

# 材料選択で促進するマイクロ流体工学

アレクシオス・P・ツァニス

**実現技術としてのマイクロ流体工学は、最高性能のためにロバストな材料を必要とする。**

一滴の血液よりも小さい体積のものを機能的領域に移動させるフローセルは、パワフルな生体外診断 (IVD) システムの開発、自動化、小型化の根底にあるものだ。これらのシステムは次々に幅広いアプリケーションやデバイスを可能にしている。それには、創薬やバイオナリシスにおいて、デジタル生物学、次世代ゲノムシーケンシング、生体機能チップ、ハイスループットな細胞アッセイ、高密度な多機能チップがある。

サンプルサイズや試薬消費量を下げ、そして解析スピードを上げてコストを減らす目標を掲げることで、IVD デバイスは複雑化や機能統合が進みつつも、製造の新たな限界を超えている。寸法や複雑性は重要な課題であるが、コーティングのような製造後の後加工もまた製品のワークフローやコストに影響を与える。

IVD デバイスに用いられる材料を規定するものは、配列や加工だけでなく、デバイスの製造、性能、機能性、コストだ。レーザー加工やフォトリソグラフィ、エッチングの自動化、基板結合、機能付与、室温 UV 接着、その他の加工の進展により、IVD デバイス向けとして

しばしばベストパフォーマンスかつ最もコスト効率のよい消耗材料が、ガラスやハイブリッドガラス材料である。

## 形状と設計の複雑さ

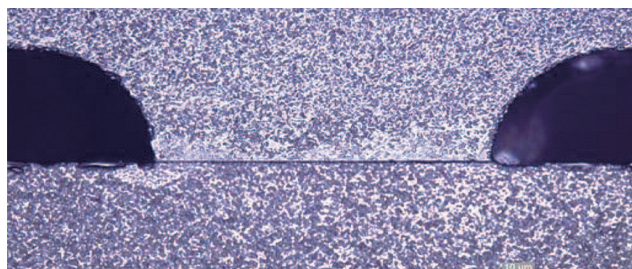
寸法が下がるにつれて、かつて欠点とされた表面異常は機能的となり、基板加工技術はバイオポリマーや細胞構造と同じ大きさの形状を作り出せる。反応性イオンエッチング (RIE) はガラスに細胞と生体分子のドッキングステーションを作り、増加した表面粗度は感受性増加により、アプタマーのような分子認識要素と結合できる。ナノ流体工学は、スケールの小さい現象を利用してサブミクロンチャネルにおいて体積を制限する。

ソフトリソグラフィによるポリジメチルシロキサン (PDMS) は学術研究でよく使われているが、そのような材料よりも多くの優位性を与えるのが、ガラスの機械的、化学的、光学的特性である。例えば、壁面の剛性と安定性は、ナノまたはマイクロチャネルが結合や密閉で耐えるのに助かっており、フロー圧に抵抗できるガラスの結合能は重要である。多くのアプリケーションで

は、ガラスの温度特性や化学的安定性の利点があり、一方で自家蛍光は無視できるほどだ。また、ガラス表面はシリラン化によって無限に調節でき、多数の特性を可能にする。

シリコンはしばしば、一細胞を閉じ込めたり、特定のフロープロファイルを作ったりするのに必要な高アスペクト比に対しては最適な材料である。だが、例えば、ガラスが持つ他の特性 (光学的な滑らかさ、誘電率、金属加工ステップの必要性、結合法など) も理想とされる時は、回路基板としてガラスを使うことができる。半導体産業がもたらした加工技術は高アスペクト比のマイクロ・ナノチャネルの製造を可能にする。一方で、レーザーマイクロ加工と化学エッチングを組み合わせる加工は、ガラスにおいて 20:1 というアスペクト比を証明している。ガラス表面の多くの修飾は、回路基板としてガラスが最も化学的に調節できる表面を持つことを示す。

生物学への応用では、光学の統合、光学ウィンドウ、電極、エレクトロニクス、そして壁や孔といった 3次元構造が要求される時がある。超高速レーザー製造のような減算技術と、化学めっきや CDV のような加算法と化学エッチングを組み合わせることで、ポリマー表面を含む複雑で多機能なチップをガラスや熔融石英で作ることができる。各材料は、特定のアプリケーションと設計パラメータに利点のある強みを持つ。ハイブリッド材料のデバイス



**図1** 等方的にエッチングされたチャネルを持つ 0.3mm 以下のガラス基板は、1mm の厚さのガラス基板に室温の UV で接着される。ガラス結合は、カプセル化された生体分子や細胞の生物活性を維持する。

は生きた細胞に関連する課題を克服できるため、各材料の特性を利用するのが最善の方法だ。

チップベースのIVD細胞構造システムにおける材料の選択、構造、製造後加工は、細胞、培地、観察する現象に依存する。チャンネル設計ですら細胞の生存に影響を与える。ある細胞は他よりもせん断応力の影響を受けやすい。そこで、PDMSがしばしば用いられる。PDMSの透過性は、チップ上やチップ周囲の環境で細胞間のガス交換を可能にするためだ。しかし、この特性は、意図しないガスやイオンの移動が生じた時、細胞に危険をもたらす。同様に、デバイスの特定の部分に細胞を配置させるパターンニングには多くの利点があるものの、その表面は細胞の形状や生理機能に影響を与えるため、細胞はやがて弱まってしまうかもしれない。

