

2020.7.29

第4回TIAかけはし 成果報告会



# リキッドバイオプシーへの応用を目指した マイクロ流体濃縮技術の開発

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

センシングシステム研究センター

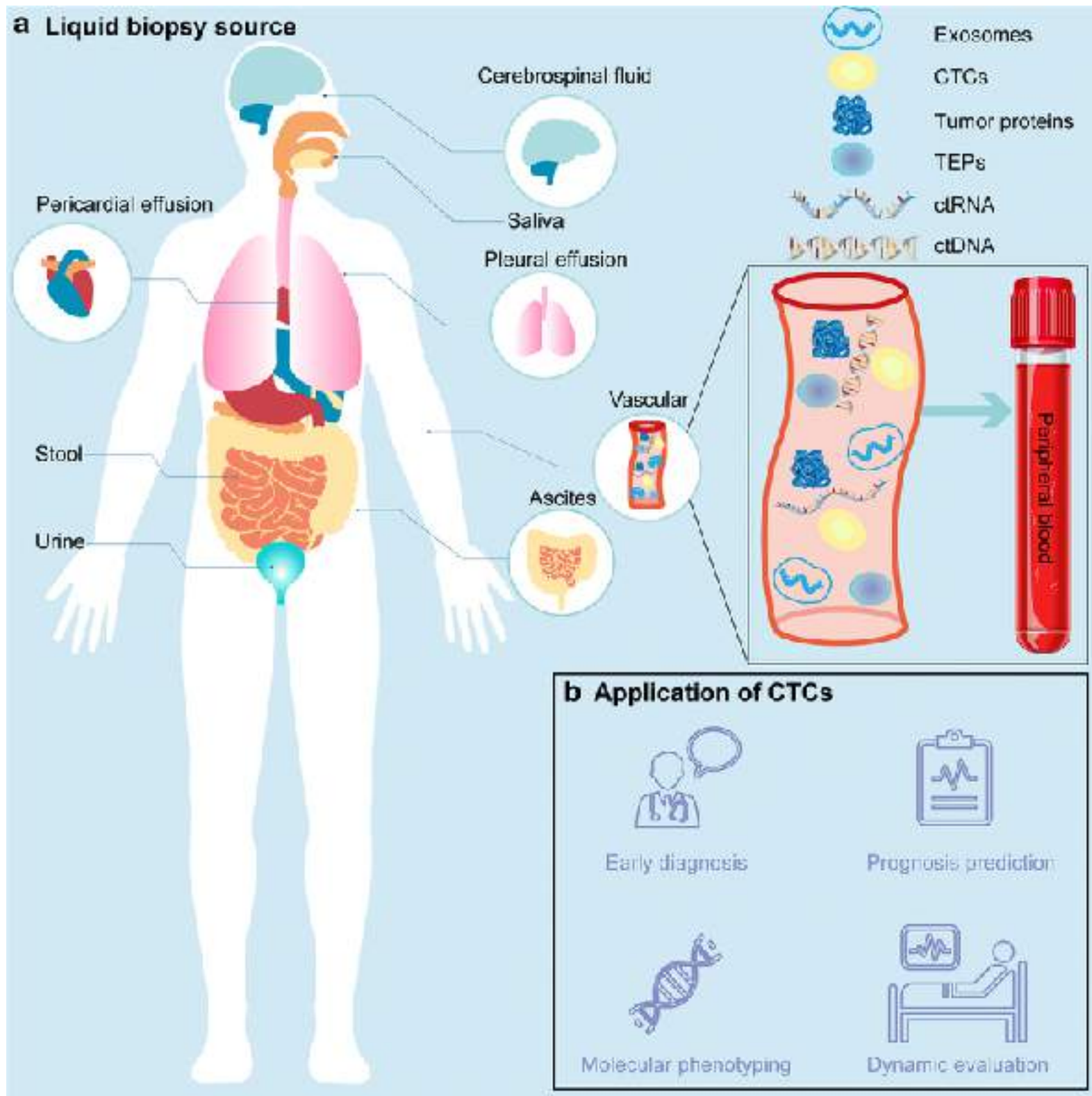
生体情報センシング研究チーム

平間 宏忠

# 概要

1. リキッドバイオプシー
2. マイクロ流体（液滴）濃縮
  - ・ マイクロカプセル内での濃縮
3. 微量液体濃縮：汗中希少成分の高感度検出を目指して
  - ・ マイクロ流路による前濃縮

# リキッドバイオプシー



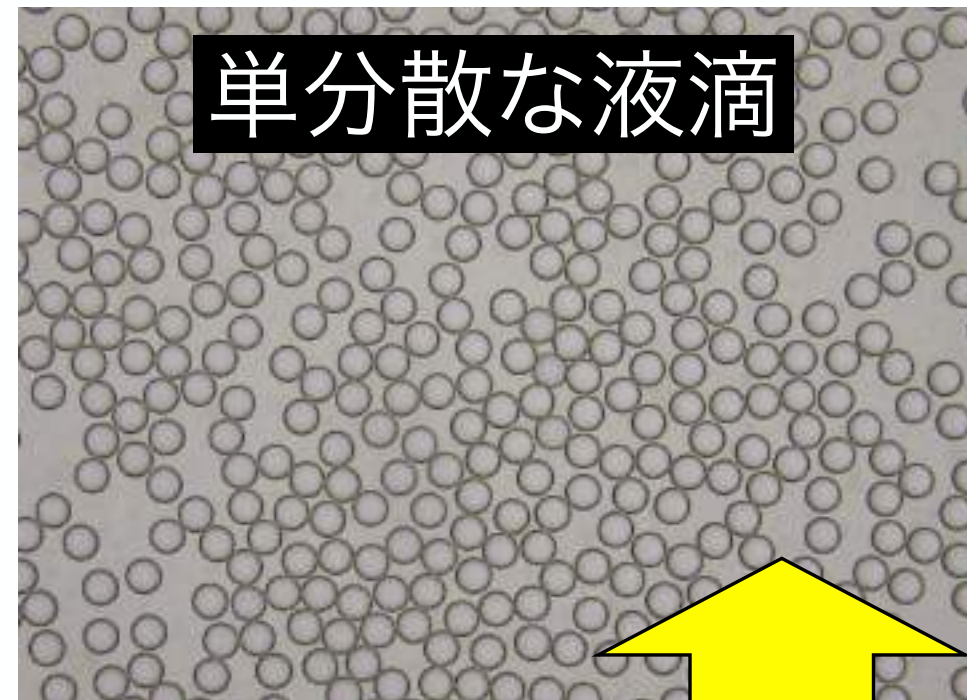
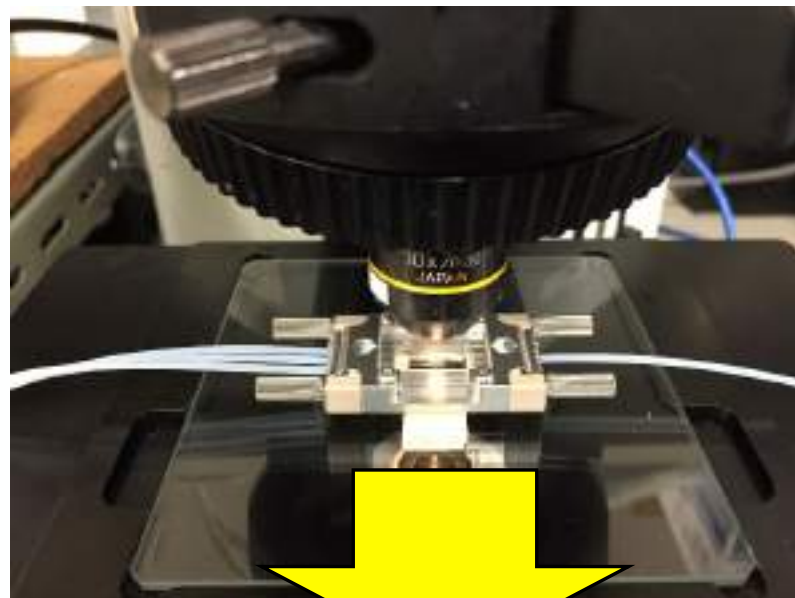
- » 標的物質を含む体液を、体外で回収し診断
- » 低侵襲
- » がん等

