

昭和22年8月26日第三種郵便物認可  
電気学会誌 124巻4号  
平成16年4月1日発行(毎月1回1日発行)  
平成16年3月20日印刷 ISSN 1340-5551

# 電気学会誌

2004

Vol. 124

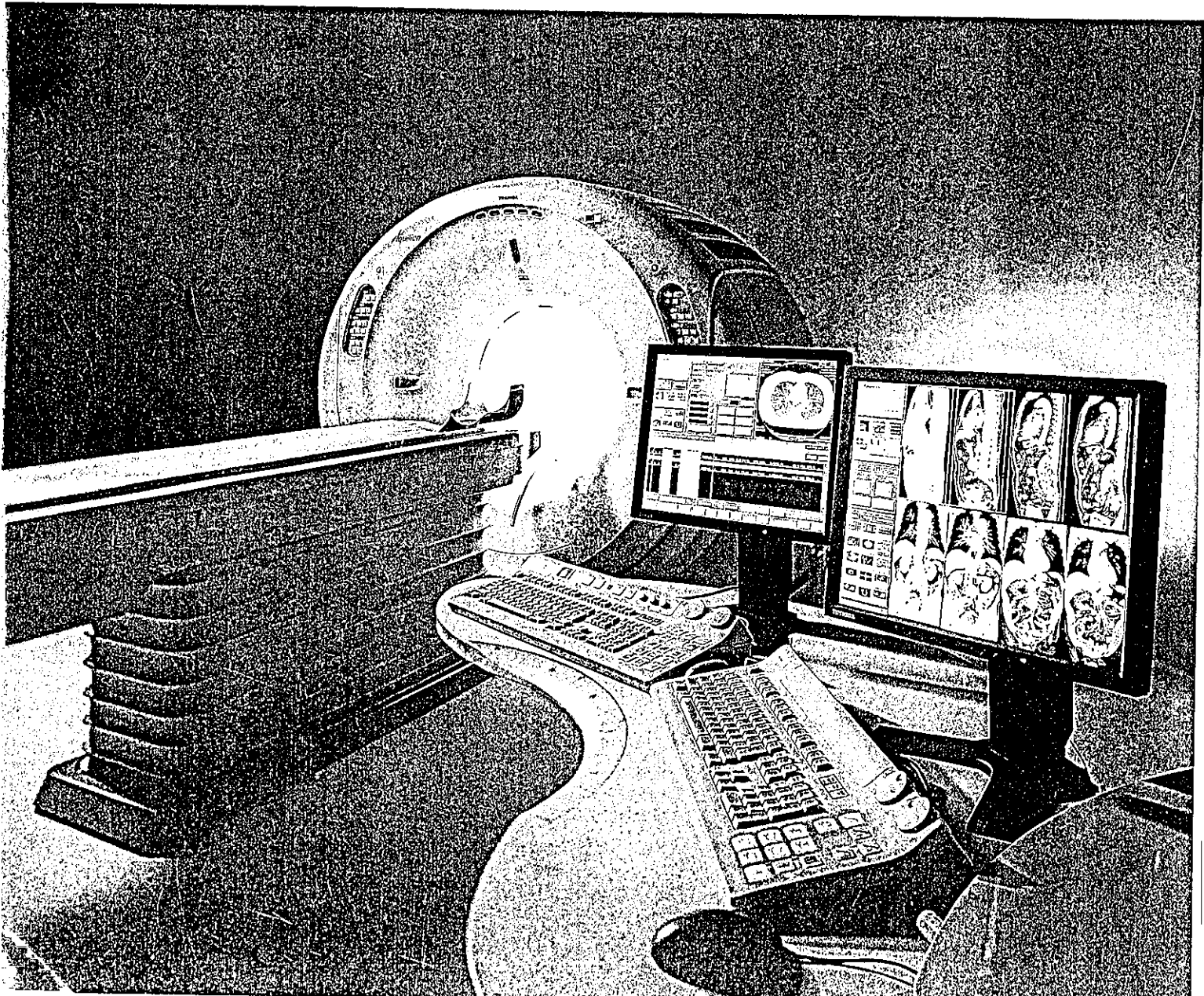
4

The Journal of The Institute of Electrical Engineers of Japan

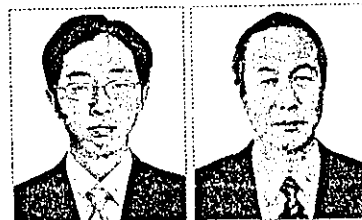
大特集

医療と電気工学

本会ホームページ <http://www.iee.or.jp>



# 医療用バイオチップの 現状と将来展望



沖 明男 堀池 靖浩



バイオチップ, Micro Total Analysis System (μTAS)  
新たな疾患マーカーの探索, テーラーメイド医療, 在宅診断・治療

## 1. はじめに

近年、半導体の微細加工技術を用いてDNA、タンパク、酵素、抗体などの生体分子や細胞、バクテリアなどを分析するシリコン、ガラス、ポリマー基板製デバイス、いわゆるバイオチップの開発が活発になってきている。現在、我が国が置かれている先進国の中でもまれに見る急速な少子高齢化の状況の中で、いかに激増する医療費を抑制し高齢者の生活の質(QOL: Quality of life)を向上していくかという課題に対する一つの解決策を、このバイオチップがもたらすとして注目を集めている。これまでの医療は発症後の疾患を治す「治療する医療」が中心であったが、医療費の削減やQOL向上の観点から、21世紀は発病を未然に防ぎ健康増進を図る「予防のための医療」へと重点が移ると予想される。「在宅診断・治療」, 「新たな疾患マーカーの探索」, 「テーラーメイド医療(個人の体質, 病状に合わせた投薬, 治療)」がキーワードであるが、バイオチップはこれらに対して大きな威力を発揮する可能性を持っている。本稿ではバイオチップとは何か、そしてバイオチップ開発技術の現状と医療応用について述べる。

## 2. バイオチップとは

バイオチップとはDNA、タンパク、酵素など生体分子や細胞を支持体に固定化し、その固定化された生体分子と調べたい生体分子やそのほかの物質とを接触させて、生じ

た特異的な相互作用を大量に同時並列的に検出し解析するものをいう<sup>(1)</sup>。バイオチップの解析対象はさまざまあり、例えばDNAを構成する4種の塩基(グアニン(G), チミン(T), シトシン(c), アデニン(A))配列を解析するバイオチップをDNAチップ、タンパクの検出やタンパク同士の相互作用を解析するバイオチップをプロテインチップと呼んでいる。図1に主なバイオチップを列挙した。また、半導体微細加工技術を用いてシリコン、ガラス、ポリマー基板上に100 μm程度以下の微小流路を形成し、この微小空間の中で対象物質の分離、生成、反応、検出までを一括して行う、μTAS(Micro Total Analysis System)あるいはLab on a chipの分類されるチップがあるが、検出物質がDNA、タンパクなどの生体分子であれば、本稿ではこれもバイオチップとして含めることとした。これら生体分子解析をチップ化することのメリットは、微量な試料で大量の解析を同時に行えること、システムを小型化できるため省スペース化が可能で、さらには分析装置そのものを携帯することも可能なこと、試薬の省量化、廃棄物の減量による解析コスト削減が期待できることである。

## 3. バイオチップ技術の現状

### 3.1 DNAチップ

DNAチップの解析原理を図2に示す。ガラスやポリマーなどの支持体上に、異なる塩基配列の一本鎖DNAの断片を多種類固定化しておき(プローブDNA), そこへ調べたい塩基配列の一本鎖DNA(ターゲットDNA)断片

おき・あきお 1998年北陸先端科学技術大学院大学材料科学研究科博士後期課程中途退学。1999年東京大学大学院工学系研究科技官。2003年独立行政法人物質・材料研究機構生体材料研究センターNIMSポスドク。同時多項目診断ヘルスケアチップ創製研究に従事。工学博士。

ほりいけ・やすひろ 1968年早稲田大学理工学研究科修了。同年東京芝浦電気(株)(現(株)東芝)入社。1988年広島大学工学部教授。1993年東洋大学工学部教授。1998年東京大学大学院工学系研究科教授。2003年独立行政法人物質・材料研究機構生体材料研究センターフェロー。集積回路プロセス、バイオチップ創製研究に従事。工学博士。

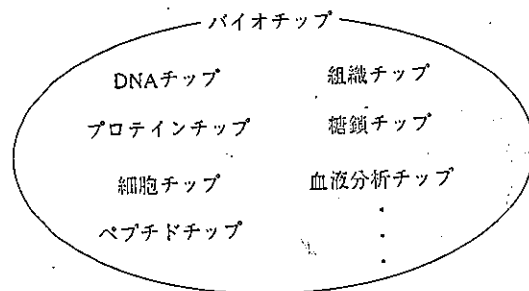


図1 主なバイオチップ

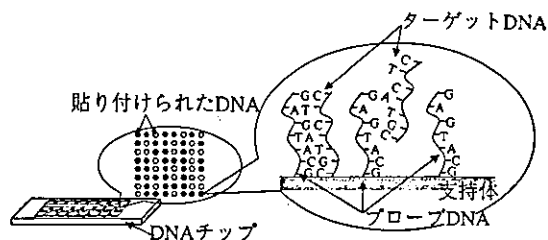


図2 DNAチップの解析原理

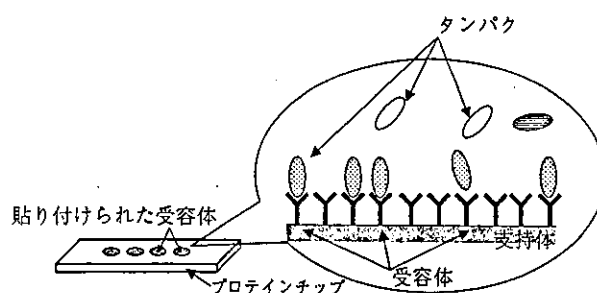


図4 プロテインチップの解析原理

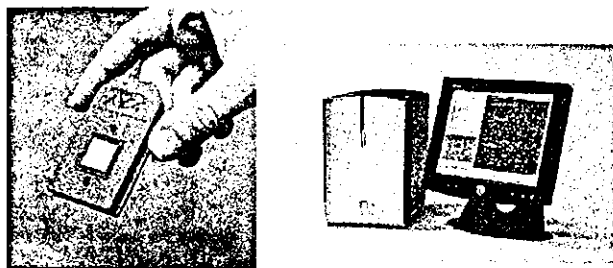


図3 DNAチップと読み取り装置<sup>(2)</sup>

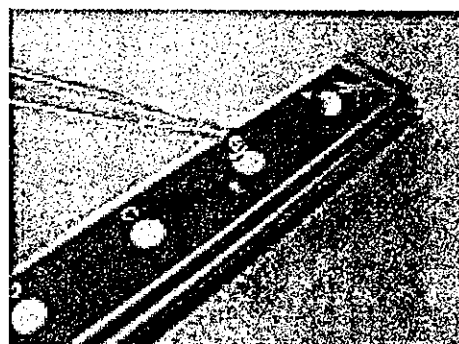


図5 プロテインチップ<sup>(3)</sup>

を接触させると、アデニンはチミンと、グアニンはシトシンとのみ結合するので、ターゲットDNAと相補的なプローブDNAだけが二重らせんを形成する（ハイブリダイゼーション）ことを利用する。プローブDNAの長さは数百～数千bp（塩基対）程度である。ターゲットDNAにはあらかじめ蛍光色素で標識しておいて、二重らせんを形成した時のみ蛍光を発するようにすれば、ハイブリダイゼーションの有無を検出することができる。プローブDNAを支持体上に固定化する方法としては、細い針の先端にプローブDNAを付着させたのち支持体上に貼り付けるスポットティング法や、半導体製造技術である光リソグラフィーを応用してプローブDNAを作製する光リソグラフィー法によって、1枚のチップに数千～数万種類のプローブDNAを固定化する。主なDNAチップメーカーは海外では最大手のアフィメトリクス（アメリカ）、アジレントテクノロジー（アメリカ）、国内では日立ソフトウェアエンジニアリング、タカラバイオ、東洋紡、オリンパスなどがある。図3にDNAチップとスキャナと呼ばれる読み取り装置を示す。

