

※課題番号 : F-12-WS-0007
 ※支援課題名 (日本語) : マイクロチップ電気泳動-質量分析用ポリマーマイクロデバイスの作製
 ※Program Title (in English) : Development of polymer microfluidic devices for Microchip Electrophoresis-Mass Spectrometry
 ※利用者名 (日本語) : 末吉 健志, 大塚 浩二
 ※Username (in English) : Kenji Sueyoshi and, Koji Otsuka
 ※所属名 (日本語) : 京都大学大学院工学研究科
 ※Affiliation (in English) : Graduate School of Engineering, Kyoto Univ.

※概要 (Summary) :

近年, 短い分析時間, 高い分離能および定性能, 少ない試料量・試薬量などの優れた特徴を有するマイクロチップ電気泳動-質量分析 (MCE-MS) が注目を集めている。しかしながら, これまでの報告例では, 煩雑なデバイス作製手順や, エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 用インターフェースとの結合の必要性などの理由で, デバイスの量産が困難であった。一方, これまでの共同研究において, ESI インターフェース一体型の MCE 用デバイスを作製し, それを用いた簡便な MCE-MS 分析を達成してきた[1]。本研究では, 簡便なオンライン試料濃縮法である large-volume sample stacking with an electroosmotic pump (LVSEP) 法[2, 3]の MCE-MS への適用を目指して, 新規デバイスの設計と開発を行った。

※実験 (Experimental) :

使用した装置は以下のものである。

デバイス作製:

- ・コンタクトアライナ (ズース製 MA6)

MCE-MS 分析:

- ・ 8 ch 高圧電源 (Lab Smith)
- ・ 5 ch 高圧電源 (島津製作所)
- ・ LC-MS (島津製作所)

蛍光画像解析:

- ・ 倒立型顕微鏡 (オリンパス)
- ・ CCD カメラ (日立製作所)

これらの装置を用いて, 以下の実験を行った。LVSEP 法は, 試料溶液と電気泳動分析におけるバックグラウンドとなる泳動液との電気伝導度差を利用するオンライン試料濃縮法である[3]。その際, チャンネル全体に充填された試料溶液中のアニオン性試料が, 濃縮され

ながらチャンネルの陰極側末端付近まで移動した後で泳動の向きが反転し, 陽極側へ向けて泳動することで, 高い感度と分離能の両方が実現される。

LVSEP 法を検出部側末端が開口部となっている MCE-MS に適用するため, 図 1 に示すような流路を設計した。光硬化性樹脂である SU-8 を用いて, シリコン基板上にチャンネル構造部分が凸型となるような鋳型をフォトリソグラフィーによって作製した後, これをポリジメチルシロキサン(PDMS) に転写して凹型チャンネルを有する PDMS 基板を作製した。その後, 溶液のリザーバーとなるコンタクトホールを有する蓋側 PDMS 基板と張り合わせてから, 先端部を図 1 右図のようにカットして ESI 用の開口部 (オリフィス) を成型し, ESI インターフェース一体型マイクロデバイスとした。これを用いて図 2 に示すように電圧を印加することで, 分離流路と ESI オリフィスに泳動液兼シース液を供給可能となり, LVSEP 法に基づくオンライン試料濃縮とマイクロチップゾーン電気泳動 (MCZE) に基づく分離, そして ESI-MS による試料の検出が可能になると期待される。

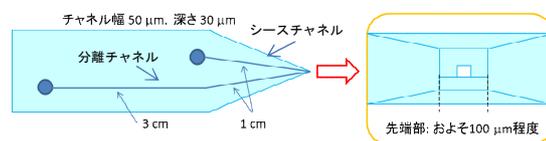


図 1. 作製したデバイスの概略。

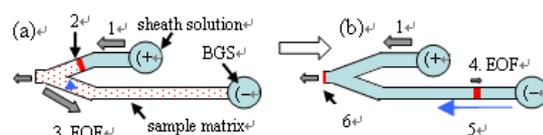


図 2. 作製したデバイスを用いた LVSEP-MCE-MS の概略

※結果と考察 (Results and Discussion) :

作製したデバイスを用いた ESI-MS 検出について確

認を行った。その結果、溶液リザーバーへの電圧印加によって、ESI インターフェースの開口部においてエレクトロスプレーが安定に発生する様子が観察された(図 3a)。また、カフェインを試料としてインフュージョン分析の MS 検出を試みたところ、安定なシグナルが得られた(図 3b)。以上の結果から、作製したデバイスを用いた ESI-MS 検出が可能であることが確認された。

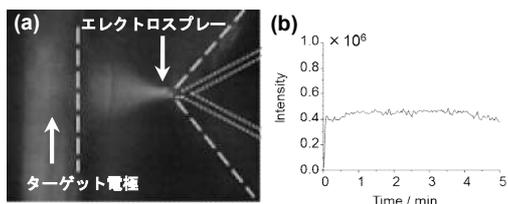


図 3. 作製したデバイスを用いた ESI の確認. (a) 蛍光画像による観察結果, (b) ESI-MS 検出にて得られたシグナル.

脱イオン水に溶解させたスルホローダミン B を作製したデバイスのチャンネル内に充填してシース液および泳動液リザーバーに電圧を印加し、LVSEP-MCE 分析を試みた。その結果、流路途中に開口部を有するマイクロチャンネルを用いても、LVSEP 法に基づくアニオン性試料の濃縮と泳動の向きが反転することが、蛍光画像観察によって明らかとなった(図 4)。



図 4. 作製したデバイスを用いた LVSEP-MCE の蛍光顕微鏡観察結果. 時間経過とともに泳動の向きが反転.

以上の結果を踏まえて、作製したデバイスを用いた LVSEP-MCE-MS 分析を試みた。しかしながら、スプレー時の陰圧によって生じる開口部に向かう強い圧力流によって、チャンネル内の溶液が開口部から排出されてしまい、安定な LVSEP-MCE-MS 分析を行うことは困難であった。

※その他・特記事項 (Others) :

・今後の課題等

現在、安定な ESI-MS 検出と LVSEP-MCE 分析を両立するために、必要なシース液流量や陰圧が大き

くなりすぎないようにチャンネル開口部のサイズ設計、ESI の安定化のためのオリフィス部への電極コーティングなどについて検討を進めている。得られたデータを基にチャンネル形状を再設計し、簡便、高感度かつ高分離能を有する安定な LVSEP-MCE-MS 分析の実現を目指す。

・参考文献

[1] Shinohara, H. et al, *Sens. Actuators B* **2008**, *132*, 368–373.
 [2] He, Y. et al, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 995–1001.
 [3] Kawai, T. et al, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 6504–6511.

共同研究者等 (Coauthor) :

水野潤 (早稲田大学准教授)

論文・学会発表

(Publication/Presentation) :

なし。

関連特許 (Patent) :

なし。