〔基調講演〕

04208 マイクロ流体工学のバイオ分野への応用

Micro Fluid Engineering for Biomedical Applications

正 長岡 嘉浩 (日立機械研)

Yoshihiro NAGAOKA, Mechanical Engineering Research Laboratory, Hitachi Ltd., 502, Kandatsu, Tsuchiura, Ibaraki

Key Words: Micro device, Micro fluidics, μ -TAS, Dimensional effect

By miniaturizing the channels and reservoirs that are a fluid element in the device for chemical analyses, the physical phenomenon that was not conspicuous in a macroscopic domain, becomes dominant. In order to develop a micro device, it is necessary to use these physical phenomena properly. This report describes the typical physical phenomenon relevant to control of the liquid within a micro device, and describes the micro device for inspection of a pathogen.

1. はじめに

近年のバイオ関連分野においては、試料と複数の試薬を流動制御することにより、マイクロデバイス内で液体同士を反応させたり特定の化学物質のみ分離したりする技術が注目されてきている。マイクロデバイスを用いることにより装置の小型化や低コスト化だけでなく、従来のマクロなデバイスに比べて、反応の均一化および高速化、分離性能の向上等が期待できる¹⁾。

デバイス内の流体要素である流路や容器をマイクロ化することにより、マクロな領域では目立たなかった物理現象が支配的になる。たとえばマクロな領域では、乱流拡散を利用して混合を促進するが、マイクロ領域では乱流になりにくく分子拡散の効果が顕著になる。あるいは、流路壁などの表面での現象が支配的となり、毛管現象や電氣的な流動現象が顕著になる。

マイクロデバイスの開発には、このようなマイクロ領域で支配的となる物理現象を、デバイスの使用目的や形態に応じて使い分ける必要がある。

本報告では、マイクロデバイス内での液体の制御に関連する代表的な物理現象について述べ、具体的な応用例として病原体を検査のためのマイクロデバイスについて述べる。

2. マイクロデバイス内での液体の制御

化学分析プロセスにおいては、試料と試薬あるいは試薬同士の混合・反応制御や反応を支配する温度制御等、液体あるいは液体中での化学物質の制御が重要となる。 μ -TAS (Micro Total Analysis System) はこれら一連のプロセスを基板上で実現するもので、例えばあらかじめすべての試薬をマイクロデバイス内に封入しておき、オペレータが試料を分注するだけですべての処理が自動で実行され分析が完了する。マイクロデバイス内には試薬を封入あるいは反応させるための容器、液体を流動させる流路等のマイクロ要素が形成されており、各要素ごとにマイクロ化で顕著になる物理現象を応用することになる。

表1に、マイクロデバイス内各要素の機能と、この機能に関係する物理量を、面積に起因する量と体積に起因する量に分けて示す。マイクロ化により代表長さが小さくなると、面積(長さの2乗)に起因する物理量が体積(長さの3乗)に起因する物理量より支配的になる。

通常マクロなデバイス内ではポンプ等で加圧して液体を流動させるが、マイクロデバイス内では粘性摩擦抵抗が支配的となり慣性力はほとんど期待できず、高圧のポンプが必要

になる。例えば円管の直径を半分にしたとき、同一の流量を得るには16倍の圧力が必要になる(流量は管径の4乗および圧力差に比例する)。特に血液中の病原菌検査等の低濃度化学物質検査においては、検査対象となる試料の液量はマクロなデバイスと変わらないので、高圧ポンプを用いることになり、ポンプの高圧化だけでなくポンプとマイクロデバイスとの接続部の封止が課題となる。

Table 1. Dimensional effects

Device function	Surface effect	Volume effect
Flow control	Viscose friction	Inertia
	Surface tension	
	Electroosmosis	
Mixing control	Mass transfer	Volume
Temp. control	Heat transfer	Heat capacity
Extraction	Surface adhesion	Volume

このようなマイクロデバイス内での面積効果を利用した液体の流動制御方法としては、毛管現象や電気浸透現象を利用した方法がある。

毛管現象はデバイス流路壁面の液体に対する濡れ性に依存し、液体の接触角が鋭角の場合液は流動しやすい。一般にガラス流路などは水溶液に対して濡れ性がよく、未使用のマイクロ流路には毛管現象で液体を容易に注入することができる。毛管現象では一方向(濡れ性がよい場合は液体側から気体側)しか流動せず、また流路が液体で満たされると流動しなくなる。しかし、液体の接触角は温度や電場で制御できるため、液体と気体を交互に流路内に注入することで、液体の一端(A)の接触角を他端(B)の接触角より小さくすることによりA側に液体を移動することが可能である。このような制御こそマイクロデバイスのもっとも得意とするところである²⁾。

電気浸透現象は電解液中の流路壁近傍に局在したイオンが電氣的に移動する現象で、壁近傍で発生した流れが粘性摩擦で流路内部の液体を引きずり流動を引き起こす(電気浸透流)。この場合粘性摩擦は、上述したように流動抵抗として作用するのではなく、駆動力として作用する点がマイクロデバイスの特徴である。ただし、壁近傍に局在するイオンの極性や強度は水素イオン指数(pH)に依存するため、試薬の混合によるpHの変化には注意しなければならない。

