

バイオハイブリッド型のマイクロマシンの開発

平塚 祐 ^{a,b}

Development of Bio-hybrid Micro Machines

Yuichi HIRATSUKA

^aSchool of Materials Science; Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST),
1-1 Asahidai, Nomi City, 923-1292, Japan and ^bJST PRESTO

(Received July 29, 2008)

Living system use many types of micro or nano-mechanical systems, which are called “motor protein”. Those biological motors have unique features, such as nano-meter scaled molecular motor, high efficiently energy transduction from chemical energy or having a capacity of self-assembly. The realization of bio-hybrid micro-machines to integrate such motor proteins and micro- or nano-structures fabricated of inorganic materials, would have some potential values that are not achieved by traditional electronic, magnetic or optical devices. In this paper, we discuss a possibility of motor proteins to use as driving unit for micro analysis systems, such as Lab on a chip or μ TAS (micro Total Analysis System) devices.

Key words—motor protein; nanobiotechnology; motility; kinesin microtubule; bacteria; micro mechanical device

1. はじめに

昨今のナノテクノロジーの進展とともに生体材料を応用利用した新規デバイスが次々と開発されている。生体の運動素子・モータータンパク質を用いたマイクロデバイスはその代表例で、キネシンやミオシンなどのいわゆる生体分子モーターと微細加工技術を融合させた微小機械の作製が現実のものとなってきている。特に、これらのアプリケーションの1つとして Lab on a chip 型の微小分析装置が現在注目を集めている。ガラス基板等の上を直線状に動くキネシン・微小管の運動能を利用し、微小パターン内で DNA やタンパク質、糖など生化学物質を運搬、反応、分析しようというものである。これらは日本、米国、ドイツを中心として、世界的に精力的に研究が進められている。現在、要素技術が着実に開発され、実験室レベルで現実に近いまで近づいてきている。

これと並行して、バクテリアなど生きた微生物の運動能を利用したマイクロマシンの開発も始まって

いる。バクテリアの繊毛運動を利用したマイクロポンプや、微小流路と微生物の走光性を利用した微小運搬装置、心筋細胞の拍動を利用したマイクロポンプなど、 μ TAS (micro total analysis systems) の動力源として考案されている。またわれわれが作製に成功したバクテリアで駆動する微小回転モーターも溶液中からエネルギー源を得て駆動するマイクロポンプの動力源と期待されている。

本稿では、分析装置を主眼におき生体分子モーターを利用した応用研究の最新のトピックスを紹介したい。

2. モータータンパク質

モータータンパク質は生体内で「動き」に係わるタンパク質の総称である (Fig. 1)。最も代表的なものは筋収縮に働くミオシン・アクチン系モーターが挙げられる。また、細胞内小胞輸送に働く、キネシン・微小管系モーターや、鞭毛運動に働くダイニン・微小管系モーターはアクチンや微小管など繊維状タンパク質をその長軸方向に向かって運動することからリニア型モーターと分類されている。一方、回転型モーターと知られる FoF1ATPase や DNA や RNA 上を移動する、DNA ポリメラーゼ、RNA ポリメラーゼ、ヘリカーゼなども広義のモータータ

^a北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科 (〒923-1292 能美市旭台 1-1), ^b科学技術振興機構さきがけ研究員

e-mail: yhira@jaist.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 128 年会シンポジウム S16 で発表したものを中心に記述したものである。

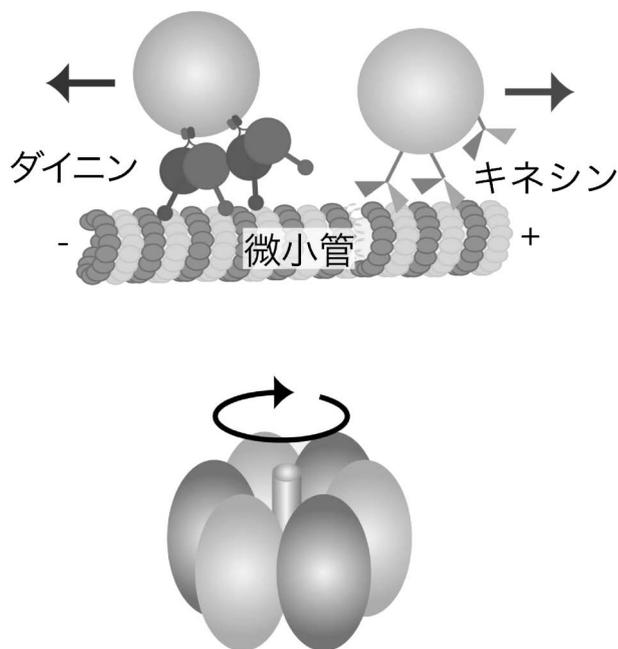


Fig. 1. Motor Proteins

Motor proteins of the kinesin and dynein families walk toward opposite ends of microtubules. In contrast, myosin motors, organized into bundles called 'thick filaments', move along actin filaments in a 'running' motion. F1-ATPase is a rotary motor, which is used by nature as 'generator' to produce ATP when forced into rotation by the Fo-ATPase. Common to all motor proteins is their high efficiency in converting chemical energy into mechanical work through the hydrolysis of ATP.