## 期待されること

- » 微量体液による測定
- » 微量の標的物質の検出

C. Yang et al., 2019, Cancer Cell International

# マイクロ流路を用いた液滴生成



単分散な液滴



マイクロ流路

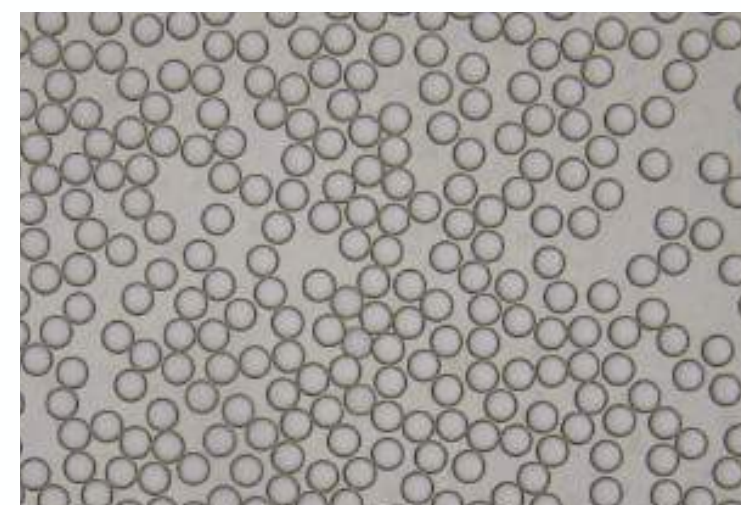
100  $\mu$ m

» 粒子状物質を閉じ込めるカプセルとして利用可能

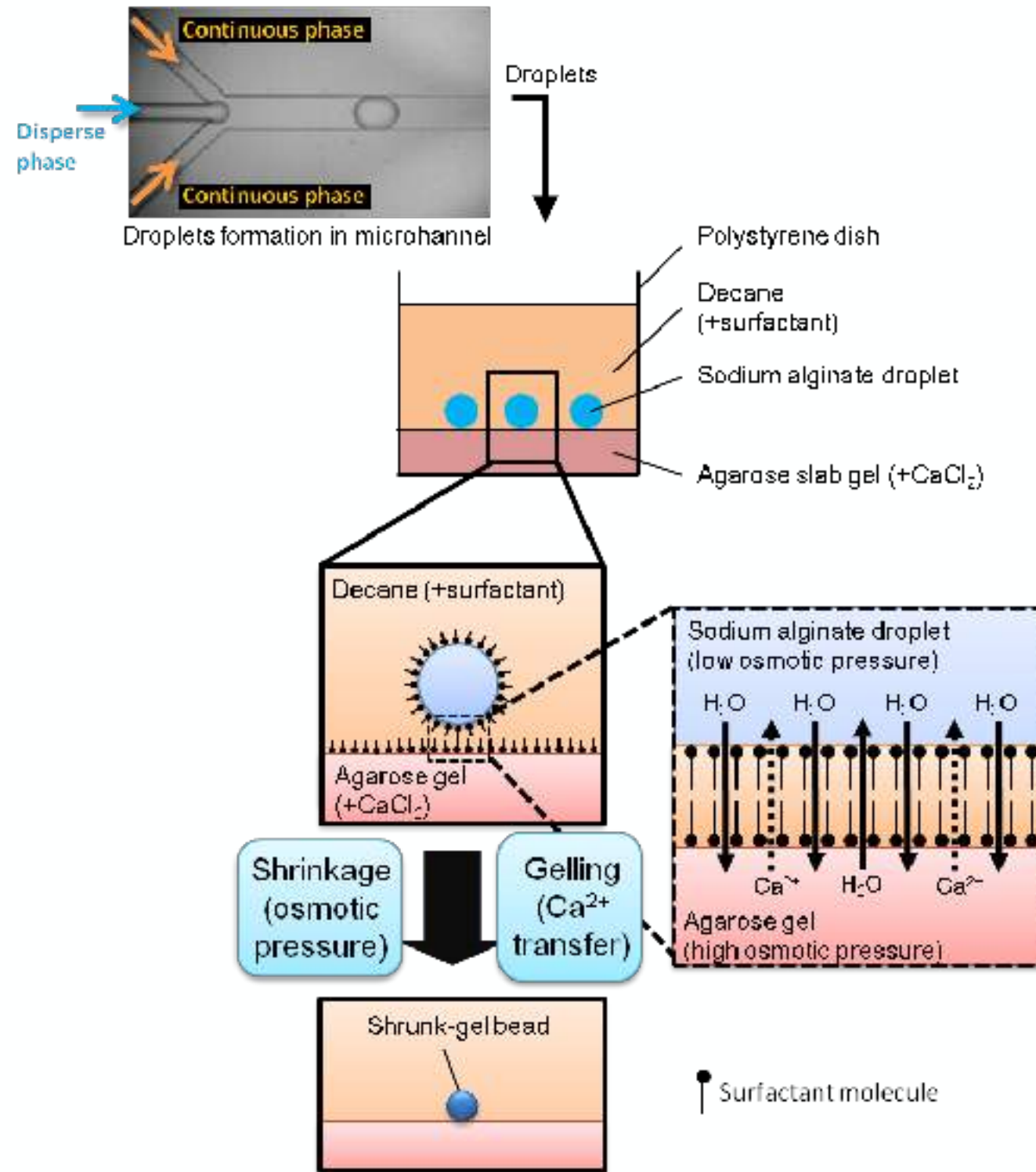


# マイクロ流路を用いて生成した液滴・微粒子の特徴

- ・ 安定・連続的に単分散液滴・微粒子の生成が可能
- ・ 流量を調整することで粒径を精密に制御することが可能  
(十数ミクロンから数ミリ)
- ・ 液滴に各種物質を添加することで、液滴・微粒子に機能性を付与可能
- ・ 応用
  - ・ 薬剤カプセル→スマートな薬剤送達システム
  - ・ 細胞カプセル→細胞分析、細胞移植
  - ・ 無機粒子カプセル→触媒、印刷、ディスプレイ表示材料



