

Micro Total Analysis Systems 2006

Proceedings of μ TAS 2006 Conference

Volume 1

Tenth International Conference on Miniaturized
Systems for Chemistry and Life Sciences
November 5-9, 2006
Tokyo, Japan

Editors:

Takehiko Kitamori
Hiroyuki Fujita
Shinji Hasebe

μ TAS 2006



TOKYO

CALORIMETRIC MEASUREMENT CLINICAL CHIP FOR HOME MEDICAL DIAGNOSIS

Yasuhiro Horiike¹, Hiroko Koda¹, S.-H.Chang¹, Ryo Ogawa¹,
Shingi Hashioka¹, Masao Nagai² and Hiroki Ogawa²

¹National Institute for Materials Science, Japan

²Adbic Incomp., Japan

Abstract

A calorimetric measurement chip system was developed using the centrifugal force, which enabled us to separate of 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.

Key words; clinical chip, calorimetric measurement, centrifugal force, blood collection, toreharose

1. Introduction

A calorimetric measurement chip system has been developed to prevent life style related diseases at home [1]. The system aims at the following functions; (1) electronic collection of whole blood of 6 μL using a painless needle, (2) a chip operation using only centrifugal force, (3) simultaneous separation and metering of the blood, (4) mixing of 50~100 of reagents : 1 of plasma and (5) development of freeze-dried reagents for long-term preservation.

2. Chip Operation

The chip structure consisting of three layers and the actual chip are shown in Fig. 1(a) and (b). As shown in Fig. 2, rapid acceleration until reaching to a stationary rotation at a 1st layer separates plasma upward and blood cells downward in a zigzag

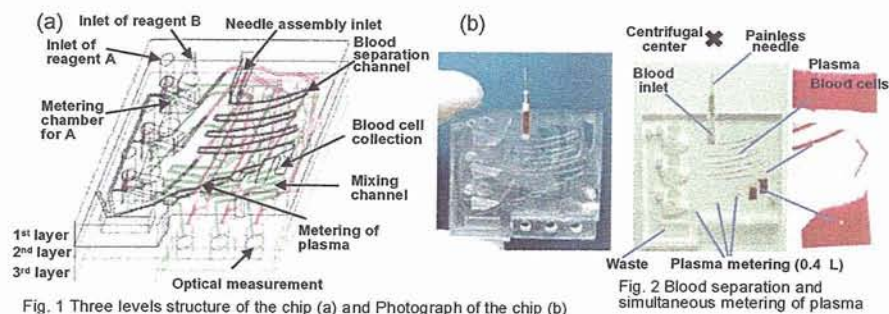


Fig. 2 Blood separation and simultaneous metering of plasma

channel. Then, blood cells are first captured at a final channel, and plasma passes over blood cells, thus falling into three metering chambers with a volume of 0.4 μL . Figure 3 (a-d) shows a series of photographs which demonstrate these metering, transport and mixing processes of plasma and reagents A (18 μL) and B (6 μL), where colored inks were used for the observation. The reagent A introduced to the 1st 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 2nd layer and shaking serves mixing/ reaction of them at five min. At the same time, the reagent B introduced to the 2nd inlet is transported to the 3rd layer by passing through the 2nd layer and is metered by centrifugal force. Finally, the reagent A and plasma mixture in the 2nd layer and the reagent B in the 3rd 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.

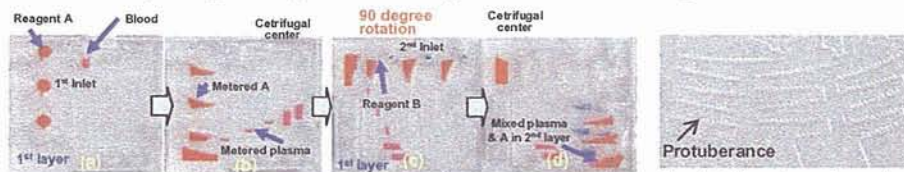


Fig. 3 Metering and mixing processes of reagent A/plasma and reagent B.