一般にDNAチップというと上述のアレーチップのことを指すが、数センチ程度の基板上に微細加工技術でマイクロ流路（マイクロキャピラリー）を形成し、マイクロ流路内でDNAを電気泳動させてサイズ分離するキャピラリー電気泳動チップというものもある。キャピラリー電気泳動をチップ化することにより、従来の方法に比べ格段に高速分離することができ、微細加工技術を駆使してマイクロ流路内にさまざまな構造体を作ることによって分離機能を高めることもできる。最近では、細胞からDNAを取り出して前処理

を行った後、検出可能な量までDNAを増幅し、電気泳動分離までを一つのチップで行うという研究もなされている。

### 3.2 プロテインチップ

プロテインチップには、(1)タンパクそのものの存在を検出する用途で用いるチップ、(2)タンパク-タンパク間やタンパク-核酸間などの相互作用を検出するために用いるチップとがある。(1)のプロテインチップの検出原理を図4に示す。支持体上に特定のタンパクを認識して特異的に結合する受容体と呼ばれるものを多種類固定化し、そこへ存在を調べたいタンパク（ターゲットタンパク）を含むサンプルを接触させる。ある特定の受容体のみターゲットタンパクは補そくされるため、それを観測すればターゲットタンパクの有無が分かるというものである。タンパクに特異的に結合する受容体としては、抗体という免疫反応で重要な役割を担う分子がよく用いられる。一方の(2)のプロテインチップは、支持体に非常に多種類のタンパクを固定化し、網羅的にタンパク間やタンパク-核酸間の相互作用を解析する。いずれのプロテインチップも、検出にはDNAチップの場合と同様にターゲットタンパクを蛍光色素で標識する方法や、補そくされたタンパクからのシグナルを酵素を使って増幅する方法がある。しかし、ターゲットタンパクを直接標識するとタンパク自身の性質を変えてしまう場合もあり、タンパクを直接標識しない方式も開発されている。例えば、質量分析法や表面プラズモン共鳴

(SPR: Surface Plasmon Resonance) である。質量分析法は、定量性については標準サンプルとの相対比較になるが、タンパクの同定を同時に行うことができる。また SPR は、結合したタンパクをリアルタイムで高感度に測定できる。プロテインチップのメーカーはサイファージェン(アメリカ)、ザイオミックス(アメリカ)などである。図5にプロテインチップの一例を示す。

### 3.3 細胞チップ

細胞チップと呼ばれるものには、微小流路内に細胞を流して分析するフロータイプと、多数の微小領域内に細胞をそれぞれ1個もしくは少数個配置して分析するアレータイプのものがある。細胞チップの用途は、細胞培養、細胞分別、細胞内の目的分子を取り出すための細胞融解などさまざまあり、個々の細胞生物学的分析を行う。シリコン製の微小容器の中に細胞を配置して薬物に対する毒性評価を行ったり、マイクロチャンネル中で細胞の種類によって細胞を分けるセルソート(細胞選別)を行っている例がある。

### 3.4 血液分析チップ

血液中の  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  の電解質、グルコース、乳酸、尿素窒素、コレステロール、クレアチニンなどを測定する。実用化されている血液分析チップを検出方法で大別すると電気化学的に測定するチップと光学的に測定するチップがある。電気化学的方法は、1 mm~100  $\mu\text{m}$  程度の微小電極上に特定イオンに高い選択性を示す高分子膜を使ったイオンセンサや、酵素固定化膜を使ったバイオセンサを用いて測定する。一方の光学的に検出する方法は、凍結乾燥させた血液分析用試薬を含むフィルムに血液を点着しその発色を分光学的に計測する(ドライケミストリー)。ここでは電気化学測定 of 血液分析チップのみについて述べる。検出部であるイオンセンサは、一般的には微小電極をリソグラフィ技術やスクリーン印刷技術などを用いて形成し、イオノフォアと呼ばれる特定のイオンを選択的に捕そ

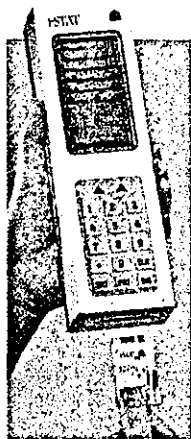


図6 血液分析チップの実用例<sup>(4)</sup>

くする分子を含む高分子膜を電極の上から密着させて作製する。イオン濃度測定は、このイオンセンサとマイクロサイズの参照電極との電位差を測定することにより行う。糖尿病患者の増加によって需要が増えているグルコースセンサは、グルコースオキシダーゼと呼ばれる酸化酵素固定化膜を微小電極上に形成して作製する。グルコースが酵素膜中で酸化されて生成する過酸化水素の濃度を電極で検出してグルコース濃度を測定する。上述したバイオチップ以外にも、各種生体組織をアレー化した組織チップや、複数のアミノ酸が結合したペプチドをアレー化したペプチドチップ、細胞表面に多数ある糖鎖(グルコースのような糖が鎖状に連なったもので、病気や感染症にかかわっている分子)と抗体の相互作用などを調べる糖鎖チップなどがある。

## 4. バイオチップの医療応用

バイオチップの医療応用研究として戦略的に進められているのは、健康な人と患者群をそれぞれ比較してガン、糖尿病、高血圧などの疾患に特有の遺伝子やタンパクを探索することと、これらの関連付けられた疾患と遺伝子、タンパクの関係をデータベースとして構築し、これをもとに病気の診断・治療、創薬に利用することである。例えば、疾患などにより遺伝子の発現(遺伝子が mRNA という情報伝達物質に転写されタンパクへと翻訳されていく過程)状況が変化することから、DNA チップを使って病気を診断することができる。また薬の効きやすい人とそうでない人といった体質は、DNA の塩基配列の中でわずかな塩基の違いが体質などの個人差をもたらすといわれており、これが解析できると病気に対する感受性や薬の効きやすさがあらかじめ分かるため、個々の患者の体質に合った副作用の少ない薬を作ることもできるようになる。プロテインチップはもっと直接的で、遺伝子の発現レベルと最終的に生成されるタンパクとの間には、必ずしも1対1の相関関係があるわけではないため、疾患に由来するタンパクをチップで検出し、診断・治療に役立てることを目指している。血液分析チップについては、健康診断や病院での血液検査でなじみのある方も多いと思われるが生体内機能、各臓器の状態を反映する血中の電解質、グルコース、コレステロールの濃度や、GOT、GPT などの酵素活性を、微量の血液から測定することができる。血液分析チップは実際に臨床現場ですでに用いられていて、例えば i-STAT は、100  $\mu\text{l}$  の全血をカートリッジと呼ばれるチップの中に導入して測定器にかけると、8項目程度の測定を校正から結果表示まで約2分で完了する。用途は医療機関での手術室やベッドサイドにおける血液モニタであり、中央検査室に設置され

る従来の自動分析装置に比べて迅速である、メンテナンスフリーなどの利点を有する。図6にi-STATのカートリッジと分析装置を示す。これはバイオチップの特長を生かした一つの実現例といえる。

### 5. 医療用バイオチップの最近開発状況

DNAチップについては、チップと分析装置がまだ高価であるために、将来の臨床診断に用いられることが予想されるが、現段階では研究機関での使用にとどまっている。そこでチップを安価で大量に製造するための技術が近年開発されてきている。例えば、DNAのハイブリダイゼーションを検出する手法に蛍光色素を使わずに、DNA二本鎖の間に入り込むインターカレタを使って電気化学的に検出するECA (Electro Chemical Array) チップや、インクジェットプリンタの印刷技術を応用してプローブDNAを基板に貼り付けるDNAチップ、中空繊維にプローブDNAを固定化して作製する繊維型DNAチップなどである。また、DNAチップの特性を決めるチップ表面の改質やプローブDNAの固定化密度の向上など基盤となる技術は着実に進展してきている。プロテインチップの方はまだ実用的なものが数少ない。その理由はタンパクがDNAに比べて性質が複雑であり、3.2節で述べた抗体のような受容体をなるべく多種類探し出し、それぞれに適した安定な固定化法を見つけなければならないためである。最近抗体以外の新しい受容体も開発されてきており、より高感度の検出方法の開発などと合わせていくつかの課題が解決されれば、DNAチップを<sup>し</sup>強く強力なツールとなり得る。血

液分析チップの分野では、将来の在宅診断への必要性から、低侵襲で確実に採血を行う技術が一つの鍵である。そこで微細な採血針を有する多項目同時診断チップの開発が現在進められている。

### 6. 将来展望

健康・疾病に関する生体物質を可能な限り分離・分析する、安価で使い捨て型バイオチップを創製するためには、半導体微細加工技術や量産技術といった我が国が得意とする技術が不可欠であり、さらに異分野との密接な連携により、近い将来、病院の検査機能をワンチップ化することも夢ではない。ワンチップで瞬時に多項目同時計測が可能になると、モバイル端末とITネットワークを通じて診療機関に蓄えられた多くの人のデータを参照することにより、在宅で日々の健康・病状を診断できる時代が到来すると期待される。2005年までに世界最先端のIT国家となることを目指して高速ネットワーク整備が進んでいるが、医療ITネットワークの実現のためにも、末端デバイスである医療用バイオチップの開発が急務である。

(平成16年1月22日受付)

### 文 献

- (1) 堀池靖浩・片岡一則共編：バイオナノテクノロジー, p. 101, オーム社 (2003)
- (2) アフィメトリクス社ホームページ (<http://www.affimetrix.com/>)
- (3) サイファージェン社ホームページ (<http://www.ciphergen.com/>)
- (4) アイスタット社ホームページ (<http://www.i-stat.com/>)