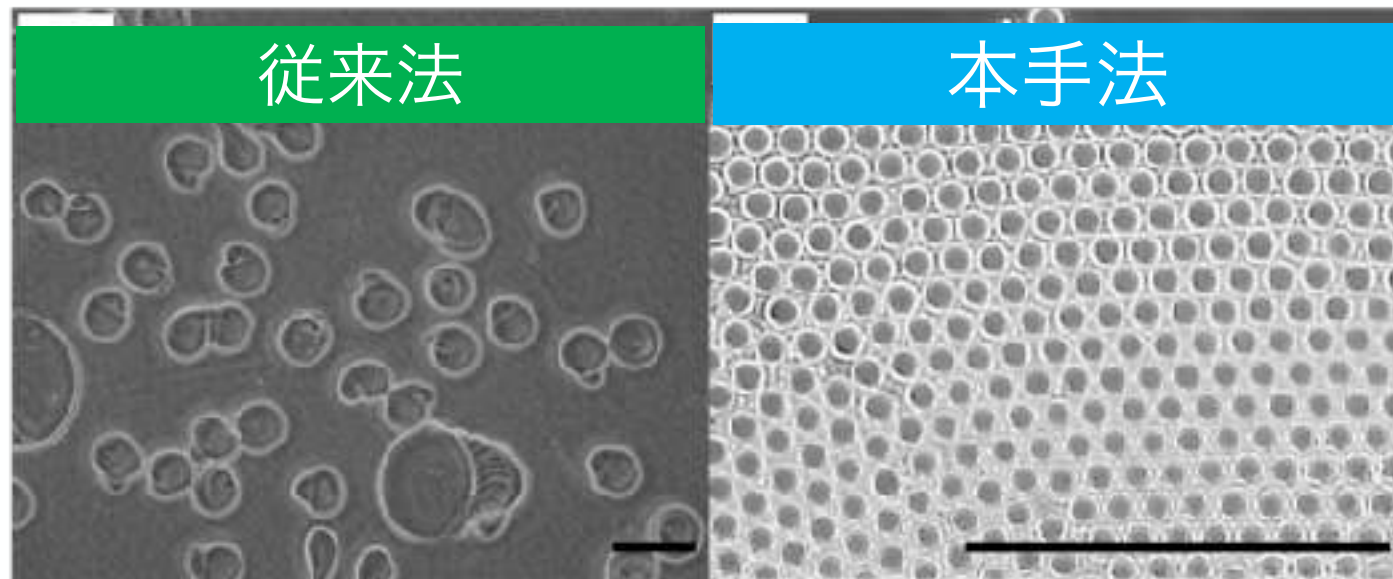
# 液滴の濃縮固化手法



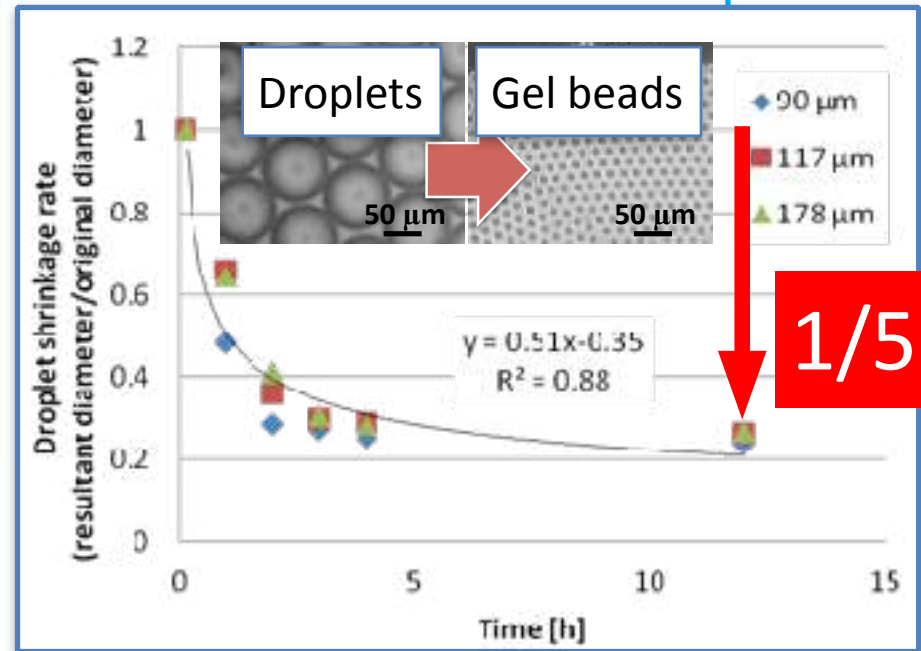
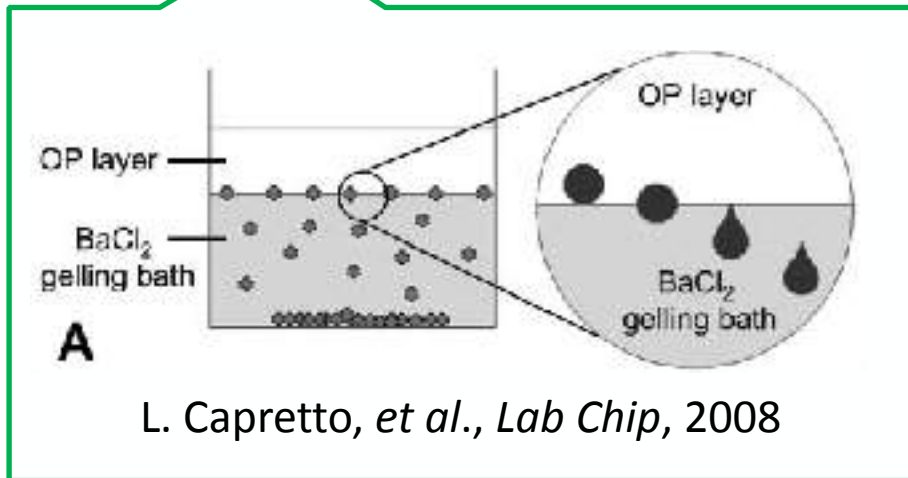
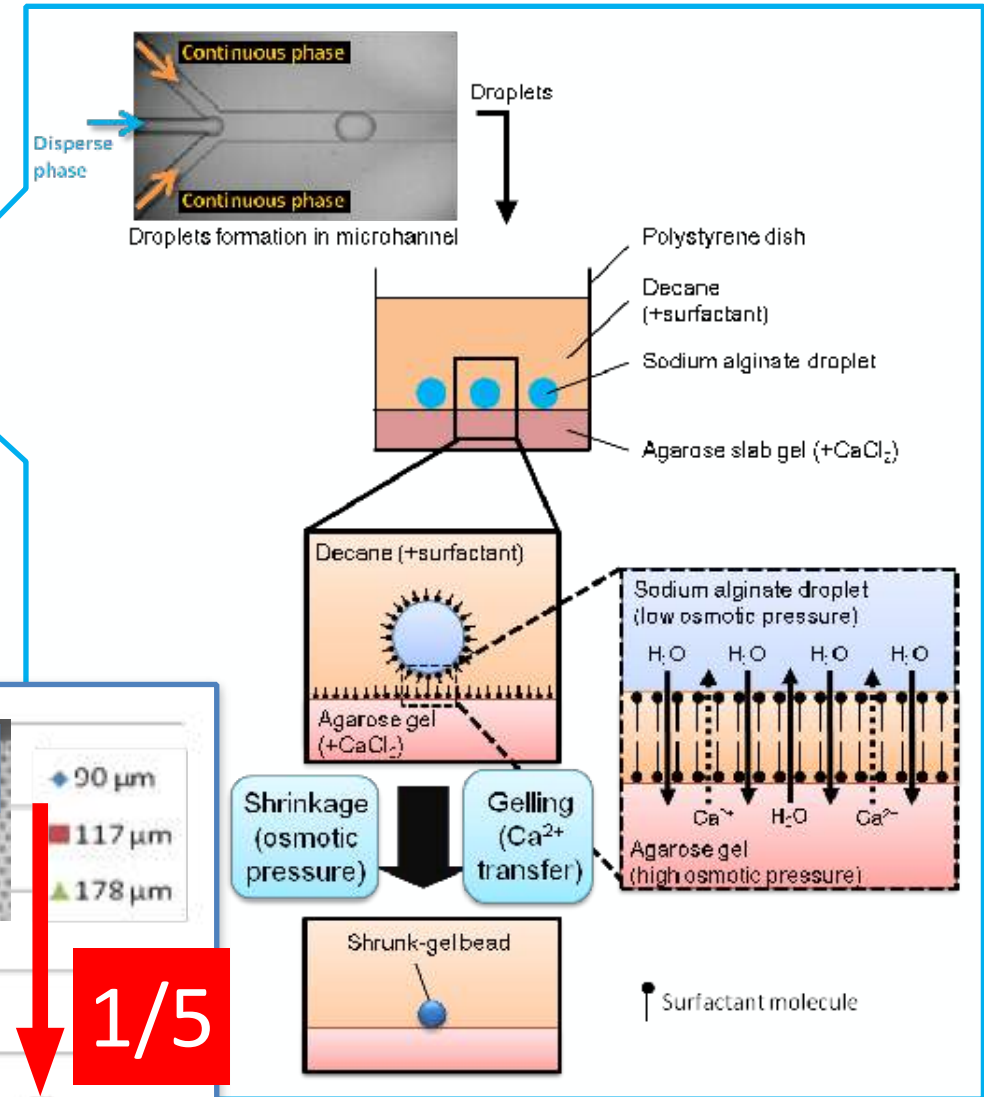
H. Hirama, et al, 2013, Langmuir