Fig. 4 Mixing zigzag channel.

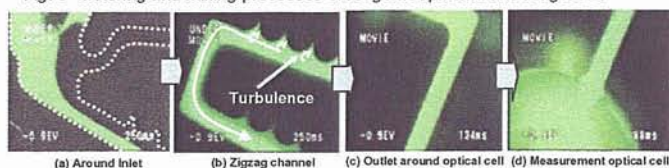


Fig. 5 Mixing process at zigzag channel. At (b), outside flow in an upper channel undergoes turbulence and inside flow in an lower channel undergoes turbulence.

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 toreharose 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, et. Al., Jpn. Appl. Phys., 42 (2003), pp.3722-3727.
 [2] H. Ogawa, et. al., M. A. Northrup, et. al. (Eds.) *Micro TAS 2003*, (2003) pp. 741-744.

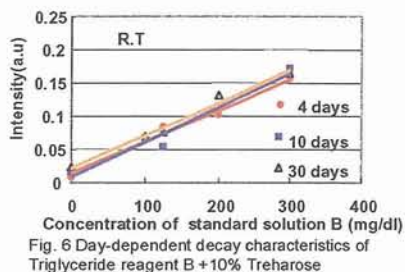


Fig. 6 Day-dependent decay characteristics of Triglyceride reagent B + 10% Trehalose

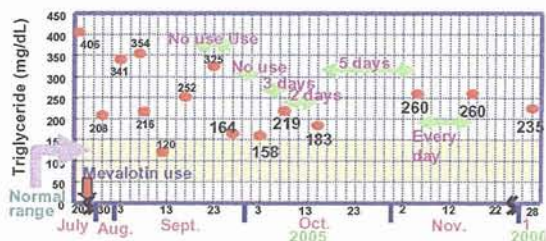


Fig. 7 Day-dependent triglyceride level by use of "Mevalotin", which is a lipid-lowering agent made by Sankyo Pharmacy

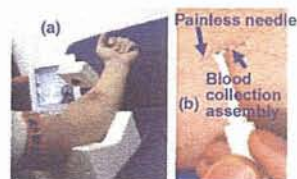


Fig. 8 (a) Monitoring of position of blood vessel by NIR irradiation, (b) Blood collection using needle

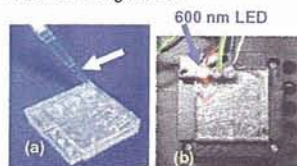


Fig. 9 (a) Introduction of freeze-dried reagent recovered to solution, (b) Actual measurement

第28回

日本バイオマテリアル学会大会

予稿集



JSB

■ 2006年11月27日～28日

■ アルカディア市ヶ谷（私学会館）

第28回大会長 岡野光夫

ナノ構造体を用いた DNA サイズ分離機序の解明

○ 小川涼¹、加地範匡²、若尾創²、橋岡真義¹、
馬場嘉信^{2,3}、堀池靖浩¹

¹ (独) 物質・材料研究機構、² 名古屋大学、³ (独) 産業総合技術研究所

1. 緒言

2003年にヒトゲノムの完全解読後、個々人の症状に合わせたテーラメード医療・ゲノム創薬の実現が期待されている。その実現には DNA 塩基配列の読み取りが $10^8 \sim 10^9$ オーダーで高速化される必要があり、そのためには、DNA をサイズにより高速・高性能に分離する技術の開発が強く求められている。本研究では、DNA サイズ分離の高速化、高性能化を目指し、ナノスケールの石英製の柱 (ナノピラー) をマイクロチャンネル中に作製し、それを利用し高精度・高速 DNA サイズ分離を実現するとともに、矩形に配列したナノピラーによる DNA サイズ分離機序を明らかにした。

