

Focusing Review

Lab-on-a-chip による有機化学分析の現在と今後の可能性

徳永隆司・岡本昌彦

Recent Developments of Lab-on-a-chip in Organic Chemical Analysis

Takashi Tokunaga, Masahiko Okamoto

Sumitomo Chemical Co., Ltd. Organic Synthesis Research Laboratory

1-98, 3-Chome, Kasugadenaka, Konohana-ku, Osaka, 556-8558, Japan

Abstract

Microchip systems for chemical and biochemical analysis, called Lab-on-a-chip or a micro total analysis system (μ -TAS), have been developed for the last two decades. Lab-on-a-chip can integrate miniaturized experimental processes, such as separation, reaction and detection, in micro channel networks on a small chip. In this paper, recent technological developments of microfabricated apparatus including pumps, columns, detectors and spectrometers for organic chemical analysis were reviewed. Future possibilities of Lab-on-a-chip technologies in the chemical industry were also mentioned.

Keywords: Lab-on-a-chip, μ -TAS, Microfluidics, Organic Chemical Analysis, Chromatography, Spectroscopy

目次

- I. はじめに
 - II. 研究の方向性
 - III. マイクロチップ分析技術の現状
 - 1. 送液技術
 - (1) 電気浸透流ポンプ
 - (2) シリンジポンプ
 - (3) ダイアフラムポンプ
 - (4) ラボオンディスク (Lab-on-a-disc)
 - 2. 分離技術
 - (1) キャピラリーゾーン電気泳動
 - (2) 粒子状充填剤
 - (3) モノリス型充填剤
 - (4) マイクロピラーアレイカラム
 - 3. 検出技術
 - (1) 紫外 (UV) 吸光検出法
 - (2) レーザー励起蛍光 (LIF) 検出法
 - (3) 電気化学検出法
 - (4) 質量分析 (MS) 検出法
 - (5) 熱レンズ顕微鏡 (TLM) 検出法
 - 4. オンチップ分光法
 - (1) オンチップ MS
 - (2) オンチップ NMR
 - IV. ファインケミカル分野におけるマイクロチップ分析の今後
- 参考文献

住友化学株式会社 有機合成研究所
〒554-8558 大阪市此花区春日出中3-1-98
Tel: 06-6439-9780
Fax: 06-6466-5418
E-mail: tokunagat2@sc.sumitomo-chem.co.jp

I. はじめに

化学の発展の歴史を紐解いていくと、新しい分析法の登場によって大きな発見が生まれることに気がつく。元素の発見は精度が高く簡便な発光分光法の発明[1]によって、天然からの医薬品リード化合物の発見の多くは、クロマトグラフィーの出現により、活性成分を純品として扱えるようになってもたらされたといっても過言ではない。このように考えると、新たな分析法はそれまで予想しなかったような全く新しい研究分野や新たな社会を生み出す源泉であるといえる。

近年、半導体加工技術を利用して作成した基板上で分析を行う技術に大きな注目が集まっている。この技術は、Lab-on-a-chip (ラボオンチップ) や m-TAS (マイクロタス) などとよばれ、ガラスもしくは樹脂製のチップ上にリソグラフィーで微細な流路を作成し (Figure 1)、その中に気体や液体を流すことで、反応や分離分析を行うものである。この“小さな”技術の登場によって、世の中が大きく変わるといわれている。

マイクロチップによる化学分析は、装置が小型、高性能、そして低コストであるため[2]、オンサイト分析や集積化による並列分析[3]などが可能であり、半導体デバイスとよく似ている点が特長である。半導体の登場でエレクトロニクスの分野で起こった進歩が、昔は想像もできなかったスマートフォンやタブレットのある現在の社会を作り出した。同様にマイクロチップ分析によって、このような変化が化学の分野で起これば、今は考えもつかないほどの変化をもたらすことは想像に難くない。これまでマイクロチップ分析は医療診断や環境分析の分野で多くの注目を集めており、有機化学分析、特に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) やガスクロマトグラフィー (GC) による分離や、質量分析 (MS) や核磁気共鳴分光法 (NMR) などのスペクトル分析を駆使する低分子有機化合物分析の分野についてはあまり論じられてこなかった。一方で日本分析機器工業会が国内の企業に対して行った調査[4]では、HPLC や GC のような汎用的な分析装置の小型化のニーズが極めて高いことが示されており、医薬・農薬などのファインケミカルの分野でマイクロチップ分析が実用化されれば研究開発や品質管理に大きな変化が起こればと考えられる。本論文では、この技術の登場で低分子有機化学分析がどのように変わるか、化学企業や製薬企業の製造、研究開発という視点から各要素技術について述べたい。

