

ホルダ型 piezo 抵抗カンチレバを用いたマウス受精卵質量測定

Mass Measurement of Mouse Fertilized Egg Using Holder-Type Piezoresistive Cantilever

網野 慶明¹、齋藤 暁子²、高城 翔太¹、角田 一樹³、保坂 純男¹、坂田 利弥²、

○曾根 逸人¹ (1. 群馬大院理工、2. 東京大院工、3. 群馬大工)

Yoshiaki Amino¹, Akiko Saito², Shota Taki¹, Kazuki Tsunoda³, Sumio Hosaka¹, Toshiya Sakata²,

○Hayato Sone¹ (1.Gunma Univ., 2.Univ. of Tokyo, 3.Gunma Univ.)

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ト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 piezo 抵抗カンチレバ上に円形穴とカーボン固定板を加工したホルダ型 piezo 抵抗カンチレバを試作した。培養液中で試作カンチレバへマウス受精卵を搭載した結果、搭載前後の共振周波数から受精卵の質量約 4.4 ng が得られた[3]。しかし、この値は受精卵が培養液に沈むことを考慮して見積もった質量より 2 桁程度小さいことから、受精卵がカンチレバに固定されていないことが示唆された。そこで、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を試みた結果、カンチレバの穴加工部に安定して搭載できることが確認できた[4]。本研究では、改良したホルダ型カンチレバを用いて、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 piezo 抵抗カンチレバは、受精卵をカンチレバ先端まで誘導して保持するため、カーボンのガイドおよび花形のホールからなる構造を設計した。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 piezo 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、piezo 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 1 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。

【結果と考察】図 1 (a) は作製したホルダ型 piezo 抵抗カンチレバの走査イオン顕微鏡 (SIM) 像である。カンチレバ先端にエッチングによる花形ホール、ホール周りとカンチレバ根元側に直径 2 μm のカーボンデポによるピラー、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が加工されている。これを培養液中 (D-PBS(-) +5% 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) に示すように花形ホール上に搭載することができた。図 2 に受精卵搭載前後の周波数特性を示す。搭載前後の共振周波数は 267.9 kHz と 265.8 kHz、Q 値は 77 と 79 であった。共振周波数の減少値 2.1 kHz から受精卵の質量を見積もると約 2.7 ng が得られた。受精卵が培養液に沈むことから密度を 1.1 g/cm³ と仮定するとその質量は約 620 ng と見積もられることから、測定結果は 2 桁小さい値となった。これは、受精卵がまだ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。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 62 回応用物理学会春季学術講演会講演予稿集, (2015) 11-157.

[4] 網野慶明, 高城翔太, 齋藤暁子, 角田一樹, 保坂純男, 坂田利弥, 曾根逸人, 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会講演予稿集, (2015) 11-041.

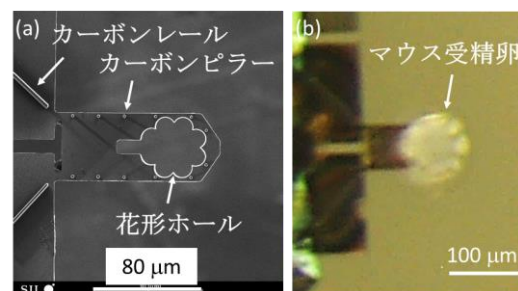


図 1 ホルダ型カンチレバ; (a) SIM 像, (b) マウス受精卵搭載後の顕微鏡像

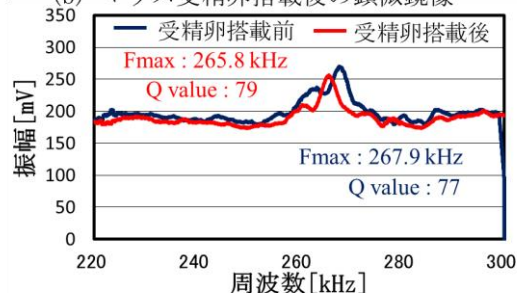


図 2 マウス受精卵搭載前後の周波数特性