» 浸透圧差を利用して、液滴から小さな球形のゲル微粒子を作製

# 液滴の収縮・ゲル化



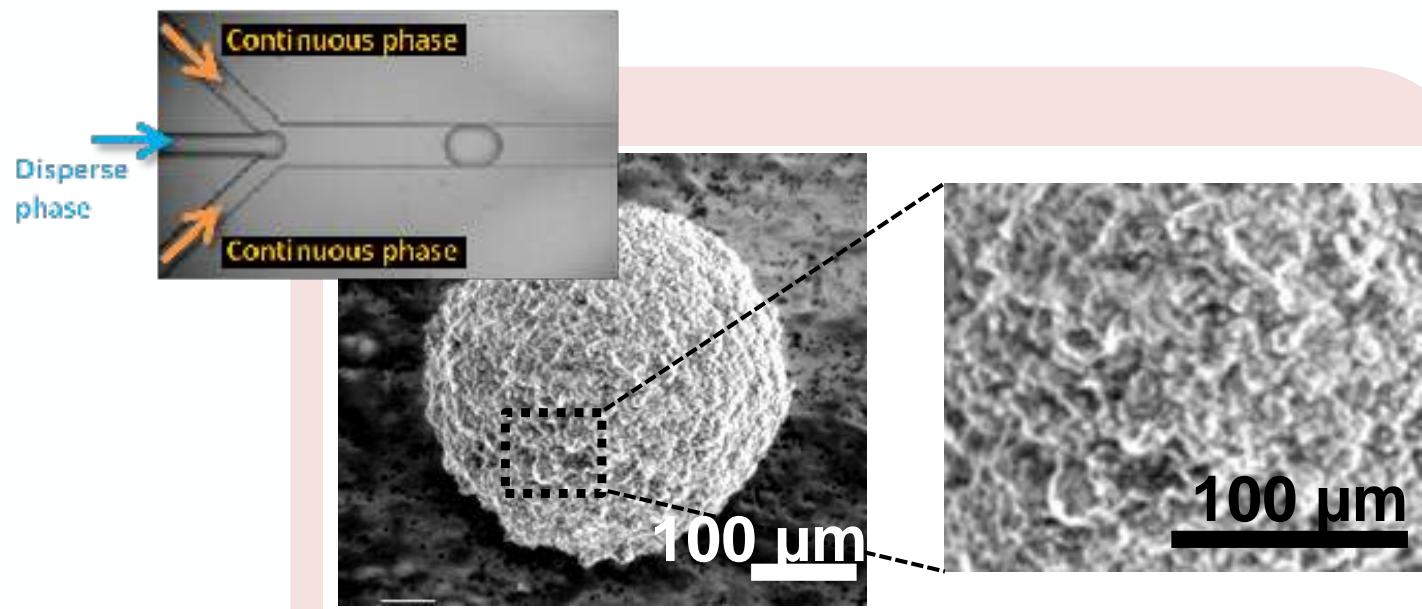
Scale bar: 200  $\mu\text{m}$



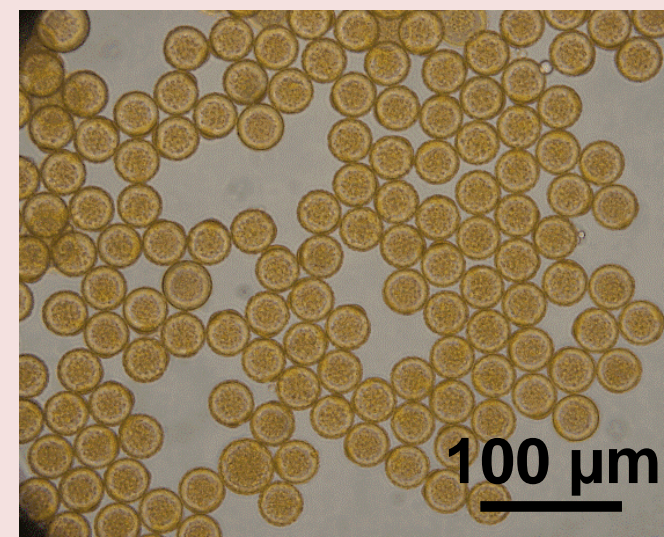
- » 流路サイズよりも微小な球形のゲル微粒子を作製
- » マイクロ流路の欠点である詰まりを回避



