多筒式電極誘起気泡による二次元試薬インジェクション

Two-dimensional reagent-laden bubble injection by arrayed electrodes

○学 神林卓也 (芝浦工業大学) 学 濱野洋平 (芝浦工業大学) 正 山西陽子 (芝浦工業大学, JST さきがけ)

Takuya KAMBAYASHI, Shibaura Institute of Technology, 3-7-5, Toyosu, Koto-ku, Tokyo

Yohei HAMANO, Shibaura Institute of Technology

Yoko YAMANISHI, Shibaura Institute of Technology, JST PRESTO

This paper presents two-dimensional micro-chip for electrically-induced bubble injection device. The study is targeting to have electrodes which are patterned and integrated in the limited space to eject high-speed mono-dispersed bubbles for two dimensional processing of soft materials or patterning reagent. For the present study, fundamental processing method to fabricate two-dimensional chip is presented. The novelty of injection mechanism, which is produced by the closed space at the tip of the electrode, is fabricated by original packaging techniques. Multiple injections of high-speed bubbles in microfluidic chip provide efficient high-density injection. This study will contribute to two-dimensional or three-dimensional injection techniques in the limited space for gene therapy and other biomedical applications.

Key Words: micro-nano bubbles, two-dimensional chip, biomedical applications

1. 緒言

近年遺伝子工学や再生医療の発展とともに、より高効率な遺伝子インジェクション技術が求められている。遺伝子導入方法には従来ウイルス等を用いたインジェクション方法やリポソーム等を用いた化学的インジェクション方法などがあるが、安全かつ局所的に高効率に導入できる技術は限られている。一方、物理的な遺伝子導入技術には電界を利用した電気穿孔法、超音波を利用したソノポレーションやパーティクルガン法などがあるが、高精度・高効率・低侵襲を満たす方法には至っていない。本研究では電解質溶液中で水中放電によって生じる気泡の界面の圧壊やその圧力波によって細胞の局所アブレーションをする原理を基盤として[1], その外側同心軸に溶液供給構造をつけて試薬をまとった気泡を細胞内に導入するインジェクションメスの作製を行ってきた[2]。インジェクションメスはマイクロガラス電極先端に有する微小空間に放電をすることにより液体で満たされた空間内に急激な圧力変動を生じることによって指向性を有する気泡列が生じ、狙った箇所にインジェクションできる利点がある。しかし、従来のインジェクションメスは気泡列がただ生じるために局所的なインジェクションのみが可能であり、広範囲に対して同時にインジェクションすることは不可能である。また、三次元であるがゆえに、小型化・集積化が困難であった。遺伝子治療などの分野においては、広範囲に決められた場所に高効率にインジェクションする技術が求められており、遺伝子の次元パターンニング等を行うことでより効果的な治療を見込める。そこで本研究ではガラス基板上に多筒式電極誘起によるインジェクションメスを作製し、細胞にインジェクションすることで従来のインジェクションメスと穿孔能力を比較・評価することを目的とした。

2. 多筒式インジェクションチップの作製

2-1 多筒式電極誘起インジェクションチップコンセプト

本デバイスはガラス基板上に複数の電極を配置することで同時に気泡列を生じさせることをコンセプトとしている。(図1)。ガラス基板上に複数の2次元電極を配し、2次元流路内に気泡列を発射し、これまで3次元形状では困難であった多筒式インジェクションを可能にするものとする。2次元チップ化することにより数多くの電極を集積化可能となり、局所面積に高密度にインジェクションすることが可能となる。本実験においては上記2次元インジェクション機構の基

礎実験として、2次元チップ内における単一電極のインジェクションを可能とした。

Fig.1 Concept of electrically-induced bubble injection by multiple electrodes in two-dimensional chip

2-2 作製プロセス

作業手順は次のようになり、プロセス図を図2に示す。ガラス基板にOAPを塗布しHMDS処理を行った後に、スパッタリングによりAu膜を作製した。作製したAu膜の上にOFPR-800LBを塗布し、フォトリソグラフィ及びウェットエッチングを行うことで不要なAu膜を取り除き通電部を作製した。その後SU-8 3025でフォトリソグラフィによりインジェクションメスの外形を作製した。最後にNiを電気めっきによりめっきすることで電極を作製し、PDMSでパッケージングを行った。

2-3 チップ作製

以上の手法で作製したデバイスを図3に示す。SU-8 3025でインジェクションメスの外形を作製する際に、1500rpmで30秒間スピンコートした後にプリベークし、露光・現像を行い、厚さを50μmとした。作製したチップ内にあるインジェクションメスの口径は50μmである。Niを電気めっきする際は電極の高さが50μmとなるようにめっき(電流密度: 2 A/dm²)した。

2-4 実験システムセットアップ

作製したチップは図4に示すように対向電極と電解質溶液を貯めるプールを設けたプラットフォームに組み込むことで実験を行う。実験システムの概略図を図5に示す。電源は電気メス用パルス電源（ConMed 社 Hyfrecator2000）を使用した。このデバイスはアウトプット周波数 450kHz、インピーダンスマッチングのためのサンプリング周波数は 450kHz であり、3.5kHz でフィードバックを行っている。実験に使用した電解質溶液は NaCl 溶液 (5%) である。

3. 気泡の生成実験

作製した 2 次元チップを用いて気泡の生成実験を行った。図6に生成した気泡を示す。時間とともに液中放電により成長した気泡が2次元チップ内に打ち出される様子を確認した。本実験での条件は電気メス用パルス電源の出力が 35W の際に生成されたものである。気泡の大きさは約 100 μm である。

Fig. 6 Sequence photos of ejected micro-bubble
(High-speed camera, 120,000fps)

4. 結言

本研究では2次元インジェクション機構の基礎実験として、2次元チップ内における単一電極の気泡生成を可能とした。今後の課題として、今回の単一電極による気泡を用いることで細胞にインジェクションし、従来の三次元インジェクションメスと穿孔能力を比較・評価することがあげられる。また、多極式電極誘起にする場合の電極間距離やメスのサイズの評価があげられる。

謝辞

本研究は文科省科研費（25289059, 25630091）及び JST さきがけの助成を得て行われた。

引用文献

- [1] Y. Yamanishi et al., IEEE Nanotechnology Magazine, Vol.6, No.2, pp.20-24, (2012).
- [2] H. Kuriki, et al., Proc. of MicroTAS2013, pp.1173-1175, (2013).