ンパク質と考えられている。生物が長い進化のすえ作り出したこれらのモーターは、多くの点で人類が作り出したモーターとは質的に異なっており、様々な特徴を持つ。まず、その大きさである。モータータンパク質の一分子の大きさはどれもナノメートルオーダーである。それらは一分子のみで作動するものもあるし、生体分子特有の自己組織化能で数ミクロンから数メートルの構造を作って働くこともできる。一方、モータータンパク質のエネルギー源はATPの加水分解やプロトン濃度勾配といった化学ポテンシャルで、エネルギー効率はどれも60-100%と著しく高い。また、その動作原理も人類が考え出してきたモーターとは全く異なる仕組みである。

3. キネシン・微小管系モーターを利用した微小輸送素子

最も応用研究が盛んに行われているのはキネシン・微小管系モーターである。これはキネシンが他のリニア型モーターであるミオシン、ダイニンとは異なり分子量が小さいため大腸菌での組み換え体を容易に作製できることや、大量精製が容易であるこ

と、さらに生体外運動の再構築が安定であることによるためと思われる。キネシンは1981年にValeらによって神経軸索内の神経伝達物質の輸送タンパク質として初めて発見された。¹⁾その後、神経細胞に限らず広い組織で遍在する細胞内の物質輸送を司るタンパク質として知られるようになった。この運動を生体外に始めて再構築させるのに成功させたのがHowardらである。カバーガラスの上にキネシン分子を吸着させ、蛍光標識した微小管をその表面に結合させ、ATPを添加することによりガラスの表面上で微小管を動かすことに成功した。²⁾これは生体内とは逆の立体配座、つまり微小管の上をキネシンが動くのではなく、固定されたキネシン上を微小管が動く系で、*inversed in vitro motility assay*と呼ばれた。材料であるキネシンと微小管があれば誰でも簡単に再現することができ、モータータンパク質の機能・活性を知る上で欠かすことのできない生物物理学のツールとなっている。

この微小管が動く様子を初めてみた多くの方は同じ感想を持つようだ。1つは、一体どのような仕組みでこれが動いているのだろうか？という素朴な疑問である。もう1つはこうしたミクロの動きを何かに利用できるのではないだろうか？というものである。顕微鏡下で観察される滑らかに動く微小管の動きは微小空間で働くナノ・マイクロマシンの動力源として利用できそうにみえる。そこで、これを目指した応用研究が始まった。

3-1. 運動方向の制御 *In vitro motility assay*の応用利用でまず問題になるのは運動方向の制御である。ガラス表面上で動く微小管は何も制約を受けず、ランダムな方向に移動する。何かしらこの動きに仕事をさせるには運動方向を揃える必要がある。そこで応用利用のための第一歩は、この運動方向の制御技術を開発することにあった。われわれは、半導体微細加工の基礎技術であるフォトリソグラフィ法をこの系に導入し、マイクロパターンを用いた運動方向制御に取り組んだ。³⁾カバーガラス表面にネガ型フォトリソレジストであるSAL601(光に反応して現像液に対し難溶性になるポリマー)を用いてマイクロパターンを作製した[Fig. 2(a)]。このレジスト材はTriton X100等の非イオン性界面活性剤存在下ではキネシン分子と結合しない。そのため、キネシン分子をレジストが除けた溝底部のみ選択的に