2. 実験

石英基板上に電子線レジストを塗布し、電子ビーム描画装置を用い、直径 500 nm の孔を空け、その中に Ni を通電メッキした。この Ni をマスクとして、プラズマエッチングを行うことで、直径 500 nm、高さ 4 μ m のナノピラーを作成した。ナノピラー配列は図 1 のような矩形配列とし、ナノピラー間隔は 100 nm および 300 nm とした。この矩形配列ナノピラーを配したマイクロチャンネル中にて、蛍光色素により染色した DNA 断片 (1 kbp、10 kbp、38 kbp) を電気泳動し、ナノピラーによる DNA サイズ分離効果を検討した。ナノピラー領域の全長は 2 mm であり、ナノピラー領域が終了した場所を観測地点とし、蛍光顕微鏡にて蛍光輝度の経時変化を測定した。

3. 結果と考察

DNA 電気泳動の結果、ナノピラー間隔 100 nm の場合、1 kbp の断片と 10 kbp 以上の断片に分離され、ナノピラー間隔 300 nm の場合には、10 kbp 以下の断片と 38 kbp の断片に分離されることが明らかとなった (図 2)。DNA の慣性半径を $\sqrt{bL}/\sqrt{6}$ (b: Kuhn's Length、L: contour length) より求めた場合、1 kbp、10 kbp、38 kbp の断片の慣性半径は、それぞれ、78 nm、245 nm、478 nm となる。図 2 の分離結果とこの慣性半径を比較すると、ピラー間隔より小さい慣性半径の DNA 断片とピラー間隔よりも大きい慣性半径の DNA 断片をサイズに基づき分離していることが明らかとなった。矩形配列のナノピラーは分子篩い効果を発揮し、ピラー領域内において、ピラー間隔よりも小さい慣性半径を持つ DNA の電気泳動速度が、ピラー半径よりも大きな慣性半径を持つ DNA の電気泳動速度よりも大きくなり、DNA がサイズにより分離されることが考えられる。様々なピラー間隔の矩形配列ナノピラーをマイクロチャンネルに配置することで、サイズに基づき DNA を高速かつ精密に分離できるデバイスを実現できることが期待される。

謝辞

本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金：若手研究(B)(6822, 17750078, 2005)により行われた。

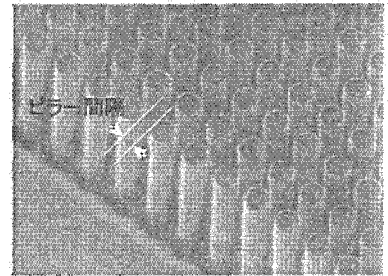


図 1 石英ナノピラー。上図写真は、直径 500 nm、高さ 4 μ m、ピラー間隔 300 nm。

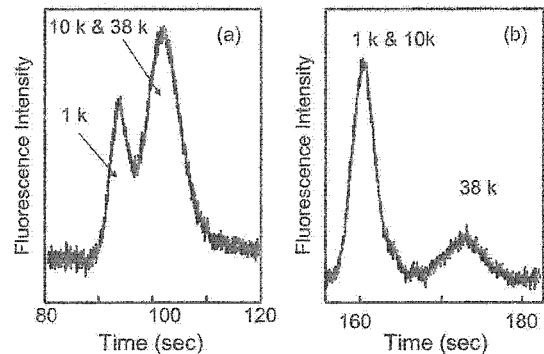


図 2 電気泳動図。ピラー間隔 100 nm (a) およびピラー間隔 300 nm (b) の矩形配列ナノピラーによる DNA サイズ分離結果。

Mechanism of DNA Size Separation employing Nano-Structures

Ryo OGAWA¹, Noritada KAJI², Sou WAKAO², Shingi HASHIOKA¹,
Yoshinobu BABA^{2,3}, and Yasuhiro HORIIKE¹

¹National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Ibaraki, 305-0044, Japan

²Department of Applied Chemistry, Nagoya University, Japan

³Health Technology Research Center, AIST, Japan

TEL:+81-29-851-3354 (ext.8335), FAX:+81-29-860-4652, E-mail: OGAWA.Ryo@nims.go.jp