II. 研究の方向性

最近の研究動向を確認すると1990年代後半に年間1000件程度であった関連論文数は2012年には、25000件以上に伸びており、非常にアクティブな研究分野であることがうかがえる (Figure 2)。論文の内容は、2000年代前半までは電気泳動技術を用いた診断チップが主流であったものの、近年では汎用的な有機化合物分析に適した圧力駆動型ポンプによる報告

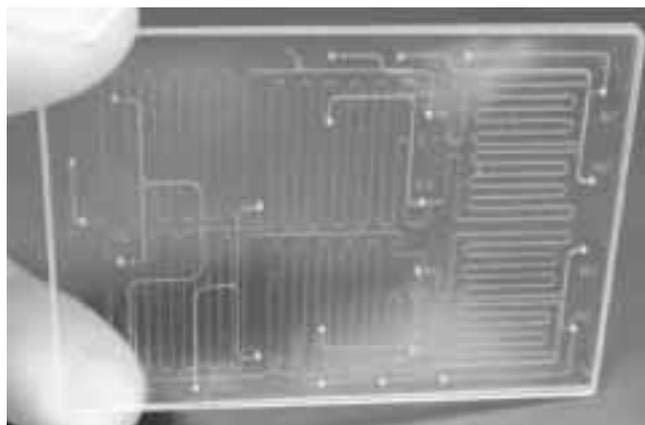


Figure 1. Photograph of a glass microfluidic chip (Institute of Microchemical Technology Co., Ltd. with permission).

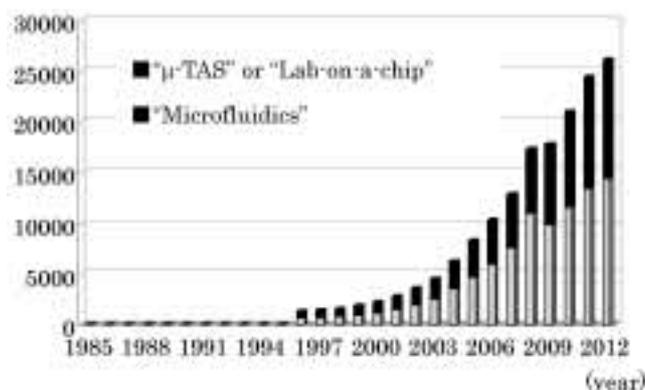


Figure 2. Growth of the literature concerning m-TAS and microfluidics. Sciverse Scopus database was searched with the keywords of “m-TAS” or “Lab-on-a-chip”, and “Microfluidics”.

も多数みられており (後述)、より化学分析に適した技術開発が進んでいる。

電気泳動は流路上に電極を作成するだけで、充填剤を用いずに化合物分離が可能であり、高度な加工技術を必要としない点で有利であるため、DNA、タンパク質などの生体分子の分離・分析がマイクロチップで行われている。しかし、電気泳動の原理では有機溶媒を送液できず、大部分の非水溶性化合物の分離は困難であり、農薬やダイオキシンを始めとする環境分析、食品中の非水溶性成分分析、有機合成研究や化学工業への展開は遅れていた。2000年代に入って、インクジェットプリンターの小型送液ヘッドや燃料電池用の小型送液ポンプの急速な進歩や電気浸透流ポンプの改良によって、HPLC のように圧力駆動型のマイクロポンプを用いる送液方法が普及し、マイクロチップ分析の汎用性が格段に向上した。

研究のアクティビティーは、アメリカ、ヨーロッパ各国、日本が高い状態を保っている。この中でアメリカ、ヨーロッパは電気泳動方式が主体であり、主に医療診断用チップの開

Table 1. Companies producing and commercializing microfluidics.

Company	Foundation	Country	Detail
Institute of Microchemical Technology Co., Ltd.	2001	Japan	Standard & custom-made chips, detectors
Fluidware Technologies Inc.	2002	Japan	Standard & custom-made chips
Fuence Co., Ltd.	2002	Japan	Custom-made chips
Microfluidic System Works Inc.	2010	Japan	Custom-made chips
Micalyne Inc.	1982	Canada	Custom-made chips
GeSim GmbH	1995	Germany	Custom-made chips, accessories
Epigem Ltd.	1995	United Kingdom	Custom-made chips
Micronit Microfluidics BV	1999	Netherlands	Standard chips
thinXXS Microtechnologies AG	2000	Germany	Standard chips
LioniX BV	2001	Netherlands	Custom-made chips,
Microfluidic ChipShop GmbH	2002	Germany	Standard & custom-made chips, accessories

