

# 流路チップを用いた抗体探索システムの開発

加工技術課 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

特異的リンパ球の検出・回収から抗体タンパク質の合成・結合能評価までを2日以内で行う抗体探索システムの開発を、産学官の共同で推進している。わずかに存在する特異的リンパ球から、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と考えられ、当センターは、千葉大学、立山科学工業㈱と共同で、微小流路チップの試作、評価を担当したので、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

昨年度は、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を設計し、基本的なチップ構造や入出力インターフェイスなどについて方針を固めることができた。しかし、チップの評価を行う中で、液の秤取構造における液押し出しの不均一や逆流、負圧バルブにおける漏れや蒸発などの現象が見られることもあり、これらについて詳細設計の変更を行った。具体的には、秤取構造の流路の幅や深さ、本数と負圧バルブの堰の構造について見直しを行った。

### 2.2 流路チップの試作

生産効率の高いチップ製作を行うために、昨年度のチップ製造フローの見直しを行った。昨年度は、プラスチック平板上に機能膜を形成した後、マイクロ流路の機械加工を行っていたが、この手順は、流路近傍の機能膜が破壊され、試薬の蒸発やリークを発生させることがわかった。そこで、マイクロ流路を加工した後に機能膜を形成し、更に流路内を化学処理する手順を考案した。次に、負圧バルブの堰に形成する膜及び膜の形成法について検討を行った。負圧バルブの材質は、接触角測定から金が望ましく、成膜手法としては、プラスチック平板への輻射熱の少ない電子ビーム蒸着が適していた。また、PDMSの代替材料として、市販の

シリコンフィルムを用いる作成手法について検討した。大面積のPDMSフィルムは、シリコン基板上へのスピニングによって形成されるが、シリコン基板の再利用が難しく、膜厚が不均一であることからプラスチック平板との接合に不具合が生じることもあった。シリコンフィルムを所定の大きさに切り取り、酸素プラズマ処理を施すことでPDMSと同様のチップ作製行程を利用できることがわかり、負圧バルブの動作についても問題のないことを確認した。さらに、70mm角の2枚のプラスチック平板を精密に位置決めするために、平板の四隅に貫通孔加工を行い、ピンを立てることで、再現性のよい位置決めを行うことができた。

### 2.3 流路チップの評価

試作した流路チップを、抗体探索システムに取り付け、負圧バルブと試薬秤取の動作確認をした後、PCR実験を行った。液温95°CのPCR25サイクル後にDNAの増幅を確認することができた(図1)。

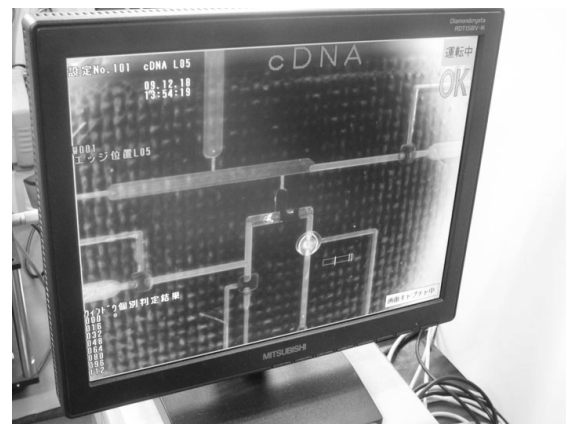


図1 PCR 実験の様

## 3. 結言

高機能型チップの設計から試作・評価までを行い、生産性の高いチップ製造技術について目処を立てることができた。今後は、システムでの評価を繰り返しながら、チップの完成度を高めていく予定である。本研究は、地域イノベーション創出研究開発事業「流路チップを用いた抗体探索システムの開発」の成果である。

※現 富山県新世紀産業機構