

# 磁気駆動ナノマシンによる細胞内導入及び細胞内粘度計測

## Measurement of Intracellular Viscosity using Nanomachine Powered by Magnetic Field

宮崎 弘貴 (阪大)                      片山 貴志 (阪大)  
正 秋山 佳丈 (阪大)                  正 森島 圭祐 (阪大)

Koki MIYAZAKI, Osaka University  
Takashi KATAYAMA, Osaka University  
Yoshitake AKIYAMA, Osaka University  
Keisuke MORISHIMA, Osaka University

In this report, a method to measure cytoplasmic viscosity using a nano machine was proposed. We fabricated magnetically driven nano machine by sputtering nickel on the surface of carbon nano coil. The nano machine was introduced into the epidermal cell of *commelina communis* using microinjection. We calculated cytoplasmic viscosity by measuring the magnetic flux density of the nano machine when losing steps. As the magnetic field gets weaker, the nano machine eventually loses its steps. The relationship between the viscosity and the magnetic flux density applied to the nano machine when losing steps is given by  $\eta = kB^2$ , where k is the coefficient for each nano machine. Based on this theory we measured the cytoplasmic viscosity of *commelina communis* and obtained the viscosity of  $1.1 \pm 0.2$  mPa·s.

**Key Words:** Nanomachine, Cytoplasmic viscosity, Magnetic, Carbon nano coil

### 1. 緒言

近年バイオテクノロジー・医療分野におけるマイクロマシンはナノスケールへと小型化され、適用する対象を臓器から組織、さらには細胞へと変化しつつある。細胞やその中の分子機能を解明することにより、細胞単位での治療が可能となり、様々な病気に対する新たな治療法が確立されることが期待されている。そこで、細胞内の pH や圧力、温度、粘度などをセンシングできるデバイスの開発が必要とされている。特に細胞内粘度は、細胞状態により変化するパラメータであり、Fixler[1]らは、心筋細胞の機能が低下すると、細胞内粘度が高くなると報告している。そのため近年、細胞内粘度測定に関する研究が多く報告されており、Marina[2]らはガン治療の際用いられる光線力学療法によって死滅するガン細胞の粘度を粘度変化に反応する蛍光分子ロータで測定した。その結果、光線力学療法によって死滅したガン細胞の粘度は、死滅する前に比べ、粘度が高くなると報告した。しかしながら、蛍光分子ロータは一度細胞内に入ってしまうと細胞内から取り出すことができず、また、粘度測定以外の機能を持たせることが困難である。そのため、細胞への侵襲性が低く、複数の機能を持ち合わせたマイクロマシンが求められている。しかし、これまでマイクロマシンが細胞内で駆動したという報告はまだない。

そこで、本研究では回転磁場により駆動可能なナノマシンを細胞内に導入し、細胞内粘度測定を目的とする。細胞内でナノマシンを駆動できれば、細胞内粘度の測定以外にも、pH 測定や細胞内操作が可能となり、多機能な細胞内ロボットとして期待できる。

### 2. 実験

#### 2.1 ナノマシンの作製と駆動

本研究では自然界においてマイクロ・ナノ領域で実際に泳ぎ回る鞭毛の形状に着想し、らせん形状のナノマシンを作製した。その材料として、ナノサイズのらせん構造体を大量に得ることのできるカーボンナノコイルを用いた。また、ナノ

マシンは細胞内での駆動を目的としているため、非接触で駆動力を与えなければならない。そこで、カーボンナノコイルにニッケルをスパッタし、磁場により駆動可能とした。凝集したカーボンナノコイルを超音波処理することで分離し、基板上に播種してニッケルを 50 nm スパッタし、さらに超音波処理してガラス基板から剥がすことでナノマシンは作製される(図 1)。作製されたナノマシンを図 2 に示す。3 対のヘルムホルツコイルにより発生する回転磁場をナノマシンに印加し、ナノマシンを回転させることで推進力を得る[3] (図 3)。

#### 2.2 ナノマシンの細胞内導入実験

本研究ではマイクロインジェクション法により、ナノマシンの細胞内導入を行った(図 4)。微細なキャピラリーでナノマシンを含む溶液を直接細胞内に注入した。本研究ではツユクサの組織細胞にインジェクションを行った。