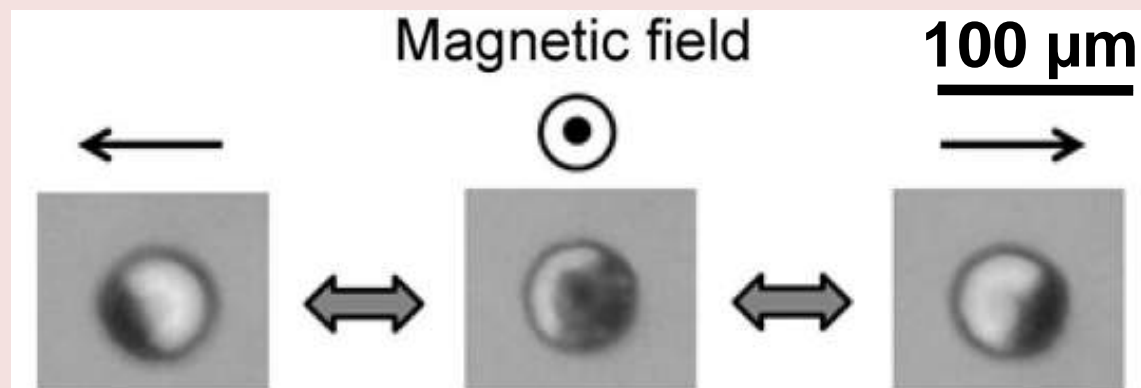
# 液滴の収縮ゲル化を利用したカプセル化



無機微粒子



たんぱく質



磁性ナノ粒子

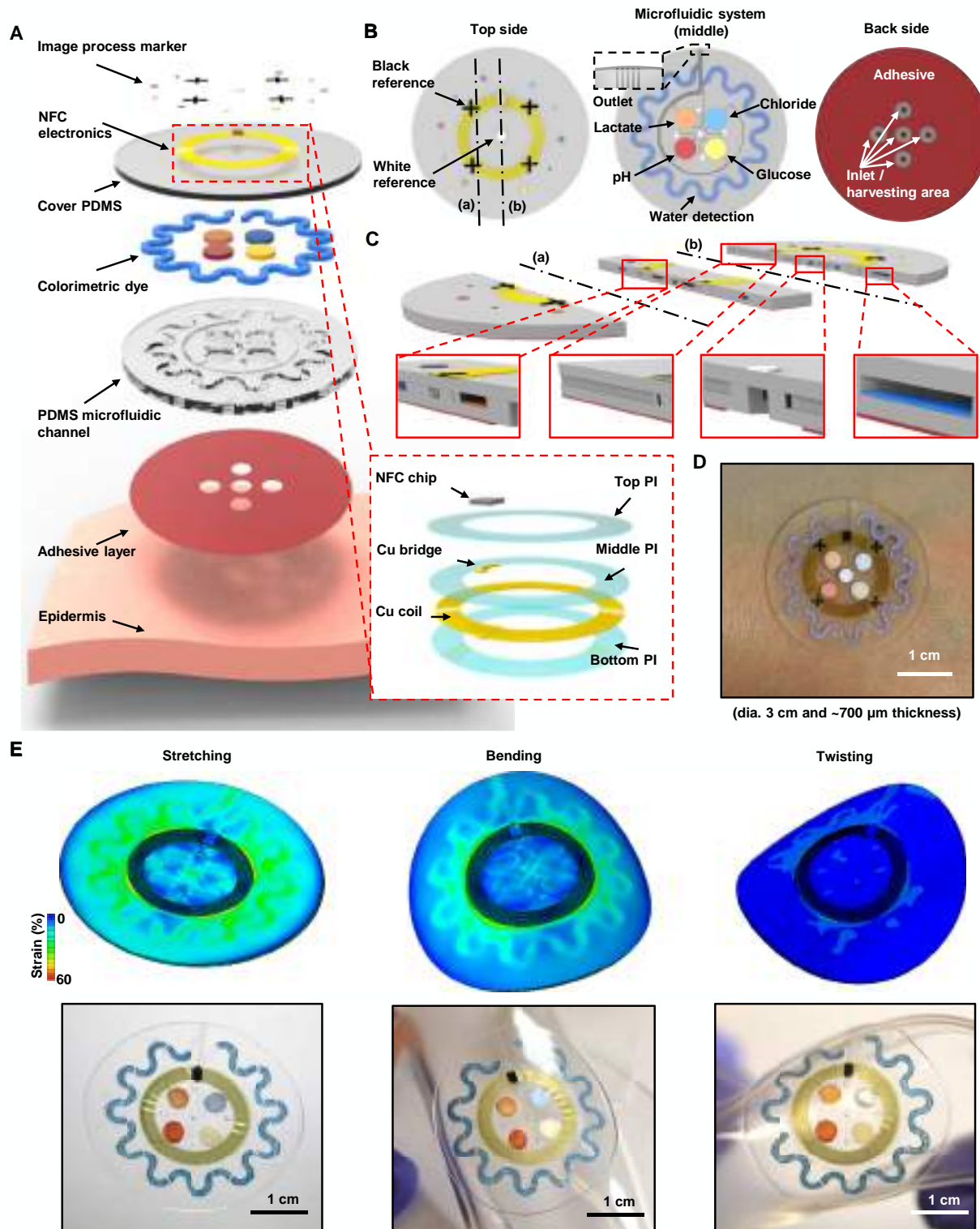
様々な物質を濃縮したカプセルの作製が可能



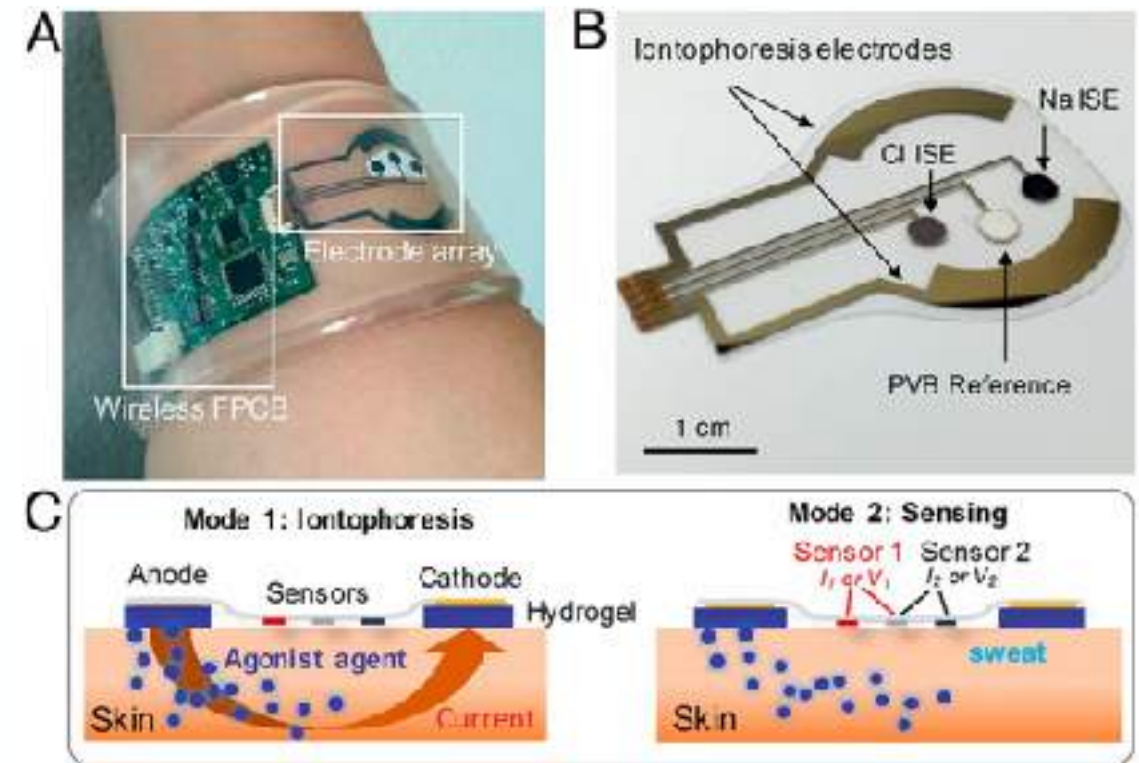
# 概要

1. リキッドバイオプシー
2. マイクロ流体（液滴）濃縮
  - ・ マイクロカプセル内での濃縮
3. 微量液体濃縮：汗中希少成分の高感度検出を目指して
  - ・ マイクロ流路による前濃縮

# 背景



A. Koh, et al, 2016, Sci. Transl. Med.



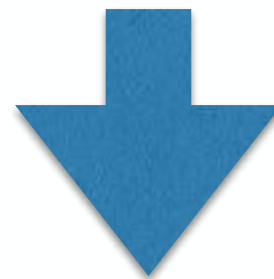
Emaminejad, S. et al, 2017, PNAS

- ・ 汗の成分分析のためのマイクロ流体デバイス開発が盛ん
- ・ 薄く、柔軟、変形
- ・ 発生する汗が体表上で、回収・保持・計測可能

## 課題と目的

従来のマイクロ流路による汗成分センサでは、  
 回収した汗をそのまま測定  
 →汗中の糖のような低濃度成分の計測に不向き

既存のサンプル濃縮用マイクロ流路  
 →飽和蒸気圧までしか濃縮不可  
 →汗の濃縮への適応実績がない

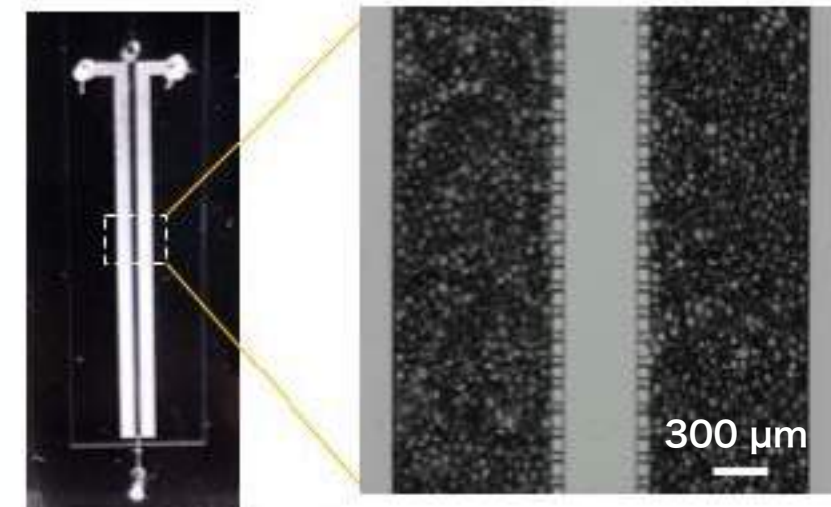
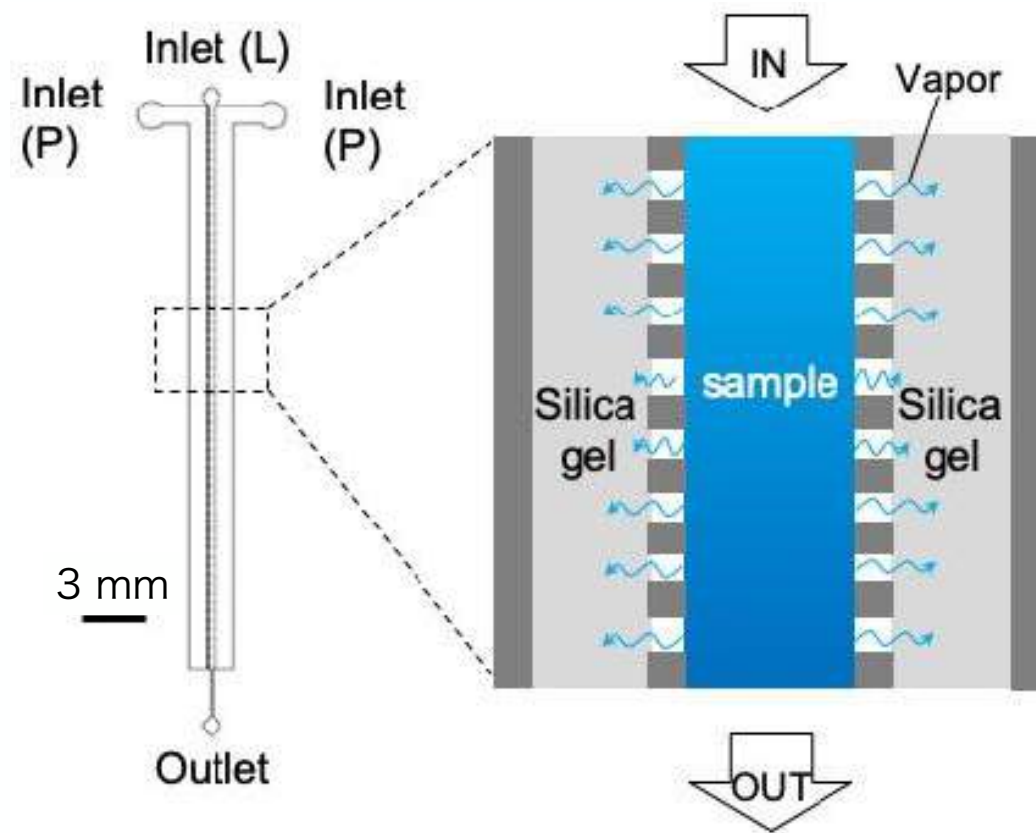


