遠心力を利用するコンパクトディスク (CD) 型マイクロチップフロー分析

九州大学工学府化学システム工学専攻 本 明紘

近年、ガラスやプラスチック板に深さ・幅が数 10 から 数 100 μm、長さが数 cm程度の細い流路のマイクロチャ ンネルを施したいわゆる「マイクロチップ」と呼ばれる基 板を用いたフロー分析法が活発に研究されている。従来の フロー分析法に比べて、使用する試薬量が極めて微量であ るため、高価な試薬を使用する場合には大変有用である。 また、2種類以上のものを混合反応させる場合、物質移動 支配になる場合でも拡散距離が極めて短いので、短時間に 反応が完結する利点もある。送液には、送液速度を毎秒数 μL程度に制御するために、一般にシリンジポンプのよう なものが用いられるが、電気泳動による浸透流を利用して、 同時に分離分析を行う方法も報告されている。これに対し て、コンパクトディスク(CD)型の円盤状の板の上に液だめ とマイクロ流路を作製し、これを回転することによって、 液だめの液体を流路に従って流す方法を開発されており、 新しい流れ分析法として興味深い。

Watts ら [1] の開発したCD型マイクロチップをFig. 1 に示す。図中の2はNa⁺, K⁺, Ca⁺ 及びCl⁻に対して光学的 に応答するイオン感応膜を直列状に並べられたセンサ部 (オプトード)である。図中の3-8は液だめで、そのうち 3-5には4種のイオンを含む標準溶液が、6-8には実試料が 溜められている。液だめの溶液は、burst valve と呼ばれる 部分における表面張力によって流路に流れないように保 たれているが、ある回転速度以上になると遠心力が表面張 力を打ち勝って液だめから流れ出す。この流れ出す最小の 回転数 (burst 回転数) が Table 1 に示されている。液だめか ら液体が流れる順番は、液だめの液体にかかる遠心力の最 も大きいものからで、中心から最も離れた図中の3の液だ めから 4、5、・・8 の順に回転数の増加に応じて検出部に 向かって流れ出す。この場合、液だめと burst valve を結ぶ 流路の幅を調節することにより、burst 回転数を制御してい る。実際、このチップを用いて4種のイオンの同時測定に 成功している。

Rieggerら [2] は色素や量子ドットをカラータグとして ID付けをしたビーズと遠心lab-on-a-diskプラットフォーム と名付けた円盤型マイクロチップを用いて多数の成分を 同時にイムノアッセイを行う方法を開発している。Fig. 2

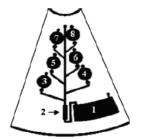


Fig. 1 CD 型マイクロチップ

Table 1 液だめからの溶出と 回転速度の関係

Reservoir	Width (µm)	Burst Frequency (rpm)
3	500	500±18
4	450	531±13
5	400	602±33
6	350	649 ±14
7	300	771±25
8	250	960±0

に示すように、例えば、3種の蛍光波長の異なる量子ドットを含ませてコード化したビーズにそれぞれ異なる抗体を固定化し、これを図中のinletから導入する。CD型マイクロチップの回転によりビーズをdetection chamberに導き、ここで測定対象の3種類の抗原を含む混合液と反応させ、さらに蛍光ラベル化した2次抗体と反応させる。このdetection chamberに捕集されたそれぞれのビーズの位置をCCDカメラにより割り出し、その後励起光を照射してバンドパスフィルターを通した蛍光画像をCCDにて取り込む。ビーズの位置の画像と蛍光画像を処理することにより各ビーズごとにイムノアッセイを行い、ビーズからの蛍光強度を測定することにより抗原の定量を行う。

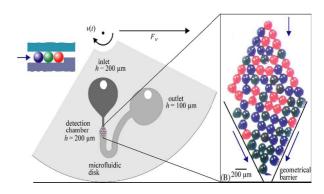


Fig. 2 マイクロビーズを用いる lab-on-a-disk platform [1] A. S. Watts, A. A. Urbas, E. Moschou, V. G. Gavalas, J. V. Zoval, M. Madou, L. G. Bachas, Anal. Chem., 79, 8046-8054, (2007)

[2] L. Riegger, M. Grumann, T. Nannb, J. Riegler, O. Ehlert, W. Bessler, K. Mittenbuehler, G. Urban, L. Pastewka, T. Brenner, R. Zengerle, J. Ducrée, Sensors and Actuators A, 126, 455–462, (2006)