

# 溶液プラグ操作による汎用的生化学分析システム

佐々 文洋

近年、マイクロマシーニング技術を応用した微小化学分析システム (micro-total analysis system,  $\mu$ TAS) の研究が活発に進められている。この $\mu$ TASとは、微小なチップ上にセンサやポンプ、微小流路などを搭載し、生化学分析や化学合成を行うデバイスであり、医療診断、創薬、生物・化学の基礎研究などから大きな期待が寄せられている。現在この分野では、ある目的に特化することで、ハイスループットな処理を行うシステムの研究が主流となっているが、今後それら専用デバイスを統合するための汎用的な液体操作デバイスが求められてくると考えられる。そこで、本研究では微小流路中の液滴である液体プラグの性質<sup>1)</sup>を利用することによって、任意の種類の溶液を任意の比率、任意の手順で混合することが可能な汎用的液体プラグ操作システム (図1) の構築を行った<sup>2)</sup>。

システムはT字型のマイクロ流路を持つ流路チップとそれに接続された2本の精密に吸引・排出可能なポンプから構成されている。システム内に導入された液体プラグに対し、本システムの基本操作となる分割・計量・入れ替え操作などを適切な順番で組み合わせ実行していくことでさまざまな液体操作を行うことが可能となる。デバイスの動作確認として、溶液の一定比率による繰り返し希釈を行ったところ、希釈回数と蛍光強度から算出した溶液濃度は理論どおりの結果が得られ、精密な液体プラグ操作が可能であることが確認された。

生化学分析への応用としてAmplexRed-HRP-L-グルタミン酸オキシダーゼを用いたL-グルタミン酸の4サンプル同時測定を行った。ここでは、調べたL-グルタミン酸濃度が $0.6 \mu\text{M}$ から $5 \mu\text{M}$ の範囲において高い再現性で直線関係を得られ、本システムで複雑な手順を必要とする生化学分析を行えることが確認された。

しかしこの実験では電動外部ポンプ (4 kg) を用い、分析には蛍光顕微鏡を必要とした。本当の意味でコンパクトでまた集積化可能な汎用分析デバイスを開発するにはこの問題点を解決しなければならない。そこで、これ

らのチップを駆動するための形状記憶合金マイクロポンプ、チップ上に搭載できかつナノリットルオーダーの微小な液滴 (液体プラグ) を測定できるマイクロ電気化学センサを開発した。また本デバイスでのプラグ操作を簡単にプログラミングできるインターフェイスソフトの開発も行った。

マイクロマシーニング技術を用いてチップ上に電気化学三電極系を作製し、クーロメトリー法を用いて60~520 nlの液体プラグの過酸化水素およびL-グルタミン酸の測定を行った<sup>3)</sup>。また感度向上のため流路高さ、作用電極の形状の最適化を行った。

結果、測定部のみ流路を低くしアレイ作用電極を配置したデバイスを作製したところ、過酸化水素測定で390 nMの検出限界を実現した。nlオーダーの微量液滴を対象とした電気化学測定でこれほどの高感度を実現した例はほとんどない。

また、デバイスを駆動する軽量で精密駆動可能な形状記憶合金マイクロポンプを開発した。このデバイスは電気化学エッチングにより二次元加工した複数のスリットを持つ形状記憶合金マイクロシート (重量 $11 \mu\text{g}$ ) にシリコンチューブを挿入するという非常にシンプルな構造でありながら流路の完全密閉およびプラグの送液が可能となっている。また、このデバイスを2個直列に接続することによってステップ駆動ポンプを構成し、両方向への自在な送液を実現した。作製したマイクロポンプを駆動するための制御回路、およびJAVA言語によるコントロールソフトウェアを作製し、プラグの計量分割・混合などの操作を全自動で行う制御システムを構築した。また、このシステム上で効率的にプラグ操作を行う操作アルゴリズムを考案し実装することで分析処理の高速化を実現した。

本デバイスの細胞操作実験への応用として、T字型流路を複数並列配置した細胞培養デバイスを試作した。このデバイスに120 nlの溶液プラグを用いて繊維芽細胞を培養したところ、少なくとも培養72時間までは良好に増殖し、細胞生存率は95%以上であった。このデバイスを用いてヒト肝癌由来細胞Hep G2を培養し、抗がん剤であるマイトマイシンCやフルオロウラシルの薬効試験を行ったところ、従来のマルチウェル培養プレートを用いた評価と非常に良い相関が得られた。従来の培養プレートでは1条件あたり100~200  $\mu\text{l}$ の試薬量を必要とするが、本チップではその数千分の一まで消費量を低減することに成功している。

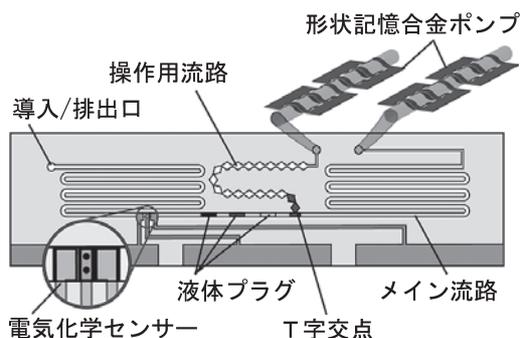


図1. 液体プラグ型化学分析チップ

- 1) Song, H. et al.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 7336 (2006).
- 2) Sassa, F. et al.: *Anal. Chem.*, **80**, 6206 (2008).
- 3) Sassa, F. et al.: *Anal. Chem.*, **82**, 8725 (2010).