

ナノリットルでOK. 液滴による化学分析

佐々 文洋

貴重なサンプルや高価な試薬を用いて化学分析を行う際、できればその消費量を抑えたいと誰しもが思いだろう。試験管やマイクロピペットで行う分析は一サンプルあたりの消費量がミリリットルからマイクロリットル程度だったとしても、膨大なサンプルのスクリーニングを行う場合にはかかるコスト・時間もまた膨大となる。こうした要求のなか、マイクロ流体チップや微細チューブ中の液滴、特にナノリットルあるいはピコリットルスケールの液滴を対象とした極微量分析技術の研究が進められている。

一般的な液滴型分析システムでは、液滴同士はオイルあるいは空気によって隔てられている。そのため、各液滴は混ざり合わず一本の流路（またはチューブ）で多数の異なる液体を同時に扱うことが可能となる。また、①移動時流路壁面との摩擦により混合が迅速に進むこと、②流路とオイルで囲まれているため微量でありながらも蒸発しにくいこと、③固定センサで、流れていく液滴系列を連続的に測定すればハイスループットな分析が可能であること、といった大規模分析に有利な特徴を持つ。

液滴による分析の一般的な流れでは、まずリザーバーから液滴を分割・形成し、続いて混合処理などの液滴操作を行い、最後に一括して検出を行う。液滴の形成法・操作方法はさまざまなものが提案されているがここでは代表的な技術について紹介する。

液滴を連続的に形成し化学分析に利用する研究は2000年頃から盛んに行われるようになった。このころIsmagilovらのグループは微小流路中のT字交点に水溶液とperfluorodecalin, (PFD)を同時に流し合流させることで、水溶液をPFDで連続的に分割し25 pLから500 pLの液滴を生成するデバイスを報告している¹⁾。また同グループではこの技術を用いて、高い時間・空間分解能を持つ生細胞の化学刺激応答分析用プローブを作製している²⁾。このデバイスはChemisthodeと呼ばれ、液滴が流れるプローブ状の流路からなり、流路の折り返し部分に当たるプローブの先端に20 μm × 30 μmの開口部を持つ。この開口部を生体組織や細胞培養基板などの測定対象に軽く押しあてることで閉じた流路を構成する。この流路を流れる液滴は刺激物質を含み順次測定対象に接触、同時に細胞から代謝反応物質が液滴中に取り込まれる。この報告では取得した液滴を分析することにより50 msという高い時間分解能で培養基板上のマウスのラ

ンゲルハンス島細胞を高濃度な塩化カリウム水溶液で刺激し同時にそのインシュリン応答を取得している。

形成された液滴同士を混合することで、個々の液滴を独立した反応槽と見立て逐次反応を実施することが可能となる。Weitzらのグループは、流路中で液滴同士を接近させたのち、500 kV/mの電場を印加することで液滴界面を変形させ融合させる方法を報告している³⁾。この報告では、β-galactosidaseと対応する蛍光基質を含んだそれぞれ70 pL, 500 pLのサイズの液滴を、1秒間に100個の速度で生成・融合し連続的に蛍光強度測定可能な酵素活性の評価システムを構築している。さらに同グループはこの技術を応用し、液滴が通過するタイミングでON/OFFを切り替えることで、個々の液滴に異なった組合せの液体を最大1秒間に100,000個の速度で添加可能な高速インジェクターを作製している⁴⁾。

また、生物学的な応用として、適切な濃度の細胞懸濁液から液滴を形成することにより、単一の細胞を分離・分析することができる。Edelらのグループでは、大腸菌の懸濁液を液滴に分割し、蛍光検出することにより、懸濁液濃度と液滴一つに入る菌体数の分布特性を調べている⁵⁾。この分離方法は他の液滴操作技術と組み合わせられ、ヒト細胞での一細胞RT-PCR⁶⁾や、一滴の容量がマイクロリットルスケールとやや大きいゼブラフィッシュの卵を液滴中でふ化させて行うハイスループットな薬物毒性試験⁷⁾などさまざまな研究に適用されている。

このように液滴を用いたシステムはシンプルでありながらも大量の分析を高速にかつ微小な液量で行うことが可能となる。現在これらの技術については、個々の要素の基礎研究のみならず、コンピュータ制御による自動実験・分析システムなど、実用化に向けた研究が進められており、今後さまざまな応用が期待される。

- 1) Helen, S. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 767 (2003).
- 2) Chen, D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 16843 (2008).
- 3) Ahn, K. *et al.*: *Appl. Phys. Lett.*, **88**, 264105 (2006).
- 4) Abatea, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 19163 (2010).
- 5) Huebner, A. *et al.*: *Chem. Commun.*, 1218 (2007).
- 6) Eastburn, D. *et al.*: *Anal. Chem.*, **85**, 8016 (2013).
- 7) Funfak, A. *et al.*: *Lab Chip*, **7**, 1132 (2007).