試薬を混合させる場合、マイクロデバイス内ではレイノルズ数が小さく乱流は期待できない。一方分子拡散は拡散時間

が混合距離の2乗に比例するためマイクロデバイス内での混合には有利である。さらに試薬を多数の微細孔（マイクロノズル）から注入すれば、混合距離だけでなく接触面積も大きくでき、より短時間に混合が可能となる³⁾。

試薬を混合し化学反応を実現するには適切な温度制御が不可欠である。反応に適した温度は試薬ごとに異なり、また一般的な核酸増幅法であるPCR（Polymerase Chain Reaction）のように、短い周期で液温を上下させる必要性もある。マイクロデバイスでは、反応容器の容積を小さくすることで制御する液体の熱容量に対し、熱を移動させる容器壁面の面積を相対的に大きくすることができるので、短時間で液温を制御することが可能になる。

3. 病原体検査用マイクロデバイス

病原体の検査は、血液等の試料から細菌やウイルス等の病原体あるいは病原体の核酸を抽出し、免疫反応や核酸増幅等の方法で病原体を特定する。特に核酸を増幅する方法では他試料の混入の影響が大きく、また核酸が酵素によって分解されやすいことから、密閉したデバイス内での自動検査が望まれている。

筆者らは免疫反応あるいは核酸増幅法を用いたマイクロ検査チップ⁴⁾および核酸抽出デバイス⁵⁾を開発した。両デバイスともあらかじめ各試薬を密閉したデバイス内に保持し、所定のタイミングで各試薬は自動分注されるため、オペレータは試料を注入するだけでよい。試薬の流動は、マイクロ検査チップは外部からの圧力制御（シリジポンプ）で、核酸抽出デバイスは遠心力と毛細管力で制御し、デバイス内には機械的な制御機構がなく、低コスト化を実現している。

特にマイクロ検査チップは、反応容器をマイクロ化することにより化学反応の高速化を実現し、免疫反応やPCRによる病原菌の検出を医療現場に持ち込んで実施できるようにする。

核酸抽出デバイスは、液の分注に毛管現象を利用している。図1に試作した核酸抽出デバイスを、図2に流路構造を示す。オペレータは全血をデバイスに分注するだけでよい。デバイスが回転すると、全血は遠心力により外周側に流動し、血球と血清に分離する。血清を保持する容器から毛細管が分岐しており、回転を止めると血清は毛管現象により毛細管を満たす。再度デバイスを回転させると毛細管から血清が流出し、サイフォン効果で毛細管内の血清が全て流出する。この時第一の試薬容器（図2に番号で表示）に通気孔（初期状態はフィルムで密閉してある）を開けておけば、容器から試薬が流出し反応容器で血清と混合する。

第一の試薬は血清と混合することにより蛋白を変成し病原体の膜蛋白を溶解すると同時に、病原体から溶出した核酸をガラス表面に結合させる働きを持つ⁶⁾。

第一の試薬と血清が十分反応した後、回転を止め第二の試薬容器に通気孔を開ける。再びディスクを回転させると試薬が反応容器に流入し、反応容器内の液を追い出し結合フィルタ（ガラス製）を経て回収容器に流れ込み、核酸が選択的にガラス表面に捕捉される。但し、核酸以外にも蛋白などの物質も結合フィルタに付着するため、第三、第四の試薬を流動させ、結合フィルタに付着した不純物を除去し、最後に第五の試薬を流動させ結合フィルタから核酸を溶解させる。

結合フィルタを通過した液は回収容器に流れ込むが、溶解液である第五の試薬以外は回収容器容積より液量が多く、回収容器下流のサイフォン流路から流出する。一方最後の溶解液量は回収容器容積より少ないため、サイフォン流路を越えることができず、核酸を含んだ状態で回収容器に保持される。

4. まとめ

化学分析用のマイクロデバイスには、小型化だけでなく高

速化、高精度化、低コスト化等の付加価値が求められている。そのためにはマイクロ化の利点（物理現象）を活用してデバイスを開発するのが望ましい。本報告ではマイクロデバイス内での液体の制御に注目して特徴的な物理現象を述べたが、分析システム全体では、デバイスの簡易成形・組立て・装着、高感度検出、データ転送等、マイクロ化の課題は沢山ある。専門の異なる研究者・技術者が、マイクロデバイスというテーマで協力して開発することを期待したい。

Fig. 1 Disposable extraction cartridge

Fig. 2 Design of fluidic structure

5. 参考文献

- 1) 長岡嘉浩：マイクロデバイス内の流動現象，ながれ，21，419-428 (2002)。
- 2) H. Moon, S. Cho, R. Garrell, C. Kim：Low Voltage Electrowetting-on-dielectric, J. of Applied Physics, 92, 4080-4087 (2002)。
- 3) R. Miyake, T. Lammerink, M. Elwenspoek, J. Fluitman：Micro Mixer with Fast Diffusion, Proc. of MEMS'93, 248-253 (1993)
- 4) 稲波久雄，佐々木康彦，三宅亮：POCT（その場診断）用マイクロ反応チップシステム，The Papers of Technical Meeting on Micromachine and Sensor Systems, IEE Japan, 5-8 (2002)。
- 5) 長岡嘉浩，渡部成夫，竹中啓，大橋智樹，横林敏昭：遠心力を利用した化学分析デバイス，第52回理論応用力学講演会講演論文集，312-313 (2003)。
- 6) B. Vogelstein & D. Gillespie: Preparative and Analytical Purification of DNA from Agarose, PNAS, 76, 615-619 (1979)。