

## Calorimetric Measurement Clinical Chip for Home Medical Diagnosis

Yasuhiro Horiike<sup>1</sup>, Hiroko Koda<sup>1</sup>, S.-H.Chang<sup>1</sup>, Ryo Ogawa<sup>1</sup>, Shingi Hashioka<sup>1</sup>, Masao Nagai<sup>2</sup> and Hiroki Ogawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nanotech-driven Materials Research for Information Technology, National Institute for Materials Science

1-1, Namiki, Tsukuba, Ibaraki, 305-0044, Japan

<sup>2</sup>Adbic Incorporation

2-1-6 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan

HORIIKE.Yasuhiro@nims.go.jp

**Keywords:** clinical chip, calorimetric measurement, centrifugal force, blood collection, toreharose

### ABSTRACT

A calorimetric measurement chip system was developed using the centrifugal force, which enabled us to separate the blood collected by a painless needle, meter and mix both plasma and reagents. The chip function was confirmed for observation of curing course of hyperlipemia.

### 1. Introduction

It has become a serious issue in Japan that the rapid increase in the aged society increases the medical cost for person of advanced years. Prevention is important for them in order to live a healthy life. For the goal, a healthcare chip system has been developed to prevent life style related diseases at home [1]. Currently, compact diagnostic systems are commercially available [2-6]. These systems can examine checking items more than 20, while they needs blood collection of about 100  $\mu\text{L}$ , which requires medical doctor assistance. Therefore, the present system first aims at calorimetric examination of 3 items such as triglyceride, total-cholesterol and HDL from analysis of blood of 6 $\mu\text{L}$  using a painless needle. This paper describes developments which allow a chip operation using only centrifugal force, simultaneous separation and metering of the blood, high mixing ratio of 50-100 of reagents: 1 of plasma and freeze-dried reagents for long-term preservation, and variation of triglyceride level for months is also reported.

### 2. Chip Operation

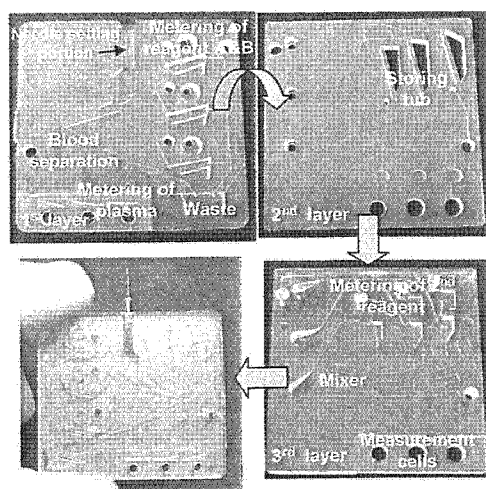


Fig1. Three layers structure of the chip.

The chip structure consisting of three layers are shown in Fig. 1. A needle setting portion, blood separation

region, three plasma metering chambers and injection holes and metering tubs for reagents A & B are fabricated on a 1<sup>st</sup> layer. A 2<sup>nd</sup> layer has through-holes introducing the B reagent to a 3<sup>rd</sup> layer and mixing tubs for metered reagent A and plasma. The 3<sup>rd</sup> layer provides storing tubs of metered reagent B and three zigzag mixing channels for plasma/reagent A and B, and three measurement cells.

Figure 2 shows a sequence of the blood separation process. At first, (i) the needle after the blood collection is

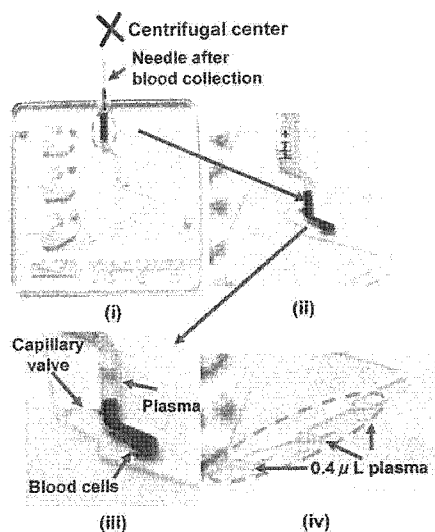


Fig2. Sequence of blood separation process  
(i) Insertion of needle after blood collection,  
(ii) Trap of blood, (iii) Separation,  
(iv) Metering of plasma to three 0.4  $\mu\text{L}$  chamber.

inserted. (ii) Subsequently, the centrifugal force at a low speed trap the blood in a capillary and (iii) the continuing rotation at low speed separates plasma over blood cells. Finally, the strong centrifugal force conveys separated plasma through a capillary valve and shares plasma into three metering chambers with a volume of 0.4 $\mu\text{L}$ .

