

粒子を迅速にサイズ分離できる新規大流量マイクロチップの開発

電子技術課 高田 耕児
富山大学 長田 拓哉

中央研究所 小幡 勤*1
群馬大学 横堀 武彦

1. はじめに

粒子をサイズによって分離する技術は多くの分野において重要である。その中でも「Deterministic Lateral Displacement」(DLD)の原理を用いたマイクロ流体チップによる分離法は、目詰まりを防いで連続的に粒子(数百 nm ～数十 μm)をサイズ分離できる方法として注目されている。

この方法の応用可能分野は多岐にわたり、医薬品・化粧品分野では有効成分を含む粒子やエマルションのサイズによる分級等に用いることができる。医療分野では、標的細胞の分離等に用いることができる。将来的に処理量の問題を解決できれば、種々の機能性材料(セラミックス粒子、金属粒子、樹脂粒子、顔料粒子等)の分級にも用いることができる可能性がある。

私たちは、これまで流路構造(柱間のギャップ、柱のシフト量、柱の高さ等)や緩衝液(増粘剤の添加等)について多くの検討を行うことにより、標的細胞と血液細胞との分離性能、標的細胞の回収率の両面で優れた性能を示すチップを開発することができた²⁾。しかし、このチップは処理スピードが遅く(0.1mL/min.)、多サンプルを処理する場合や大量のサンプルを処理する場合(希少粒子の回収・工学的用途の粒子分級)に時間がかかりすぎるため、本研究において迅速なサイズ分離ができるチップの開発を行った。

2. 大流量チップの試作と評価

粒子を迅速にサイズ分離できるマイクロ流体チップを開発し、ビーズや細胞などの粒子を用いてその性能を評価した。

2.1 大流量チップの試作

大流量化するために流路をチップ内で並列化したチップの開発を行った。図1 上段は流路を10本並列化したチップの図であり、中段は実際に作製したチップ(流路とフタを貼り合わせたもの)の写真、下段はマイクロ流路の電子顕微鏡写真である。微細な円柱が40,000個林立したチップであるが、問題なく成形することができた。入口は1つであり、出口はフタ側にも流路を作ることにより2つにまとめた。フタは中フタと外フタの2種(図2)を設計して組み合わせた。また図3に示すようにマイクロ流体チップに送液チューブを繋ぐためのチップホルダも新たに開発した。

2.2 大流量チップへの送液実験

試作した大流量チップを用いて、ビーズの分離・回

収実験を行った。ビーズ(Megabead NIST Traceable Particle Size Standard)は直径15 μm のものを用い、シリンジポンプにより流速4mL/min(従来のチップの20倍の流量)で送液した。回収液と廃棄液(図1の上段参照)を採取した結果を図4に、ビーズ数を計測した結果

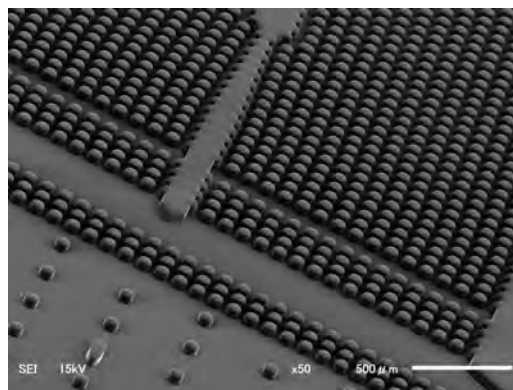
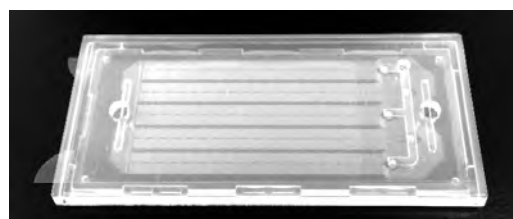
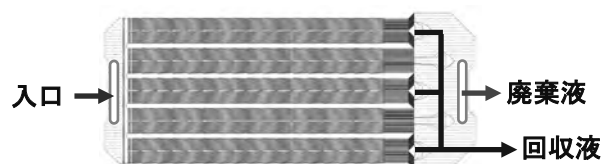


図1 大流量チップの構造(上段)、
試作したチップの写真(中段)、流路のSEM像(下段)

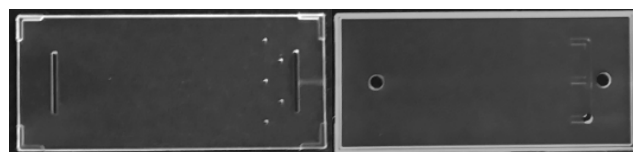


図2 中フタ(左)と外フタ(右)