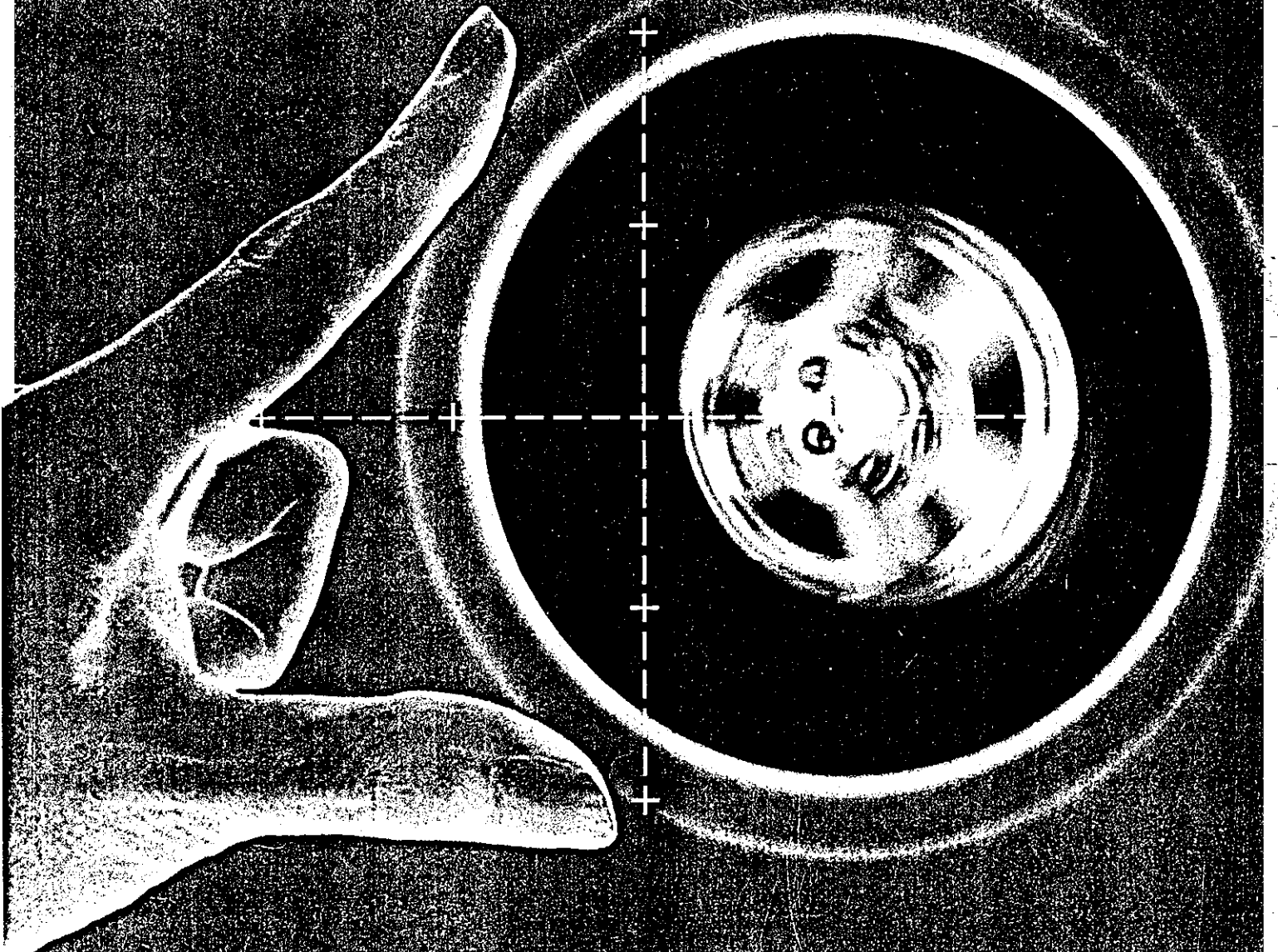
Journal  
of Society of  
Automotive Engineers  
of Japan

# 自動車 技術

Vol.58

# 7

2004



特集 | はかる

URL: <http://www.jsae.or.jp/>

## 無痛針採血による在宅健康診断チップ\*

A Clinical Chip Checking Our Health from Analysis of Blood Collected by a Painless Needle

(独)物質・材料研究機構 堀池 靖浩

Yasuhiro Horiike

### 1. はじめに

わが国では近年高齢者層の医療費が増大し社会問題となっている。高齢者が元気で毎日を送るためには予防が大切である。そのためには、微量の採血から在宅で簡便・確実に同時多項目を診断できる種々の診断用バイオチップの開発に大きな期待が寄せられている。この取組みの一貫として、本稿では、ヘルスケアチップと肝機能診断チップについてわれわれの最近の開発状況を述べる。

### 2. ヘルスケアチップ

ヘルスケアチップとは、無痛針を介して血管から極微量血液を採取し、チップ上で遠心分離によって全血の血球成分と血漿成分の分離を行い、血漿成分を電気化学バイオセンサに導いて、pH、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>などの電解質イオン及びグルコース、尿素窒素(BUN: Blood Urea Nitrogen)、クレアチニン、乳酸などの生活習慣病健康マーカーを検出・計測して、在宅でわれわれの健康状態を診断するチップシステムである。

まず、在宅で健康を診断できるためには、痛みを伴わずに素人にも採血できることが不可欠である。痛みは、針を皮膚に穿刺する際、神経網を切断するときを感じる。そこで、外径0.15 mmのステンレス製管の先端を10度に研磨し、端面を3面カットし、最後に電解研磨をした。従来の針の外径の1/4程度なので、腕に刺しても痛みは感じない。さらに、粗い管の内壁を特殊な方法で超平滑化した結果、針を皮膚に刺すと自分の血圧だけで採血可能になった。採血量は6  $\mu$ L(1mm<sup>3</sup>×6)。しかし、静脈から採血する際、その所在が見えない場合が多い。そこで、近赤外光(850 nm)を照射して血管を可視化した。さらに、針と皮膚表面との間に生じる電位を測定し、針が血管に

到達したことを検出できるようにした。これらの組合せで、液晶ディスプレイ画面を見ながらわれわれでも採血できるようになった。図1は無痛針でディスプレイ画面を見ながらいわば電子的に採血している様子である。

図2はヘルスケアチップの写真であり、材料は安価・使い捨て可能なポリカーボネート製である。本チップは、無痛針、校正液の導入・排出、血液溜め、カーボンやAg/AgClのスクリーン印刷で形成したバイオセンサと参照電極からなり、各部はマイクロ流路で結合している。なお、チップ内流路表面は血球などの付着を抑制し、生体適合化を図るために生体膜表面を覆っているリン脂質膜を人工的に合成したMPCポリマーを塗布してある。校正液のセンサ群への導入は、図中の×(1)を中心に回転し、排出はチップを×(2)を中心に回転して行う。次に図1の採血後の血液溜めをチップに挿入し、×(1)を中心に回転するとチャンネルの下部に血球が、上部に血漿が分離され、血漿中のマーカーをバイオセンサで計測する。現在、pH、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、グルコース、BUNが検出可能である。

### 3. 肝機能診断チップ

肝機能診断チップは、アルコール性肝障害や肝炎など肝機能障害を起こすと壊れた肝細胞から血液中に流出する $\gamma$ -GTP、GOT、GPTの酵素の活性値を血漿から測定する。測定法は、現在の自動血液検査の大部分を占める



図1 採血者がディスプレイ画面を見ながら無痛針で採血している様子

\* 2004年5月23日受付

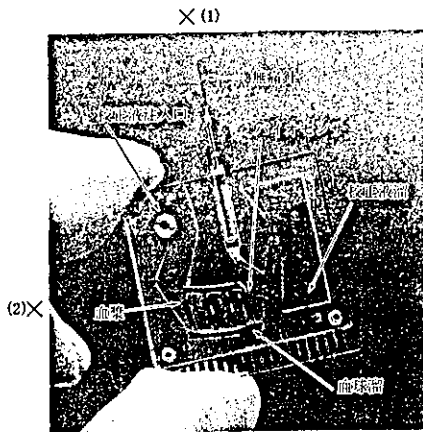


図2 採血針から遠心力で血液をおくり、血球分離後のヘルスケアチップ

測定法の比色法を用いた。比色法では、血清または血漿を基質緩衝液と混合し、たとえば $\gamma$ -GTPの場合は本来含有されている色素の光吸収(405 nm)を、GOTとGPTの場合は基質緩衝液に含まれているNADH(ニコチンアミドジニクレオチド)の光吸収(340 nm)を各酵素活性値に対して測定する。そのため、血漿と基質緩衝液を正確に秤量し、均一に混合することが必須である。しかし、一般にマイクロ流路内では溶液は層流(流体が層をなして秩序正しく流れる状態)となり混合は困難である。そこで多段マイクロミキサという新混合法を開発した。本方法は、2種の溶液を壁と衝突させ、狭い流路で効率良く分子拡散を行い、さらに流体の進行方向を急激に変化させることにより流れを乱すことにある。これを何回も繰り返す。図3は作製したこの3マーカの検査を行う肝機能診断チップを示す。測定は、0.1~0.4  $\mu$ Lの血漿とそれに準じた1~4  $\mu$ Lの基質緩衝液をそれぞれ注入口1と2に滴下し、マイクロミキサで混合後、検出流路に導入し、3種類の酵素の活性値を測定する。比色測定に用いる光量の減少を防止するため、検出流路の内壁はAl膜でコートした。測定は、チップを37°Cに温度制御し、光源には、重水素やハロゲンランプを用い、帯域濾過フィルタで405 nmまたは340 nmの単色光化し、光ダイオードを用いて光の減衰率を測定した。その結果、 $\gamma$ -GTP、GOT、GPTの活性値の正常値から異常値まで広範囲にわたって検量線を得ることができた。

図3のチップはあらかじめ採取した血漿を導入したが、実用化には、無痛針採血、血球分離、秤量、混合、測定を一つのチップで実現する必要があり、図4は、 $\gamma$ -GTPの一項目であるが、その測定チップを示す。まず、U字流路に導入した血液を図中の×(1)を中心に回転し血球を血球溜めに収め、U字流路内に血漿を満たす。次に×

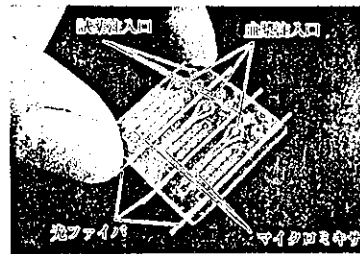


図3 3項目の肝機能マーカの肝機能検査用比色チップ

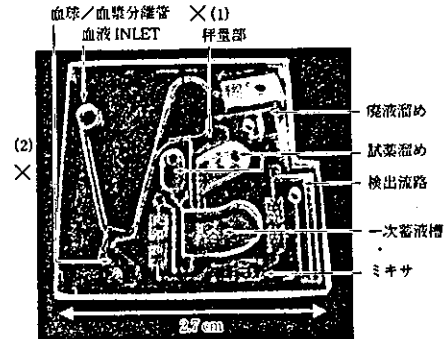


図4 採血から測定までの一連の工程を一チップで実現した $\gamma$ -GTP用測定チップ

(2)を中心に回転し、血漿秤量する。その後、もとの×(1)を中心に回転し、あらかじめ秤量された基質緩衝液の部屋に導入する。その後この2液を、図示した引き口から減圧して、ミキサの中に導入し、検出流路に入れて測定する。現在、3マーカを測定できるチップを開発中である。

#### 4. 今後の展望

在宅診断で重要な無痛採血は古くて新しい人類の夢であり、個人差、年齢差にかかわらず100%の採血率の達成を今後とも追求し、最終的には自動採血を実現する。紹介した両チップの実用化は間近であるが、本チップで生活習慣病の予防が可能となり、今後、コレステロール、中性脂肪などの他の検査項目も追加していく。さらに、現在廃棄している血球成分から免疫検査、DNA解析などを行うため基礎研究もしている。種々のバイオチップによって診断機関と直結した医療ネットワークを介して在宅診断が実現すると、医療、さらには社会システムを大きく変革すると期待される。

謝辞 ヘルスケアチップ開発は、小川洋輝(LST)、新橋里美(JST)、長井政雄(JST)、肝機能診断チップ開発は、沖明男(物材機構)、横川昭徳(ローム)の各氏の努力の賜物であり、またヘルスケアチップ開発は、JSTのプレベンチャー事業の支援を受け、紙面を借りて深く感謝の意を表します。