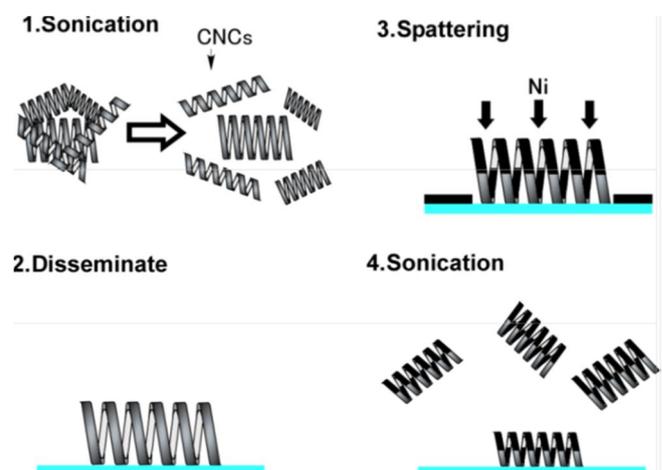


Fig. 1 Fabrication process of nano machine (1) CNCs were dispersed by sonication. (2) The CNCs were put on a glass substrate. (3) Ni was Spattered to the surface of CNCs. (4) CNCs were again dispersed into water by sonication.

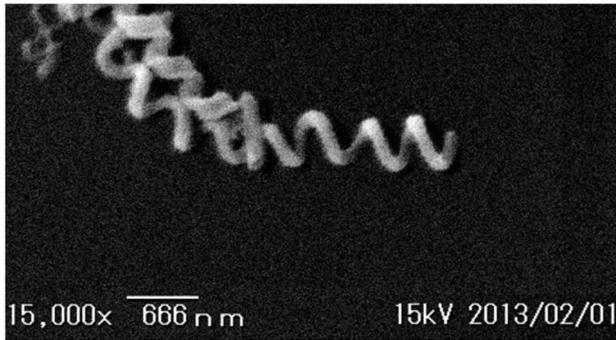


Fig. 2 SEM image of nano machine.

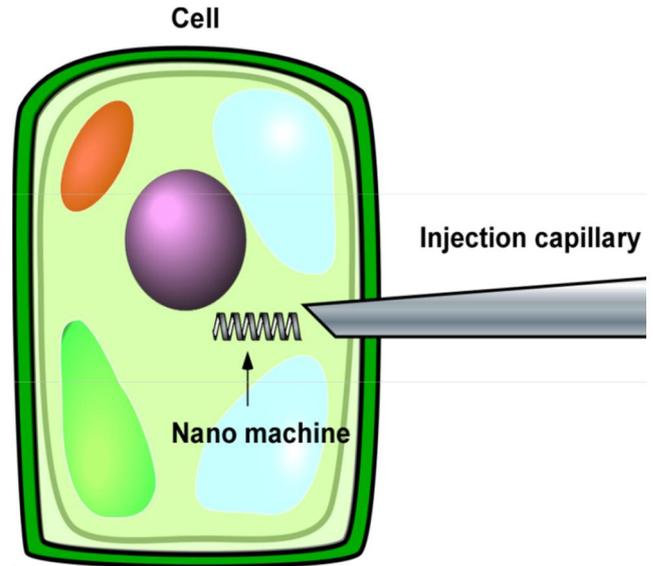


Fig. 3 Schematic illustration of a nano machine injection into a cell.

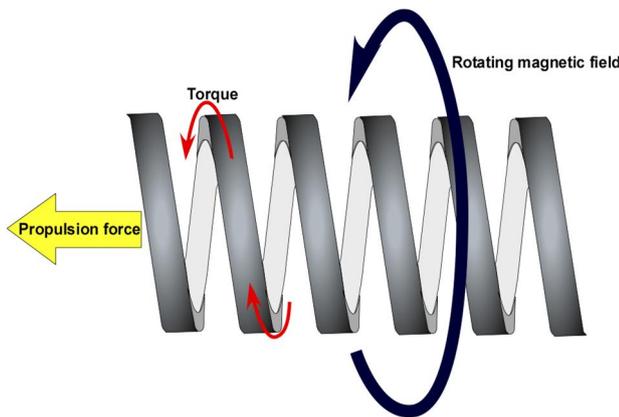


Fig. 4 Driving principle of magnetic powered nano machine.

