

サブテーマ名：A 高速分子進化のための基盤技術の開発

小テーマ名：A4 マイクロバイオ分析デバイスの開発

フェーズ I<1-d>, <1-e>の一部

### [概要]

マイクロバイオ分析デバイスとは、数センチ四方のチップ上に微小なチャンネルを作製し、そのチップ上でサンプルの分離、反応、検出等のすべての分析行程を行うデバイスのことをいう。このデバイスによって、サンプルの少量化、測定時間の短縮、測定の並列化、高感度測定等の様々な利点が期待できる。そして、マイクロバイオ分析デバイスを開発することによって、高速分子進化の更なる促進が期待できる。しかし、作製技術、チャンネルの極小化による表面の効果や流体力学的作用、サンプルの検出方法、マニピュレーション方法等の問題がある。そこで、マイクロチャンネルの設計のためにマイクロ流体の物理について解析し、近年生化学分析に使われるようになってきた磁気ビーズのマニピュレーション、クラスター構造などを解析し、高速分子進化のための反応促進技術を開発した。さらに、プラズマを用いたさまざまな材料表面処理とプラズマ重合有機薄膜によるセンサーの開発のための要素技術を確立した。

(1) マイクロチャンネルの作製：

高アスペクト比のマイクロ加工技術を確立し、その技術を利用してさまざまなマイクロチャンネルの作製を行い、マイクロリアクター・マイクロ化学反応研究に提供した。