# 我國技術

2004  
VOL. 35  
No. 6



中國科學院  
中國科學院  
中國科學院

# 高齢化社会の到来とヘルスケアチップの創製 —ドライエッチング技術の展開—

堀池靖浩\*, 沖 明男\*, 小川洋輝\*, 高井まどか\*\*, 百瀬 俊\*\*\*, 横川昭徳\*\*\*, 高村 禪\*\*\*\*

\* (独)物質・材料研究機構 (〒305-0044 茨城県つくば市並木 1-1)

\*\* 東京大学大学院 工学系研究科 (〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1)

\*\*\* ROHM (株) (〒615-8585 京都府京都市右京区西院溝崎町 21)

\*\*\*\* 北陸先端科学技術大学院大学 (〒923-1292 石川県能美郡辰口町旭台 1-1)

## Advent of the Aging Society and Creation of Healthcare Chip —Development of Dry Etching Technologies—

Yasuhiro HORIIKE\*, Akio OKI\*, Hiroki OGAWA\*, Madoka TAKAI\*\*, Shun MOMOSE\*\*\*,  
Akinori YOKOKAWA\*\*\* and Yuzuru TAKAMURA\*\*\*\*

\* National Institute for Materials Science (1-1, Namiki, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0047)

\*\* Graduate School of Engineering, The University of Tokyo (7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656)

\*\*\* ROHM Co., Ltd. (21, Saiin Mizosaki-cho, Ukyo-ku, Kyoto 615-8585)

\*\*\*\* Japan Advanced Institute of Science and Technology (1-1, Asahidai, Tatsukuchi-machi, Nobi-gun, Ishikawa 923-1292)

**Key Words:** Microfabrication Technologies, Biochip, Healthcare Chip, Cell Sorter, DNA Trap

### 1. はじめに

21世紀は「生命」の時代と言われている。確かにヒトゲノムの解読以来、昨今のバイオはナノテクノロジーと融合し始め、研究・開発は堰を切った如く猛烈な速度で進み始めている。その目指すところは、「最大公約数的な医療」を脱して、個々の症状にあった適切な治療をほどこす「高度医療化社会」の実現である。この実現が特に我が国において望まれる。すなわち、近年の少子化にともない総人口が早晩減少することによる近未来での労働力の不足と、高齢化の進行とそれにリンクした医療費の増大による国家予算への圧迫とともに我々への負担増が強いられる事情がある。この包括的解決の一策は、高齢者が働く意欲のある限り働き、培った知恵と経験を社会に還元できるように元気で毎日を送れる「健康立国」を世界に先駆け我が国に創り出すことである。このためには予防が大切であり、在宅で簡便・確実な大量・同時多項目を診断できるバイオセンシング技術を早急に確立しなければならない。このための有力な手段として各種バイオチップ化の取り組みが本格化している。バイオチップ創製には、さまざまな工学、医学、薬学の融合によって初めて実現し、その結果、新科学・技術・産業が大いに期待される。本稿では、ヘルスケアチップ、肝機能診断チップ、セルソーチップ、DNA 捕集・分離チップなどの我々の最近研究を報告する。

### 2. ヘルスケアチップ

ヘルスケアチップとは、無痛針から極微量血液を採取し pH, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, グルコース, 尿素窒素(BUN), クレアチニンなどの健康マーカーを検出・計測して、在宅で我々の健康状態を診断するチップシステムである<sup>1)</sup>。安価・使い捨て可能を目指し、PET 基板を用いた。血液の流路となるマイクロキャピラリは、その逆パターンを石英基板にリソグラフィとドライエッチングで形成し、それを PET 基板(20×20 mm<sup>2</sup>)にモールド形成する。キャピラリの内壁を生体適合化するため生体膜と同じ組成を有する MPC ポリマー<sup>2)</sup>をコートする。無痛針は、100μm の SUS 管の先端を 10 度に研磨し、さらに電界研磨で先鋭化して製作した。実際、痛みは感じない。

研究当初は、図 1 に示すように、流路の最下流に電気浸透流(EOF)ポンプを設けた。まず、針の周りにガイドを設け、それを皮膚に密着させ、その中を減圧にすると、皮膚が盛り上がり、針が皮膚を通して血管を刺し、全血を U 字型をしたキャピラリに注入する。その後、チップ上で遠心分離を行って得た血漿を選択性膜(イオノフォア)を塗布したイオン感応電界効果トランジスタ(ISFET)に導入して pH, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> イオンを測定する。全工程で最下流に設けた EOF ポンプで引き込んだ。EOF ポンプはゼータ電位の高い石英板を用いた。しかし、本チップは使い捨て型なので安価でなければならない。現在は、図 2 に示すように、基板はオールポリマーとし、チップをホルダーに入れて、外部ポンプにより血液を流路に引き込む方式を取っている。しかし、静脈の所在

\* 本会「第 62 回表面技術アカデミック研究会討論会」(2003 年 11 月 12 日)の講演概要より転載

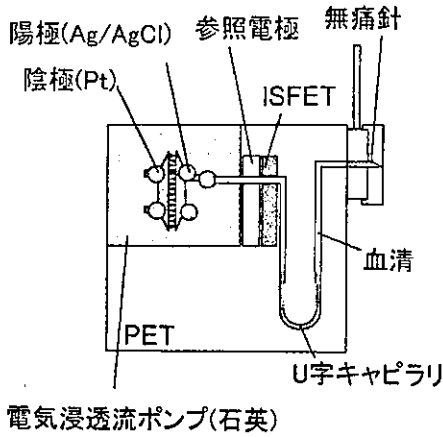


図1 ポンプ内臓型ヘルスケアチップ

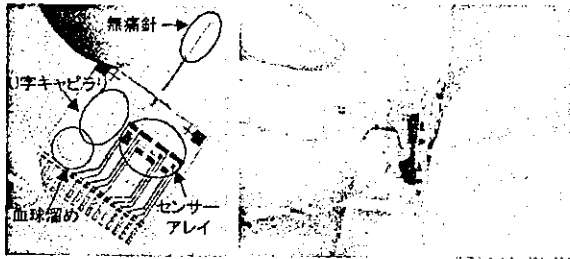


図2 外部ポンプ型ヘルスケアチップ

を肉眼で分かって、いざ針を刺す段になると、どこに静脈があるのか分からなくなることがよくあり、また個人差も大きい。これを解決するため、最近近赤外(NIR)光を皮膚に照射することを試みた。その結果、NIR光が皮膚中で拡散すると静脈の所在を可視化することが可能になり、さらに、皮膚の表面から静脈のある深さを検出するため、針が静脈に達したことを電気的に検出できる機構も開発した。

本チップの実現にはバイオセンサーの確立が重要である。現在はカーボン電極上にイオン感応膜、酵素膜を固定化し種々のイオンセンサおよび酵素センサを形成している。まず $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ イオン測定用のイオノフォア膜として、Bis(12-crown-4)あるいはBis(benzo-15-crown-5)を用い、これらにアニオン排除剤のK-TCPBをPVCに混ぜたものを電極上に固定している。 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ と $\text{K}^+/\text{Na}^+$ の選択性には、100と1000の十分な値を得た。またBUNとグルコースセンサは、カーボン電極上に絶縁性ポリピロール膜を塗布後ウレアゼとグルコース/フェロセンの各酵素を塗布し、その上からポリ-L-リシン膜で覆って固定した。また最近上述のSUS管を用いた針以外に、図3に示すようなSiの異方性エッチングによる針のアレーとその底部に血液を外部に引き出すSiの深孔からなる無痛針も開発している。

### 3. 肝機能診断チップ

同様に、微量血液から肝機能診断に重要なGPT, GOT,  $\gamma$ -GTPの3マーカーを測定するマイクロ比色チップを研究している<sup>3)</sup>。やはり安価・使い捨てが可能なPET基板を用いている。これらのマーカーは比色法で測定する。すなわち、血漿と基質緩衝液を混合し、チャンネルに導入して、混合の結

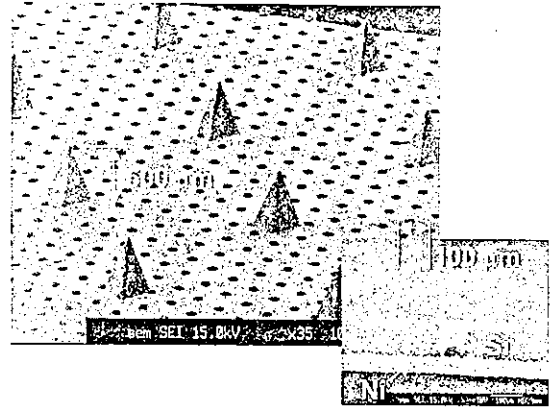


図3 毛細管血採取用Siニードルアレー

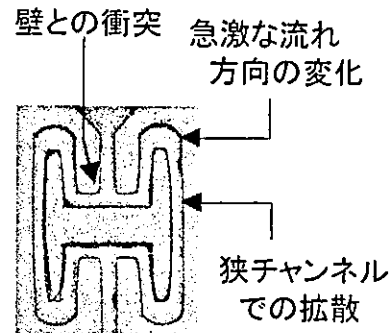


図4 ミキサーの一ユニット

果生じる発色光と同じ波長の光をチャンネル内に照射して、一定時間内の導入光の減衰度から行う。ここでは $\gamma$ -GTPの検出には405 nm, GPTとGOTの検出には340 nmの紫外光を導入する。405 nmと340 nmの光源は、マイクロランプにフィルターを通して得た。受光はSiホトダイオードを用いた。したがって、混合することと、チャンネル内での光の全反射が重要となる。

一般に、マイクロやナノサイズのチャンネル内で溶液が流れるときは層流になり、混合に工夫を必要とする。以前は、接触表面積を増すため小流路群を二つ90度に配置したチップで、交互に混合液を入れ替え、遠心力により混ぜたところ、良好な混合の結果を得たが、遠心という可動部分が必要になるので、この度、複数の溶液を一つのチャンネルに流すだけで混合できる構造を考えた。図4は、そのミキサーの一ユニットを示す。上部から複数液が導入されると、まず壁と衝突し、両側の上部に上り、急激な曲がりを経て、狭い領域を通過中に分子拡散を起こす。このプロセスは下部の方で対称的な構造でも行われ、真ん中の下部の出口から混合液が、次段の同じ構造に流れ込む。本チップでは6段に直列に接続される。この結果、 $10\mu\text{l}/\text{min}$ ~ $100\mu\text{l}/\text{min}$ の流速に対して、6段目では良好な混合が達成された。

図5は、このミキサーと比色測定用チャンネルを集積化し、3マーカーを測定するために3つのチャンネルが設けられている。比色測定用チャンネルの内部には光が全反射するようアルミ膜がスパッタ塗布され、さらにその上にMPCポリマーがコートされている。図6は、ミキシング後に各酵素の活性度の測定した結果を示す。本チップは成人の正常値のみなら

異常値に対しても測定可能なことが分かる。将来的には  
 需針、血球分離、ミキサー、比色測定、各工程をワンチップ  
 に集積する。

4. セルソータとリンパ球分離

個々の細胞の諸性質を高速に決定し、特異な特性を有する  
 胞を選別(ソート)して抽出し、単一細胞レベルで培養、計  
 分画、DNA や mRNA などの細胞の成分評価などは、  
 断・治療のために極めて重要であり、人血や異常細胞を取  
 扱うので、ここでも安価・使い捨て型チップの出現が求め  
 れる。さらに、これらの作業を連続的に処理するには、セ  
 ソータを始めさまざまな機能を有するデバイスを一つの  
 ップ上に集積化することにより高速・高効率化が図られる。  
 胞をマイクロ流路内で移動させるにはチップ内にポンプを  
 えることで可能だが、細胞に物理的・化学的ダメージを一  
 与えないことと、他のデバイスと干渉しないことが求めら  
 る。

