

画像投影法による付着微粒子のスクリーニング

Screening of Adsorbed Micro Particles by Image Projection Method

山梨大 ○(D)大竹 真央, 浮田 芳昭

University of Yamanashi, ○Mao Otake, Yoshiaki Ukita

E-mail: yukita@yamanashi.ac.jp

1. 緒言

基板上に抗体分子を固定し、マイクロビーズ等をプローブとして免疫測定を行うバイオセンサーの開発が進められている[1]。また、我々は、遠心力を利用して複数のマイクロビーズに均一な引張り力を加え、ハイスループットな単一分子間相互作用解析を実現する技術の開発に取り組んでいる[2]。これらの、粒子を使用する免疫測定系ではビーズと固相との物理的相互作用による物理吸着がしばしば問題となる。そこで、ビーズの物理吸着現象を解析することを目的とし、画像解析によるビーズの付着/非付着状態を識別する方法の確立を行った。

2. 実験

図1に提案する解析原理の概要図を示す。25 mM HEPES 溶液に懸濁させた直径 3 μm のポリスチレン製マイクロビーズを、PDMS シートに穴をパンチすることでチャンバーを設けたガラス基板に加えた。3 時間室温で静置してビーズを沈降させた後、基板と接触しているビーズについて 5 秒間のタイムラプス動画撮影を行った。

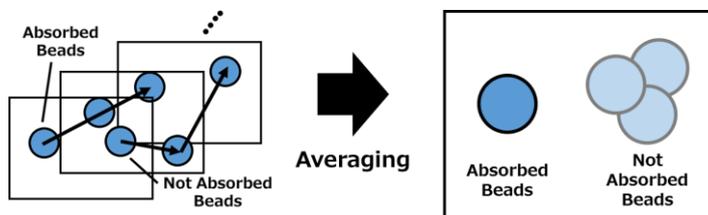


Figure.1 Schematic illustration of the analysis principle

ガラス基板に加えた。3 時間室温で静置してビーズを沈降させた後、基板と接触しているビーズについて 5 秒間のタイムラプス動画撮影を行った。撮影された画像についてオープンソースの画像解析ソフトウェアである ImageJ を用いて画像投影を行った。基板に吸着しているビーズは画像上での位置が変化しないため、明瞭なビーズの像が得られる。一方、基板に吸着していないビーズはブラウン運動によってランダムに運動しているため、画像投影によって画像上の粒子像にぶれが生じ、検出することができなくなる。したがって、通常の粒子計測によって基板に付着している粒子のみをカウントすることができる。

3. 結果・考察

撮影されたタイムラプス動画について画像投影を行った結果を図2に示す。

画像投影を行う前の画像では、基板上に存在するビーズが全て明瞭に移っており、目視や粒子計測では画像中のビーズの付着/非付着を識別することができない。一方、画像投影を行って作成された画像では輪郭線がぼやけており、一般的な粒子計測を行うことで付着粒子と非付着粒子の識別が可能となる。

微粒子の付着は実際に重力や流れによるせん断力を印加して粒子を除去することで評価を行うことが一般的である。本手法は、力の印加を用いる方法と比較して同一環境内で時間経過による吸着状態の変化が評価可能であり、より詳細な吸着現象の解析が期待できる。発表では、本手法を用いたビーズ付着現象の解析結果について報告する。

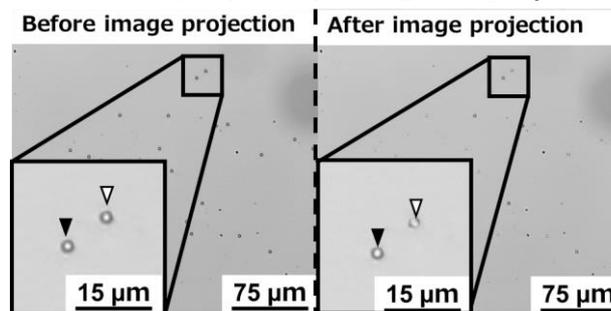


Figure.2 State of before and after image projection

▼: absorbed, ▽: not absorbed

参考文献

1. R.L. Edelstein, et al., *Biosensors & Bioelectronics*, 2000, 14, p.p. 805–813.
2. Mao Otake, Yoshiaki Ukita, *Japanese Journal of Applied Physics*, 2019, 58, SIIC03