

オンチップ血漿分離法の開発
工学部産業機械工学科 生命機械工学鷺津研究室4年
指導教員 鷺津正夫教授
50197 齋藤季

1. 背景

現在、血液検査は遠心分離機を用いて血液から血漿を取り出した後、大規模な自動分析装置を用いて行なわれる。その為大病院や検査機関でしか検査できず、すぐに結果がわからないという制約が血液検査には存在し、場所を選ばず、迅速な血液検査ができるシステムに対する需要がある。

近年、マイクロオーダーの流路を用いてチップ上に化学分析、あるいは化学合成システムを集積しようというマイクロ化学チップの概念が、血液検査にも応用され、血液検査用のマイクロチップの開発が進められている。マイクロ化学チップ上での血液検査には以下のような利点がある。

1. サンプルが微量でよい:マイクロメートルオーダーの流路では反応の高効率化が図れるためそれぞれの検査に必要な血漿量は約0.1 μ lと自動分析装置と比較して1/50~1/100程度でよい。そのため多項目の検査でも数 μ lの血漿で十分であり、注射器で多量の血液を採血する必要がなく、患者の負担が軽減される。

2. その場診断が可能:チップ上ですべての操作を行うことにより操作の簡便化と分析時間の短縮化につながり、その場で検査結果を得ることができる。また持ち運びが可能なのでどこでも審査ができる。

3. コスト低減:検査系のサイズが小さいことで、必要な検査試薬量が少なくよいため検査のコストの低減につながる。

マイクロチップ上で血液検査を行う際にもチップ上における血漿と血球の分離が必要である。現在考案されているものはチップごと遠心分離機にかけるものやフィルターを用いて分離するものであるが、本研究では血球の沈降を利用して流路形状のみで血球の分離を実現することが目的とする所である。

2. 沈降を利用した血漿分離

血球の沈降速度は流れのない状態で3 μ m/sである。この速度はマイクロ流路なら十分な速さであり、またマイクロ流路内なら層流を維持できるのでこの速度に近い速さで沈降することが期待できる。そこでマイクロ流路に血液を流し、沈降させた後セパレータにより上澄みの血漿部分を取り出すと連続的に血漿を分離できると考えられる(図1)。

この原理を利用し、昨年度鷺津研究室の末綱により図2のような流路が作製された。流路はPDMS(ポリジメチルシロキサン)でできており、毛細管力を動力に使用している。この流路の特徴は沈降時間を稼ぐために流路断面が一部大きくなっていることである。セパレータは上下比1:1の部分にいている。またセパレータがたわまないように流路上に柱を立て支えている。さらに上から観察しやすいように分離後の流路を折れ曲がらせている。実験の結果、分離がうまくいかなかった。この流路には急縮小部分があるため無用の乱れが起き、沈降した血球が巻きあがると考えられた。またセパレータの挿入位置だが、上澄みの血漿に比べ沈降した血球のほうが粘性が高く速度が遅いので血液中の血球の体積%(ヘマトクリット値)を50%とすると、現在より高き位置を上げる必要があった。以上をふまえて図3に示す流路に改良を行った。この流路を用いて血漿分離を行うと、短時間の血漿分離は成功したが長時間は達成できなかった。この際使った血液のヘマトクリット値は30%だったため、きちんと沈降しているか問題ないはずであった。そこで流路内では実際になにが起きているかを観察することにした。

3. 流路内の血球の沈降の観察

流路に血液を流して横から顕微鏡で観察を行った。その結果血球層の高さが確かにセパレータ位置を越えていることがわかった。このとき明らかに体積あたりの血球量が増えていた。これは入り口部分に原因があると考えられた。実験の際、流路の入り口に上から血液を滴下してきたため時間がたつ滴下した血液内でも沈降が起き、入口が血球で埋まってしまうと考えた。そこで滴下した血液の上澄みが流路に導入されるように入口を変更した。この変更を施した結果、流路内の血球層の高さがセパレータの高さより低くなり、長時間分離が可能となった。続いて時間当

たりの収率の向上を目指すことにした。

4. 速度制御による時間当たりの収率の向上

時間当たりの収率を向上させるにはセパレータ位置での流速を早める必要がある。しかし流速を速めると分離ができなかった。そこで流路内の流れの様子を観察した。すると図5のように流れが起きていることがわかった。まずはじめは図5①の様に先端では攪拌が起きているが少し後ろでは層流で流れる。この層流の部分では沈殿が起き、しばらく時間がたつと図5②の様子に、先端から少し後ろの上澄み部分に血漿層が現れる。さらに時間が進むと図5③のように先端部分が血漿分離される。先端部分に現れた血漿層には赤血球がわずかに残っている。

流速が速いと先端部分の攪拌が激しくなり、②の状態が長くなり、先端部分の沈降が遅くなり分離に失敗した。このため初めは流速を遅くして先端部分を分離させ、その後流速を速めることにした。

この流路は毛細管現象で血液を流しているため壁面の親水性によって速度が決まる。そのためPDMSに混入する親水化剤の量によって速度の制御を行った。実際には流路の前半分は親水化剤の少ない、そして後半部分は多いPDMSを使って流路を作製した。その結果意図した速度制御ができ、時間当たりの収率を向上できた。

ここで流れの先端部分に残った赤血球の沈降を待つか否かという問題が生じた。この赤血球は流速が遅くても必ず残る。先端部分の攪拌の速さは赤血球の沈降速度より速いので沈降には時間がかかると考えられる。そのため先端部分の赤血球が沈むまで待つ場合と待たない場合を比較した。その結果、待たない場合は流れの先端こそ赤血球が混ざっているがそれ以降は両者ともほぼ同等の精度で分離できることがわかった。このため先端の血球を許容できるならば後者の場合は分離時間を大幅に短縮できることがわかった。

5. 結論

本研究により、流路形状のみで時間当たりの収率の高い長時間の血漿分離が達成された。

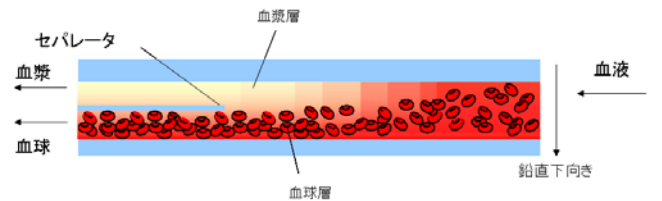


図1 沈降を利用した血漿分離の原理図

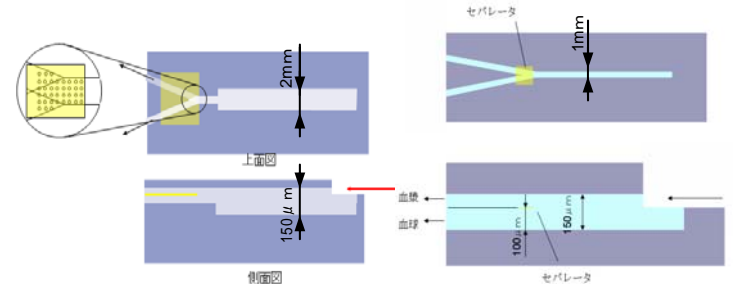


図2 末綱の作製した流路

図3 改良した流路

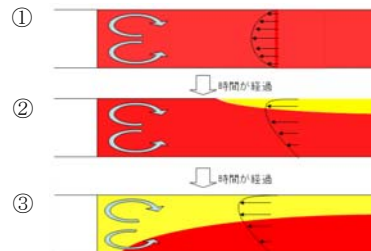


図4 流路内の流れの様子