神経細胞は電極で計測されることが多く、ガラスまたはシリコンにおける電極の標準化されたパターンニングが、どちらの材料を選ぶかの理由となっている。透明な酸化インジウムスズ(ITO)の電極を実装する性能は、ガラスにとって有利となる。なぜなら、細胞を顕微鏡、さらには電極表面でモニタリングできるからだ。

ガラスはしばしば光学的方法では最適な材料である。UVを用いる室温接着に適しており、これは生物毒性や生態適合性のデータが産業で検証されたものとして知られている(図1)。

## 細胞接着とソーティング

細胞を特定の領域に閉じ込める方法には、表面のマイクロまたはナノパターンニング、TMMFの利用、光構造材料がある。細胞をキャプチャして培養し、2.5次元構造と呼ばれる中間層を作るためだ。もう1つの戦略は、自己組織

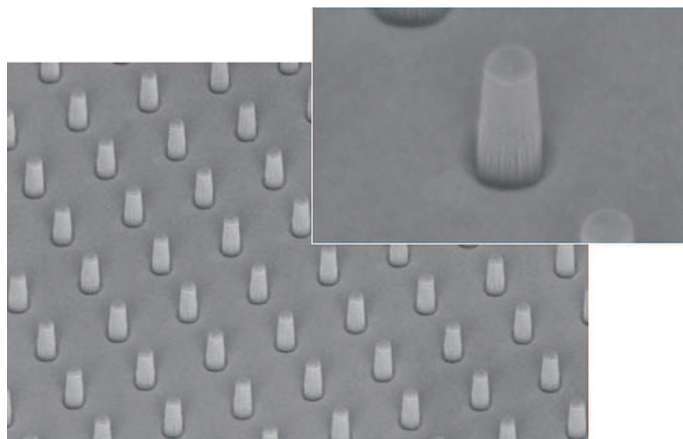


図2 ガラス上の極小の柱は相互作用のための表面面積を大きくする。

化する単分子膜(SAM)を使い、接着、潤滑、湿潤、タンパク質の物理吸着に関する表面機能を化学的に規定することだ。チオールベースのSAMは金と反応し、金属はすぐにガラス上に配置される。ガラスの反応化学がよく知られている、もう1つのパワフルなツールであるオルガノシランは、IVDに重要な表面の改質が可能だ。これには、細胞や生体分子の接着に対する疎水性の増加、液滴やデジタルのマイクロ流体工学がある。また、生体素材の吸収を抑える親水性の増加、イオン会合や他の目的のための表面改変がある。

細胞を円形か正方形のどちらに閉じ込めるかどうかといった配列の操作が細胞処理に決定的な影響を与えることが、近年の研究で明らかになっている。深掘り反応性エッチング(DRIE)は多様な配列と間隔で極小の柱を作ることができる(図2)。

同様に、生物適合性のある写真画像接着(PBA)は、経済的だがいまだに複雑な流体工学チャンネルシステムで、標準的なMEMS加工を用いてガラスに直接設置する。

不均一な細胞集団をソートする必要性が、広いアプリケーションにある。セルソーティングには3つのカテゴリ、すなわち蛍光ラベル、ビーズ、ラベルフ

リーを用いる。選別においてさまざまな方法があり、例えば、光学力、動電学、音響光学、磁性、機械的、パッシブだ。

ターゲット、波長、検出限界(LOD)の蛍光効率によって、ガラスまたは溶融石英が低い自家蛍光の理由からベストのパフォーマンスを出す傾向にある。しかし、例えば電極のような他の材料が必要だ。ラベルフリーな手法は、ガラスを選択する理由となった光透過性と低い自家蛍光が必ずしもないわけではない。仮に、内在性の蛍光、光学的、光電子光学的なピンセットが使われたなら、ガラスまたはガラスハイブリッドが最適になり得る。

## ゲノム応用

他のバイオアッセイのように、ハイスループットで小型な核酸分析に向けた最適な材料を決定するのは、検出メカニズムと材料の温度特性だ。光学的な検出のためにはガラスが理想であり、また回路基板としても他の理由から魅力的である。光学ガラスや溶融石英はポリマーゼ連鎖反応(PCR)の酵素を強く阻害せず、酵素反応を妨げる水やイオンを放出したり取り込んだりしない。