DNA ワンチップ診断のための前処理デバイスの作製

○ 橋岡真義、小川涼、堀池靖浩

物質・材料研究機構 情報通信材料研究領域

1. 緒言

血漿中のウイルスからDNAを抽出し、ナノギャップアレイ¹⁾を用いた感染症診断をワンチップで行なうため、マイクロピラーによるDNAの固定・溶離およびゲルバルブ開閉のpH応答性を利用したDNA前処理デバイスを作製し、その機能を検討した。我々はすでに、ナノギャップアレイを用いたDNAの伸長固定に成功し、ナノギャップアレイ中のプローブDNAを用いたハイブリ検出も確認した。全血からウイルスDNA検出までをワンチップで行うためには、これに加えて、ナノギャップアレイ上流においてDNAを清浄化する前処理デバイスが必要である。今回、前処理チップ作製およびDNAを用いた固定・脱離試験結果について報告する。

2. 実験

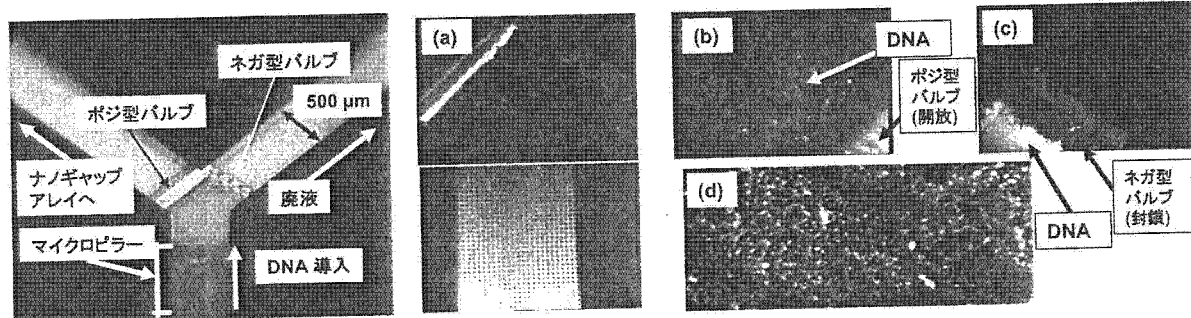


図1. DNA 前処理デバイス 図2.(a)マイクロピラー上に固定されたDNA (b)開放したバルブから出るDNA (c)バルブに封鎖されたDNA (d)デバイスから抽出されたDNA

Bosch エッチング法により、Si 基板中にマイクロ流路を作製した。図1は、作製したマイクロ流路の顕微鏡像を示している。アルミナコートしたマイクロピラーおよびpH応答性ハイドロゲルバルブ²⁾が流路内に形成されている。アルミナは酸性で正の、アルカリ性で負のゼータ電位を示すため、負の電荷を有するDNAの着脱がpHの変化によって可能である。一方、ハイドロゲルには酸性で膨張・アルカリ性で収縮するタイプ(ポジ型)と酸性で収縮・アルカリ性で膨張するタイプ(ネガ型)がある。これらの機能を利用して、マイクロ流路内でDNAの洗浄を行う。洗浄中(酸性)はDNAがピラー上に固定され、かつポジ型バルブは閉じて診断ユニットであるナノギャップアレイに洗浄の廃液が流れ込まないようにし、ネガ型バルブは開いて廃液を排出する。洗浄後、溶離液(アルカリ性)を導入すると、DNAはピラーから脱離し、ポジ型バルブは開いてDNAをナノギャップアレイに送り、ネガ型バルブは閉じる。このチップにpHを4程度に調製したTBEバッファー液と共にT4 DNAを、回転させて導入し、さらに0.02M NaOH溶液を導入して、DNAの固定・脱離の蛍光観察を行った。