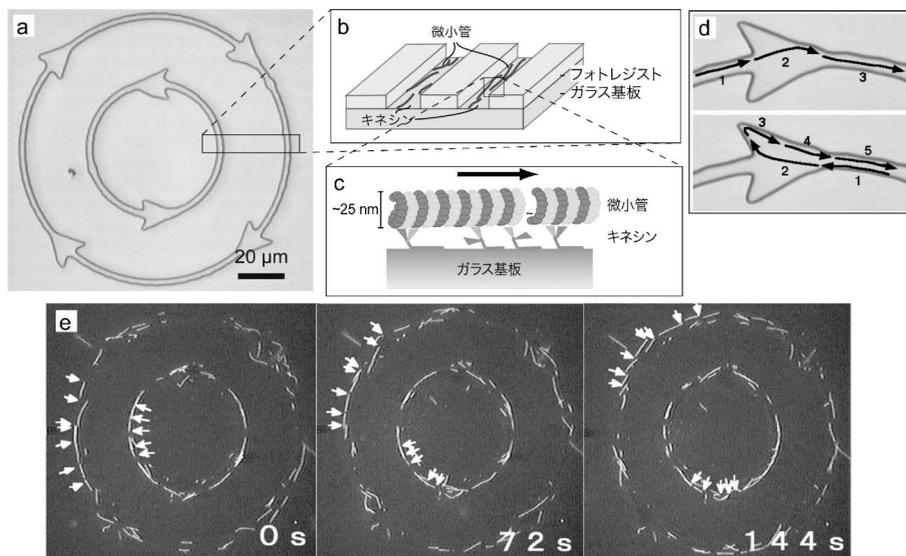


Fig. 2. Unidirectional Rotational Movement of Microtubules along Circular Tracks

(a): Transmission microscopy photograph of the circular tracks for kinesin-microtubule motor protein for unidirectional movement. (b): Schematics of micro-track. Kinesin molecules are fixed on the bottom surface of the micro channels fabricated by photolithography. (c): Schematics of *in vitro* motility assay system for kinesin-microtubule motor. (d): Arrowhead function as a rectifier of microtubule movements. Upper panel shows that a microtubule entering the arrowhead from the correct direction (from the left side entrance) passes through the arrowhead pattern. Lower panel demonstrates schematically how a microtubule entering the arrowhead from the wrong direction (from the right side entrance) makes a 180 degree turn and moves out in the correct direction. (e): The photographs represent snapshots of the movement of rhodamine-labeled microtubules taken at intervals of 72 s. Selected filaments were marked with arrows to allow tracking of microtubules. Microtubules in the outer circle are moving clockwise, while those in the inner circle are moving counter-clockwise. Scale bar, 20 μm . (Ref. 3.)

結合させることができる [Fig. 2(b), (c)]. このような表面上に微小管を乗せ、ATPを添加すると微小管の運動が溝底部のみに限定された。溝底部で運動していた微小管がレジスト材の凸部に衝突すると、微小管は溝の底から這い上がることなく、微小管の進行端が方向を転換し再びパターン内に押し戻された。そのため微小管の運動を望みのパターン内に限定させることが可能となった。

ただしこのままではまだ運動方向の制御は不完全である。例えば、円周状のトラックを作製した場合、その運動方向は時計回りと反時計回りに2種類ができてしまう。したがってこの運動方向を一方向にする工夫が必要となる。これに対する答えは「トラックの形状」であった。われわれは Fig. 2(a)のようにトラックの途中に矢じり型のパターンを設けることで微小管の運動方向を一方向に制御することに成功した。この矢じり型パターンは次のような仕組みで微小管の運動を一方向に整流する。Fig. 2(d)(上)のように矢じりの指し示す方向へ動いている微小管はそのまま矢じりを通り抜けることができるが、Fig. 2(d)(下)のように反対方向から進入してきた微小管は、多くの場合、矢じりパターンの

底辺に衝突し、その後、矢じりパターンに沿って移動しその向きが反転する。そのため、微小管は矢じりの指し示す方向へ揃っていくのである。Figure 2(a)のような円周型のトラックに矢じり型パターンを備えた場合、トラック内にいるほぼすべての微小管の進行方向を矢じりの示す方向に揃えることができる [Fig. 2(e)].

このような整流パターンの応用例として能動輸送パターン等を作製することができる (Fig. 3)。微小管が自由に動ける大きさ 60 μm の四角い領域を矢じりパターンが付いたトラックで連結すると、ATP添加前は2つの領域内の微小管の数はほぼ同数であるが、ATP添加後、矢じりが指し示す方向、この場合、左側の四角い領域に移動させることが可能となった。微小管に荷物を付加させれば、パターンの形状次第で微小空間内で自由に物質を輸送できるようになった。

その後、微小管運動方向の整流パターンとして様々な形状が考案されてきている。^{4,5)}中でも特にユニークなパターンを使った研究例を1つ紹介したい。この研究分野で最も精力的に研究を進めている Hessらは、Fig. 4のような渦巻き状パターンを利

