四重極電極付ポアデバイスによる誘電泳動を用いた単粒子操作及び電気計測法の開発

Development of quadrupole-electrode integrated pore-device for single-particle measurement and manipulation by dielectrophoresis

阪大産研，○林田 朋樹 ，大城 敬人 ，谷口 正輝

Osaka University, ISIR ○Tomoki Hayashida , Takahito Ohshiro , Masateru Taniguchi

E-mail: tomoki.hayashida32@sanken.osaka-u.ac.jp

1. 緒言

ポア（細孔）デバイスを用いた単粒子検出技術は生体分子の検出･識別技術として注目されている。これは、対象試料を含む電界溶液を、ポアをもつ絶縁膜で仕切り、形成された二つの溶液容器間に電位差を作ることで、帯電試料粒子の単粒子ごとのポア通過を、イオン電流計測により検出する方法論である。我々はこれまでポアにギャップや包囲型電極等を集積化することで、DNA、ウイルスなどの生体試料を物性の違いにより選択的に分離・検出してきた。本研究では、ポアの周囲に四重極電極に集積化したデバイスを用いて、生体試料粒子を選択的誘電泳動させることで、単分子・単粒子操作及び電気計測系の構築を行った。生体試料粒子としては、ミトコンドリア、核、マイクロ RNA、エクソソームなどがある。これらの選択的検出・分離は、現在大きな課題の一つとなっている。本研究では、各生体試料粒子の誘電率の違いに着目し、ポアの周りに配した四重極電極（図 1 (a)）を用いて、交流印加で形成される不均一電場の制御により、目的の生体粒子をポア付近に選択的に捕集し検出することを試みた。これにより、様々な生体粒子の選択的分離・検出への適用が期待できる。

2. デバイス作製及び測定条件

用いるデバイスは以下のように作製する。まず、絶縁膜(Si_3N_4)付シリコンに、電子線描画法により四重極電極パターンを形成し、Pt の RF スパッタリング蒸着およびリフトオフにより作製した。この電極中央に電子線描画法により ϕ 10 μm のポアを形成し、表より反応性イオンエッチング、裏より KOH 溶液を用いた異方性エッチングにより貫通ポアを形成した。形成した電極には任意波発生器 (NF WF1946)により交流電圧(1 V_{pp} ~10 V_{pp}、100 kHz~15 MHz)を印加した。ポアの上下に Ag/AgCl 電極を配置し、両端に直流電圧を印加し、デバイスで仕切られた溶液間の電流を増幅し、デジタルマルチメータにより計測した。蛍光ポリスチレン粒子を含む溶液(ϕ 1.0 μm 、 1.0 ×10^4 particles/ml)を用い、粒子の誘電泳動の様子は蛍光顕微鏡(Leica TIRF MC)を用いて観察した。

3. 結果・考察

まず、誘電泳動による微粒子のポアへの誘導制御能を検証した。交流電圧印加により、試料粒子は電極の中心部分(ポアの位置)に捕集できることを確認した（図 1 (b)）。これは、微粒子に負の誘電泳動による斥力が作用し、電場強度の弱いポア付近に移動したためである。

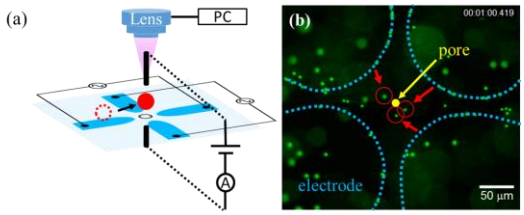

Figure. 1. (a)Schematic illustration of a single-particle electrical detection by a quadrupole-electrode integrated pore-device.
(b) A typical optical microscope image of sample-polystyrene beads (ϕ10 μm) after an AC voltage application. The beads moved into around the pore in the device by dielectroporesis.

次に、集めた試料粒子のポアデバイスによる単粒子検出について検証した。その結果、電流の顕著な落ちこみが観測された。これは、ポアの上下を流れるイオン電流が微粒子によって阻害されためであると考えられる。

4. 結言

今回、四重極電極を用いた誘電移動によってポアへ試料粒子を操作･検出できる可能性を示した。今後は、対象となる生体試料に対してデバイスデザインや電場制御条件を最適化することで、実試料へと展開する予定である。

© 2017年 応用物理学会