3. 結果及び考察

図2(a)は、DNA導入後のマイクロピラー付近およびゲルバルブ付近の蛍光顕微鏡像を示している。図から、DNAがマイクロピラー上に固定されていることが確認され、この際、ポジ型バルブが閉鎖し、ネガ型バルブが開放状態であることが確認されている。NaOH溶液を導入すると、ピラーに固定されていたDNAは脱離し、図2(b)-(c)に示すように、バルブ付近に流入し、ポジ型バルブは開放してDNAを通し、ポジ型バルブは閉鎖してDNAを閉じ込めている。図2(d)はこれらの工程を介して抽出されたDNAであり、これをナノギャップアレイに導入することにより、連続的に診断を行うことが期待できる。

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ました。本研究に関して貴重なアドバイスをいただいた宮原裕二氏(NIMS)に感謝します。

1) S. Hashioka et al., Proc. of μ TAS 2005 (2005)730. 2) D. J. Beebe et. al, Nature 404 (2000) 588.

Fabrication of pre-treatment device for one chip DNA diagnosis

Shingi Hashioka, Ryo Ogawa, and Yasuhiro Horiike

National Inst. for Materials Science, Nanotech-driven Materials Research for Information Technology, 1-1, Namiki, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan

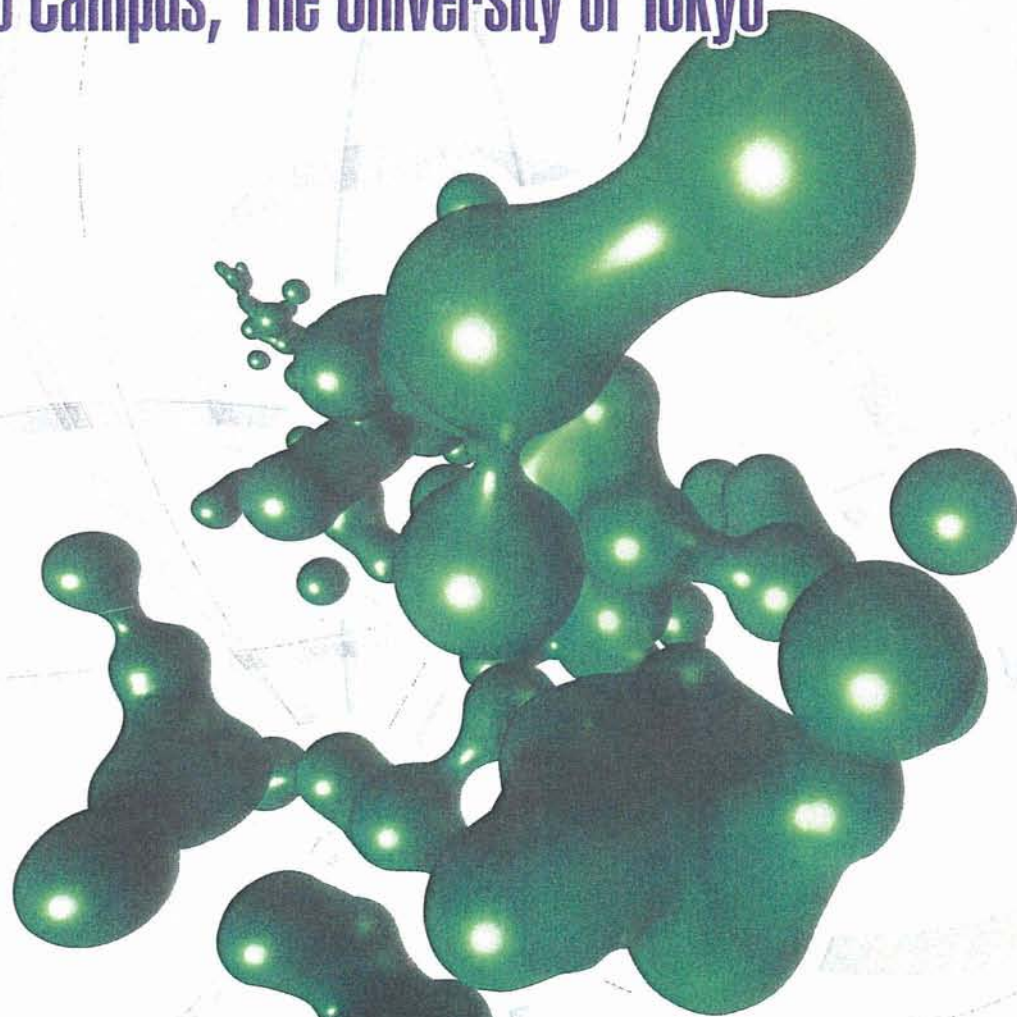
Phone & FAX: +81-29-851-4652 E-mail: HASHIOKA.Shingi@nims.go.jp