Figure 3 (a-d) shows a series of photographs which demonstrate these metering, transport and mixing processes of plasma and reagents A (18 $\mu\text{L}$ ) and B (6 $\mu\text{L}$ ), where colored inks were used for the observation. The reagent A

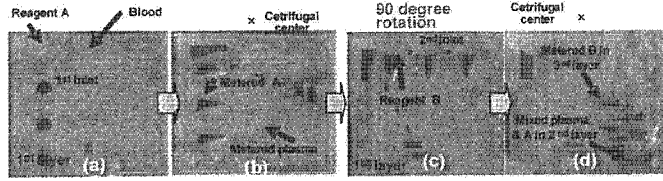


Fig. 3 Metering and mixing processes of reagent A/plasma and reagent B

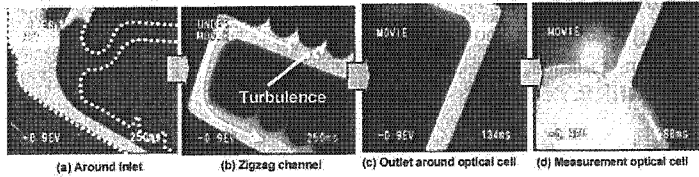


Fig. 5 Mixing process at zigzag channel. At (b), outside flow in an upper channel undergoes turbulence and inside flow in a lower channel undergoes turbulence

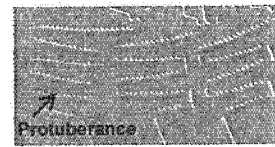


Fig. 4 Mixing zigzag channel.

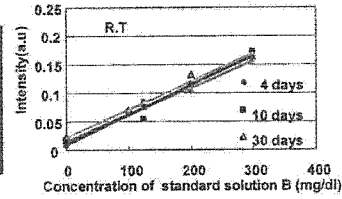


Fig. 6 Day-dependent decay characteristics of Triglyceride reagent B +10% Trehalose

introduced to the 1<sup>st</sup> inlet in (a) is metered by the centrifugal force together with plasma in (b). After rotating the chip at 90 degrees, centrifugal force transports both reagent A and plasma to the 2<sup>nd</sup> layer and shaking serves mixing/ reaction of them at five min. At the same time, the reagent B introduced to the 2<sup>nd</sup> inlet is transported to the 3<sup>rd</sup> layer by passing through the 2<sup>nd</sup> layer and is metered by centrifugal force. Finally, the reagent A and plasma mixture

in the 2<sup>nd</sup> layer and the reagent B in the 3<sup>rd</sup> layer are mixed employing a zigzag channel (see Fig. 4), whose inner wall has protuberances, causing turbulence. Figure 5 (a-d) shows a series of the mixing progress of two solutions with and without fluorescent dye. A special feature of the zigzag channel is that an outside flow in an upper channel undergoes turbulence in presence of protuberances and in turn an inside flow in a lower channel undergoes turbulence. Repeating of the process accomplished the well mixing.

3. Measurement

For practical use of the chip, long-term preservation of reagents was also studied. After A and B reagents A and B for triglyceride (Wako Junyaku) were added to trehalose at 10 weight % and were freeze-dried. As shown in Fig. 6, any decay was not observed even after one month.

Since a researcher in our laboratory suffered from abnormal high triglyceride level, course of the values were measured by taking a tablet of Mevalotin of a lipid-lowering agent (Sankyo Pharmacy) for about 4 months as shown in Fig. 7 employing the present chip, which was introduced by blood collected using both visualization of blood vessel with NIR and detection of vessel position due to potential measurement between an arm surface and vessel (see Fig. 8)[2] and freeze-dried triglyceride reagents+10% trehalose (see Fig. 9) recovered by purified water. We confirmed gradual decrease of the value.

4. Conclusions

This chip allows us to test representative items of triglyceride, total-cholesterol and HDL. The capability is expected to prevent life style related diseases.

