

μ -TAS(マイクロタス)に関する研究 (第2報)

浅野 健治* 小泉 洋人* 加藤 健** 谷萩 雄一朗*

1. はじめに

環境管理や健康増進の分野で、簡単に検査ができる簡易な分析機器が望まれており、マイクロチップ等のデバイスが注目されている。そのようなデバイスに送液、混合(分離)、検出などをチップ上で行う μ -TAS(マイクロタス)がある。 μ -TASに必要なセンサチップや微小流路を作製し、実験を行った。

平成17年度は、チップによる検出例として精神的疲労物質といわれるセロトニンの検出実験、マイクロプラストを用いた微小流路作製実験、PDMS流路の作製と送液・検出実験を行ったので報告する。

2. セロトニン検出実験

2.1 電極

チップ上に参照極(Ag/AgCl)、対極(Pt)を配置した¹²⁾。Ptの作用極表面にカーボンペーストを塗布してカーボン電極を作製した(図1)。

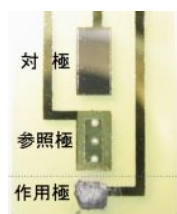


図1 作製した電極

2.2 CV測定

作製したカーボン電極チップを用いセロトニンの検出実験を行った。まず、印可電位を決定するためにCV測定をおこなった。電気化学測定装置を用い、作用極～参照極に $-600\text{mV} \sim +800\text{mV}$ を 100mV/sec で印加、溶液は 0.1M リン酸バッファ(pH7.4)を 20mL とし、スターラでゆっくりと攪拌した(図2)。そこへセロトニンを終濃度 $3.0\mu\text{M}$ になるよう滴下し変化を測定した。



図2 実験の様子

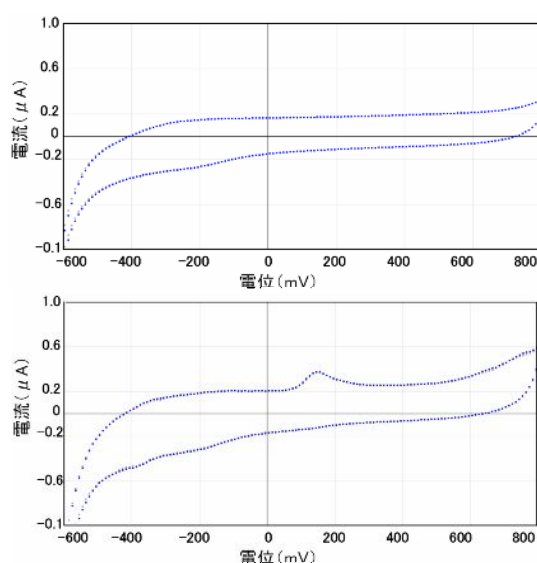


図3 CV測定の結果(上: バッファ 下: セロトニン)

その結果、バッファのみの場合(図3上)では現れないピークが、セロトニン滴下後(図3下)には $+160\text{mV}$ において検出電流の増大が認められた(図3)。

2.3 検出実験

CV測定の結果より、同様の実験系において印可電位を $+160\text{mV}$ にしてセロトニンの検出実験を行った³⁴⁾。血液中のセロトニン濃度は $50 \sim 200\text{ng/ml}$ といわれ、約 $0.25 \sim 1\mu\text{M}$ 程度となる。そこで終濃度を $0.05 \sim 1.2\mu\text{M}$ となるように、溶液にセロトニンを滴下して測定した。その結果リニアに測定できることが確認できた(図4)。

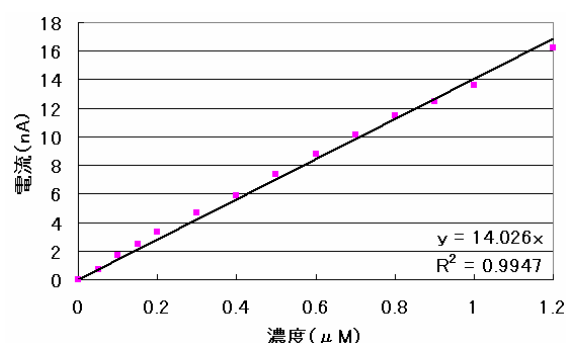


図4 セロトニン検出実験の結果

3. 微小流路作製実験

3.1 マスク作製

ガラス基板に流路を作製するため、マイクロプラストを用いて微小流路作製の基礎実験を行った。まず、ガラス基板にレジストフィルムを貼り、マスクアライナでマスクパターン(流路幅 $800\mu\text{m}$)を露光、 0.3% 炭酸ナトリウム水溶液で現像した(図5)。転写するパターンはパソコンのソフトウェアで作製し、OHPフィルムにインクジェットプリンタで印刷した。

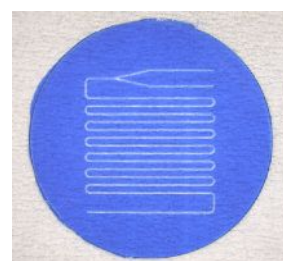


図5 作製したパターン

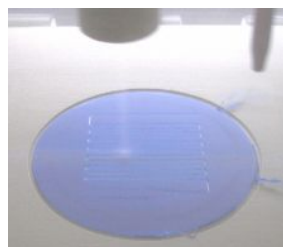


図6 加工実験の様子

3.2 加工実験

その後、マイクロプラストでアルミナ粉末 $\#1200$ を研磨材として吹き付け、微小流路を加工した(図6)。加工した微小流路の形状をマイクロ스코プおよび表面粗さ計で評価した。