Proceedings of UT Symposium on NanoBio Integration

NANOBIO-TOKYO 2006

December 4-7, 2006 TOKYO, JAPAN

Venue: Hongo Campus, The University of Tokyo



Extended Abstracts

Organized by
Center for NanoBio Integration
The University of Tokyo

and
Promotion of Novel Interdisciplinary Fields based on
Nanotechnology and Materials (MEXT)



Calorimetric Measurement Clinical Chip for Home Medical Diagnosis

Yasuhiro Horiike¹, Hiroko Koda¹, S.-H.Chang¹, Ryo Ogawa¹, Shingi Hashioka¹, Masao Nagai² and Hiroki Ogawa²

¹Nanotech-driven Materials Research for Information Technology, National Institute for Materials Science

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

²Abdic 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 need blood collection of about 100 μL , 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 μL 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

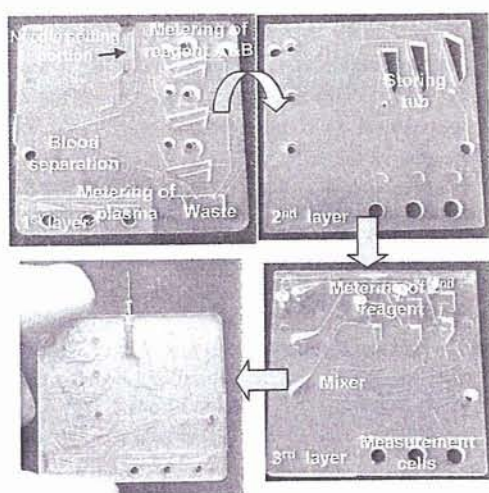


Fig1. Three layers structure of the chip.

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 1st layer. A 2nd layer has through-holes introducing the B reagent to a 3rd layer and mixing tubs for metered reagent A and plasma. The 3rd 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

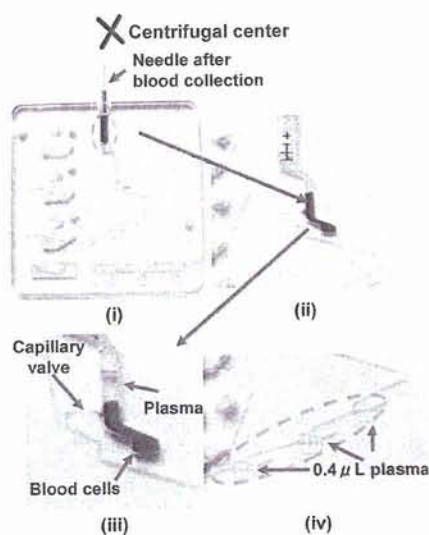


Fig2. Sequence of blood separation process
(i) Insertion of needle after blood collection,
(ii) Trap of blood, (iii) Separation,
(iv) Metering of plasma to three 0.4 μL chamber.

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 μL .