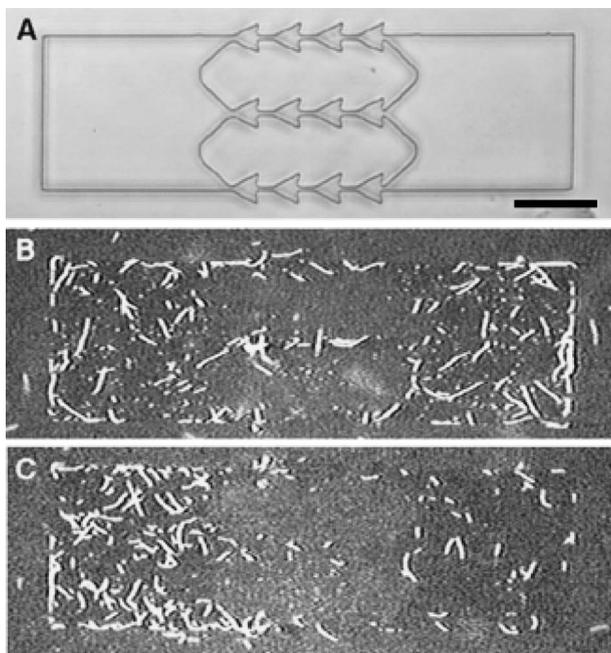


Fig. 3. Active Transport between Two Pools of Micrometer Scales

Panel A is a transmission micrograph. B is a fluorescence image of rhodamine-labeled microtubules taken before ATP addition, and panel C is taken at 18 min after the ATP addition. Scale bar, 30 μm . (Ref. 3.)

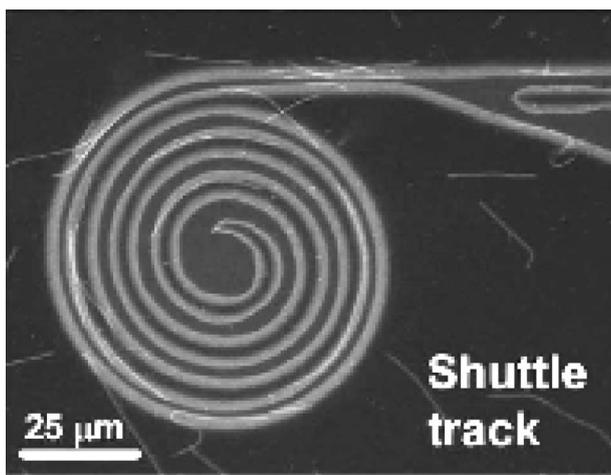


Fig. 4. Pattern for Concentrator of Molecules

An example pattern to control the direction of movements of microtubule. The microtubule moving near this pattern are introduced into the center of the spiral along its pattern. (Ref. 6.)

用し微小空間内での物質の濃縮が可能であることを示した。⁶⁾このような微細パターンを利用したキネシン・微小管で駆動する微小運動装置は、医療用の検査チップのような微細空間で生化学的な物質を輸送する装置としての利用が想定され、研究開発が進んでいる。^{7,8)}

3-2. モーター活性の制御 人工的に微小管の運動を制御する試みもなされている。生体内ではこれらモータータンパク質は、細胞外の刺激に反応しイオン濃度やリン酸化などのプロセスを経て活性化又は不活性化されている。この方法をそのまま人工的に利用するのは難しい。例えばタンパク質の活性制御で有名なリン酸化情報伝達機構では多種のリン酸化酵素と脱リン酸化酵素を必要とし体外にこれを再構築するのは困難である。しかも、シグナルのトリガーである刺激物質も多くの場合ホルモン等の代謝物質で、化学物質を出し入れするという面倒な手続きが必要となる。そこで、多くの研究者は電氣的にモータータンパク質を制御する手法に取り組んでいる。

初期に開発された例として温度変化による活性制御がある。⁹⁾モータータンパク質の運動速度は温度依存性を示し、温度が高い程高速で運動することが知られている。この性質を利用するため、ガラス等の絶縁基板上に電気配線し微小なヒーターを作製し、電気のON/OFFによる運動活性の制御に成功している。また、金蒸着した基板上でキネシン・微小管を運動させ、電荷を負荷させることで静電的に微小管を基板から脱着させる手法なども考案されている。¹⁰⁾さらに最近 Diez らは、モータータンパク質と機能性有機分子を融合させた制御系の作製も成功している。温度依存的に相変化を起こす PNIP-AM [poly(*N*-isopropylacrylamide)] とキネシンをガラス基板上に結合させ、温度制御によりキネシン分子と微小管の相互作用を PNIPAM の相変化で制御するという試みである。高温 (37°C) では PNIP-AM は凝集しキネシンがガラス表面から露出し微小管の運動がオンになるが、低温では、PNIPAM がキネシンと微小管のアクセスを遮蔽し、微小管はガラス表面から外れる (Fig. 5)。界面の状態を電氣的に制御しタンパク質分子の活性を制御した例として大変興味深い。¹¹⁾これらと並行して、遺伝子工学的にキネシンのモーター活性部位にカルモジュリン結合配列を導入し、運動活性をカルシウムイオン濃度で制御する手法も報告されている。¹²⁾微小空間内のカルシウムイオン濃度を電氣的に時間・空間的に制御ができるようになれば、こうした人工キネシンも利用できるだろう。