(2) マイクロ磁性粒子の外部磁場による挙動：

マイクロ磁性粒子の外部磁場による挙動の理論計算と実際の挙動の観察により、磁性粒子を制御する技術を確立した。

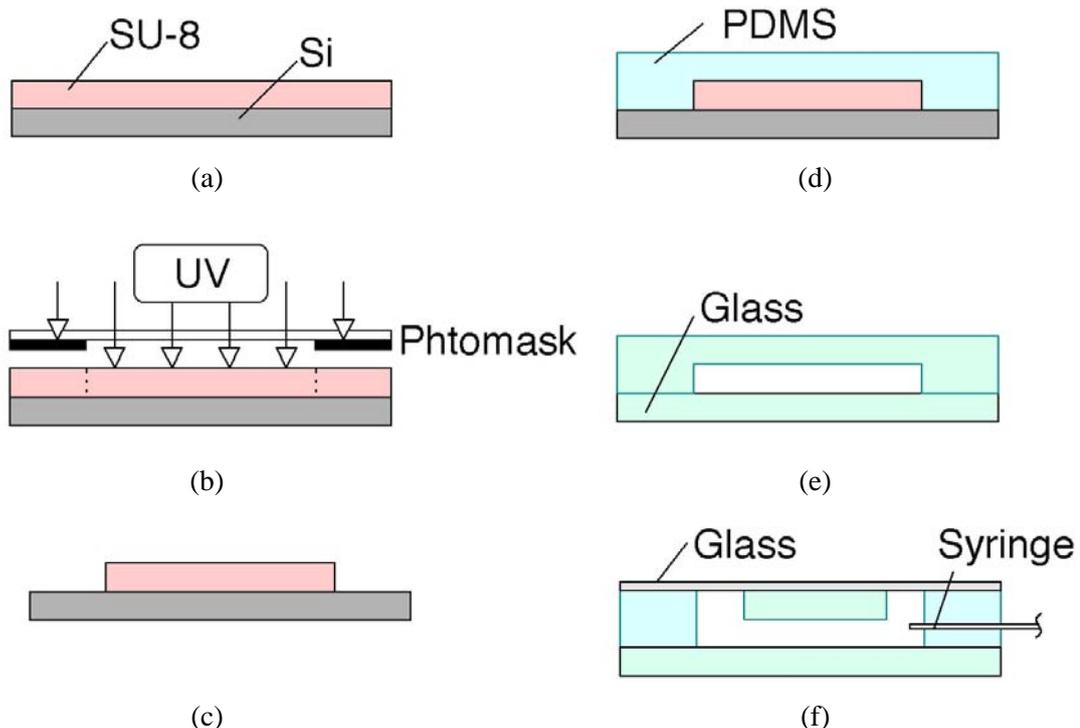
(3) プラズマ重合薄膜の作製、その表面特性の解析とセンサーへの応用：

プラズマ重合膜処理による材料表面への生体適合性の付与技術を確立した。また、プラズマ重合薄膜センサーへの応用技術を確立した。

### [フェーズ I の研究成果]：

(1) マイクロチャンネルの作製：

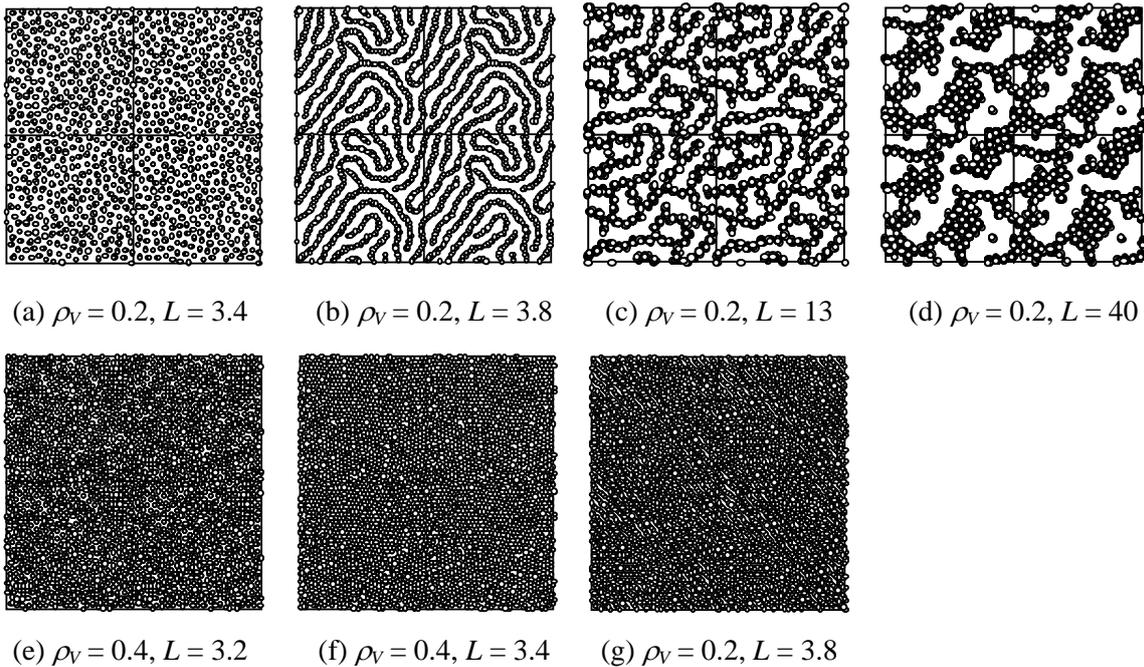
マイクロチャンネルの作製工程を下図に示す。



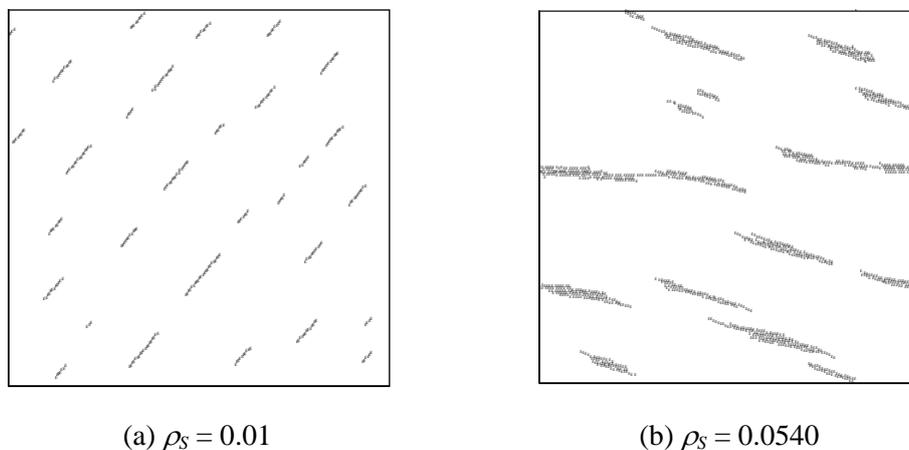
シリコンウェハーにレジスト (SU-8) を塗布し(a)、露光前加熱、UV露光(b)、露光後加熱、現像(c)をしてマイクロチャネルのパターンを作製する。そのパターンを型として Polydimethylsiloxane(PDMS)を流し込み、真空脱泡しながら固め、PDMSのマイクロチャネルを作製する(d)。そのPDMSをガラスに接着し(e)、電極やシリンジ等を設置し(f)、マイクロチャネルを作製した。