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

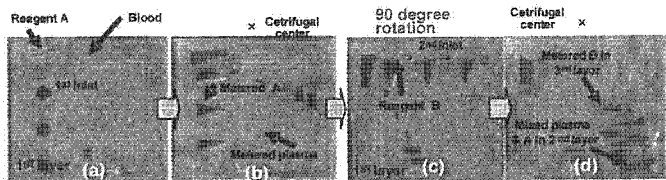


Fig. 3 Metering and mixing processes of reagent A/plasma and reagent B

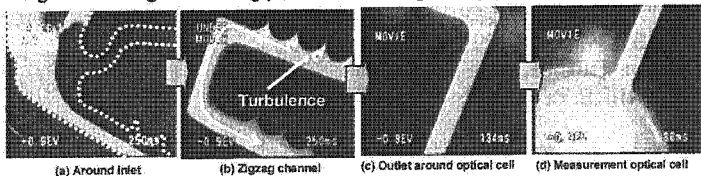


Fig. 5 Mixing process at zigzag channel. At (b), outside flow in an upper channel undergoes turbulence and inside flow in a lower channel undergoes turbulence



Fig. 4 Mixing zigzag channel.

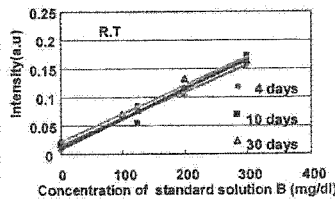


Fig. 6 Day-dependent decay characteristics of Triglyceride reagent B +10% Treharose

introduced to the 1st 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 2nd layer and shaking serves mixing/ reaction of them at five min. At the same time, the reagent B introduced to the 2nd inlet is transported to the 3rd layer by passing through the 2nd layer and is metered by centrifugal force. Finally, the reagent A and plasma mixture

in the 2nd layer and the reagent B in the 3rd 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.

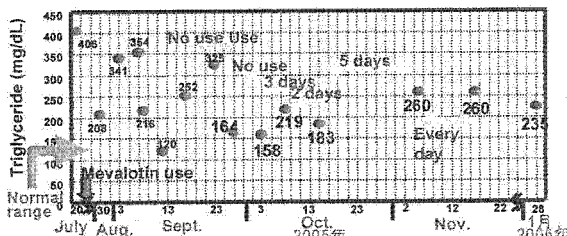


Fig. 7 Day-dependent triglyceride level by use of "Mevalotin", which is a lipid-lowering agent made by Sankyo Pharmacy

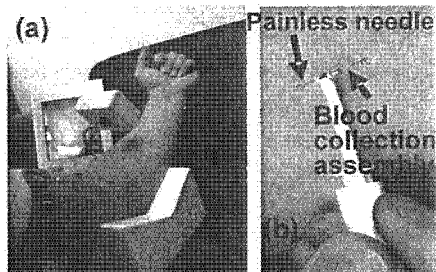


Fig. 8 (a) Monitoring of position of blood vessel by NIR irradiation, (b) Blood collection using needle

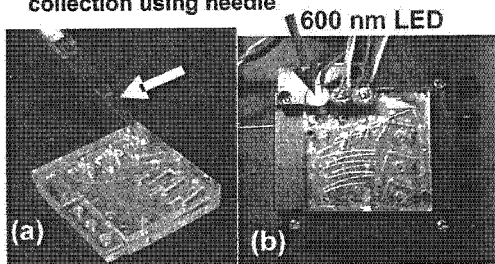


Fig. 9 (a) Introduction of freeze-dried reagent recovered to solution, (b) Actual measurement

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.

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

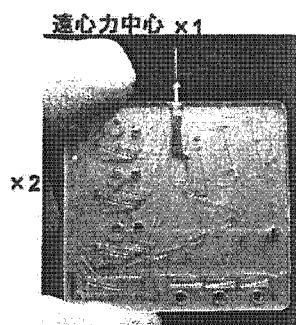


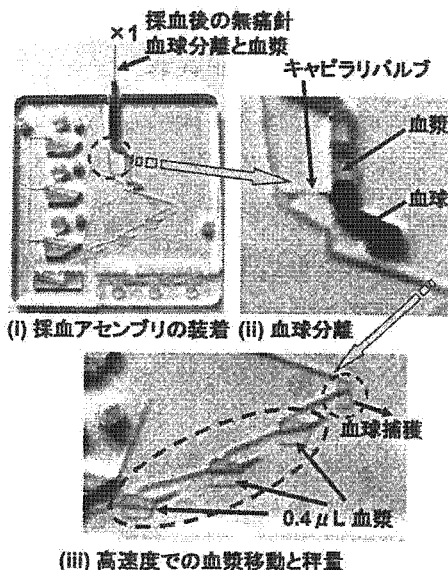
図2 6枚黒L採血から3項目を赤色測定するヘルスケアチップ

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。 $\times 1$ と $\times 2$ 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、 $\times 1$ 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