活性の制御ばかりではなく、運動方向も電氣的に

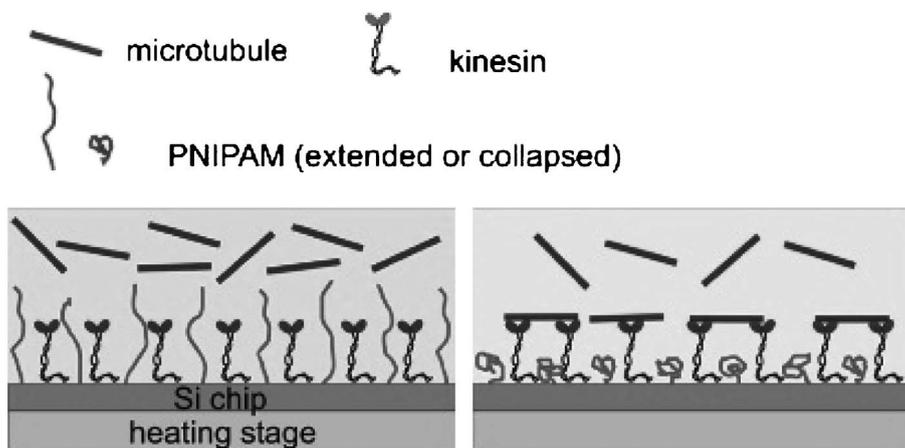


Fig. 5. Gliding Motility of Microtubules on a Thermoresponsive PNIPAM Surface with Adsorbed Kinesin

Repeated changes in temperature resulted in the reversible switching of PNIPAM chains between the extended conformation (where microtubules are repelled from the surface and cannot bind to the kinesin heads.) (Left panel, 27°C) and the collapsed conformation (where microtubules can glide unhindered on the kinesin molecules) (Right panel, 37°C). [Ref. 11.]

制御する方法も開発されている。Dekkerらは、先に紹介した微細パターンによる運動方向の制御に加え、静電的に微小管の運動を制御して必要な微小管（例えばある化学物質を運搬している微小管）をトラックの分岐点で臨機応変に振り分けるソーターの開発に成功している（Fig. 6）。彼らはデモンストレーションとして異なった色素で蛍光染色した2色の微小管（赤、緑）をこのソーター機構を使って顕微鏡下で見事に分離させた。¹³⁾

3-3. 積み荷の付加 積み荷の対象物としてはタンパク質などの生化学物質が主に想定されているが、ユニバーサルアダプターとして、抗体やストレプトアビジンを結合させたナノ粒子を微小管に結合させる系の開発例が多い。ストレプトアビジンをコートした金ワイヤー⁷⁾やポリスチレンビーズ付加がある。また、微小管と積み荷 (Qdot) のリンカーに DNA を利用することにより制限酵素により脱着可能なシステムも考案されている。¹⁴⁾ さらに特に興味深い研究として Diez らの DNA の輸送の研究が挙げられる。彼らは λ フェージの DNA の両末端をビオチン化し、アビジン標識された微小管にこの DNA を付加させた。この微小管の運動を観察したところ、おもしろい現象が観察された。 λ フェージ DNA のもう一端がガラス表面に結合し、微小管の運動により DNA がまっすぐに伸ばされたのである。¹⁵⁾ 約 50 kbp の λ フェージ DNA は水溶液中では通常約 1 μm の球状の構造をとるが、これが微小管により完全に伸ばしたときの長さ十数 μm になっ

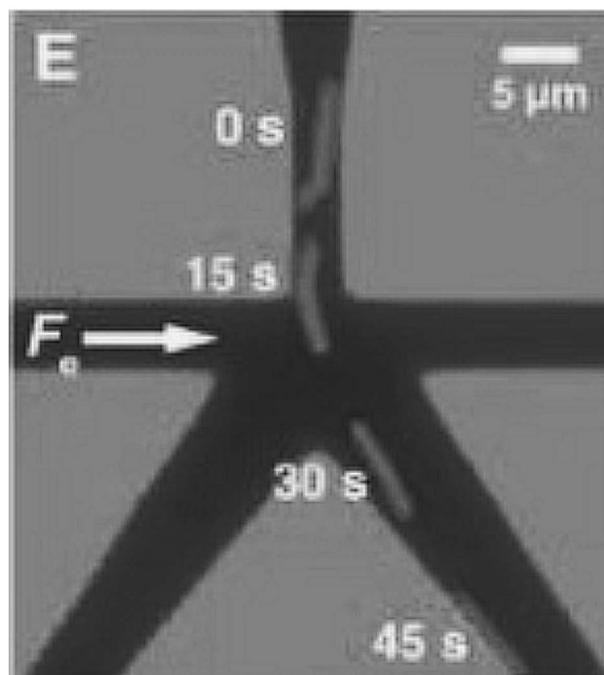


Fig. 6. Using an Electric Field to Steer Moving Microtubules

Fluorescence image of microtubules approaching a Y-junction. An electric field was applied to steer the negatively charged microtubules into the right and left directions, respectively. [Ref. 13.]