(2) マイクロ磁性粒子の外部磁場による挙動：

直流磁場を印加した場合に形成される磁気ビーズのパターンを下図に示す。様々な条件に対して、鎖状クラスターが個々で分散したパターン、二種類の壁状パターン、太い柱状のパターン(Body-centered-tetragonal (BCT) lattice)、結晶構造(BCT, HCP等)が形成された。

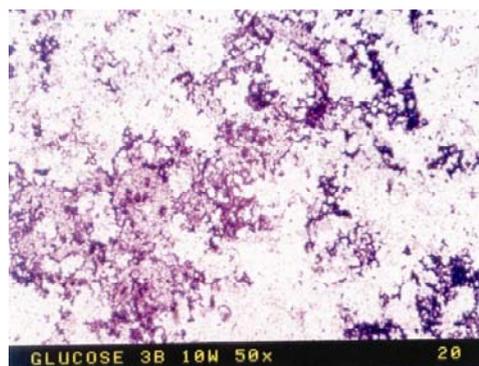


低粒子濃度で回転磁場を印加した場合に形成される磁気ビーズのパターンを下図に示す。同じ磁場の周波数でも  $\rho_s$  (Area fraction) = 0.01 の場合では鎖状クラスターが回転しながら top-to-tail で結合したが、 $\rho_s = 0.05$  の場合では鎖状クラスターが回転しながら top-to-tail で結合し、時間経過すると、鎖状クラスターが side-to-side で結合し、葉っぱ状のパターンが形成された。



(3) プラズマ重合薄膜の作製、その表面特性の解析とセンサーへの応用：

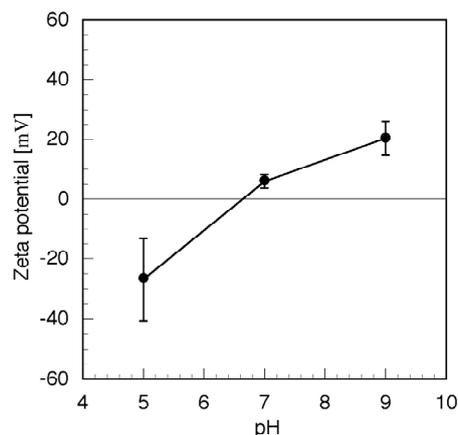
材料表面にさまざまな有機モノマーガスを用いてプラズマ重合薄膜を作製し、表面特性の親水化ならびに生体適合性付与の研究を行った。右図にグルコース・プラズマ重合膜と赤血球との適合性を示す。グルコース・プラズマ重合膜は良い生体適合性を示すことが明らかとなった。



**[フェーズ II の研究成果]：**

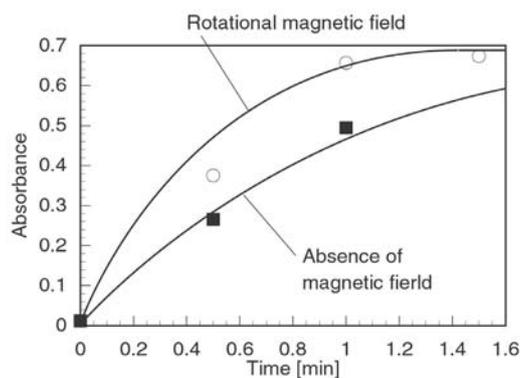
(1) マイクロチャネルの作製：

作製したマイクロチャネル上への生体分子の吸着を防ぐためにポリマーでマイクロチャネルをコートして、その効果をゼータ電位で評価した。実験条件として、生体分子は羊の赤血球を用い、溶媒はリン酸塩緩衝液(pH 7.0)を用いた。マイクロチャネルに電場を印加し、羊の赤血球の速度を光学顕微鏡で測定し、その速度からSmoluchowskiの式を用いてゼータ電位を求めた。

