

PDMS マイクロチップを用いた多反応場におけるイムノアッセイ ～オンチップでの多検出に向けて～

九州大学工学府化学システム工学専攻 齊藤 寛孝

イムノアッセイは動植物の病理学的基礎研究あるいは臨床検査の重要なツールとしてのみならず、環境モニタリングの分野でも重要な分析手段として利用されている。近年、これらのイムノアッセイにおける免疫反応から検出までの操作を一枚のマイクロチップ上で行う、いわゆる lab-on-a-chip や μ -TAS に関する研究が盛んに進められている。チップの材料としては、ガラスのほか作製の簡便性から、Poly(dimethylsiloxane) (PDMS) などの高分子材料が多用されている。煩雑な操作が必要であるイムノアッセイをマイクロチップの流路内で行うためには、チャンネル内の流体をいかに自在に操作できるようにするかが重要な鍵となる。気体で駆動するバルブのマイクロチップへの集積化は、直接マイクロチャンネル内の試薬の流れの制御を可能にする。Shao らは、空気駆動バルブを付加したマイクロチップによるイムノアッセイ法を報告している。その概要を紹介する。

Shao らは、Fig. 1 (a) に示すような PDMS 製マイクロチップに空気で動作するバルブを付加したイムノセンシングデバイスを作製している。バルブの機構を Fig. 1 の破線円内に示す。Fig. 1 (a) のマイクロチップに組み込まれた気体コントロール層(中間の層)の A 又は B から空気を送り込むことにより、(b) に示すようにバルブの開閉が制御され、チャンネル X 又は Y に流す試薬の流れを操作することができる。狙った場所 (designated reaction zones : DRZs、チャンネル X と Y が交差した点) でのみ免疫反応を行うことが可能となっている。それぞれの DRZ はお互いにバルブで隔られているため流路内での試薬のコンタミネーションを防ぐことができる。Shao らは、このマイクロチップの流路内の PDMS 表面にポリクローナルな抗マウス IgG 抗体を固定化し、フルオレセインイソチオシアネ

ート(FITC)標識抗 IgG 抗体によるサンドイッチ蛍光イムノアッセイを行い、このイムノセンシングデバイスを評価している。イムノアッセイのプロトコルを Fig. 2 に示している。分析に必要なサンプル量は 10 μ L と微量で、この方法における IgG の検出下限濃度は 5 ng/mL (\approx 33 pM) であり、既報に比べて高い感度が達成されている。高品質のモノクローナル抗体を使用することにより、さらに低い検出限界が得られると Shao らは予測している。このマウス IgG を用いたイムノアッセイの結果から、バルブを付加したマイクロチップによるイムノセンシングデバイスが実際の使用に耐えることが証明されている。今後は、バルブ切り替えによる DRZs を活かして複数の抗体を流路内に吸着させ検出する、多検出用デバイスへの応用が期待される。

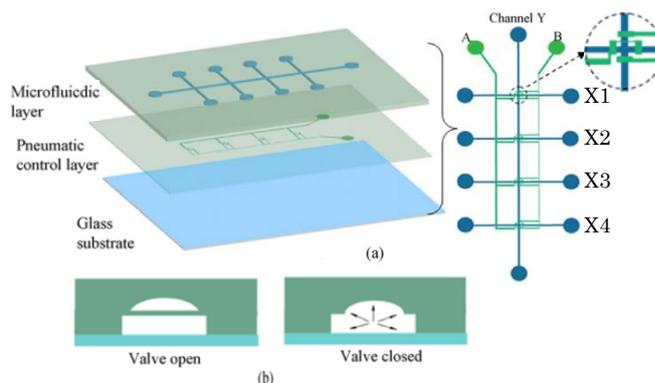


Fig. 1. 空気駆動バルブ付加型マイクロチップ

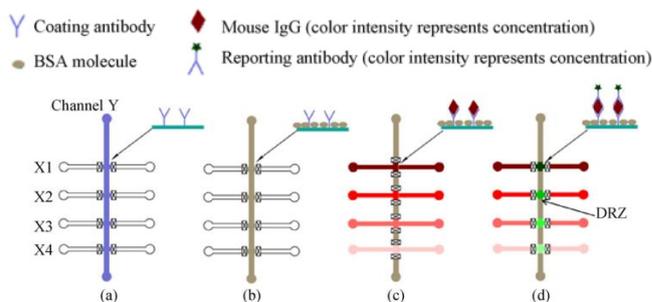


Fig. 2. イムノアッセイのプロトコル

(a) 1次抗体の固定化、(b) ブロッキング、(c) 試料の導入、(d) 蛍光標識2次抗体の導入

【文献】 G. Shao, J. Wang, Z. Li, L. Saraf, W. Wang, Y. Lin, *Sensors and Actuators B*, 159, 44–50 (2011).