

E303

櫛歯状薄膜電極を用いた誘電泳動クロマトグラフィーの分離・分析特性

群大院工 ○(学)大滝 貴士 (正)箱田 優

【緒言】

近年、動物細胞は医薬品の開発や再生医療の分野で応用されている。しかし、利用する対象が人間であることから、動物細胞の利用は安全性の保障が不可欠であり、マイルドな条件での雑菌・異種細胞からの分離および分析を可能にする新規分離・分析装置が切望されている。そこで、著者らは櫛歯状薄膜電極を用いた誘電泳動クロマトグラフィー装置について検討した。この装置はガラス基板上に櫛歯状薄膜電極およびマイクロ流路を備えたものである。本装置は流路を流れる粒子に対し、誘電泳動現象を作用させることで、粒子の誘電率の相違により滞留時間差を生じさせ分離・分析する。本研究は、動物細胞を用いて本装置の分離・分析特性について検討を行い、その実用化の可能性について検証する。

【理論】

誘電泳動は、局所領域に形成された不均一電場とその電場下における粒子及び周囲媒質の誘起双極子モーメントとの相互関係により、粒子に力が作用する現象のことである。粒子に働く誘電泳動力 F_{DEP} は(1)式で表される。

$$F_{DEP} = 2\pi r^3 \varepsilon_M \operatorname{Re}[K(\omega)] \nabla E^2 \quad (1)$$

r は粒子の半径、 ε_M は周囲媒質の誘電率、 ∇E^2 は電場傾度を示しており、 $\operatorname{Re}[K(\omega)]$ は Clausius-Mossotti 関数の実数部分である。また、 $\operatorname{Re}[K(\omega)]$ が正の値を示す場合、粒子は強電場側に引き付けられ、 $\operatorname{Re}[K(\omega)]$ が負の値を示す場合、粒子は弱電場側へ反発される。前者は正の誘電泳動と呼ばれ、後者は負の誘電泳動と呼ばれる。

【実験方法】

本装置はガラス基板上的櫛歯状多段電極列と、その上に設けられた試料溶液の通り道となるマイクロ流路より構成される。流路は幅 0.4mm、高さ 0.15mm、長さ 50mm で電極は幅 $50 \mu\text{m}$ 、電極間距離 $50 \mu\text{m}$ の長さで作製された(Fig.1)。また、サンプルとして、マウス・ハイブリドーマ 3-2H3 細胞(RCB0867、理研ジーンバンク)を用い、周囲媒質は 8.5wt% スクロース + 0.3wt% グルコース溶液を使用した。サンプルはインジェクターを用いてパルス的に注入し、装置から流出したサンプルを吸光度計(ジーエルサイエンス MU701)により検出した。流量はシリンジポンプ(KDS-120, kd scientific)により 0.25ml/h に設定し、試料のキャリアとして、周囲媒質を装置内へ連続的に供給した。また、本装置の分離・分析特性の評価はサンプルの滞留時間差とした。

滞留時間差 = (印加電圧ありの滞留時間 - 印加電圧なしの滞留時間)

【実験結果】

負の誘電泳動を適用した場合、滞留時間差はほとんど生じなかった。また、正の誘電泳動を適用した場合、細胞が電極に付着することにより、滞留時間差を正確に測定することができなかった。そこで解決策として、交流電圧を異なる周波数の組み合わせ(掃引周波数)で印加することにより、細胞に対し正と負の誘電泳動を交互に生じさせ、電極への付着を制御した。実験は掃引時間 1s、周波数 5~300kHz に設定し、印加電圧の影響について検討した結果を Fig.2 に示した。また、Fig.2 の結果より、掃引周波数を用いることにより、安定した滞留時間差が得られることが明らかになった。

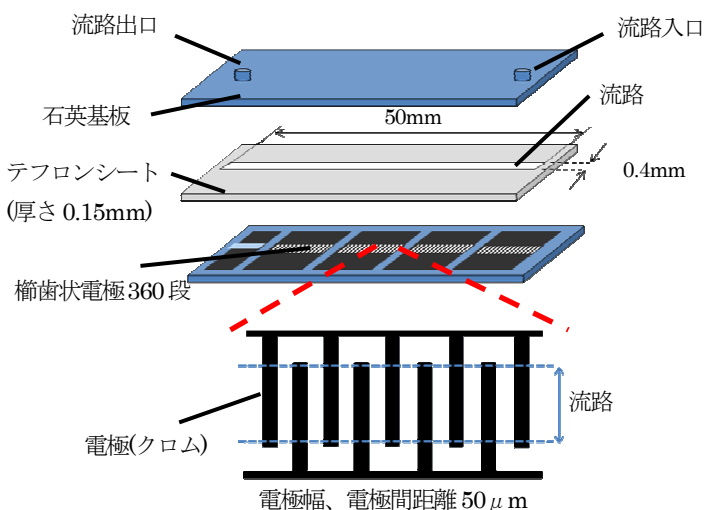


Fig.1 櫛歯状薄膜電極を用いた誘電泳動クロマトグラフィー装置

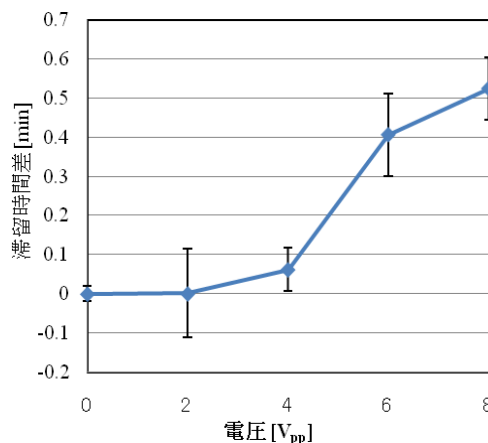


Fig.2 滞留時間差に及ぼす電圧の影響

*E-mail: hakoda@cee.gunma-u.ac.jp