References

[1] A. Oki, M. Takai, H. Ogawa, Y. Takamura, T. Fukazawa, J. Kikuchi, Y. Ito, T. Ichiki and Y. Horiike, *Jpn. Appl. Phys.*, 42 (2003), pp.3722-3727.  
 [2] <http://www.abbottpointofcare.com/istat/> [3] <http://fms.fuji-film.co.jp/fms/drichem/> [4] <http://www.arkray.co.jp/index.html> [5] <http://www.hitachi.co.jp/products/personalhealthcare/index.html> [6] <http://www.abaxis.com/>  
 [7] H. Ogawa, M. Nagai, J. Kikuchi and Y. Horiike, M. A. Northrup, K. F. Jensen, D. J. Harrison (Eds.) *Micro Total Analysis Systems 2003*, Kluwer Academic Publishers (2003), pp. 741-744.

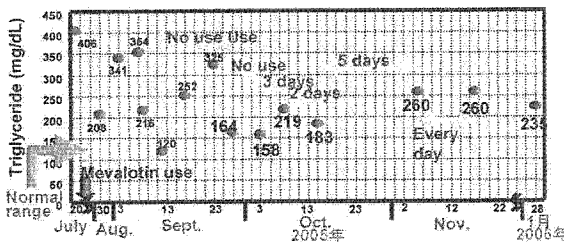


Fig. 7 Day-dependent triglyceride level by use of "Mevalotin", which is a lipid-lowering agent made by Sankyo Pharmacy

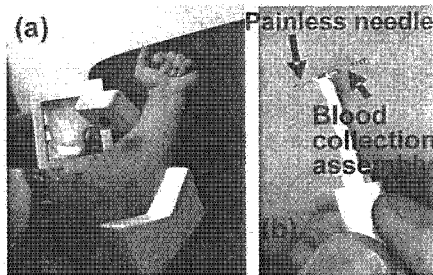


Fig. 8 (a) Monitoring of position of blood vessel by NIR irradiation, (b) Blood collection using needle

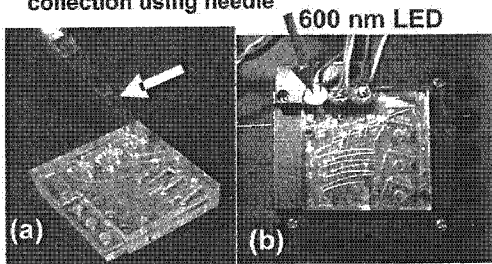


Fig. 9 (a) Introduction of freeze-dried reagent recovered to solution, (b) Actual measurement

平成18年度

厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業

萌芽的先端医療技術推進研究

ナノメディシン研究成果発表会

要 旨 集

日時：平成19年2月13日(火) 9時00分～17時20分

場所：財団法人 がん研究振興財団 国際研究交流会館

主催：財団法人 医療機器センター

# ドライ比色法による微量血液分析在宅診断チップ

主任研究者：独立行政法人物質・材料研究機構 堀池 靖浩

独立行政法人物質・材料研究機構 甲田 裕子、Chang Chia-Hsien

株式会社アドビック 小川 洋輝、長井 政雄

防衛医科大学校 守本 祐司

## 1. はじめに

高齢者らが元気で過ごすためには生活習慣病などの疾病の予防が重要であり、無痛針より採取された微量血液を分析し在宅で診断が可能なチップを創製している。本年度は、最終年度であり、 $6\mu\text{L}$ の全血から総コレステロール、中性脂肪、HDLの3項目の比色法測定を目指し、二種類の試薬をドライ化して保存性を向上させ、遠心力により血球と血漿分離及び血漿の秤量、二種類の試薬の秤量、試薬対血漿の高混合比などを実現する診断チップを開発した。現在、前臨床実験に移行している。