我々はヘルスケアチップ研究の中で電気浸透流(EOF)ポ  
 プを低電圧・高流量化するため流路内に深さの浅い構造の  
 路の形成を試み、従来必要であった数キロボルトの1/100  
 低下させた。図7は、2本の流路に細胞を分別する石英  
 (20×20mm<sup>2</sup>)製セルソータチップの写真を示す。図8は  
 本の流路と結合したポンプ構造を示す。図7の入口/出口  
 2本の平行に並んだ深さ120nmの流路と深さ25μmの流  
 は一つの流路で接続されている。流路幅は30μmである。  
 いギャップでは、石英板付近のカチオンが電界で動くのみ  
 が、深いギャップでは、中央付近でEOFと逆方向の戻り

の流れが生じてポンプ力を減じる。2本の流路の出入口側は  
 イオン伝導は行いが溶液は通さないゲル電極を介して接地し、  
 他方の電極は同じゲル電極を介して正負の電圧が印加される。  
 ゲル電極の使用理由は、電気分解によって金属電極表面で発  
 生する気泡のポンプ内への流入によるポンプ圧力の低下の防  
 止と、電解液が電気分解して生じたpH変化した溶液が流路  
 へ混入するのを防止するためである。正負の電圧を印加する  
 と、両流路に同電圧が印加されるが、EOFポンプ作用は同  
 方向に働き、一つの流路のポンプ作用としては逆になる。し  
 かし、浅いギャップの流路では深いギャップと比べて圧倒的

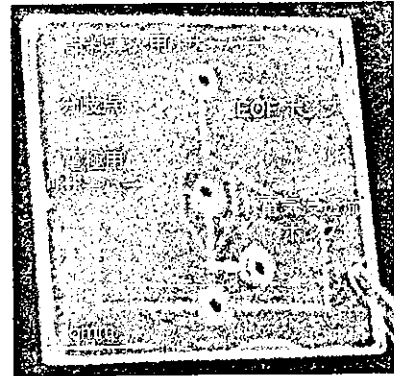


図7 セルソーターチップ

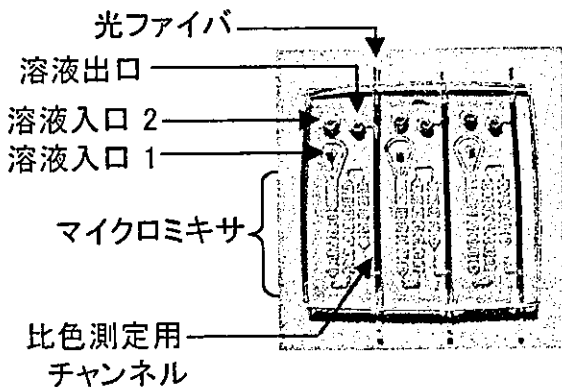


図5 肝機能診断チップ

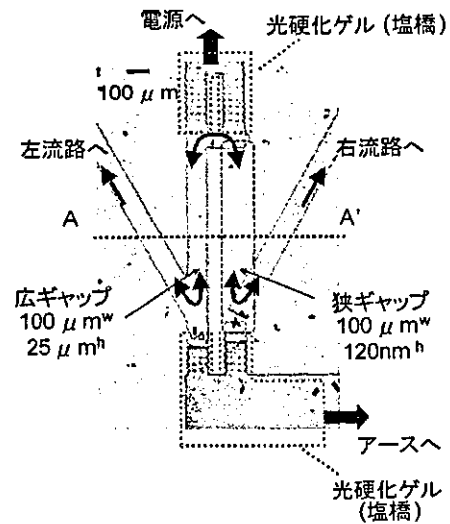


図8 電気浸透流ポンプ

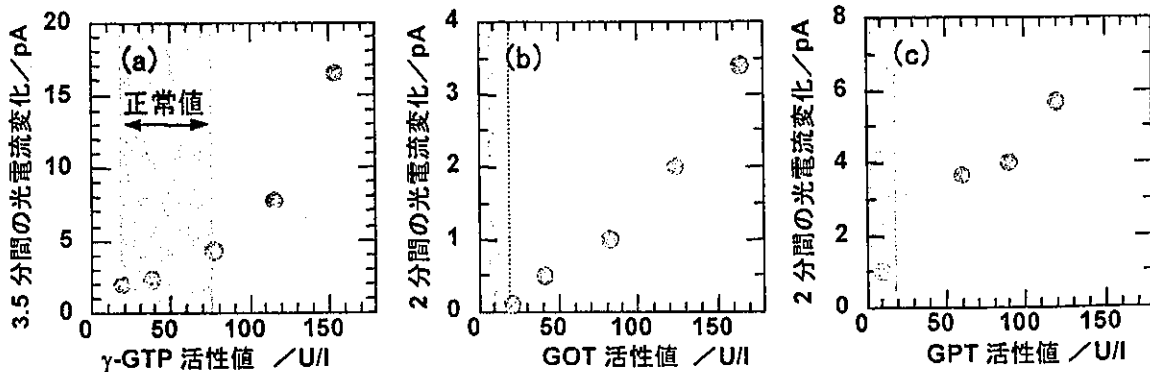


図6 ミキシング後の各酵素活性値の測定結果

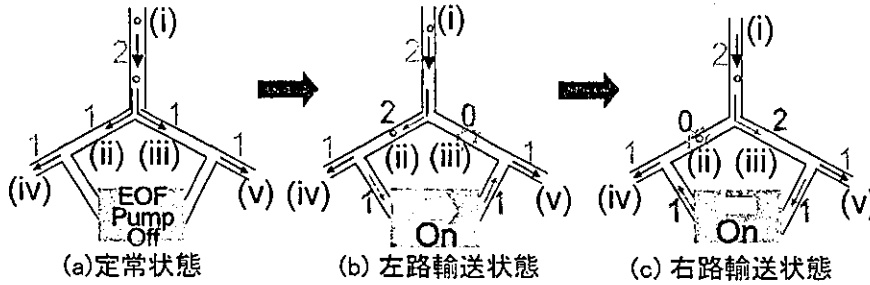


図9 セルソータの動作

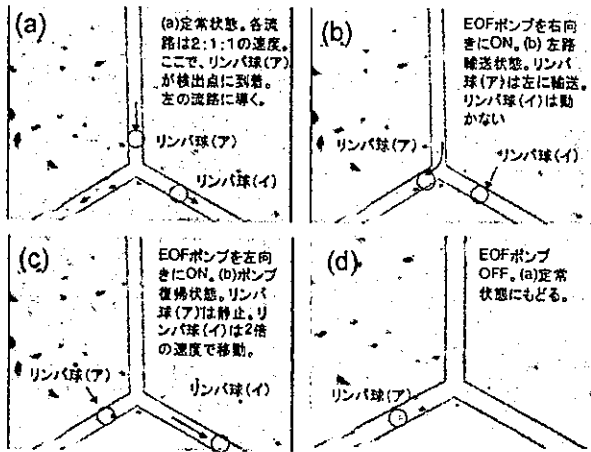


図10 動作中のセルソータの連続写真

に EOF ポンプ作用は強く、一つの流れを浅いギャップのポンプ作用が実質的に支配する。

図9にセルソータの動作原理を示す。まず、状態(a)では EOF ポンプは作動してなく、外部のシリンジポンプによる定常的な流れにより、細胞は移動する。(i), (ii), (iii)の流量比は2:1:1である。次に(b)状態で細胞が分岐点に達したときにポンプを流量1作動させ、細胞を左右に分別する。細胞が取り込まれた後、(c)状態でリザーバ電極での電気分解による pH 変動を防ぐために同時間で逆方向にポンプを作動させる。このとき、(i), (ii), (iii)の流量比はそれぞれ2:2:0, 2:0:2である。いずれの状態でも(i), (iv), (v)の流量比は常に2:1:1で脈流はない。これらのサイクルを繰り返すことにより細胞を分取する。

図10にラットの腸管膜から採取したリンパ球のセルソート中の連続写真を示す。(b)は図9の状態(b)に相当し、細胞は左路に取り込まれている。このとき、右路中の細胞が移動していない。(c)は図9の(c)状態に相当し、左路中の細胞は移動せず右路中の細胞が移動する。試料導入キャピラリーにおける脈流は5%以内に抑えられた。分岐点での流体の動作は高速、俊敏であり、ポンプのオン、オフから細胞の速度が一定になるまでの立ち上がり時間は60ms以内であった。本チップは30分間安定に作動したが、pH変動による EOF ポンプの性能劣化が抑えられたことが考えられる。現在、さらに多段ソータも形成し、B, T細胞の単一細胞分析と免疫アッセイへの応用に向かって研究を進めている。

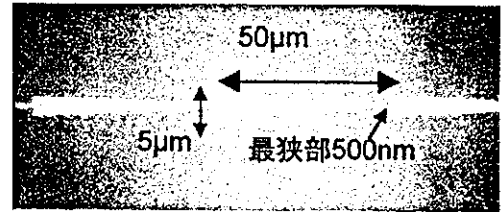


図11 作製したテーパ形状チャネル

## 5. 長鎖 DNA 分析

### 5.1 長鎖 DNA 捕獲チップ

現在、DNA 分離研究は主に短鎖型で行われ、長鎖型の分離研究は少ない。本目的のため、図11に示すようなテーパ形状チャネルで広い幅で長鎖、狭い幅で短鎖をサイズ分離しようとした。本パターンは、長さ50 $\mu\text{m}$ 、幅5 $\mu\text{m}$ –500 $\mu\text{m}$ のテーパ形状(くさび形)を8回繰り返した形状であり、前後に幅100 $\mu\text{m}$ 、長さ3mmの導入流路がリザーバまで接続されている。試料は蛍光色素 YOYO1 で染色した T4 DNA (166 kbp) を用いた。導入後、両端のリザーバは、電圧を印加するための白金電極と静水圧を印加するためのチューブを取り付けて密閉される。電圧および圧力により泳動する DNA の様子は、高感度 CCD カメラを取り付けた蛍光顕微鏡により観察した。

まずさまざまな強度の圧力または電場を単独で印加した場合の DNA の泳動挙動を観察した。T4 (160 k塩基対) DNA は自由空間では熱運動により自然に丸まって直径約5 $\mu\text{m}$ の球状となる。今回のテーパ形状は最も細いところでこれよりも狭い。よって狭部を抜ける際のエントロピー変化により、逆向きの力をうけ、速度が遅くなると考えた。しかし、DNA の大小による速さの違いは見られなかった。これはこの程度の流路幅では、エントロピー変化による力は、電場や圧力場による力に比べて非常に小さいからと考えられる。ところが、圧力と電場を同時に逆向きに印加した場合、圧力と電場がほぼ釣り合い、かつある一定値を超えた時にのみ、図12のように DNA が強くテーパ出口にトラップされる現象が観察された。この捕獲は再現性が良く、また両者の力が強いほど顕著に起こる。また、電場と圧力場のバランスをくずすことにより簡単にリリースされる。したがって本トラップは、さまざまな介在物が存在する溶液の中から DNA を選択性良く抽出、濃縮し、回収するような用途に用いられると期待される。図13(a)は一本のチャネルで多段で捕獲する方法を一個のテーパで実現しようとした模式図を示す。図13(b)と

