

オンチップフローサイトメトリー実現に向けた フィルタフリー蛍光センサの提案と実証

Proposal of filter-free fluorescence sensor for on-chip flow cytometry

豊橋技科大, °(B)井出 智也, 崔 容俊, 手島 拓哉, 高橋 一浩, 野田 俊彦, 石井 仁, 澤田 和明

Toyohashi Univ of Tech., °Tomoya Ide, Yong-Joon Choi, Takuya Teshima, Kazuhiro Takahashi,

Toshihiko Noda, Hiromu Ishii, and Kazuaki Sawada

E-mail : ide.tomoya.lt@tut.jp

1. 背景

蛍光検出法は生化学や医療分野において、高感度で容易に測定が可能のため広く用いられている[1]。これを応用したフローサイトメトリーという細胞測定方法は光学部品が多く含まれており、大規模かつ複雑であるという問題がある。そこで我々の研究グループはフィルタを必要としないフィルタフリー蛍光センサを提案してきた[2]。このセンサはシリコン中に侵入した光が波長ごとに異なる減衰特性を持つことに着目している。従来の測定方法ではフォトゲート電圧を変化させて電流の差から波長を識別しており、流動的なサンプルの識別が困難であった。そこで、センサ中のポテンシャルピークの境からフォトゲート側と基板側に移動する電子による光電流の比率から波長を識別する手法を提案する。本稿では提案した手法を用いて、LED 光源の波長による電流特性を評価する。バイオ分野への応用例として、作製した流路を用いて複数の蛍光ビーズから放出される蛍光を識別した結果を報告する。

2. 波長の識別および流路での識別結果

提案する手法を用いて波長の識別可能性を確認した。波長 405, 530, 625 nm の LED 光源を用いて直径 80 μm の面積当たり光強度 1 ~ 3 μW と変化させ、300 \times 300 μm のセンシングエリアに照射し、フォトゲート側の光電流 I_{out} に対する基板側の光電流 I_{sub} の比率を測定した。その LED 光源の波長による電流特性を図 1 に示す。波長ごとに異なる電流の比率が得られ、提案した手法で単波長を識別できることが確認された。オンチップ化されたフローサイトメトリーの実現に向けて、SU8-3050 を用いて幅 80 μm 、高さ 65 μm を有する PDMS 基板の流路を製作した。流路系はセンサと励起光のアライメントを行い、5 nL/min の流速で 2 種類の蛍光ビーズを流した。波長 405 nm の励起光を直径 80 μm の面積当たり 3 μW の光強度で照射し、蛍光ビーズからの放出光を取得した。直径 30

μm の蛍光ビーズは緑(508 nm)と赤(612 nm)色の蛍光を放出する。センサ上に配置した流路を顕微鏡上にマウントされた CCD カメラを用いて観察し、20 秒間に渡ってフォトゲート側の光電流 I_{out} および基板側の光電流 I_{sub} を同時に検出した。図 2 に時間とフォトゲート側に対する基板側の電流の比率の関係を示す。緑と赤色のビーズの放出光からそれぞれ平均 0.85 と 0.61 の比率が得られた。以上の結果より提案した手法で光学フィルタなどを利用せず、流路に流した 2 種類のビーズを識別に成功した。

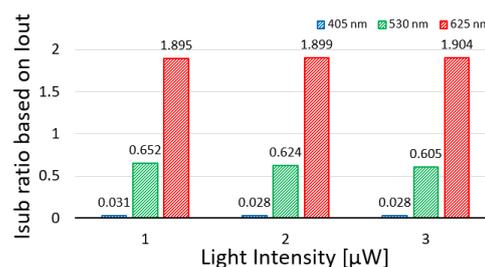


Fig. 1. Result of photocurrent (I_{out} - I_{sub}) depending on wavelength and intensity of LED light source.

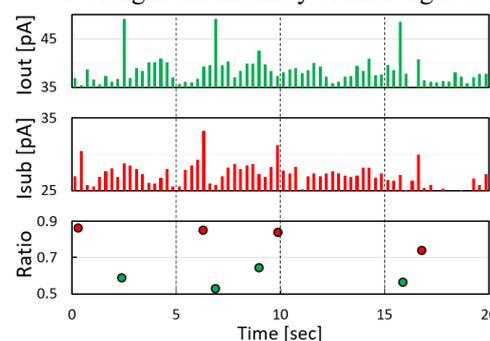


Fig. 2. Results of photocurrent (I_{out} - I_{sub}) detected from fluorescent beads flowing in microfluidics and their ratio.

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP18H03778 の支援を受けたものです。

文献

- [1] L. Joseph, Analytical and Bioanalytical Chemistry, vol.390, pp.1223-1224 (2008)
 [2] Y. J. Choi, K. Takahashi, N. Misawa, T. Hizawa, T. Iwata, and K. Sawada, Sensors and Actuators B: Chemical, vol.256, pp.38-47 (2018)