### 2.3 ナノマシンによる粘度測定法の確立

ナノマシンによって粘度測定を行うため、その測定原理を確立し、その正当性を評価するため標準溶液を用いて粘度測定を行った。ヘルムホルツコイルにより作りだした回転磁場により、ナノマシンは回転し、この回転磁場の回転速度に同期する。しかし、印加する磁場を小さくしていくと、発生する回転トルクも小さくなるため、ナノマシンは脱調する。本研究ではこのナノマシンが脱調する際の磁束密度により、粘度を測定した。ナノ領域ではレイノルズ数は低く、運動方程式において、粘性項が支配的であり、慣性項は無視することができる[4]。このとき、運動方程式は以下のように記述できる(図5)[5]。

$$T = \alpha \omega \quad (1)$$

ここで、 $T$  [N.m]は磁気トルク、 $\alpha$ はらせん形状の構造体に対する回転運動の抗力係数、 $\omega$  [rad/s]は角速度である。また、 $\alpha$ は

$$\alpha = \frac{2\pi\eta L(4\pi^2 r^2 + 2p^2)r^2}{(\ln(\frac{2p}{d}) - 1/2)(4\pi^2 r^2 + p^2)} \quad (2)$$

で表せる。ここで、 $L$  [m]はナノマシンの長さ、 $r$  [m]は螺旋構造の回転半径、 $p$  [m]は螺旋構造のピッチ、 $d$  [m]は構造体の半径、 $\eta$  [Pa.s]は溶液の粘度である。このとき、磁気トルク  $T$  は

$$T = v\chi \frac{B^2}{\mu_0} \sin \delta \quad (3)$$

である。ここで、 $v$  [m<sup>3</sup>]はナノマシン表面にスパッタされているニッケルの体積、 $\chi$ はニッケルの体積磁化率、 $\mu_0$  [H/m]は透

磁率、 $B$  [T]は印加する磁束密度、 $\delta$ は磁気モーメントと外部回転磁界のなす角である(図6)。式(3)より、最大トルクは $\delta = 90^\circ$ のときであり、このときに脱調すると考えると、式(1)~式(3)を整理し、ナノマシン脱調時の粘度と磁束密度の関係を求めると以下ようになる。

$$\eta = kB^2 \quad (4)$$

$$k = \frac{v\chi(\ln(\frac{2p}{d}) - 1/2)(4\pi^2 r^2 + p^2)}{2\omega\mu_0 L(4\pi^2 r^2 + 2p^2)r^2} \quad (5)$$

粘度と脱調時の磁束密度は式(5)の関係にある。式(5)より、 $k$ はナノマシン固有の値であることがわかる。 $k$ の値が求まれば、ナノマシンが脱調するときの磁束密度を計測することにより、式(4)から、溶液の粘度を測定することができる。この粘度測定法の妥当性を検証するため、標準試料の粘度を測定した。純水、スクロース溶液 10 wt%、スクロース溶液 25 wt%でキャリブレーションを行い、ナノマシン固有の係数  $k$  を決定し、標準試料の粘度を測定した。その値と、音叉型振動式粘度計により測定した標準試料の粘度の値を比較することで、粘度計測の妥当性を検証した。

### 2.4 細胞内粘度測定実験

ナノマシンの細胞内導入に成功した、ツクサの細胞内の粘度を測定した。本実験では純水、スクロース溶液 10 wt%、スクロース溶液 20 wt%により、キャリブレーションを行い、マイクロインジェクション法によりそのナノマシンを細胞内に導入し、細胞内粘度を計測した。

## 3. 結果

### 3.1 ナノマシンの細胞内導入

ツクサの表皮細胞にナノマシンを導入し、さらに、磁場を印加することでナノマシンの細胞内駆動にも成功した。図7に示すように、ナノマシンは細胞質中を泳動することができた。

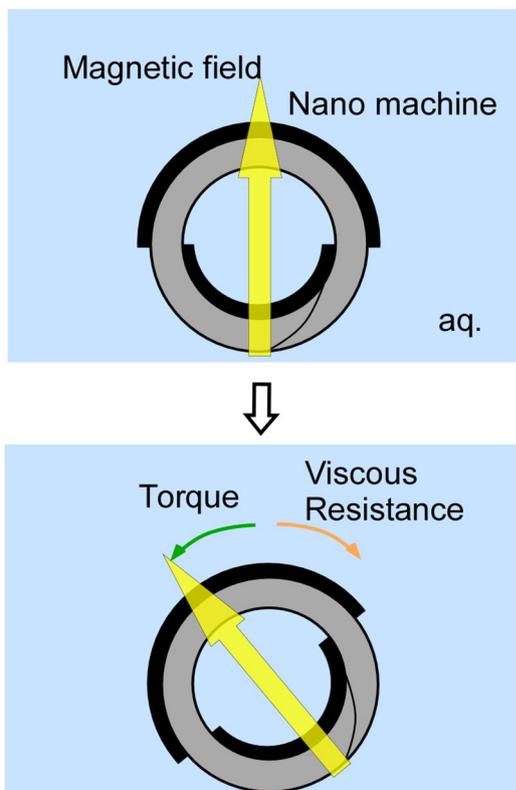


Fig. 5 Schematic illustration of force applied to the nano machine.

