

イオン電流と蛍光の同時計測による単一粒子検出

Electrical and optical detections of single-particles in a microfluidic channel

阪大産研¹, 阪大基礎工² ○筒井真楠¹, 雪本直哉², 田中頌二², 川野聡恭², 川合知二¹, 谷口正輝¹

ISIR, Osaka Univ. ○M. Tsutsui, N. Yukimoto, S. Tanaka, S. Kawano, T. Kawai and M. Taniguchi

E-mail: tsutsui@sanken.osaka-u.ac.jp

[はじめに] 我々の研究グループでは、高速・高感度 1 分子センサーの創製に向けたゲーティングナノポアデバイスの研究に取り組んでいる[1]。このデバイスでは、流路を通るイオン電流や、分子を流れるトンネル電流を検出することで、1 分子の識別が行われる[2]。しかし、こういった電流を指標とする 1 分子検出法では実像観察が行えないため、得られる電気信号が本当に想定している事象に基づいたものかを確認することが困難である。そこで今回は、マイクロ流路を電気泳動する蛍光粒子を対象に、イオン電流計測法を用いた 1 粒子検出を行い、さらに同時に蛍光観察を実施することで、観測されるスパイク状のイオン電流変化が、粒子が流路を通過したことによるものであるかどうかを実験的に検証した[3]。

[実験方法] 流路内を電気泳動する蛍光粒子の蛍光観察を実施するために、厚さ約 150 μm の透明ガラス基板の上にマイクロ流路を作製した。まずガラスプレート上に CVD 法により厚さ 4 μm の SiO_2 層を成膜した。次に、フォトリソグラフィプロセスおよび高周波マグネトロンスパッタ法を用いてマイクロ電極を作製した。その後、全面に厚さ 100nm の Cr 層を蒸着した。そしてマイクロ電極を外部マーカーとして用い、電子線描画法によりマイクロ流路をパターニング後、ウェットエッチング法により Cr を部分的に除去した。この Cr 層をマスクとして用い、部分的に露出した SiO_2 層を反応性イオンエッチングプロセスにより深さ方向に 1.4 μm 掘削することで、マイクロ流路を得た。実験の際には流路を PDMS でシールし、シリンジを用いてマイクロ流路に蛍光粒子を分散させた TE バッファー (tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM) を導入した。その上で、2 つの銀/塩化銀電極を用いて負に帯電した蛍光粒子を流路に電気泳動させるとともに、Axopatch 200B 電流アンプおよび高速デジタイザ (NI PXI-5922) を用いて流路を通るイオン電流の時間変化を記録した。そして同時に、蛍光顕微鏡 (IX71) を用いて基板の裏面から蛍光観察を行い、電子増倍型 CCD カメラを用いて画像を収集した [1]。

[実験結果] 蛍光イメージングとイオン電流の同時計測を実施したところ、電気泳動電圧 5V の下で幅約 1.4 マイクロメートルの直線形流路を通るイオン電流は、負に帯電した直径 1 マイクロメートルの蛍光粒子がマイクロ流路を通過したことを示唆するスパイク状の電流変化を示した。一方、マイクロ流路付近の蛍光観察像には、イオン電流のスパイク信号が検出された時間と同じタイミングで、マイクロ流路を通過する単一の蛍光粒子が確認できた[3]。この手法は、高時間・空間分解能を有しながら実像観察も行える新しい 1 粒子ダイナミクス解析法である。講演では、粒子の電気泳動速度解析結果について報告する。

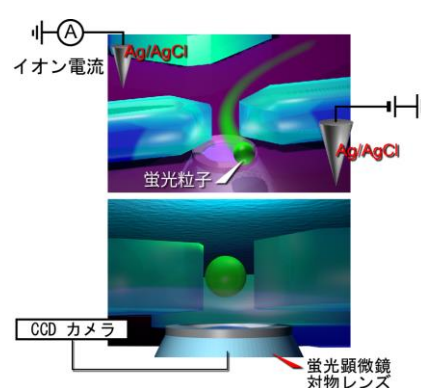


図 1. 蛍光観察とイオン電流計測の同時実行による単一粒子検出。蛍光粒子を電気泳動させ、その時に流路を通るイオン電流を記録しながら透明ガラス基板の裏側から蛍光顕微鏡による単一粒子観察を行う。

[1] M. Tsutsui et al., *Nat. Nanotechnol.* 5, 286 (2010).[2] M. Tsutsui et al., *Sci. Rep.* 1, 46 (2011).[3] N. Yukimoto et al., *Sci. Rep.* 3, 1855 (2012).