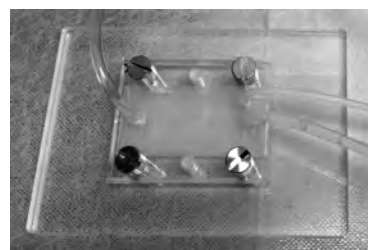


図3 チップホルダ

*1 現 商工企画課

を表 1 に示す。回収液のビーズ数 218 個に対して、廃棄液のビーズ数 2 個であり、99.1%のビーズを回収することができ、十分な性能を持つことを確認した。

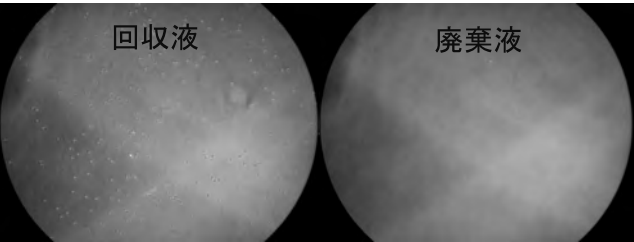


図 4 ビーズ分離実験(左が回収液、右が廃棄液)

表 1 ビーズ数計測結果

	回収液	廃棄液
ビーズ数 (割合)	218 個 (99.1%)	2 個 (0.9%)

次に、チューブポンプによる送液系(図 5 に示す)により標的細胞が分離できるかを検討した。チューブポンプは連続的に大量の送液が可能であるが、脈動(周期的な圧力変化)があるため粒子分離性能に与える影響の評価が必要である。標的細胞として VX2 ウサギ扁平上皮癌細胞株(東北大学加齢医学研究所医用細胞資源センター)を用いた。

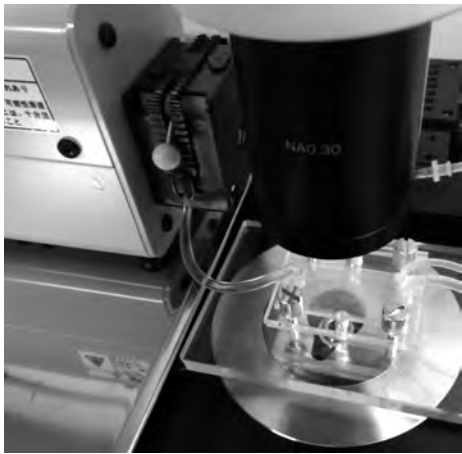


図 5 チューブポンプによる送液系

キーワード：マイクロ流体デバイス、DLD、サイズ分離

Development of High-Throughput Microfluidic Device for Rapid Particle Separation

Machinery & Electronics Research Institute; Koji TAKATA, Central Research Institute; Tsutomu OBATA
University of Toyama ; Takuya NAGATA, Gunma University ; Takehiko YOKOBORI

The method to separate particles by size has a potential to be used in many application such as cell separation, functional particle separation, etc. In this study, we developed microfluidic devices which could be used for high-throughput size-based particle separation. We carried out separation tests using beads and cell line, and showed that these particles were rapidly and successfully separated by our microfluidic chips.

チューブポンプにより標的細胞を大流量チップに流し、回収液と廃棄液の標的細胞数を調べたところ図 6 に示すように、ほぼすべての細胞を回収することができた。

これらのことから試作した大流量チップは従来の 20 倍程度の流量で処理でき、かつ高い粒子分離性能を持つことが分かった。

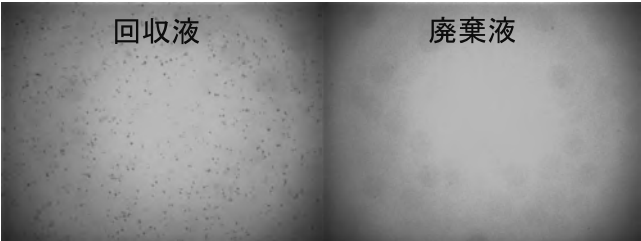


図 6 細胞分離実験(左が回収液、右が廃棄液)

今後の課題としては、まず長時間サンプルを流した場合にチップから液が漏れることがあったので、チップホルダ等を改良してこの問題を解決すること、実用化を見据えてユーザーが扱いやすいシステムを構築すること、サイズの異なる粒子にも対応できるようにサイズ分離のしきい値を変更したチップを試作し、その性能を評価することなどがあり、今後検討していく。

3. まとめ

粒子を迅速にサイズ分離するための大流量マイクロ流体チップを試作し、微細な円柱が約 40,000 個林立したチップを作製することができた。また、ビーズや細胞の送液実験によりその性能を評価したところ、これまでの 20 倍程度の流量で処理でき、かつ高い粒子分離性能を持つことが分かった。

参考文献

- 1)Huang *et al.*Science **304**, 987 (2004)
- 2)特願 2016-77717 「細胞を分離する方法及び装置」