### 3.2 標準試料を用いた粘度計測の妥当性

ナノマシンによって測定した標準試料の粘度は $\eta = 1.6 \pm 0.3$  mPa·s となり、これは音叉型振動式粘度計で測定した粘度 $\eta = 1.83$  mPa·s を含んでいる。そのため、本研究で行った粘度測定実験により得られた値は妥当であると考えられる。ナノマシンによる計測結果の精度をより向上させることが今後の課題である。

### 3.3 細胞内粘度測定

3種類の溶液でキャリブレーションを行い、そのナノマシンを細胞内に導入して脱調するときの磁束密度を測定した。その結果、細胞内粘度は $\eta = 1.1 \pm 0.2$  mPa·s であった。このことから、ツユクサの表皮細胞の粘度は水と同程度であることが分かった。

## 4. 結言

本研究ではマイクロインジェクション法により、ナノマシンをツユクサの表皮細胞に導入することに成功した。また、細胞内でナノマシンが駆動する様子を確認することができた。さらに、そのナノマシンを用いた粘度計測法では、ナノマシンの運動方程式から脱調時の磁束密度と粘度の関係を導出し、粘度測定法を確立した。実際に、標準試料を用いてこの粘度測定法の妥当性を検証し、ナノマシンをツユクサの表皮細胞内に導入後、細胞内の粘度測定に成功した。

### 謝辞

本研究の一部は、科学研究費補助金 (Nos. 20034017, 21676002, 21225007, 21111503, 22860020, 23111705, 23700557), NEDO 産業技術研究助成を受けて行われた。

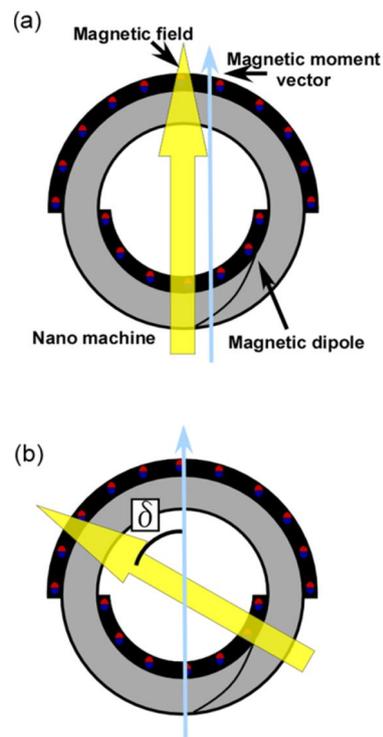


Fig. 7(a) Principle of magnetic dipole and magnetic field. The magnetic dipole aligns so that its magnetic moment vector is parallel to the magnetic field lines. (b)  $\delta$  is the angle between the magnetic field and the magnetic moment vector.

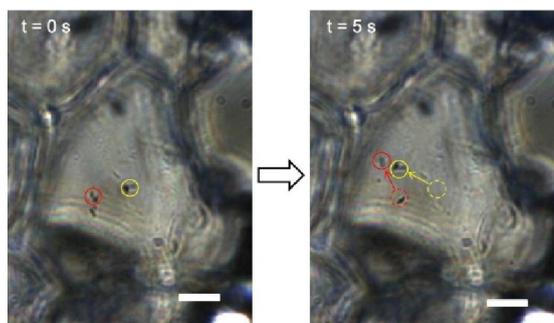


Fig. 6 Microscopic image of driving nano machines in the plant epidermal cell of *Commelina Communis*. The scale bars are 20  $\mu$ m.

### 文献

- [1] Fixler, D., Tirosh, R., Zinman, T., Shainberg, A. & Deutsch, M. Fluorescence polarization: a novel indicator of cardiomyocyte contraction. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **300**, 23–28 (2003).
- [2] Kuimova, M. K. et al. “Imaging intracellular viscosity of a single cell during photoinduced cell death”, *Nature Chemistry* **1**, 69–73 (2009).
- [3] Matsumoto, T, Hoshino, T, Akiyama, Y, Morishima, K, “A novel application of carbon nano coils for intracellular nano-robots”, *Proceedings of IEEE Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (NEMS)*, pp. 1089-1092, (2011)
- [4] Honda, T., Arai, K. I. & Ishiyama, K. Micro swimming mechanisms propelled by external magnetic fields. *IEEE Transactions on Magnetics* **32**, 5085–5087 (1996).
- [5] Li, G. & Tang, J. X. Low flagellar motor torque and high swimming efficiency of *Caulobacter crescentus* swarmer cells. *Biophys. J.* **91**, 2726–2734 (2006).