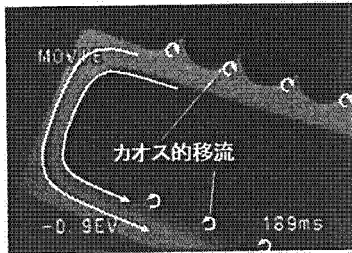
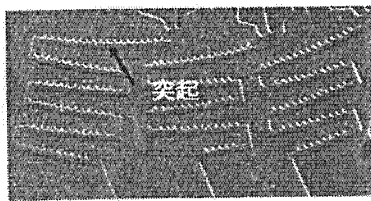


図4 試薬A/Bと血漿とのミキシング過程。(a)ミキシング流路、(b)ミキシング過程

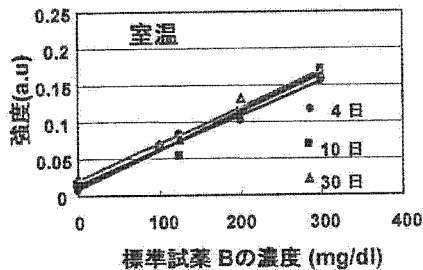


図5 トリグリセライド標準試薬Bの保存経時変化

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、 600nm 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

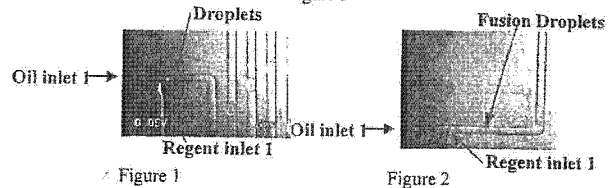
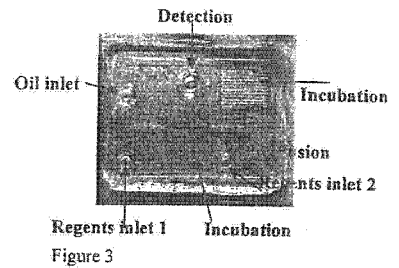
27p-SA-12

Droplet device aiming to be used for multiple immunoassay detection
 Chang Chia-Hsien¹, Hiroki Ogawa², Hashioka Shingi¹ and Yasuhiro Horiike¹
 National Institute for Materials Science (NIMS)¹, Adbic Inorp.²
chang.chiahsien@nims.go.jp

Introduction: The concept of a micro-total analytical system (μ -TAS) has emerged as a means of providing vital technology to enable medical POC possible. This study reports a immunoassay device for interferon ($\text{IFN-}\gamma$) 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 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.

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 μL 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^{1,2}, 益一哉¹, 堀池靖浩²,
 1. Tokyo Institute of Technology, 2. National Institute for materials science, Shingi Hashioka^{1,2}, Kazuya Masu¹, and Yasuhiro Horiike²
HASHIOKA.Shingi@nims.go.jp

はじめに:我々はこれまで、ウイルス破砕後 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、マイクロピラーとハイドロゲルバルブを利用した 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。^{1,2)} 本報告では、石英基板-Si 基板貼り合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 基板が貼りあわされている。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

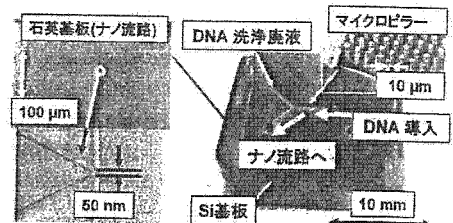


図:石英基板中のナノ流路に接続された Si マイクロ流路