汗を前濃縮 (preconcentration) する  
 マイクロ流体デバイスを開発

汗成分のセンシング感度の向上を目指す

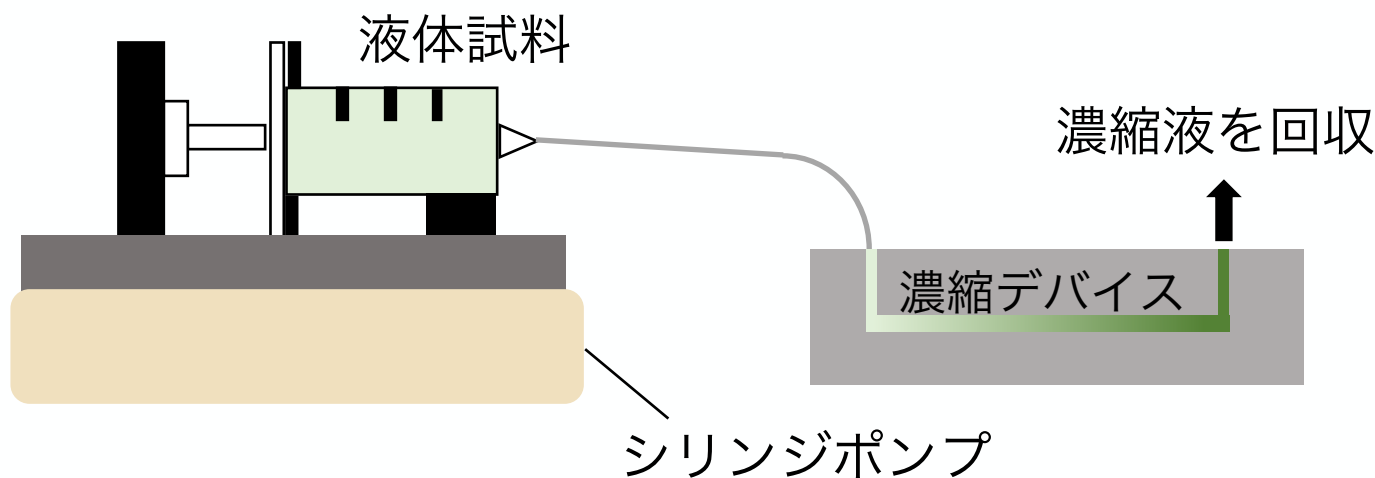
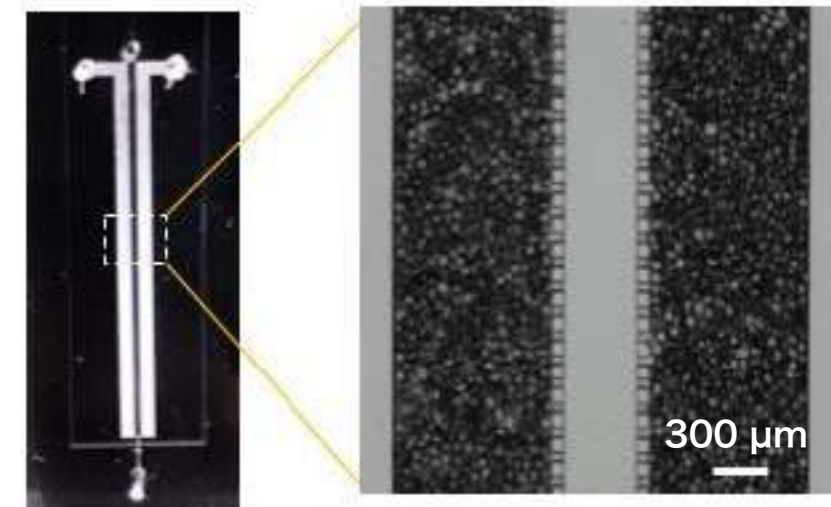
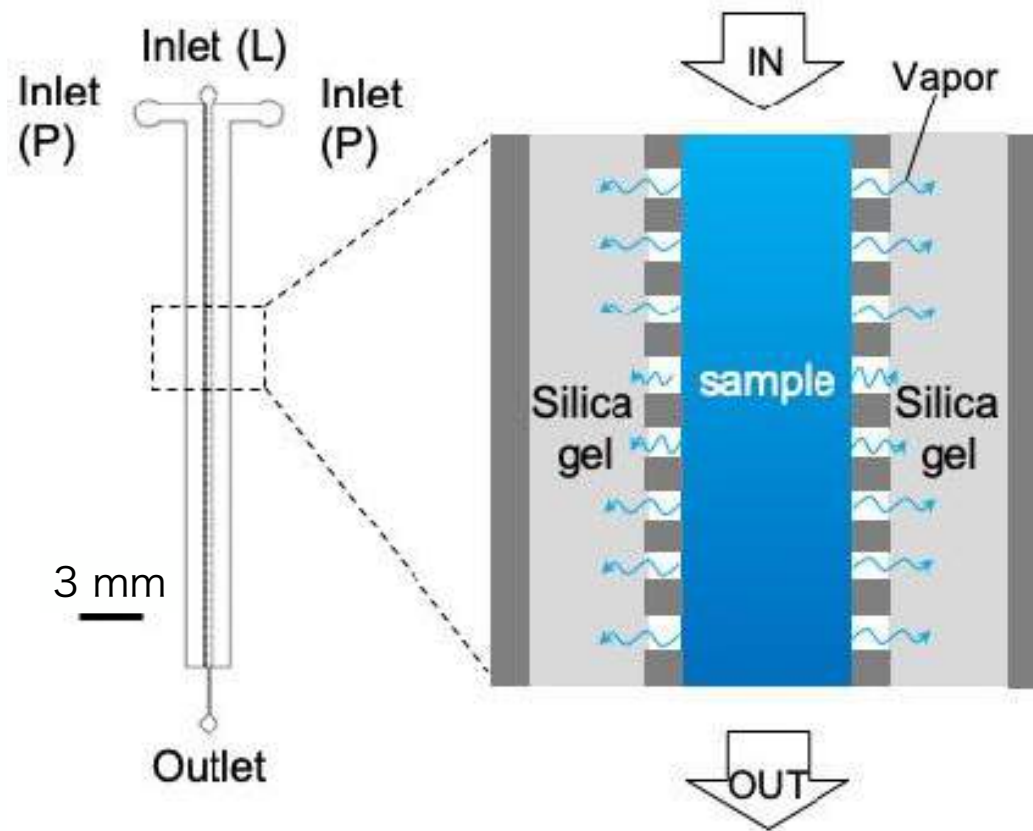