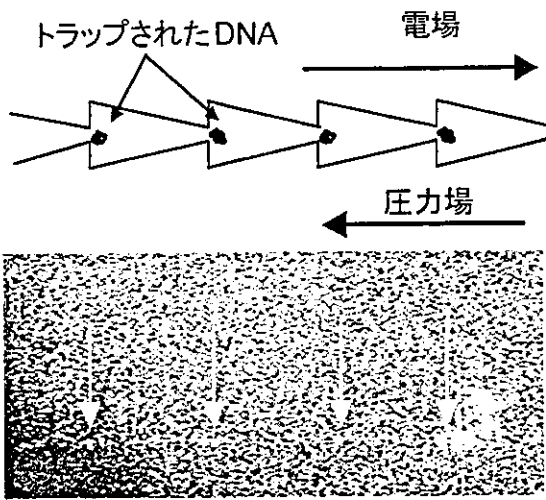


図12 電場と圧力場によるDNAのトラップ

(c)は、このような抽出濃縮の実証実験の蛍光顕微鏡写真である。DNAに作用する力は左→右の電界より右→左の圧力の方が強いので、DNAは右から流れ込み、次々にトラップされ、抽出・濃縮された。一方残りの液は圧力により左へ流れ去る。最狭部流路幅は $5\mu\text{m}$ でありこのような広い流路でもトラップが確認された。十分濃縮された後、電界を切ることでDNAは図13(c)のように直ちに放出され回収された。

この長鎖DNA捕獲を利用すれば、さまざまな介在物が存在する溶液の中からDNAを選択性良く抽出、濃縮でき、また簡単に回収できる。たとえば、血球分離後、血漿中の感染症ウイルスの壁を破碎後、本方法によりRNA・DNAを抽出・濃縮し、PCRにより感染症由来のDNAを増幅することにより感染症診断が可能になる。

5.2 DNA高速分離チップ

DNA分離には現在ゲルが広く用いられている。しかし、DNAをゲル中のマイクロな孔を通して分離するので、その電気泳動速度は低い。そこで、人工的にゲルに換わるものとして、石英製チャンネル中にナノサイズのピラーを作製する研究をしている。この目的の一つに、従来100塩基対のDNA分離はよく研究されているが、T4のような単位の塩基対の分離の方法がほとんど報告がなく、これを目指している。図14は、 $0.2\mu\text{m}$ 径、深さ $5\mu\text{m}$ 、アスペクト25のピラーを $0.2\mu\text{m}$ の間隔で並べたものを示し、長さ1cmのキャピラリーの中に構成されている。製造法は、電子ビーム露光で作製したレジストパターンをマスクとして下地にNiめっきを行い、これをマスクとして石英をドライエッチングで加工した。その結果、ピラーが無いとDNAは丸まって泳動し、分離は

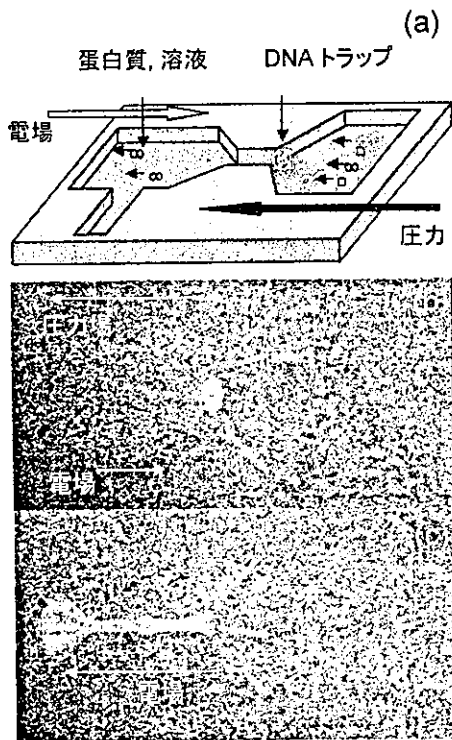


図13 DNAの抽出・濃縮とリリース

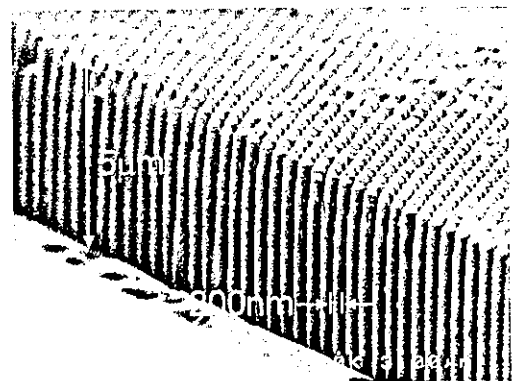
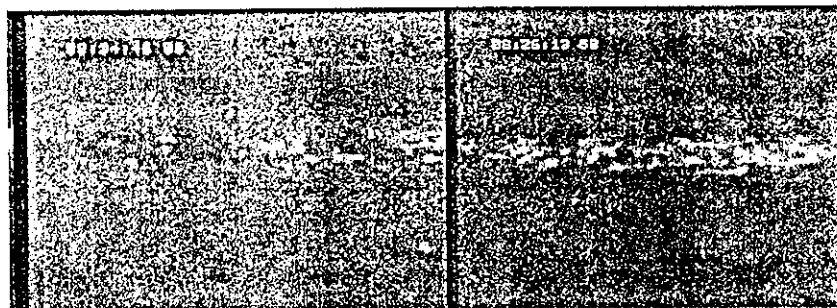


図14 DNA高速分離チップ



(a)ピラーなし (b)ピラーあり

図15 ピラーチップの中を流れるDNA

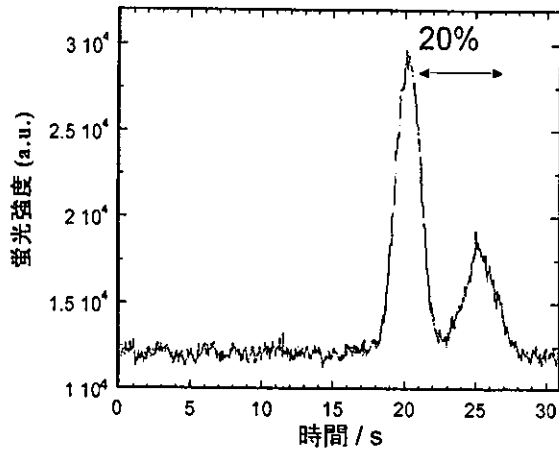


図16 T4(160k塩基対)と $\lambda$ (64k塩基対)ピラー中の分離結果

できないが、図15に示すように、ピラーがあると、ピラーに引っかかりながら伸縮を繰り返し、大小のDNAの電気泳動速度に差が生じて分離される。図16は、T4(160k塩基対)と $\lambda$ (64k塩基対)ピラー中の分離結果を示し、20%の速度分離が20秒で行われた。ちなみに通常のゲル中では半日ほど掛かり、ナノテクの威力が発揮された。

## 6. 将来展望

我々の研究への取り組みは、無痛針より微量血液を採取して、健康・疾病に関する生体物質を可能な限り分離・分析し、計測する安価・使い捨て型バイオチップを創製し、医療の高度化に貢献することにある。この開発には半導体微細加工・量産技術が不可欠であり、さらに異分野との密接な連携により、近い将来、病院の検査機能をワンチップで実現することも夢ではない。多項目同時計測がワンチップで可能になると、モバイル端末とITネットワークを通じて診療機関に蓄えられた多くの人のデータとの参照により、在宅で日々の健康・病状を診断できる時代が到来すると期待される。これは正に、今まで独立して発展してきたエレクトロニクスとバイオテクノロジーの融合を意味し、「Healthtronics」と名づけた。新学術・産業分野の早急な立ち上げに努力したい。

## 文 献

- 1) A. Oki, et al.; 2001 Intern. Conf on Solid State Devices and Materials, Tokyo, p. 460 (2001)
- 2) K. Ishihara, et al.; *J. Biomat. Mat. Res.* 26, 1543 (1992)
- 3) A. Oki, et al.; *Jpn. J. Appl. Phys.*, 42 (3B), L 342 (2002)
- 4) Y. Takamura, et al.; *Electrophoresis*, 24, 185 (2003)

*Plant  
and  
Process*

# 化学装置

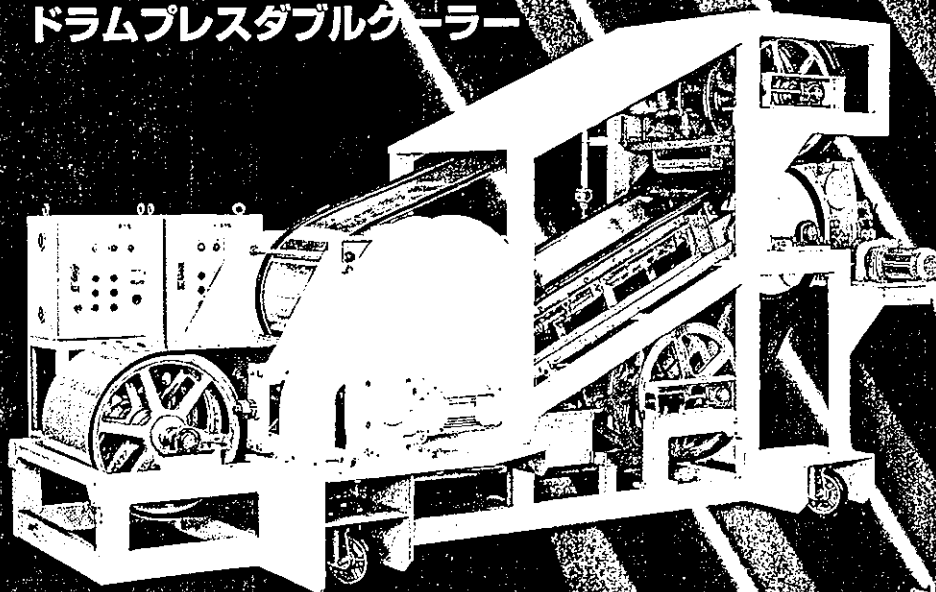
9

2004

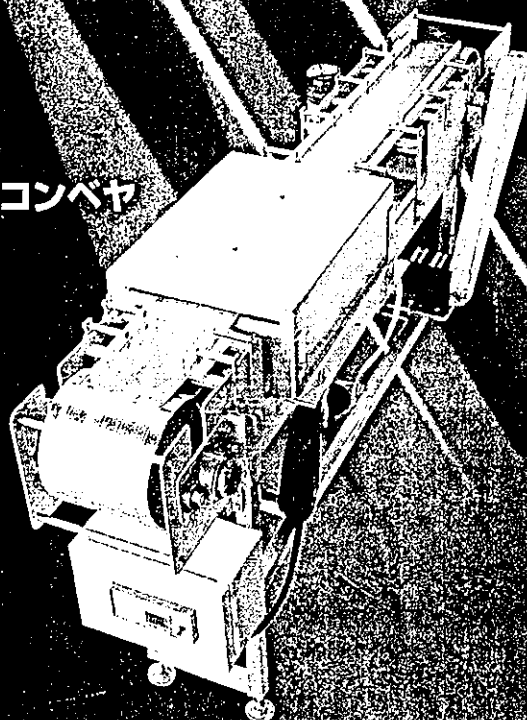
特集1 バッチプロセスの新展開  
特集2 実用化迫るマイクロ化学システム

—— スチールベルトマシン ——

ドラムプレスダブルクーラー



スチールベルトハンディコンベヤ  
ニスコン



**NISCO** 日本スチールコンベヤ株式会社



## ヘルスケアチップの開発

小川 洋輝\*, 新橋 里美\*\*  
 沖 明男\*\*\*, 高井 まどか†  
 長井 政雄††, 堀池 靖浩†††

21世紀は「生命」の時代と言われている。ヒトゲノムの解読以来、昨今のバイオテクノロジーはナノテクノロジーと融合し始め、研究・開発は堰を切ったように猛烈な速度で進み始めている。その目指すところは、「最大公約数的な医療」を脱して、個々の症状にあった適切な治療を施す「高度医療化社会」の実現である。とくにわが国においては近年の少子化に伴い総人口が早晩減少することによる近未来での労働力の不足と、高齢化の進行とそれにリンクした医療費の増大による国家予算への圧迫とともに、われわれへの負担増が強いられるといった事情がある。