た。一分子レベルでの DNA の診断のための、ナノマニピレータとしてこのキネシン・微小管の運動系が使えると彼らは報告している。

4. 細胞を利用した微小駆動素子

近年、モータータンパク質の応用研究と並行して、精製したモータータンパク質を利用して微小な機械や装置を作製するのではなく、生きた生物その

ものもしくは生体組織を利用したマイクロデバイスの応用研究が盛んになってきている。次に、ここでは特に分析装置に関係が深い応用研究を中心に紹介したい。

まず、われわれのバクテリアの推進力を利用した微小回転モーターの研究を例に挙げ紹介したい。バクテリアにはガラス、プラスチック、細胞表面など固体表面に結合して滑るように移動する滑走バクテリアとよばれる細菌群が存在する。中でもマイコプラズマ・モービレ (*Mycoplasma mobile*) は運動能が著しく高く、体長が $1\ \mu\text{m}$ ほどであるにもかかわらず毎秒 $2\text{--}5\ \mu\text{m}$ の高速で連続的に滑るように移動する。われわれはこれもキネシン・微小管系モーターと同様に運動素子の候補として考えてきた。このバクテリアも平らなカバーガラス表面ではランダムな方向に向かって滑走し、このままでは機械としては役に立たない。所定の位置で所定の方向に動かすことができはじめて、有益な仕事をする装置が作れる。モータータンパク質のときと同様に、凹凸のあるマイクロトラック上でモービレ細胞を運動させると、細胞は凹凸を認識し凹んだ領域を運動する様子が観察された。¹⁶⁾ この性質を利用すると Fig. 7 (a) のパターン上ではバクテリアの運動を一方に回転運動させることができる。一方、微小モーターのローターはシリコン基板上的熱酸化膜 (SiO_2) のエッチング加工によって作製した。MEMS (micro-

electromechanical system) とよばれる電氣的に作動する微小装置の作製が数十年前から試みられており、シリコンを材料とした回転モーターなど微細な機械が開発されている。ローターの作製はこの MEMS 技術を応用した。作製の行程にはフォトリソグラフィ、金属蒸着、反応性イオンエッチング、犠牲層エッチング (可動構造の作製) などの工程を経て、シリコンウェハ上の厚さ $2\ \mu\text{m}$ の SiO_2 層にマイクロローターを作製した [Fig. 7(b)]. ローター表面にアビジン分子を固定、最後に超音波でローターと基板を連結しているブリッジを破壊してローターを基板から取りだした。モービレ細胞の推進力をローターに伝えるためにビオチン・アビジン結合で細胞とローターを連結させた。上述のようにローター表面をアビジン処理し、一方、モービレ細胞の細胞表面を化学的にビオチン処理し円形トラック内で一方に回転運動させた。ローターには円形の突起構造が設けられており、この突起部はトラックの溝にちょうどはまるように設計してある。マイクロマニピレータを用いてローターを操作し、ローターの突起部とトラックを噛み合わせると [Fig. 7(c)], 数分後に大きさ $20\ \mu\text{m}$ のローターは毎分 $2\text{--}3$ 回転速度で回転し始めた [Fig. 7(d)]. バクテリアで駆動する世界初の微小回転モーターである。¹⁷⁾ このような微小モーターの利用方法の一つとしてマイクロポンプが考えられる。現在のマイクロ

