

流路チップを用いた抗体探索システムの開発

機械システム課 鍋澤浩文* 機械電子研究所 藤城敏史

エスシーワールド㈱、富山大学、名古屋大学、千葉大学、立山科学工業㈱、㈱スギノマシン

1. 緒言

副作用のないヒト由来の抗体や、エイズやインフルエンザといった刻々と形態を変化するウイルスに対応するための抗体を、迅速且つ正確に作製するシステムの構築を目指し、特異的なリンパ球の検出・回収から抗体タンパク質の合成・結合能評価までわずか2日間で行う抗体探索システムを産学官の共同で推進している。わずかに存在する特異的なリンパ球から、効率よくこれら一連の操作を行うためには、微量液滴の操作に適した流路チップ上で行うことが望ましい。当センターは、千葉大学、立山科学工業㈱と共同で、微小流路チップの設計、試作を担当したので、それについて報告する。

2. 実験結果

2-1 流路チップの設計

フローシステム上で高速抗体探索に必要な一連の反応、すなわち mRNA の逆転写、DNA 増幅、In vitro タンパク合成、ELISA 反応を行うための高機能型流路チップの詳細設計を行った。設計した流路チップサイズは、70 mm×70 mm であり、チップ両サイドに液体・気体の配管インターフェースを纏めて設置するため、流路デザインは、63 mm×58 mm の範囲で行った。設計の際に、マイクロ流路内での操作性を高めるために、PCR、ELISA の試薬量については、標準プロトコールの 5-15%、c-DNA 合成は 25%、タンパク合成は 10% で設計した。反応流路の深さは、機能に応じて 100 μm-1000 μm と幅広く変化させ、特に ELISA 検出チャンバーは、感度を考慮して深く (1 mm) 設計した。今回の設計では、バルブ操作空気流路と試薬流路を異なる部材に加工を施し、それらの間に PDMS メンブレンを挟む構造とした。今後も、各反応要素の機能検証を行う中で、流路デザインの変更は考えられるが、全体サイズ、温度制御部位、コネクションポートの配置などは、現状で固定する予定である。

2-2 流路チップ試作

フローシステムで最も重要な要素技術となるバルブについては、2枚のプラスチック平板に PDMS メンブレンを挟み込む 3 層構造を提案した。メンブレンの駆動には負圧バルブを採用し、バルブ開放時に負圧を印加する方式とした。その際、プラスチック平板と PDMS メンブレンを接合するための表面処理を施し、実用に耐えうる接合強度を得ることができた。一方、メンブレンのバルブ作動領域の接着を避けるために、局所的に接着を防止する手法を考案した。これらの基礎実験を踏まえ、バルブ動作確認用デバイスを試作し、PCR に必要な 95°C の加温状態下でも、バルブ機能が保持されることを確認した。次に、このバルブを用いた液体秤取、PCR 並びに ELISA 機能検証用デバイスを試作した。液体秤取デバイスでは、マイクロリットルレベルの微量液体が設計通り秤取・排出できることを確認した。PCR 機能確認用デバイスのモデル反応としては、プラスミド pUC18 上の 122 bp の領域とし、SYBR Green I の蛍光増大を指標に DNA 増幅を確認した。ELISA 検証用デバイスでは、色素水溶液をモデルに液滴操作の定量性、再現性を確認した。上記を含め、液滴操作機能全 96 ステップの内、30 ステップを現段階で確認しており、残りについても、確認作業を継続中である。

3. 結言

流路チップの課題であった液漏れや蒸発のない負圧バルブについて、新しい作製プロセスを開発し、これを用いて PCR や ELISA 等のデバイスに応用することができた。次年度は、個々の単位 (反応) ステップについて、実用的な観点での機能、性能及び精度について、評価と改良を行い、最終的には、一連の単位ステップを連続して行う抗体探索システムの構築を目指す予定である。本研究は、地域イノベーション創出研究開発事業「流体チップを用いた抗体探索システムの開発」の成果である。