熱対流制御によるイムノアッセイの迅速化検討

Rapid immunoassays assisted by thermal convection control

○ 田所 達郎¹、斎藤 真人¹、民谷 栄一¹(1.阪大工)

°Tatsuro Tadokoro¹, Masato Saito¹, Eiichi Tamiya (1.Osaka Univ.)

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

アレルギーやガン、毒素などの計測・診断において、免疫反応を応用したタンパク質マーカーの微量検出が重要である。従来法として高い特異性と高い感度をもつ Enzyme-Linked Immunosorbent assay(ELISA)による定量が知られるが、反応時間が長く測定に数時間を要する、作業が煩雑で熟練度を要するという課題があり、検査実施は検査ラボや病院検査部などに限られている。一方、μ-TAS (Micro-Total Analysis Systems)研究として、マイクロデバイス内で溶液を流すことにより抗体抗原などの反応時間を短縮する事例が報告されている。しかしながら、反応場に対して送液サンプル量が多く、微細化のメリットを享受しきれていない、シリンジポンプを用いた煩雑作業を要するなど、現場での実用には至っていない。そこで演者らは、簡便で迅速な簡易診断デバイスの実現に向けた取り組みを進めることとした。本研究は、熱対流という循環する流れをマイクロ流路内に発生させ、遠心により熱対流の流速制御を可能とすることで、サンプル量の微量化と反応時間の短縮を両立させることを目的とし、これらを実現するマイクロ流路と温調回転装置の開発を行った。さらに、流路構造と遠心力を組み合わせた溶液交換を実現することで、簡易的な操作を可能とした。

幅 1mm、深さ 700 μ m、外径 7mm のリング状流路を 8 流路配置したディスク状基板を設計した。 切削加工により作製したポリカーボネート製鋳型に、Polydimethylsiloxane (PDMS)を流し込み、2 時間 80° Cのオーブンで硬化させ、マイクロ流路構造を転写成型した。酸素プラズマを用いて流路シートを張り合わせ、支持基板としてのアクリル板に自己粘着させることでチップを作製した (Fig.1A)。ブロックヒーター、モーター、水冷機構を用い、流路上に 2 つの温度域を生成し、かつ回転を行う温調回転装置を開発した。 (Fig.1B)温調回転装置を用いて 38° Cと 28° Cの温度域を生成し、回転による相対重力加速度を 300G の条件で、マイクロ流路上で流速 $33.2\pm9.8\mu$ L/min の熱対流の発生に成功した。本デバイスを用いて、標的抗原 IgA の検出を行った(抗原反応 10 分、酵素

標識抗体反応 5 分、酵素基質反応 5 分)。その結果、熱対流を伴う反応は、静置した場合と比較して、吸光度にして 2.0 倍の向上を示し、対流による抗原抗体反応促進が示唆された。IgA 抗原濃度に対する検量特性についても合わせて報告する予定である。

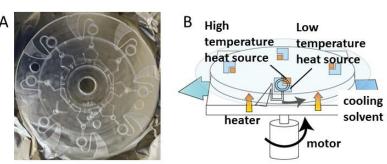


Figure 1. Fabricated immunoassay chip (A) and schematic diagram of assay control device (B)