

レーザー誘起蛍光法を用いた微小液体操作量の評価

大学院自然科学研究科	教授	久保田弘
大学院自然科学研究科	前期課程	河野政崇
〃	前期課程	濱田真弘
〃	後期課程	西 優弥

バイオテクノロジー分野における細胞内小器官の精密操作技術に対する要求から、ナノピペット先端に吸引された液体をフェムト(10^{-15})、アト(10^{-18})リットルオーダーで定量かつ連続的に操作可能な「アトリットルポンプシステム」について開発を行ってきた。本システムは、ガラス製のナノピペット先端において操作したい液体と駆動用の液体フロリナートとの2液界面を形成させ、界面張力とポンプの圧力とのつりあいを利用して界面位置を制御することで微小液体の定量操作を行っている。ナノピペットは微細ガラス管をヒーターにより加熱し延伸加工する手法で作製しており、先端内径 $1\mu\text{m}$ 以下のナノピペットが作製できる容易に作製可能である。

これまでに本システムにおける微小液体の操作量についてはピペット内に形成された界面の位置と半径を光学顕微鏡によって観測し、操作量がモデル式と一致することが確認されている。しかしピペット先端付近のピペット内面半径が $1\mu\text{m}$ 以下の領域においては光学顕微鏡による測長が困難であり操作量の評価が行えていなかった。そこで、この不可視の領域における操作量に対して、レーザー誘起蛍光法を用いた評価手法を提案し、ナノピペット先端形状の評価結果について述べる。

蛍光物質溶液は一般的に低濃度域において次式のように蛍光物質の濃度と蛍光強度 F が比例する関係にある。したがって微小な純水液滴中にナノピペットで吸引した蛍光物質溶液を吐出すると、蛍光強度 F は操作量 ΔV に比例する。これを利用し蛍光強度を計測することによって操作量の評価を行った。

現在使用しているピペットにおいてはポンプ圧力が 100kPa 以上になると界面半径が $1\mu\text{m}$ 以下となる。図1はポンプ圧力が 100kPa から 170kPa の範囲で 5kPa 増加させたときにピペット先端から吐出される量を蛍光強度から求めたグラフである。ピペット形状を円錐形として立てたモデル式と比べて先端に近づくほどズレが大きくなっていくことがわかる。この結果からピペット形状を算出すると図2のようになり、不可視領域のピペット内面は、先端に近づくほど円錐の頂角が小さくなっていく形状となっていることがわかった。

今後はピペット作製条件を最適化することで、より円錐形に近いピペットを作製し、先端付近においても定量操作を実現していきたいと考えている。

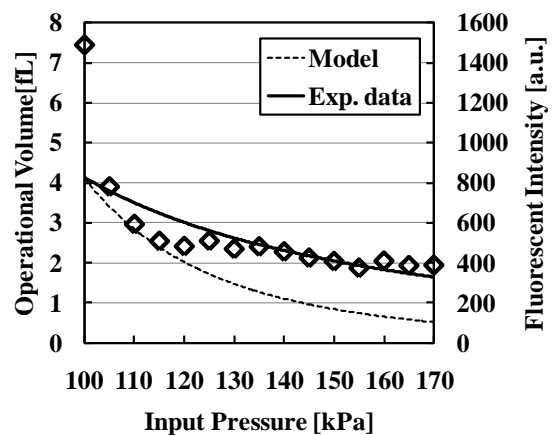


図1 ポンプ圧力に対する微小液体操作量

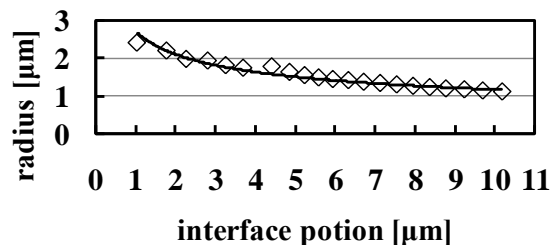


図2 ピペット形状