この包括的解決の一策は、高齢者が働く意欲のある限り働き、培った知恵と経験を社会に還元できるよう元気で毎日を送れる「健康立国」を世界に先駆けわが国に創り出すことである。このためには予防が大切であり、在宅で簡便・確実な大量・同時多項目を診断できるバイオセンシング技術を早急に確立しなければならない。現在、このための有力な手段として各種バイオチップ化の取り組みが本格化している。バイオチップ創製には、工学、医学、薬学の融合によって初めて実現し、その結果派生する新科学・

技術・産業が大いに期待される。

本稿では、各人が家庭で手軽に健康診断を行うことを目指し、現在開発途上にあるヘルスケアチップについて述べる。

## 1. ヘルスケアチップの開発の歴史

ヘルスケアチップは、ヒトから極微量血液を採取する無痛針、全血分離のためのU字型流路を含む液体の微細流路、電気化学バイオセンサなどの要素から構成されるチップ状血液分析装置であり、とくに開発初期には血液引き込み用の電気浸透流 (EOF) ポンプも含まれていた。現在のところ  $\text{Na}^+$  や  $\text{K}^+$  などの電解質イオン、糖尿病の管理指標であるグルコース、腎機能の指標である尿素窒素 (BUN)、クレアチニンなどの検出を目標としている。

図1に2001年9月に試作した EOF ポンプ内蔵型のヘルスケアチップの概観写真と構造模式図を示す<sup>1)</sup>。チップ基板は安価、使い捨てを考慮して大部分はPET (ポリエチレンテレフタレート) などの樹脂を用いている。一方の基板をドライエッチングにより作製した石英の反転流路パターンの型に押し当てるモールドイングによって、深さ  $100\ \mu\text{m}$  の流路パターンを転写している。もう一方の基板にはイオン感応型電界効果トランジスタ (Ion Sensitive Field Effect Transistor: ISFET) を埋め込んである。この両基板を貼り合わせ、EOF ポンプとなる微細流路を形成した石英基板をはめ込んだ後、最後に外径  $100\ \mu\text{m}$ 、内径  $50\ \mu\text{m}$  のステンレス (SUS) 製の無痛針を取り付け完成となる。なお、チップ内

図1に2001年9月に試作した EOF ポンプ内蔵型のヘルスケアチップの概観写真と構造模式図を示す<sup>1)</sup>。チップ基板は安価、使い捨てを考慮して大部分はPET (ポリエチレンテレフタレート) などの樹脂を用いている。一方の基板をドライエッチングにより作製した石英の反転流路パターンの型に押し当てるモールドイングによって、深さ  $100\ \mu\text{m}$  の流路パターンを転写している。もう一方の基板にはイオン感応型電界効果トランジスタ (Ion Sensitive Field Effect Transistor: ISFET) を埋め込んである。この両基板を貼り合わせ、EOF ポンプとなる微細流路を形成した石英基板をはめ込んだ後、最後に外径  $100\ \mu\text{m}$ 、内径  $50\ \mu\text{m}$  のステンレス (SUS) 製の無痛針を取り付け完成となる。なお、チップ内

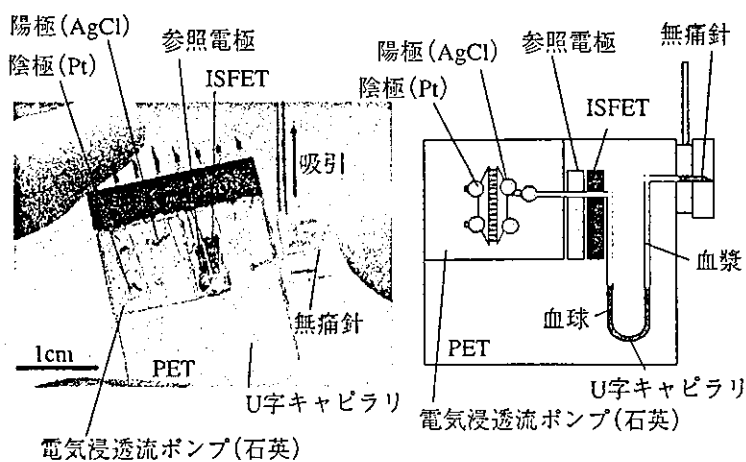


図1 ヘルスケアチップ (EOF ポンプ内蔵型)

\* Hiroki OGAWA; 科学技術振興機構  
 (Tel. 029-851-3354)

\*\* Satomi SHIMBASHI; 同上

\*\*\* Akio OKI; 物質・材料研究機構

† Madoka TAKAI; 東京大学大学院工学研究科

†† Masao NAGAI; 科学技術振興機構

††† Yasuhiro HORIIKE; 物質・材料研究機構

流路表面は血球などの付着を抑制し、生態適合化を図るために MPC ポリマー<sup>2)</sup> を塗布してある。

ISFET のゲート絶縁膜上には Bis (12-crown-4) と Bis (benzo-15-crown-5) などのイオン感応性化合物を PVC で固定化しており、それぞれ Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> イオンセンサとして動作する。また参照電極は銀薄膜上に塩化銀を塩化処理により形成したもので、上記イオンセンサの出力電位の基準電位を出力する。まず無痛針を介しヒトから採取された全血は U 字キャピラリーに EOF ポンプにより引き込まれる。その後チップを回転させて遠心力を印加することにより、全血中の血球成分を U 字キャピラリー下部へ、また血漿成分を血球成分の上へと分離し、この血漿成分を再度 EOF ポンプにより ISFET 上へと導き血漿中の Na<sup>+</sup> と K<sup>+</sup> イオン濃度を測定する。

しかしながら、① 能力は十分ではあるが使い捨てのヘルスケアチップに高価な石英基板を用いた EOF ポンプを採用している、② 同様に高価な ISFET をセンサとして採用している、③ U 字流路の片側分の血漿しか利用していない、などの問題が明らかになった。

これらを解決するために U 字流路の途中に血球溜めを配置し、そこに遠心分離の際に血球成分をすべて蓄積し、また得られたすべての血漿成分を外部ポンプでバイオセンサへと導く血漿移送型ヘルスケアチップを 2002 年 9 月に開発した (図 2)。本チップはオールポリマー製であり、バイオセンサはスクリーン印刷法で形成したカーボンや Ag/AgCl 電極上に作製した。またバイオセンサには Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> のほかに、pH、グルコース、BUN も加わった。これに伴いセンサ間の相互作用を抑制するために分岐流路途中にセンサを配置した。たとえば図 3 に示すように、BUN センサは被検査溶液中の尿素 (NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>) がセンサ上のウレアーゼの酵素反応で水素イオンを消費するためにセンサ近傍での pH が上昇することでこれを検出して BUN 濃度を求めているが、図 3(a) に示すように pH と BUN センサを同一流路内に形成して種々の尿素濃度のリン酸緩衝液 (PBS) に浸すと BUN センサは当然尿素濃度に依存してセンサ出力の pH は上昇していく。しかしながら被検査溶液の pH は尿素濃度に依存せず一定の値であるが、尿素濃度の上昇に伴い pH センサの出力 pH 値が上昇していつている。

これは流路内のセンサ同士が近接していることと

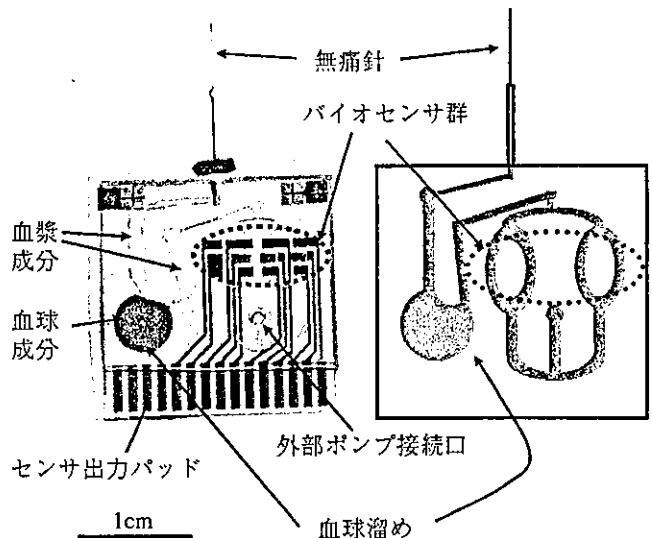


図 2 ヘルスケアチップ (血漿移送型)

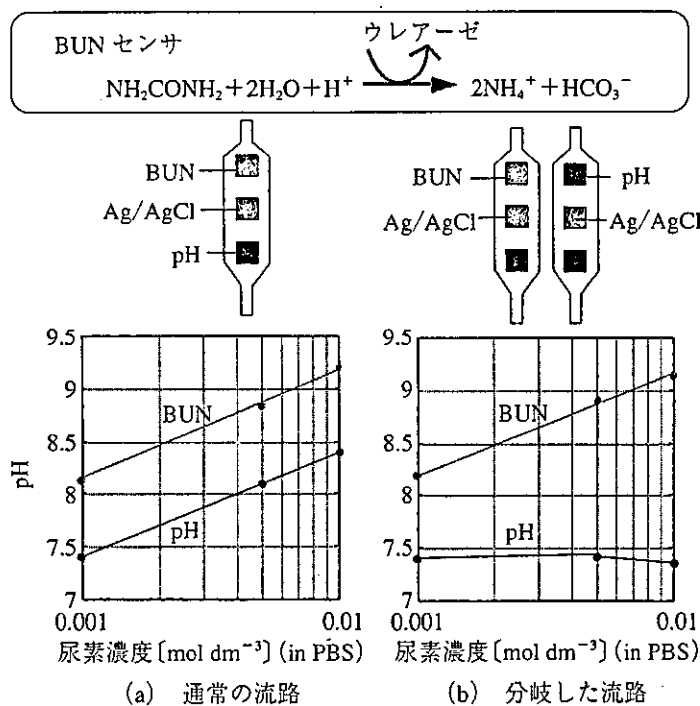


図 3 分岐流路の効果

流路内の被検査溶液体積が 1 μl 前後と少ないために、BUN センサで水素イオンが消費された影響が近接する pH センサに及んでいることを示している。そこで図 3(b) に示すように、流路を分岐してそれぞれの流路に BUN と pH を配置した場合のそれぞれのセンサの指示 pH の尿素濃度依存は、BUN センサの場合、尿素濃度に依存して上昇しているが、pH は尿素濃度に依存せずほぼ一定の値を示すことが分かる。