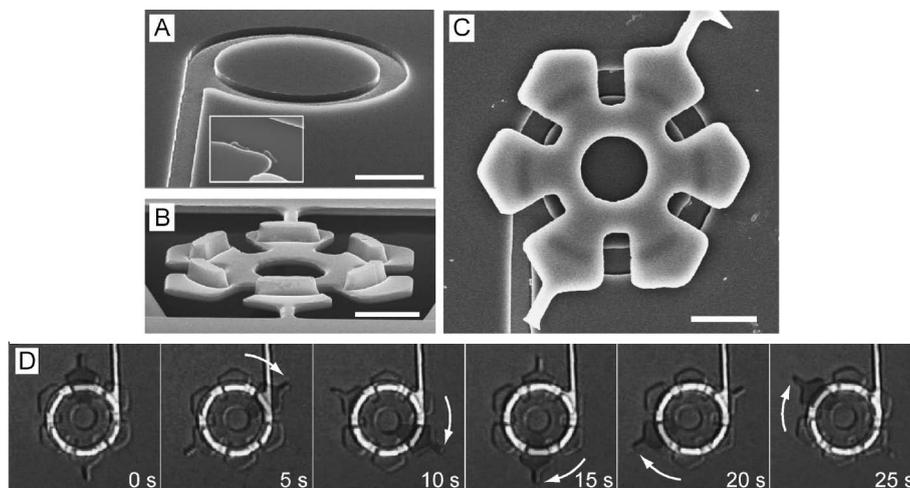


Fig. 7. Scanning Electron Micrographs and Images of a Rotating Microrotary Motor

(A): A circular microchannel along which gliding *Mycoplasma mobile* bacteria move (tilted view). Two cells are gliding along the wall of a channel (inset). (B): Rotors have protrusions that fit the circular channel shown in panel A (tilted view). Rotors are tethered to the silicon base via two thin bridges, which are designed to break upon sonication, releasing the rotors. (C): A rotor docked in a circular channel (top view). (D): Time-lapse photomicrographs of a rotating rotor taken at 5-s intervals. This rotor continuously rotated approximately 60° in 5 s. All scale bars are $5\ \mu\text{m}$. [Ref. 16.]

流路チップは、流路外部に液体を流すためのポンプを必要とする。このポンプとしてこのバクテリアで駆動する回転モーターが利用できるかもしれない。流路内にこの回転モーターを埋め込めば、エネルギー源を液中に溶けた化学エネルギーから調達する微小ポンプが作製できるだろう。

このような生きた細胞を利用した研究は近年続々と報告されており、次にその一部を紹介したい。Montemagno らは MEMS 技術で大きさ数百 μm の微細な素子を作製し、さらに熱応答的に細胞の脱着が可能な poly (*N*-isopropylacrylamide) をその素子に局所的にコーティングし、心筋細胞をその微細な素子に局所的に固定することに成功している。心筋細胞はその素子（彼らはマイクロロボットと呼んでいる）の足に相当する部位に固定されており、心筋細胞の拍動 (1.8 Hz) とともに足が動き、38 $\mu\text{m}/\text{s}$ の速度でそのマイクロロボットを動かすことに成功している。¹⁸⁾ また、バクテリア運動の研究の第一人者 Berg らは microfluidic device の研究者とともにセラチア菌 (*Serratia marcescens*) の鞭毛運動を利用した微小ポンプと運動素子を提案している。セラチア菌はシリコン系ゴム PDMS (polydimethylsiloxane) の表面に高密度に、しかも鞭毛運動を阻害されることなく効率よく吸着させることができる。このセラチア菌を敷き詰めた PDMS 表面 (Bacterial Carpet) では、セラチア菌の鞭毛運動による表層流が観察されたことから、彼らはこれを微細空間のミキサーやポンプとして利用できないかと提案している。¹⁹⁾ また面白いことに、大きさ 100 μm 程度の PDMS 薄膜の断片にセラチア菌を吸着させることで、その形状に応じた回転や直線状の 2 次元運動を引き起こすことにも成功している。さらに、ハーバード大の Whitesides のグループはクラミドモナスと呼ばれる走光性 (光に向かって泳ぐ) を示す微生物クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) と PDMS で作製したマイクロ流路を組み合わせた光スイッチで運動の制御可能な μTAS (micro Total Analysis System) を提案している (Fig. 8)。この微生物に光照射により取り外し可能な微小ビーズを結合させ微小パターン内で微生物に荷物 (ビーズ) を輸送させ、所定の場所に荷下ろしする微小輸送装置の開発に成功している。²⁰⁾

このように、精製したモータータンパク質ではな

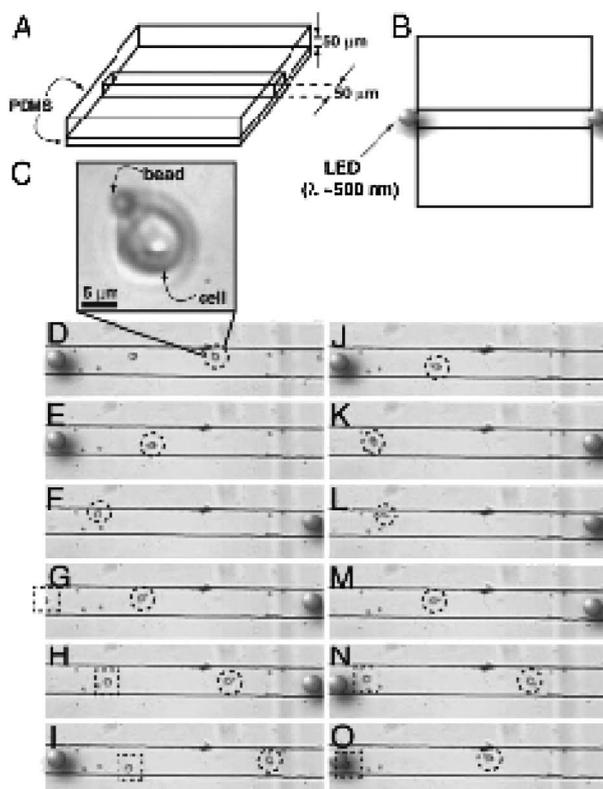


Fig. 8. *Chlamydomonas* Cells with Microscale Loads Attached are Steered by Phototaxis