発に強い。一方で日本ではマイクロポンプの開発が活発であり、汎用的なマイクロチップ分析に最も力を入れていると考えられる。また最近ではマイクロチップを扱うベンチャー企業も多く[5]、簡単なパーツの入手や流路加工等はすぐのできる環境にある (Table 1)。

III. マイクロチップ分析技術の現状

マイクロチップ分析を用いて有機化合物の分離分析を行うためには、送液、分離及び検出系が必要である。ここではマイクロチップ分析における、これらの要素技術の開発状況を紹介する。

1. 送液技術

マイクロチップ分析では、化合物が溶解した液体を自在にコントロールして試料の移動、分離や分析を行う。そのため、非常に高性能な送液ポンプが要求される。現在の HPLC ではダブルプランジャー型のポンプが広く採用されており、ナノフローポンプでは送液量も数10nL/min と微量送液が可能である[6]。しかしながら、溶媒リザーバーを含めたシステム全体が大きく、またチップとの接続に用いるコネクター部分での拡散が避けられない。これらの問題を解決するためには、ポンプ自体が十分に小型で、チップ上に直接接続できるものでなくてはならない。この要求を満たすポンプについて以下に紹介する。

(1) 電気浸透流ポンプ

誘電体とそれに接する溶液の間には、静電的に正負の電荷が生じる。たとえばシリカ表面には SiO^- が生じ、それに接する溶媒がカウンターカチオンとなる。この状態で電圧をかけると、正に荷電した溶媒が負極側に移動する電気浸透流が生じる[7]。マイクロチップ分析の初期には、流路そのものを利用して電気浸透流を発生させるものが多かったが、複雑な流路、多流路の制御や充填剤による分離を想定した場合には得られる圧力が不十分で、応用範囲が狭いという欠点があった。このため現在では同じ原理でありながら高圧力で送

液が可能な電気浸透流ポンプが開発されている[8]。このポンプは電気浸透流を利用するため栓流で、駆動部がないため低流速でも脈流が生じず、小型化が容易であるという特長がある。最近では送液圧力が1200bar という HPLC に匹敵する圧力を実現しており、送液方法としては極めて有望である。欠点としては原理的に使用溶媒が水系溶媒 (水、緩衝液)、メタノール、アセトニトリル程度までに制限されるところにある。また原理的に電気分解する化合物が分析できない点と、溶媒の pH 変化が避けられない点には注意を要する。

(2) シリンジポンプ

シリンジポンプは、シリンジ内の溶液を順次押し出すことで送液するポピュラーな送液方法であり、マイクロチップ分析にも広く一般に用いられている。しかし、回転運動を直線運動に変換するボールネジの回転周期に同調して脈流が生じるため[9]、送液が安定せず、分析精度が低下する。また溶媒の再充填が必要で装置サイズも大きい点がマイクロチップ分析における欠点である。

(3) ダイアフラムポンプ

電圧をかけることで変形する圧電素子 (ピエゾ素子) を利用したピエゾ型ダイアフラムポンプは、インクジェットプリンターの送液ユニットとして発達してきたものであるが、現在では燃料電池用メタノールの送液に用いられるなど用途が拡大している。そのため、耐有機溶媒性の小型ポンプが多数市販されており、使用溶媒を選ばない汎用性の高いマイクロチップ用ポンプとしての利用が可能である。現在では、ダイアフラムポンプをマイクロチップ上に作り込む試み[10]や、他のチップとの接続を前提に設計されたポンプユニット (耐圧 5 kPa、送液能力 200nL/min)[11] (Figure 3) も開発されている。毎回異なった条件で検討を行う研究用途には、容易に組み合わせが可能なポンプユニットのメリットは極めて大きい。

(4) ラボオンディスク (Lab-on-a-disc)

ポンプではないが、送液方法として遠心力を利用したラボオンディスクが知られている。これはちょうど音楽 CD のよ

うなディスクに微細流路を作成し、回転によって生じる遠心力で送液を行う方法である[12](Figure 4)。送液の際に必要なバルブの方式には、表面張力を利用したキャピラリーバルブ、疎水性コートをした壁面に施す疎水性バルブ、サイホンバルブなどがある。いずれのバルブでも一定の回転数になるまでは、容易には次のセルに溶液が移動しないため送液のコントロールが可能である。ラボオンディスクの利点は、使用溶媒に制限がない、一滴単位でも送液可能、多検体処理が容易、低コストであることなどが上げられる。完成した分析系をディスク上に作りこむ必要があるため、分析条件を頻繁に変更する研究用途よりも、確立された特定の操作を多検体処理するのに適している。同技術を応用した Gyrolab™ が免疫アッセイ用のシステムとして GE ヘルスサイエンスから市販されている。