## 2. 採血器



図1 電子採血補助装置

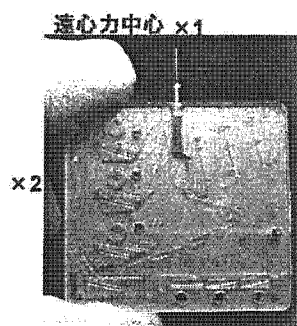


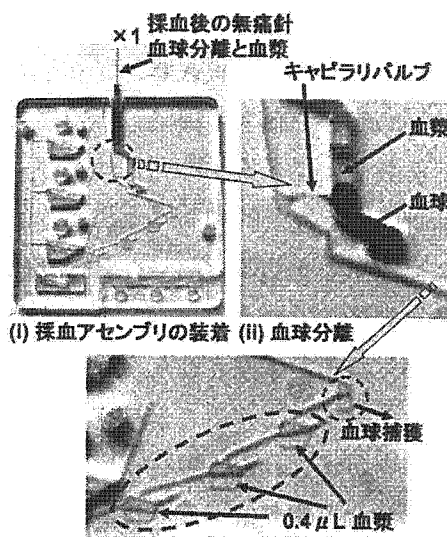
図2 6枚黒L採血から3項目を鮮色測定するヘルスケアチップ

微量採血としてランセットなど用いられているが、リンパ液などの体液も採取するため、正確な血液検査は難しく、やはり静脈などからの採血が望まれる。そこで、通常の皮膚への損傷と痛みを軽減するため、 $150\mu\text{m}$ 径のSUS管を用い、先端を10度に研磨し、端面を3面カットし、最後に電解研磨された針を開発した。更に、粗い管の内壁を超平滑化した結果、針を皮膚に刺すと自分の血圧だけで採血できる。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(850nm)を照射して血管を可視化した。更に、皮膚表面から静脈の存在深さを知るため、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。

図1はその採血風景である。採血者は自分の腕と針アセンブリを見ず、ディスプレイ上でNIRイメージと電位変化を見て採血する電子的採血が可能になった。

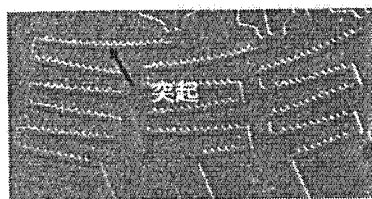
## 3. ドライ比色法血液診断チップ

図2は開発した比色法チップを示す。×1と×2は遠心力印加用の回転中心を示す。3層からなっている。第一層で、採血針アセンブリをチップに装着し、×1を中心に回転すると、まず、図3の中央の

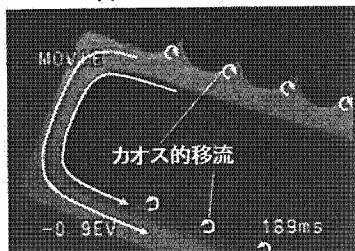


(i) 採血アセンブリの装着 (ii) 血球分離

(iii) 高速度での血漿移動と秤量



(a)ミキシング流路



(b)ミキシング過程

図4 試薬A/Bと血漿とのミキシング過程。(a)ミキシング流路、(b)ミキシング過程

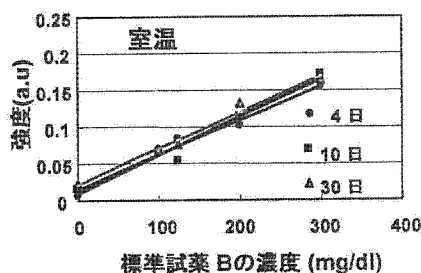


図5 トリグリセライド標準試薬 B の保存経時変化

折れ曲がった細管に血液が移動し、更に回転を続けると、血球と血漿に分離する。更に、高速回転させると、キャピラリバルブを通過して、(iii)に示すように僅かに混じった血球は前段で捕獲され、血漿は  $0.4\mu\text{L}$  に秤量される。

試薬として A と B の二種類を用い、図 3(i) のチップの右側の 3 つの孔列と平行に 3 つの孔が配置され、試薬 A と B を夫々導入する。(ii) の血球分離の工程の時の回転で試薬 A は孔直下の三角形の貯蓄槽に導入され秤量される。試薬 A と血漿は、 $\times 2$  を中心に回転すると第 2 層で一次混合される。試薬 B は一層目から 2 層目を貫き、第 3 層目に移動され、 $\times 2$  を中心に回転すると 3 層目の貯蓄槽で秤量される。

