マイクロ流路遠心デバイスへの分取機能付与の検討

Splitting system functionalized on microfluidic device driven by centrifugal force 阪大院工,[○]桐山 雄一朗,齋藤 真人,民谷 栄一

Osaka Univ., $^{\circ}$ Yuichiro Kiriyama, Masato Saito, Eiici Tamiya

E-mail: saitomasato@ap.eng.osaka-u.ac.jp

【はじめに】遺伝子検査技術の1つであるPCR法をPOCTに展開することで、医療分野のみならず食品の微生物検査や遺伝子組み換え植物の検査など、広域かつ多様なケースにおいてターゲットの検出・同定を遺伝子レベルで迅速に行うことが可能となる。これまでにサーマルサイクラーとサンプリングチューブを利用した従来のチューブPCR、マイクロ流路を利用したフローPCR、熱対流による温度交換を利用した熱対流型PCR(SCIENCE 298, 793, 2002)など多様な手法が開発されているが、実際に現場で使用する際に試料調製が煩雑である、装置が大型である等の課題がある。そこで我々は、ベナール対流を表す基礎方程式の重力に依存するパラメータに着目し、このパラメータを遠心場に置き換える事で対流速度の制御を行い、PCRにおける熱交換の迅速性の向上による増幅反応の迅速化を達成した。また同時に、遠心力と熱対流を利用することで溶液充填と混合を自動的に行うことも可能とし、検体液を注入するだけでPCRが行えるようPCR操作の簡便化にも成功した。今回、PCR法の課題である試料調製の簡便化について検討を行うため、試料液を必要量分注可能な流路を備えたマイクロ流体チップの開発を行った。

【実験】リング状ヒーターを有するステージとこれを DC モーターによって回転させる装置を作製した.回転数の制御は印加電圧の調整によって行っている.流路幅 500μm,深さ 400μm のリング状反応流路と、その上部に屈曲した流路を有するマイクロ流路を設計した.リング状反応流路容積と屈曲部容積が等しくなるよう設計した.シクロオレフィン樹脂(COP)材料に切削加工を施すことでチップの作製を行った.作製したチップに食紅液(NewCoccine)を滴下し、毛細管現象により屈曲部に溶液を充填させた.さらにチップステージを回転させることで試料液がリング状反応流路に移送される様子についてハイスピードカメラを用いて観察した.

【結果・考察】作製したチップに任意の量を滴下したところ、毛細管現象により屈曲部流路部分に食紅液が満たされる様子が観察された。チップおよびステージを3270 rpmで回転させたところ、屈曲部流路の角で液が分離され、リング状流路部分に液が一定量充填される様子が確認された。これにより、溶液の精密な分取・注入の手技をすることなく、必要量を秤量することが可能となった。このことはPCR法におけるサンプル調製作業や熟練度の低減を示唆するものであり、本法をPOCTへ展開する際に有用であると考えられる。PCRへの応用検討についてもあわせて報告する予定である。