Schematic side (A) and top (B) views of the microfluidic channel used in the experiments are shown. (C): Phase contrast image of a *Chlamydomonas* cell with a 3 μm -bead attached to the cell wall between the two flagella. (D–O): Sequence of images showing how positive phototaxis can be used to “steer” the cell in C; a dashed circle has been added to each frame to indicate the position of the cell. The LEDs embedded at either end of the channel were illuminated alternately, as indicated by the cartoon of the LED. [Ref. 20.]

く生きた生物そのものを微小機械の一部として利用する試みが進んでいる。タンパク質を精製するという手間が省けるだけでなく、これまであまりにも機能や構造が複雑で単離したタンパク質では運動を再構築できなかった鞭毛運動や、心筋の拍動などをそのまま使えるという利点がある。

5. おわりに

分析機器をめざした生体分子で駆動する微小装置について議論してきた。この分野は日進月歩で、非常に幅広い研究分野の融合でなり立っており、新たな研究者の参入や分野の融合がさらにこの研究を加速するだろう。現在、われわれこの分野の研究者はあまり実際の分析化学のニーズについては考慮せず、自らの好奇心を原動力にこれを進めてきたところがある。分析化学の現場の研究者の参入が、まだ始まったばかりのこの研究領域を本格的に実用性の

あるものへ引き上げると期待している。

REFERENCES

- 1) Vale R. D., Reese T. S., Sheetz M. P., *Cell*, **42**, 39–50 (1985).
- 2) Howard J., Hudspeth A. J., Vale R. D., *Nature*, **342**, 154–158 (1989).
- 3) Hiratsuka Y., Tada T., Oiwa K., Kanayama T., Uyeda T. Q. P., *Biophys. J.*, **81**, 1555–1561 (2001).
- 4) Hess H., Clemmens J., Matzke C. M., Bachand G. D., Bunker B. C., Vogel V., *Appl. Phys. Mater. Sci. Process.*, **75**, 309–313 (2002).
- 5) van den Heuvel M. G., Butcher C. T., Smeets R. M., Diez S., Dekker C., *Nano Lett.*, **5**, 1117–1122 (2005).
- 6) Hess H., Bachand G. D., *Nanotoday*, 24–29 (2005).
- 7) Jia L. L., Moorjani S. G., Jackson T. N., Hancock W. O., *Biomed. Microdevices*, **6**, 67–74 (2004).
- 8) Spetzler D., York J., Dobbin C., Martin J., Ishmukhametov R., Day L., Yu J., Kang H., Porter K., Hornung T., Frascch W. D., *Lab Chip*, **7**, 1633–1643 (2007).
- 9) Mihajlović G., Brunet N. M., Trbović J., Xiong P., von Molnár S., Chase P. B., *Appl. Phys. Lett.*, **85**, 1060–1062 (2004).
- 10) van den Heuvel M. G. L., Butcher C. T., Lemay S. G., Diez S., Dekker C., *Nano Lett.*, **5**, 235–241 (2005).
- 11) Ionov L., Stamm M., Diez S., *Nano Lett.*, **6**, 1982–1987 (2006).
- 12) Konishi K., Uyeda T. Q., Kubo T., *FEBS Lett.*, **580**, 3589–3594 (2006).
- 13) van den Heuvel M. G. L., De Graaff M. P., Dekker C., *Science*, **312**, 910–914 (2006).
- 14) Taira S., Du Y. Z., Hiratsuka Y., Uyeda T. Q., Yumoto N., Kodaka M., *Biotechnol. Bioeng.*, **99**, 734–739 (2008).
- 15) Diez S., Reuther C., Dinu C., Seidel R., Mertig M., Pompe W., Howard J., *Nano Lett.*, **3**, 1251–1254 (2003).
- 16) Hiratsuka Y., Miyata M., Uyeda T. Q. P., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **331**, 318–324 (2005).
- 17) Hiratsuka Y., Miyata M., Tada T., Uyeda T. Q., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **103**, 13618–13623 (2006).
- 18) Xi J., Schmidt J. J., Montemagno C. D., *Nat. Mater.*, **4**, 180–184 (2005).
- 19) Darnton N., Turner L., Breuer K., Berg H. C., *Biophys. J.*, **86**, 1863–1870 (2004).
- 20) Weibel D. B., Garstecki P., Ryan D., DiLuzio W. R., Mayer M., Seto J. E., Whitesides G. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 11963–119637 (2005).