その結果、流路幅は $800\mu\text{m}$ 、深さ $165\mu\text{m}$ 、チップング量 $30\mu\text{m}$ (最大)、加工面粗さ $\text{Ra}0.56\mu\text{m}$ で加工できた(図7)。

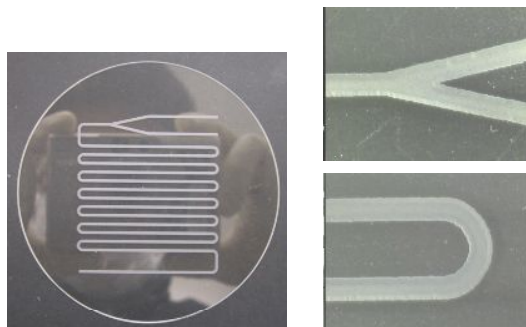


図7 加工した流路(左:全体 右上:Y字部分 右下:U字部分)

4. PDMS 流路による検出実験

4.1 PDMS 流路の作製

流路を作製する方法に、PDMS を用いる方法がある。PDMS で流路を作製して送液・検出実験を行った。

まず、厚膜レジスト(SU-8)を用いて流路の型を作製した。ガラス基板に SU-8 をスピンコートし乾燥させた。これにマスクアライナで流路のパターンを露光し、ベーキングした後に現像した。次に、SU-8 で作製した型を用いて PDMS の流路を作製する。アルミ箔で作った枠の中に SU-8 の型を置き、その上から本剤と硬化剤を 10:1 でよく混ぜた PDMS を流し込んだ。冷蔵庫で気泡を除去し、バークして硬化させた。これにより、幅 0.5mm × 深さ 0.3mm の流路を作製した(図8)。

4.2 送液実験

作製した PDMS 流路を用いて送液・検出実験を行った。

シリコンチューブを取りつけた流路に、マイクロポンプを用いて 0.1M リン酸バッファ(pH7.4)を流量 0~1mL/min まで変化させて送液した。その結果、いずれの流量でも問題なく送液可能であることが確認できた。

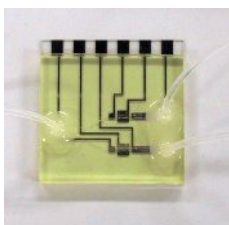


図8 作製した PDMS 流路と電極チップ

4.3 CV 測定

次に、流路を用いた検出実験を行った。0.1M リン酸バッファ(pH7.4)を流量 3 μ L/min で送液し、電気化学測定装置を用いて作用極~参照極に -600mV~+800mV を 100mV/sec で印加して CV 測定をおこなった。電極は、作用極(Pt)、参照極(Ag/AgCl)、対極(Pt)を配置しチップを試作した(図9)。

その結果、Pt 電極特有の形状が観測され(図9)、微小流路において微量な送液量でもきちんと検出が可能であることが確認できた。

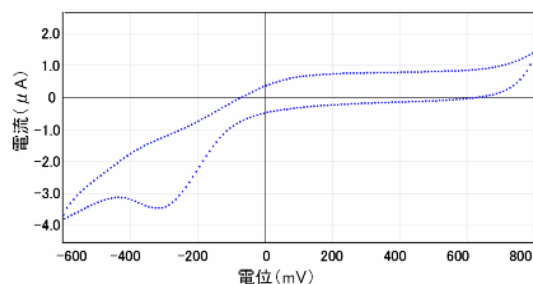


図9 CV測定の結果

5. まとめ

μ -TAS に必要なセンサチップや流路を MEMS 技術により作製し評価実験を行った。試作したセンサチップで血液中セロトニン濃度に対応した検出が可能であることを確認した。マイクロブラストによりガラス基板に試作した流路の形状について表面粗さなどを測定した。PDMS 流路を作製し、送液実験や検出実験を行い、幅広い流量で送液できることや電気化学測定が可能であることを確認した。

これまでの研究で、微小電極を作製する技術やシリコン樹脂流路、ガラス基板に微小流路を作製する技術などを確立してきた。今後は、これらを1つに組み合わせたチップを作製して送液実験や検出実験の実施、流体シミュレーションなども行っていく予定である。

参考文献

- [1] Y.Matsugi, H.Suzuki : Microfabrication Air-Gap Ammonia Gas-Sensor Electrode and its Application to an Integrated Biosensing System, PROCEEDINGS OF THE 20TH SENSOR SYMPOSIUM, pp.85-90 (2003)
- [2] F.Mizutani: Application of enzyme-modified electrodes to biosensors (Review), BUNSEKIKAGAKU vol. 48, No. 9, pp. 809-822(1999)
- [3] Brad P.Jackson, Susanne M.Dietz, and R.Mark Wightman : Fast-Scan Cyclic Voltanmetry of 5-Hydroxytryptamine, Anal.Chem. vol.67 pp.1115-1120 (1995)
- [4] Karin Pihel, Showchien Hsieh, James W.Jorgenson, and R.Mark Wightman : Elecrtro chemical Detection of Histamine and 5-Hydroxytryptamine at Isolated Mast Cell, Anal.Chem. vol.67 pp.4514-4521 (1995)