

高集積タンパク質アレイ作製のための送液デバイスの開発

A fluidic device to generate micro-compartment for easy-handling of high-density protein microarray

東大院工¹, CREST²,○福田 拓海¹⁾, 佐藤 秀介¹⁾, 上野 真吾^{1, 2)}, マニッシュ ビヤニ^{1, 2)}, 一木 隆範^{1, 2)}Sch. of Eng. Univ. of Tokyo¹, CREST²,○T. Fukuda^{1, 2)}, S. Sato^{1, 2)}, S. Ueno^{1, 2)}, M. Biyani^{1, 2)}, and T. Ichiki^{1, 2)}

E-mail: fukuda@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

[緒言]有用タンパク質創出とその作製手法の確立を目指し、マイクロアレイチップ技術と進化分子工学を組み合わせた高速タンパク質分子進化システムの開発を行っている。既に我々は DNA アレイチップからタンパク質を無細胞合成できたことを報告した。今後、大規模変異体ライブラリーを作製するために、大面積のマイクロアレイ内に溶液を流し、各ウェルをリアクターとして隔離する必要がある。今回、無細胞転写翻訳溶液をマイクロリアクター内にオイル封入することを目的としたデバイスを試作し、フルオロセイン水溶液を用いて動作確認し、検討を行ったので報告する。

[方法・結果]はじめに、PC (Polycarbonate) 板、COP (Cycloolefin polymer) 板から送液デバイスの作製を行った。使用できる流体の幅を広げるために薬品耐性をもつ材料を使用し、PC の自家蛍光で蛍光観察が阻害されないように、観察部位には低自家蛍光の COP を組み込んだ。デバイスと吸引ポンプをチューブでつなぎ、高さ 100 μm の流路で溶液・オイルを送液できることを確認した。送液速度は吸引圧力により制御でき、粘度 1~1000 cSt の溶液・オイルを送液することができる。50 μl の溶液で観察部位の約 4 cm^2 (4.0×10^6 wells 相当) に層流で展開でき、複数種類の溶液を連続で安定的に再現性よく流せるよう設計した。GFP をコードする DNA を固定化したビーズ担体を配置した PDMS 製 DNA ビーズアレイチップを作製し、上記のデバイスと接着して (Fig. 1)、リアクター ($\phi 4 \mu\text{m}$, 高さ 4 μm , 10000 wells/ mm^2) 内にエタノールを溶媒としたリン脂質、フルオロセイン水溶液を連続して圧力 2 kPa で展開した。続けてシリコンオイルを流して各リアクターを個別に隔離した (Fig. 2)。Fig. 3 はオイル封入後のリアクターの蛍光画像であり、今後のタンパク質合成に必要な隔離反応空間を形成できることが確認された。

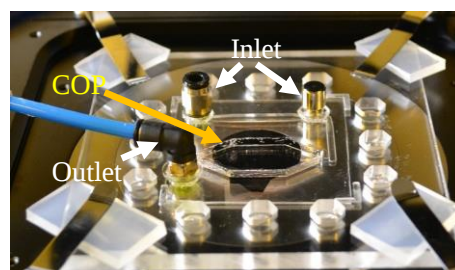


Fig. 1 Outlook of a fluidic device.

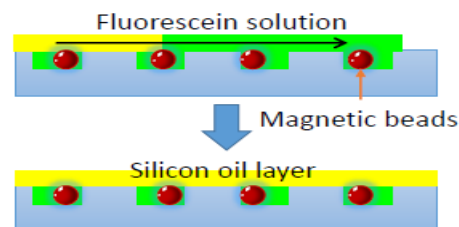


Fig. 2 Schematic illustration of isolating each reactor using oil layer.

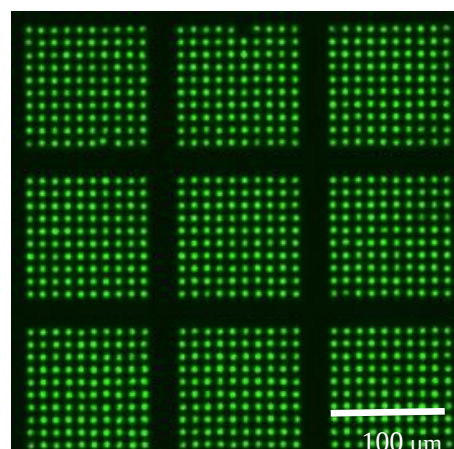


Fig. 3 Fluorescence microscopy photo of fluorescein solution covered with oil on a microarray.