血漿対試薬の混合比は、1:60 なので、血漿は  $0.4\mu\text{L}$  とし

て、試薬 A と B の槽の容積は、それぞれ  $1.2\mu\text{L}$  である。従って、高混合比を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、流体は層流となり混合は容易ではない。そこで、最終的には、図 4(a) に示すように、試薬 A/血漿と試薬 B は 3 層目に設けられたジグザク流路内に  $\times 1$  を中心に回転させ、(a) に示すように流路の内壁の一方に設けられた突起により乱流を発生させ、(b) に示すように、ジグザク流路では、流路の折返し部の前後で流路外側と内側の流れが入れ替わり、乱流を受

けた液は、次段では乱流を受けず、逆に乱流を受けない液は次段では乱流を受け、次第にミキシングされて行く。

そしてミキシングされた試薬 A/B と血漿は計測セル内比色計測が行なわれる。本チップでは、 $600\text{nm}$  の波長の LED でコレステロール、中性脂肪、HDL の 3 項目を比色測定する。

試薬 A と B では、長期保存を目的に、二糖類のトレハロースを含有させ、凍結乾燥したものを使用時に水で戻すドライ試薬を開発した。図 5 は、中性脂肪測定用のトリグリセライド E-テストワコー(和光純薬)を本方法による試薬として用いたときの試薬量と吸光度の関係の経時変化を示す。一ヶ月を経ても劣化は見られない。

無痛針による電子的補助採血法、比色法診断チップ、ドライ試薬液を使用し、研究者の 1 人が異常に高い中性脂肪値を示し、その高脂血症治療薬であるメバロチンを内服しながら、4 ヶ月に及ぶ服用効果をモニタリングした。その結果、メバロチン内服開始に伴い、中性脂肪値の漸減されていく様子が観察された。健康診断のような厳格な制限はしていないが、治療薬内服による中性脂肪値の減少を捉えることに成功しており、本チップが簡易診断・モニタリング法として有用であることが示された。現在、上述の 3 項目を現行の血液自動検査装置での測定と比較しながらチップの精度を調べる前臨床実験へ移行している。

#### 4. 今後の展望

診断チップを家庭に持ち込むためには、個人差にかかわらず無痛で確実に採血できるシステム、微量血液から出来るだけ多くの健康・疾病マーカの正確かつ高信頼測定、及び安価・小型・安全・簡単操作の測定器などが要求され、本研究が確立されると診断機関と直結して在宅診断が実現され、医療、更には社会システムを大きく変革すると期待される。



2007年 (平成19年) 春 季

# 第 54 回応用物理学関係連合講演会 講 演 予 稿 集

Extended Abstracts (The 54th Spring Meeting, 2007);  
The Japan Society of Applied Physics and Related Societies

# No. 3

- 3 光  
Optics
- 4 量子エレクトロニクス  
Quantum Electronics
- 5 光エレクトロニクス  
Optoelectronics
- 10 有機分子・バイオエレクトロニクス  
Organic Molecules and Bioelectronics
- 12 半導体B (探索的材料・物性・デバイス)  
Semiconductors B (Exploratory Materials/  
Physics/Devices)
- 合同セッションE: 「スピントロニクス・ナノマグネティクス」  
Joint Session E: Spintronics and Nanomagnetism
- 合同セッションF: 「カーボンナノチューブの基礎と応用」  
Joint Session F: Physics and Applications of Carbon  
Nanotubes
- 合同セッションG: 「量子情報の基礎と応用」  
Joint Session G: Fundamentals and Applications of  
Quantum Information Technology



期 日 : 2007年3月27日 (火) ~ 30日 (金)

会 場 : 青山学院大学

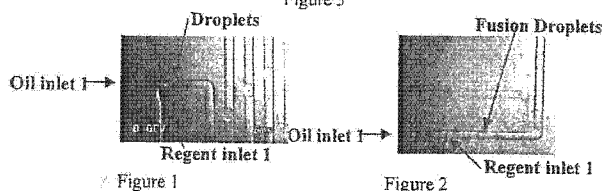
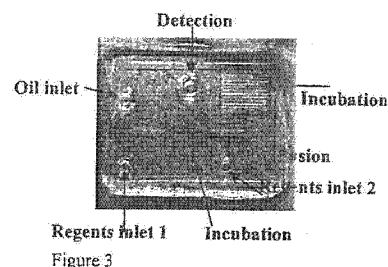
## 27p-SA-12