このように分岐流路にすることでセンサ間の相互作用を緩和できるという効果が確認できたが、これ

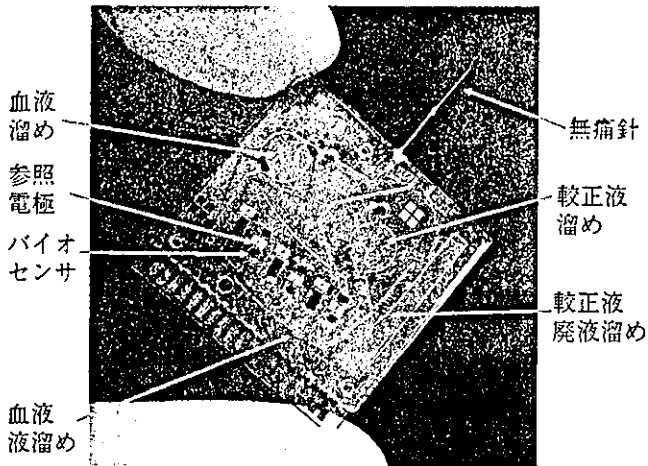
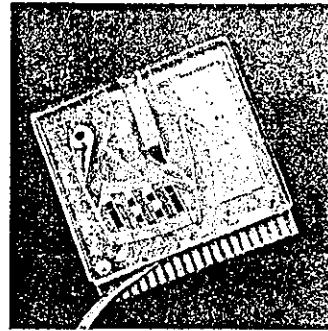
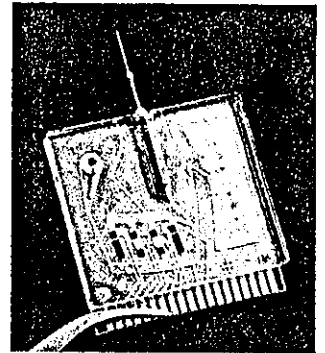


図4 ヘルスケアチップ (遠心移送型)



(a) 採血筒未装着のチップ



(b) 血液を蓄積した採血筒を装着したチップ

図6 最新のヘルスケアチップ (遠心輸送・針分離型)

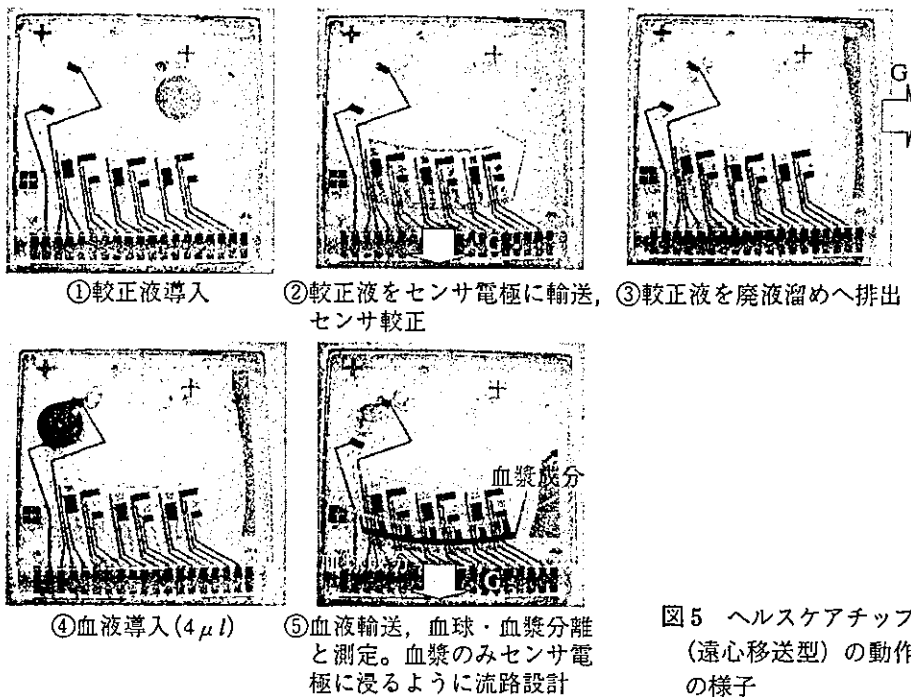


図5 ヘルスケアチップ (遠心移送型) の動作の様子

(4  $\mu$ l), 次に②で矢印の方向に遠心力が印加されるようにチップを回転させる。すると写真のように校正液は移動し、バイオセンサは校正液で満たされる。この状態でバイオセンサの校正を行う。校正完了後、③の矢印方向に遠心力が印加されるようにチップを回転させると校正液はバイオセンサ部から移動し、廃液溜めへと導かれる。次に④のように血液溜めに被検査血液を導入し、⑤矢印の方向に遠心力が印加されるようにチップを回転させると血液はバイオセンサの方へと移動するとともに血球と血漿成分に分離され、血漿成分のみがバイオセンサを覆うようになる。そしてこの血漿中の被検査物質濃度をバイオセンサで測定し、一連の動作が完了

が原因で新たな問題が発生した。それは分岐流路に均等に溶液を導くことが難しいということである。図2で示したチップの場合4流路へと分岐されているが、たとえばそのうちの1本に溶液が優先的に導かれてしまうと、そのほかの流路にはもはや溶液が導かれることはない。本チップ構造では微量の液体を微細流路内で制御することの難しさを痛感した。

このような問題を克服すべく2003年6月に図4に示すような遠心移送型のヘルスケアチップを試作した。本チップの特徴はポンプなどを用いず、チップを回転させたときに生ずる遠心力のみで溶液の移送を行うことである。このチップの動作の様子を図5に示す。まず①では校正液溜めに校正液を満たし

する。

最新チップのデザインは図6に示すようにほとんど図5に示したものと同一である。異なる点は滅菌のために採血用針をチップと分離し、採血して血液を蓄積した採血筒をそのままチップに装着できるように改良した点である。

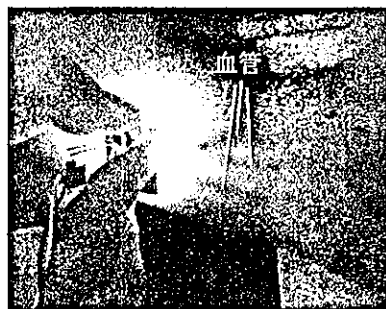
## 2. 微量血液採取方法

ヘルスケアチップの大きな特徴の1つに採血用の無痛針を装備していることが挙げられる。われわれは、蚊の針やその吸血機構を参考に無痛針の作製や採血機構を検討した。初期のヘルスケアチップでは、チップを採血ホルダにマウントして無痛針をヒトの

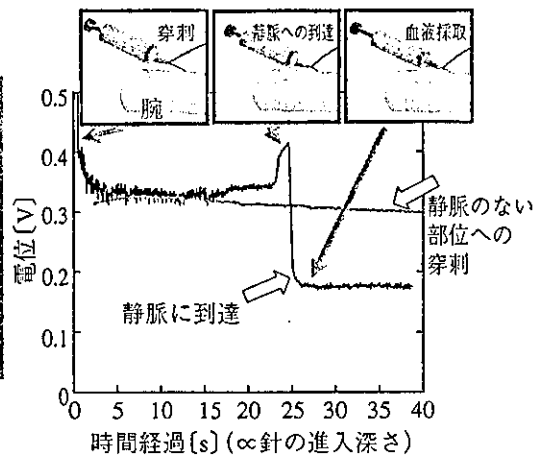
静脈上に設置し、針の周囲を覆うシリンダ内を減圧として皮膚を隆起させて、このとき針を自動的に皮膚に穿刺して血管へと導き、外部ポンプによりチップ流路内を陰圧としてチップ上に血液を導入していた(図1参照)。このようにシリンダを皮膚に押し当てて圧迫することやシリンダ内を陰圧として均等に皮膚を盛り上げることにより、穿刺時の疼痛をより緩和することができる。しかし、このようにして採血を行った場合、採血成功率はそれほど高いものではなかった。その原因はチップをセットしたホルダを適切に血管上に導くことが難しいためであった。

そこで血管位置を確実に確認しながら針の位置を決定するために、血管の可視化機構の検討を新たに行った。一般的に700~1,000 nm程度の波長域の近赤外光(Near Infrared: NIR)は、そのほかの波長域の光と比較して、体を構成する水やヘモグロビン、また皮膚のメラニンなどによって吸収されにくく、体内を透過しやすい<sup>3)</sup>。このような光を体内へと導き、体内で拡散、反射を繰り返しながら伝播して再度体外へと放射される時、その放射される部位表面直下の血管中の水やヘモグロビンにより光は吸収されて、それ以外の部分では比較的吸収されることがなく体外へと放射される。このため、この部分をCCDなどの撮像素子で観察すると血管部分からの光強度は弱いため血管は暗く浮かび上がる。図7(a)は中心発光波長850 nmのLEDから光を皮膚表面に対し斜めに入射したときに反射してくる光の像をCCDカメラで捉えたものである。光源の近傍に血管が暗く浮かび上がっていることが分かる。

このような方法で血管の2次元的位置は確認できるが、採血針をどの程度の深さまで導くかということは明瞭ではない。そこで血液を採取する際には必ず採血針を皮膚に穿刺し、これを血管まで導いていくことになるのでこの採血針を積極的にプローブに用いるということを考えた。すなわち針はステンレスのような金属で構成されているので、これを体内へと侵入させていったときの電位は血管の内外での電解質イオン濃度や水分濃度に依存して変化し、これにより針先端が血管内に到達したかどうかを判断できると推察した。



(a) 近赤外像



(b) 血管到達検知機構

図7 血管可視化と検知機構

図7(b)には針を静脈へと導いていったとき、血管のないところに導いていったときの針の電位の変化を示している。血管のないところに針を導いていっても針の電位はほとんど変化しないが、静脈へと導いていったときにはその電位があるところで大きく変化することが分かる。そしてこの変化が現れた直後に注射筒内を陰圧としてみたところ、血液が容易に採取できることが分かった。このことからこのような電位の変化は針の先端が血管に到達したか否かを反映したものであり、これにより針をどの程度侵入すればよいのかが明らかとなった。なお、このような針の侵入深さの判定は、針に微弱な交流電流を流したときの応答から得られるインピーダンスと位相の変化からもできることを確認している。

最新の無痛針は採血時の剛性を確保し得る最小限の径に近い外径150  $\mu\text{m}$ 、内径100  $\mu\text{m}$ のステンレスパイプの端面を3面カット、電解研磨などの方法で先鋭化し作製している(図8(a))。また針を作製する前のステンレスパイプの内壁は同図(b)に示すように冷管延伸加工を施しているために凹凸が激しい。パイプ内壁が細いため、これでは採血時に血球を破壊する恐れがあるため新たな内壁研磨法を開発した。写真で示すように研磨後は内壁が非常に平滑化されていることが分かる。

また、このような平滑化はそのほかの利点があることが分かった。図8(c)には採血の様子を示しているが、実際に採血を行っている間はコンピュータ画面上に示される近赤外血管像と針の電位変化を観察しながら行っており、穿刺部を直接見ることはほとんどない。そして内壁研磨の効果は針を血管に導いたときに血圧のみで血液を針に接続されている採血管へと導けるということであり、これにより何ら