して保持できる構造を設計し、有限要素解析法（FEM; Comsol Multiphysics, 計測エンジニアリング）を用いて共振周波数などの構造計算を行った。そして、FIB 装置（SMI-500, 日立ハイテクサイエンス）を用いて、既存のピエゾ抵抗カンチレバ（NPX1CTP004, 日立ハイテクサイエンス）に追加工して、設計した構造のカンチレバを作製した。作製したカンチレバは圧電素子で加振して、ピエゾ抵抗検出によって周波数特性を測定した。また、培養液中で 2 細胞期のマウス受精卵をカンチレバ上に搭載して周波数変化から質量を見積もった。

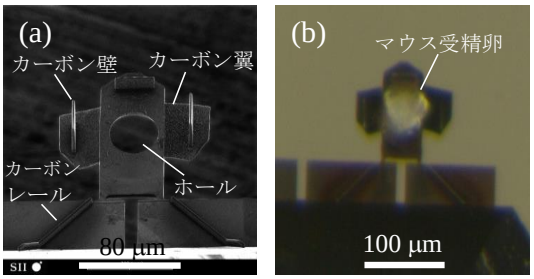

図１　ホルダ型カンチレバ; (a)SIM 像（45° 傾斜）, (b) マウス受精卵搭載後の顕微鏡像

【実験結果と考察】図 1 (a)は作製したホルダ型ピエゾ抵抗カンチレバの走査イオン顕微鏡（SIM）像である。カンチレバ中央に直径 40 μm のホール、両サイドにカーボンデポによる翼、翼上とカンチレバ先端側に壁が加工されている。また、今回はカンチレバ根元側のカーボン壁は加工せず、代わりにカンチレバ根元から中央へ誘導するためのカーボンガイドレールを加工した。これを培養液中（D-PBS(-) + CS, GIBCO）に浸漬させ、マウス受精卵の搭載を試みた結果、図 1 (b)に示すようにカンチレバ中央に搭載することができた。図２に受精卵搭載前後のカンチレバの周波数特性を示す。搭載前後の共振周波数は 95.0 kHz と 91.5 kHz、Q 値は 11.4 と 14.8 であった。共振周波数の減少値-3.5 kHz から受精卵の質量を見積もると約 4.4 ng が得られる。しかし、受精卵が培養液に沈むことを考慮して見積もった質量は、この値より２桁程度大きい。これは、受精卵がカンチレバに固定されていないことが原因と考えている。

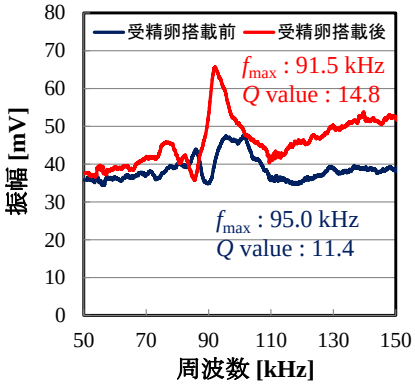

図２　マウス受精卵搭載前後の周波数特性

なお、本研究は JSPS 科研費（課題番号 26282143）の助成を受けて実施しました。

[1] 乾裕昭，赤石一幸，中村寛子，水野仁二，村山嘉延，日本受精着床学会雑誌，**25** (2008) 116.
[2] T. Sakata, A. Saito, J. Mizuno, H. Sugimoto, K. Noguchi, E. Kikuchi, H. Inui, Anal Chem., **85** (2013) 6633.
[3] 曾根逸人，川上智之，齋藤暁子，須藤寛文，保坂純男，坂田利弥，第 75 回応用物理学会秋季学術講演会講演予稿集, (2014) 12-465.

© 2015年 応用物理学会