Droplet device aiming to be used for multiple immunoassay detection  
 Chang Chia-Hsien<sup>1</sup>, Hiroki Ogawa<sup>2</sup>, Hashioka Shingi<sup>1</sup> and Yasuhiro Horiike<sup>1</sup>  
 National Institute for Materials Science (NIMS)<sup>1</sup>, Adbic Inorp.<sup>2</sup>  
[chang.chiahsien@nims.go.jp](mailto:chang.chiahsien@nims.go.jp)

**Introduction:** The concept of a micro-total analytical system ( $\mu$ -TAS) has emerged as a means of providing vital technology to enable medical POC possible. This study reports a immunoassay device for interferon (IFN- $\gamma$ ) detection employing droplets, aiming at future multiple analyses detection.

**Experiments:** The PDMS based chip was made using hard-embossing procedures, in which the embossing mold was Si fabricated using ICP dry etching technology as well as to reform a hydrophobic surface with Teflon on microfluidic channel. Syringe pumps were used to provide transportation for both carrier fluid (oil) and analytes (can be antibody and antigen based solution) at a speed ranging from 0.1  $\mu$ L/min to 10  $\mu$ L/min.

**Results:** Figure 1 shows the immunoassay chip, which are droplets formation, incubation, fusion, mixing and detection. As shown in Fig. 2, droplets up to 20  $\mu$ L can be generated in the device owing to the "jet" channel design for analytes outlet rather than simple T channel. As shown in Fig. 3, the "jet" channel design contributes greatly to fusion function. In addition, long microfluidic channel (see Fig. 1) to increase incubation time is also designed as well as the wave-like channel wall is used to improve mixing. However, there is still room for detection limitation to be improved in our case.



## 27p-SA-13

前処理デバイスを搭載したナノギャップ DNA 診断チップの作製  
 Fabrication of nano-gap DNA diagnosis chip containing pre-treatment device

1. 東京工業大学, 2. (独)物質材料研究機構 橋岡真義<sup>1,2</sup>, 益一哉<sup>1</sup>, 堀池靖浩<sup>2</sup>,  
 1. Tokyo Institute of Technology, 2. National Institute for materials science, Shingi Hashioka<sup>1,2</sup>, Kazuya Masu<sup>1</sup>, and Yasuhiro Horiike<sup>2</sup>  
[HASHIOKA.Shingi@nims.go.jp](mailto:HASHIOKA.Shingi@nims.go.jp)

**はじめに:**我々はこれまで、ウイルス破碎後 DNA を抽出・精製し、感染症診断をワンチップで行なうための要素技術開発として、マイクロピラーとマイクロバルブを利用した DNA 前処理(洗浄)チップ、およびナノギャップアレイを利用した DNA 診断チップについて報告してきた。<sup>1,2)</sup> 本報告では、石英基板-Si 基板貼りあわせ技術を利用して、これらをワンチップ化した結果を示す。

**実験および結果:**本研究で作製する DNA 診断チップは、ナノギャップアレイデバイスを有する石英基板上に、前処理チップを有する Si 基板が貼りあわせられている。作製にはまず、石英基板および酸化膜つき Si 基板をヘキサフルオロケイ酸水溶液(2%)に浸漬した後、0.4 MPa、65°C、30 時間の条件で加熱圧着する。リソグラフィおよびドライエッチングにより、この基板の石英側にナノギャップアレイデバイスを、Si 側に前処理デバイスを形成し、サンドブラスト法によって形成した貫通孔により両デバイスのマイクロ流路とナノ流路を接続する。図は、石英基板中のナノ流路に接続された Si 基板中のマイクロ流路を示している。このようにして作製したチップによって、DNA の前処理から診断にいたる行程を、閉鎖したワンチップの中で迅速に行うことが出来る。