# デバイス作製



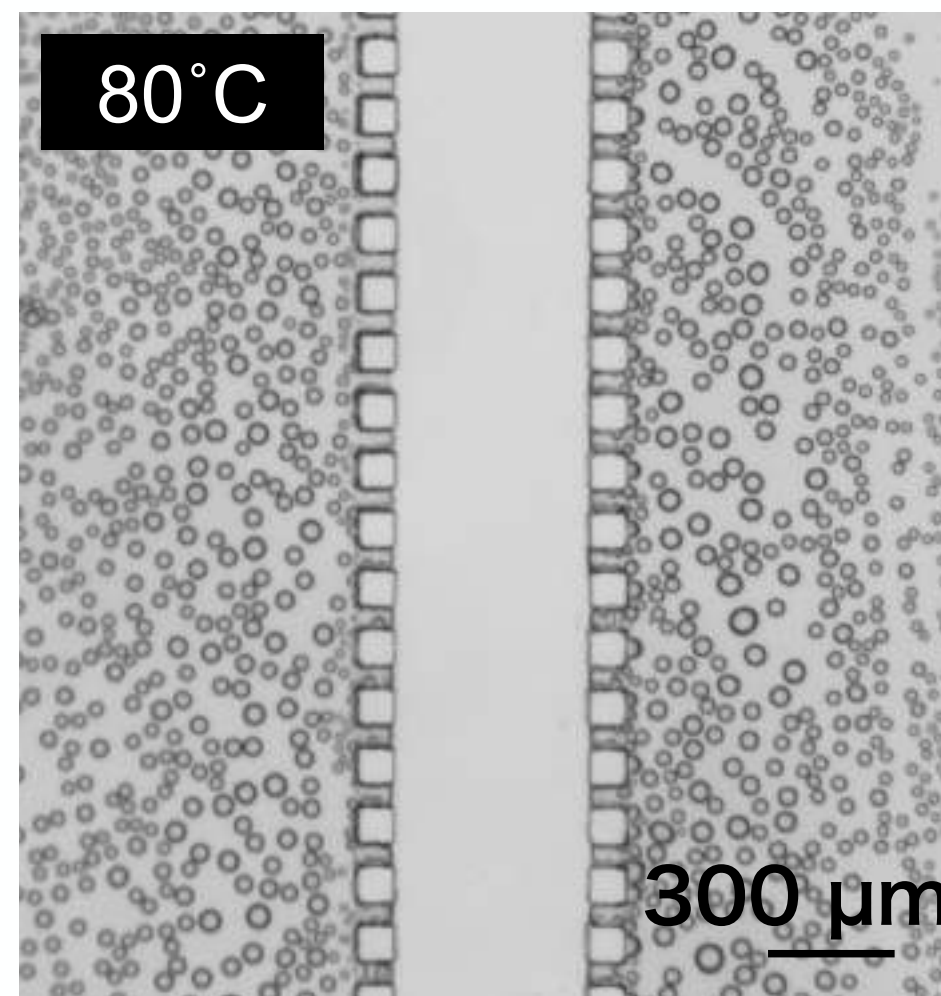
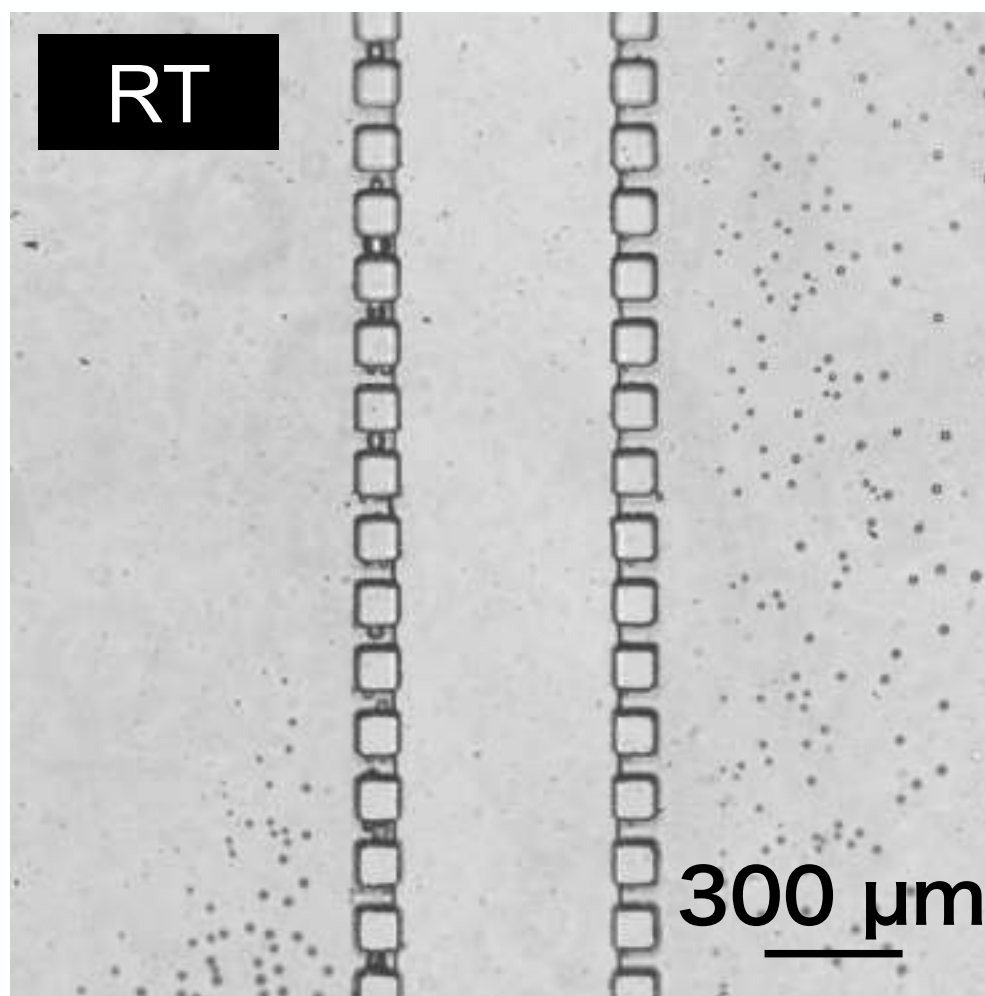
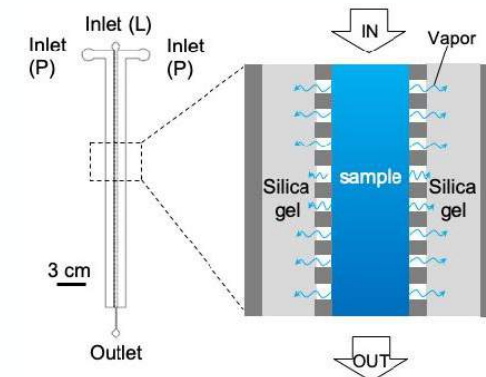
- ・ 微細加工手法（フォトリソグラフィ）と接合手法（酸素プラズマ）により、シリコンゴム製マイクロ流路を作製（深さ：130  $\mu\text{m}$ 、流路間溝：幅40  $\mu\text{m}$ ・ピッチ100  $\mu\text{m}$ ）
- ・ Inlet (P) から、エタノールに懸濁したシリカゲル粒子（粒径45-90  $\mu\text{m}$ ）を導入
- ・ エタノール除去のため、120°C、10分加熱。その後自然冷却

# 試料濃縮方法



- 液体試料
  - \*蛍光色素：ウラニン（汗中成分モデル）
  - リン酸緩衝液+蛍光色素\*
  - 人工汗液+蛍光色素\*
- 一定流量（0.01～0.24 mL/h）で Inlet（L）からサンプル溶液を導入
- 加熱実験では、ホットプレート上にデバイスを設置
- 分光光度計により、濃度を測定