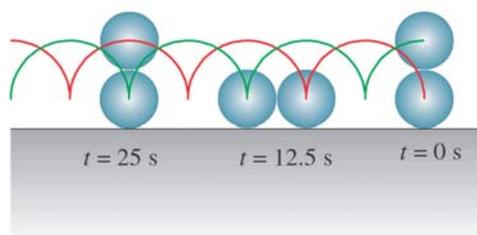


(2) マイクロ磁性粒子の外部磁場による挙動：

磁気ビーズの反応促進への応用として、マイクロリアクターと磁気ビーズを用いたELISA法を行った。その結果、無磁場の場合に比べて回転磁場を印加した場合の方が、下図に示すように反応が促進された。

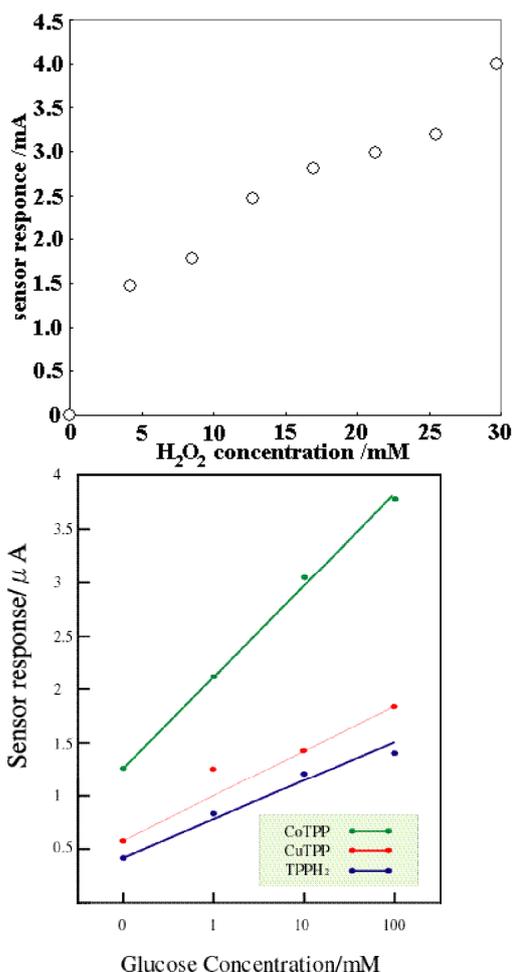


また、下図に示したように磁性体の壁とその近くに磁気ビーズを配置させた状態で回転磁場を印加させて、磁気ビーズをマニピュレーションさせることが可能である。



(3) プラズマ重合薄膜の作製、その表面特性の解析とセンサーへの応用：

金属テトラフェニルポルフィリン錯体（コバルト、銅、塩化マンガ）のプラズマ重合膜を作成し、ポルフィリン錯体・プラズマ重合膜のセンサー応答性について検討した。塩化マンガテトラフェニルポルフィリン錯体(MnTPPCl)・プラズマ重合膜の過酸化水素応答性を右図に示す。また、CoTPPやCuTPPプラズマ重合膜においても過酸化水素応答性を示した。各金属TPP錯体・プラズマ重合薄膜上に酵素・グルコースオキシダーゼ (GOD) を固定化してCV測定行くと、グルコース濃度の変化に伴い還元ピークが変化することが観測された。GODを固定化した金属TPP錯体プラズマ重合薄膜はグルコース・センサーとしての機能性を有することが明らかとなった。そのグルコース測定濃度範囲は、血中グルコース濃度をカバーしており、実用化するバイオセンサーとして期待される。また、そのグルコース応答性には金属イオン種が大きく影響している事も図から明らかである。



**[今後の展開]：**

(1) マイクロチャネルの作製：

確立した基礎技術の成果を踏まえて、さらなる技術改良を行う。

(2) マイクロ磁性粒子の外部磁場による挙動：

マイクロリアクター・マイクロ化学反応における混合・攪拌効率をさらに改良する。

(3) プラズマ重合薄膜の作製、その表面特性の解析とセンサーへの応用：

確立した技術をさらに多くの事例に適用し、実用化を目指す。