**謝辞:**本研究は、文部省科研費若手研究(B) 18710114 の助成によって行われた。

1)橋岡他;平成 17 年春季第 52 回応用物理学関係連合講演会予稿集, 2)橋岡他;平成 18 年秋季第 67 回応用物理学関係連合講演会予稿集

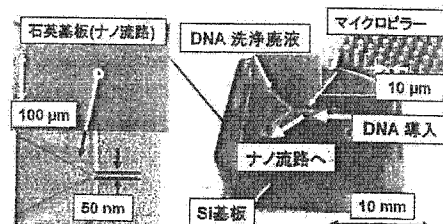


図:石英基板中のナノ流路に接続された Si マイクロ流路

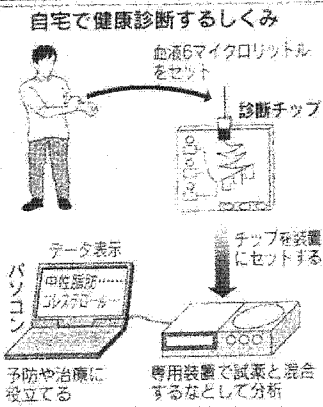


血液中のコレステロール値

# 自宅で簡単に測定

## 人材機構と アドビック 心臓病予防に一役

物質・材料研究機構、医療機器開発のアドビック(茨城県つくば市)などは、血液中のコレステロール値を誰でも簡単に測ることが可能な検査システムを開発した。分析装置を安く改良できれば、家庭で高脂血症の兆候や病状の進行具合をチェックでき、心臓病などの予防につながる。今秋から臨床試験を開始し、二、三年後をメドに実用化する。



切手大のチップに血液をセットすると10分で検査結果が出る。

先が細く痛みを伴わない針で腕から血液を採取し、切身サイズのチップに垂らし、分析装置にセットする。約十分で総コレステロール、善玉コレステロール、中性脂肪の3検査項目がわかる。必要な特殊な金型を使い、数ミクロメートルの微小加工が可能な特殊な金型を使い、血液や試薬が流れる細かな経路を彫り込んでチップを作った。流路の形や向きを工夫することで、わずかな血液でも試薬と十分に反応するようにした。

研究段階だが、会社や自治体の健康診断などと同程度の精度で高脂血症の検査値を測定できた。九月から有効性や安全性をさらに確認するため、阿南医科大学校などを中心に臨床試験をスタートする。

高脂血症(血液中に含まれる脂肪(中性脂肪やコレステロール)が過剰な状態。血液でドロドロたり総コレステロール値が二百二十以上、中性脂肪が二百五十以上で、高脂血症と診断される。心臓病や脳梗塞(そう)

「超微弱な力」測定に成功  
高輝度センター  
高輝度光科学研究センターと科学技術振興機構の共同研究チームは二十日、エックス線がたんばく質の分子にあたったときに発生する微弱な力を計測する装置を開発したと発表した。この装置は、たんばく質の超微弱な力(フォトン)を測定し、たんばく質の構造を解析する。この装置は、たんばく質の構造を解析する。この装置は、たんばく質の構造を解析する。

赤外線カメラでとらえた人の口の動きを同時に撮る。声をマイクで拾って送信すれば本人の

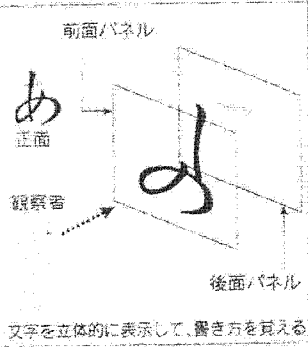
# 人間そっくりロボット

## 遠隔操作で会話も可能に

国際電気通信基礎技術研究所(AIR)は二十日、人間そっくりで遠隔操作で動くヒト型ロボットに人間に近づけることが

# 立体画像使い文字を学習

## 早大、ナムコなどシステム



早稲田大学、ナムコ、国立成育医療センターなどの研究グループは、立体ディスプレイを使った文字の学習システムを開発した。読み書きが困難な識字難読症患者を対象とした文字の学習システムを開発した。読み書きが困難な識字難読症患者を対象とした文字の学習システムを開発した。

# 識字難読症患者に効果

本的な知覚能力に問題がないにもかかわらず、文字の読み書きに困難を示す症状。国内では児童の約四・五％に症状が表れるとされる。開発したシステムは立体画像を用いた文字学習システムで、読み書きが困難な識字難読症患者を対象とした文字の学習システムを開発した。

# 物/器

研究段階だが、会社や自治体の健康診断などと同程度の精度で高脂血症の検査値を測定できた。九月から有効性や安全性をさらに確認するため、阿南医科大学校などを中心に臨床試験をスタートする。

高輝度光科学研究センターと科学技術振興機構の共同研究チームは二十日、エックス線がたんばく質の分子にあたったときに発生する微弱な力を計測する装置を開発したと発表した。