# 濃縮試験 (シリカゲル：無) 追試

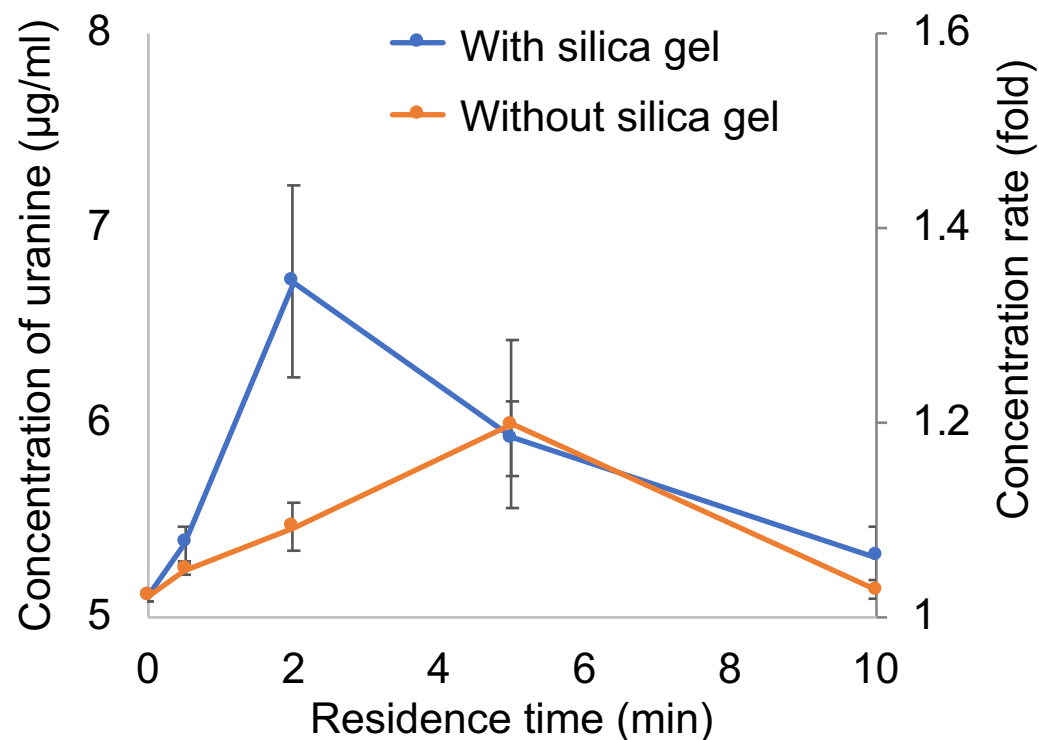


- ・ 既往研究と同様に、加熱した方が、水分移動量（蒸発量）が顕著に増加することを確認

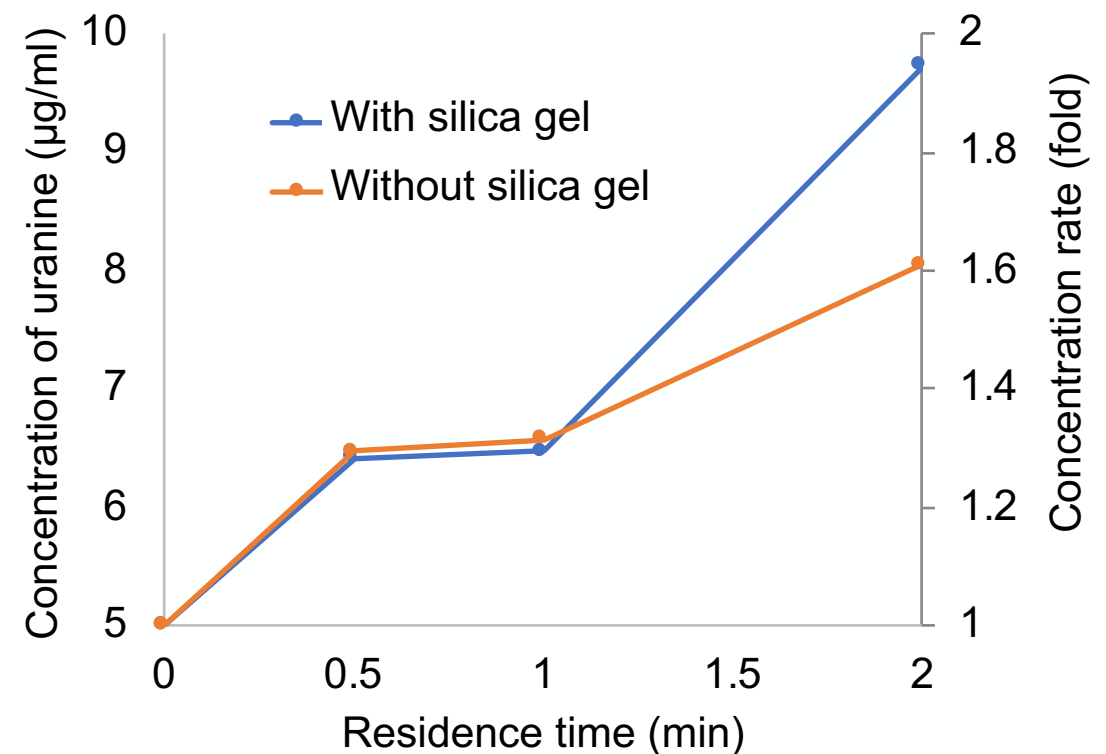


# 濃縮試験 (シリカゲル：有・無)

## RT



## 加熱 (80°C)

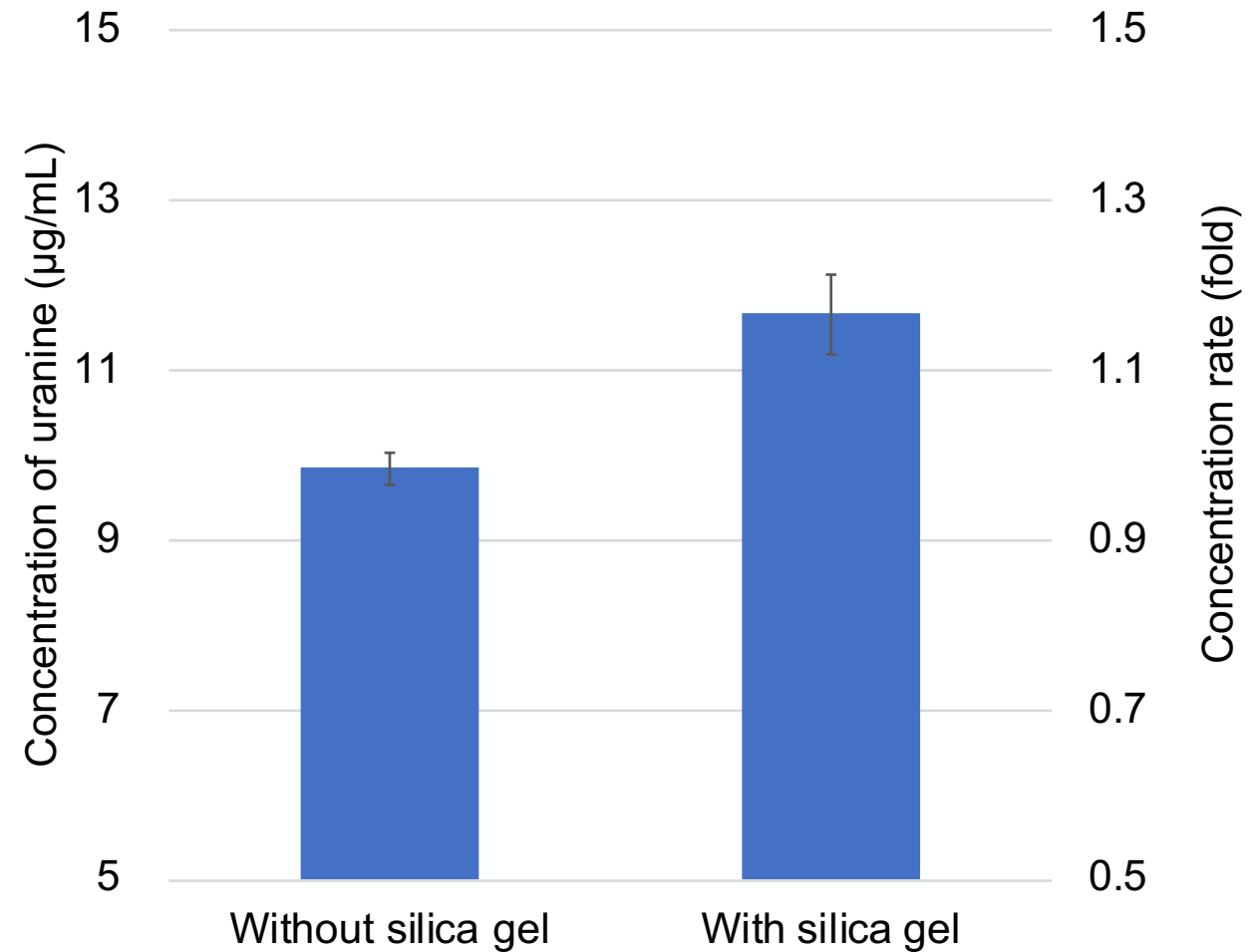
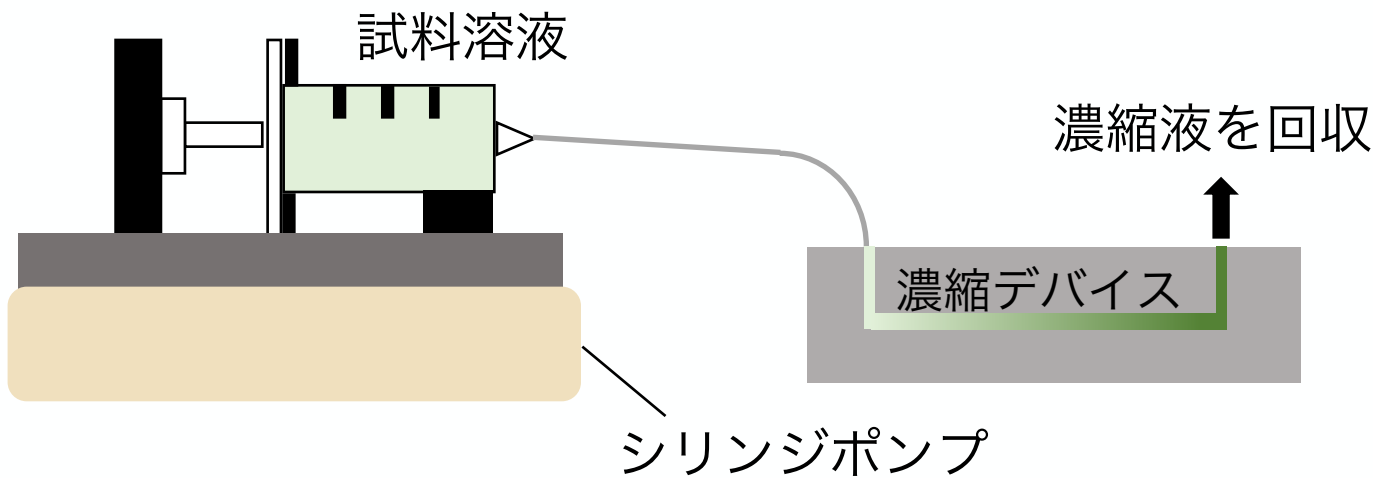


\*Residence time (滞留時間) (min) = 流路体積(mL)/流量(mL/min)

- ・ シリカゲル有りかつ滞留時間2分で、最も高い濃縮率
- ・ 加熱した方が、濃縮率は高くなる傾向

# 「汗」の濃縮試験

(T: 室温)



- ・ シリカゲル無しではほとんど濃縮されず
- ・ シリカゲル有りで、約120%濃縮を実現
- ・ 今後は、さらに高濃度濃縮を目指しつつ、センサ部との統合を進める

# 概要

1. リキッドバイオプシー
2. マイクロ流体（液滴）濃縮
  - ・ マイクロカプセル内での濃縮
3. 微量液体濃縮：汗中希少成分の高感度検出を目指して
  - ・ マイクロ流路による前濃縮