

微小液滴の遠心挙動制御と迅速ドロップレット PCR への応用

CONTROL OF MICRODROPLET BEHAVIOR BY CENTRIFUGAL FORCE AND APPLICATION TO RAPID DROPLET PCR

阪大院工 ○(M2) 三巻 拓矢, 高橋 和也, 斎藤 真人, (P) Wilfred V. Espulger, 民谷 栄一

Graduate School of Engineering, Osaka University, °Takuya Mitsumaki, Kazuya Takahashi, Masato Saito, Wilfred V. Espulger, Eiichi Tamiya

オイル内で区画化された微小液滴中で PCR 反応を進行させるデジタルドロップレット PCR (ddPCR) は、高感度かつ絶対定量検出が可能という利点があり、有用である。しかし従来の ddPCR デバイスは、反応時間が長く、試薬操作が煩雑であり、液滴の速度制御に外部ポンプが必要となるなど簡便性に課題があり、現場診断の実用化に至っていない。そのため、POCT (Point-of-Care-Testing) 対応可能な迅速かつ簡便な ddPCR デバイスの開発が必要とされている。そこで演者らは、外部ポンプを必要とせず、遠心力操作のみにより液滴生成から浮力移動による液滴挙動制御までを行え、かつ回転温調も可能な遠心マイクロ流路デバイスを設計・開発した (図 1)。半径 125mm の円盤ステージ上に、中心から 59.6mm~110.0mm の位置に高温および低温のヒーターブロックを並列に設置した (図 2b)。ヒーターブロックの真下にセラミックヒーターを設置し、一方、ヒーターブロック上にマイクロ流路チップを配置することで伝熱される。このときヒーターブロック上に 30 往復のジグザグ流路が配置されるよう改良し、流路内を液滴が移動することで迅速な温度交換を可能にした。試作デバイスを用いて液滴挙動を観察したところ、回転数の上昇に伴い液滴移動速度の上昇が見られた。これにより、回転数による液滴移動速度制御が可能であることを示された。さらに、920pg/ μ L の薬剤耐性遺伝子 (*bla_{IMP-6}*) を指標に用いて、液滴内での DNA 増幅も確認できた。検出感度なども合わせて報告する予定である。

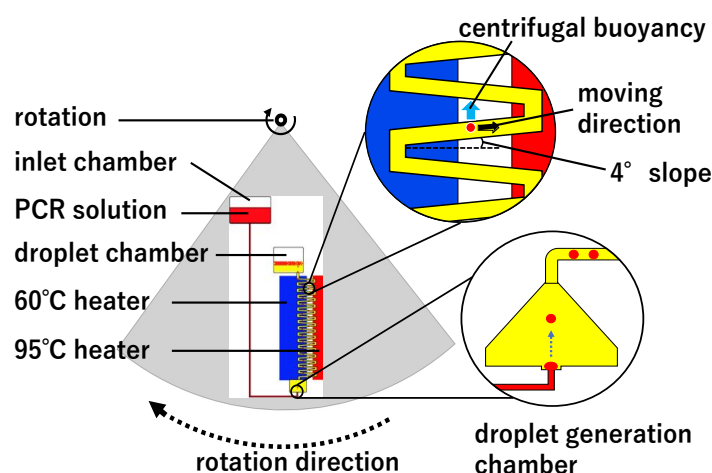


Figure 1. Schematic illustration of the micro flow ddPCR chip driven by centrifugation-assisted buoyancy under relative gravity acceleration influence.

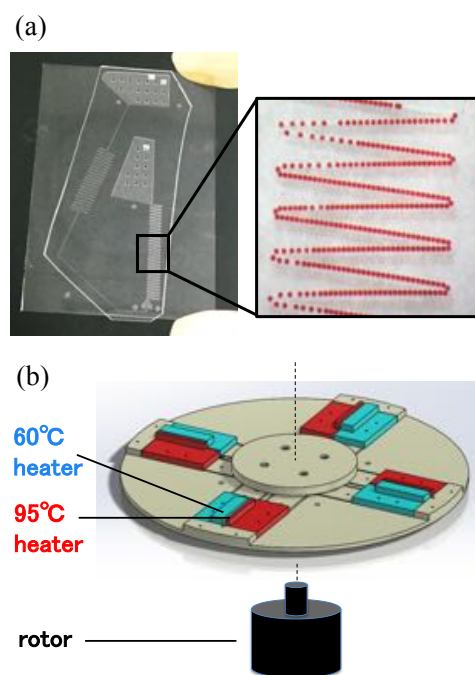


Figure 2. (a) Fabricated PDMS/glass microfluidics chip. (b) device configuration.