1000ドルゲノムの目標が達成した大きなイノベーションは、サンプル調整

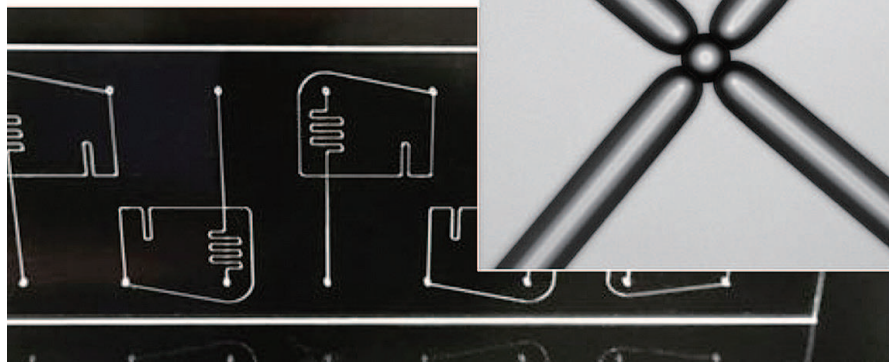


図3 圧が誘導する液滴のマイクロ流体コンポーネントの製造は、ガラスの優れた表面特性に依存する。すなわち、低い表面粗度と化学的不活性、そして製作公差の高精度により、高い再現性で液滴の体積を保証する。

の役割だという認識だった。これには、サンプルを一分子区画に分ける方法であるデジタルPCR (dPCR) を用いたDNAライブラリの増幅と定量を含む。そのような小さな区画によって、わずかな割合で起きる配列を定量化できる。

均一なサイズの液滴を数千から数百万と作る重要な性能は、デジタルマイクロ流体工学チップの設計と製造に大きく依存する(図3)。その結果による正確性と選択性は、がんのような疾患における複雑な発現経路の理解や、リキッドバイオプシーのような治療診断アプローチを可能にする。

現在は米イルミナ社 (Illumina) の一部である米アドバンストリキッドロジック社 (Advanced Liquid Logic) や、いずれも米バイオラッド社 (Bio-Rad)

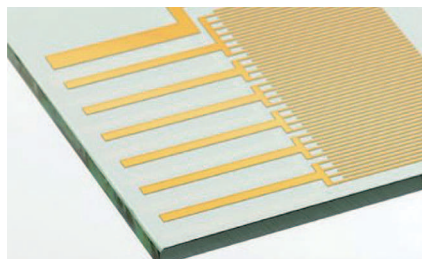


図4 高密度な酸化インジウムスズ (ITO) は迅速にガラス上に配列される。

の一部である米レイダンス社 (Raindance) と米クオンタライフ社 (Quantalife) は、マイクロ流体工学チャンネルの配置と界面化学を用いた完全な液滴作成技術を持っている。これは、液滴に囲まれた(親水的な)流体と液滴を囲む(疎水的な)流体と相互作用する。

ガラスは、圧が誘導する液滴のマイクロ流体コンポーネントを製造するうえで大きな役割を持つ。ガラスは、低い表面粗度と化学的不活性、そして製作公差の高精度といった特性を可能にするからだ。加えて、よく知られた表面化学により、親水性のガラス上に疎水領域を比較的配置しやすく、均一な液滴の体積を形成し、液滴のソーティングをアシストする。

デジタルマイクロ流体工学は、液滴を作成したり、そのサイズや動きを制御したりするために、電極の配列やエレクトロウエットングを用いる。これにとってガラスは最適な材料であり、また必要とされる高密度のITO電極は迅速にガラス上に配列される(図4)。

多くの次世代シーケンシング (NGS) 技術は、ガラスの光学特性が活用される光学的な手法を用いる。1000ドル

ゲノムを達成する際に重要な技術は、配列されたフローセルを作るためにガラス表面を構成することだ。この配列は、イメージ取得時間を大きく減少させる。この成功の重要なところは、サブミクロンでの基板レベル配列の正確性であり、これによりマイクロ流体チップにおいてシーケンシング空間を非常に高密度にパッケージングでき、従来の蛍光イメージングシステムの光学的な解像度の限界に到達する。

1000ドルゲノムが100ドルゲノムに近づいているように、高価な試薬の量を減少させることでコストを最小化する要望は、検出限界 (LOD) の目標をさらに推進する。これにより、フローセルの基板の自家蛍光を低くする必要性、そして大規模な製造法の応用が増している。

ラベルフリー手法がガラスの光学特性を取り除いたように見える一方で、ガラスにはまだいくつかの利点がある。シリコンやガラスにとって、チャンネルのエッチ深さをサブミクロンで制御することは、インピーダンス検出におけるシグナルノイズ比を向上させる。すぐにITO電極を組み込める性能は、デジタルマイクロ流体によるサンプル調整の統合を可能にし、貴重なサンプルや高価な試薬の消費量を減らすことにつながる。

アプリケーションに関係なく、IVD開発者は、生物学の必要性和デバイス工学のバランスを取るべきである。あらゆる場合において、フローセルの材料を選択する時の基本的なステップは大きな影響を与える。

#### 著者紹介

アレクシオス・P・ツァニスは、スイスIMT社ライフサイエンスのビジネス開発マネージャーである。e-mail: atzannis@imtag.ch  
URL: www.imtag.ch/en