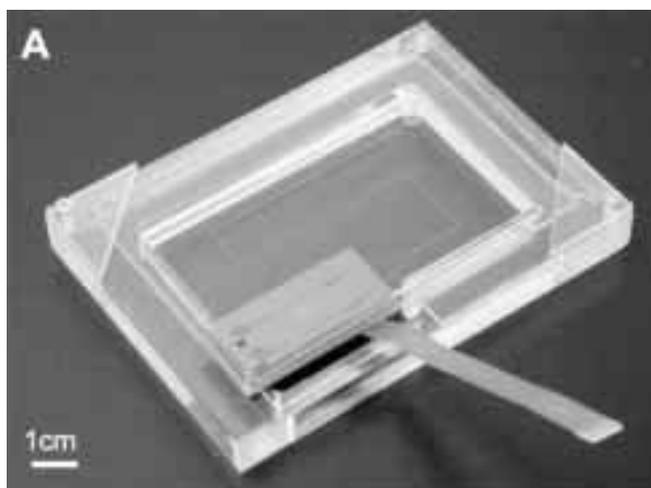


Figure 3. Photograph of a microfabricated device including diaphragm pump unit. Reprinted with permission from Ref[11].

2. 分離技術

マイクロチップの分離法は、1980年代初頭に登場したキャピラリーゾーン電気泳動をチップ上で行うことから始まった。その後、キャピラリー電気クロマトグラフィー (CEC) の時代を経て、現在はポンプによる圧力送液と各種充填剤による汎用性の高い分離技術へと発展しつつある。

(1) キャピラリーゾーン電気泳動

キャピラリーゾーン電気泳動 (CZE) は電気浸透流を利用するため駆動部が不要で、電極をチップ上に作成するだけで実施でき、また充填剤を必要としないため、初期のマイクロチップ分析では最も一般的な分離方法であった。しかし、原理的に緩衝液などの水系溶媒の使用が必須であり、主として緩衝液に可溶性核酸、ペプチドなどの生体成分の分離[13]に適用範囲が限られる。

(2) 粒子状充填剤

粒子状のシリカ系充填剤は、逆相、順相ともに非常に分離能が高く、適応範囲が広いことが最大の特長である。マイクロ流路への充填方法を始めとして、多くの点でこれまでに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) や超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) で蓄積された膨大なノウハウを活用できる。現在ではキャピラリー HPLC や CEC 用のキャピラリーの作成方法を転用するなどして、目的に合わせた粒子径の粒子を充填することが可能である[14](Figure 5)。粒子状充填剤を用いる欠点として背圧が高いことが挙げられるが、近年、電気浸透流ポンプが急速に改良され十分な吐出圧力を有するものも開発されており、この点はほぼ克服されたと考えてよい。今後、HPLC カラムメーカー各社が参入し、充填剤のバリエーションの充実やロット間差が低減されれば信頼性の高い分離手法になると思われる。

(3) モノリス型充填剤

網目状の三次元構造をもつモノリス型充填剤をマイクロ流



Figure 4. Photograph of the Lab-on-a-Disc. The 104 structures incorporated into a single CD (12 cm in diameter). Reprinted with permission from Ref[12].

路内に形成する試みも報告されている (Figure 6)。モノリス型充填剤は、シリカ系モノリス[15]と有機ポリマー系モノリス[16]に大別することができる。いずれも送液抵抗が低く、送液の圧力が十分でない小型ポンプでも送液ができることが利点である。ポリマー系充填剤は、モノマーを流し込み、光重合等で特定の流路だけにモノリスを充填可能であり、加工のしやすさがメリットである。

(4) マイクロピラーアレイカラム

マイクロ流路作成時にフォトリソグラフィで微細な網目構造をチップ上に作りこみ、この構造体とのインタラクションによって化合物を分離するという手法が考案されている[17]。マイクロピラーアレイカラム (Figure 7) などと呼ばれるこの構造は、入り口部分から出口まで流路の幅が一定のため圧が低く抑えられる。さらにどの分岐を通っても流路長

が等しくなるように精密に設計されているため分離能が極めて高く、カラム長30mのピラーアレイカラムチップの理論段数は 1×10^6 段に達している[18]。表面をさらにODSなどで修飾することも可能であり[19]。マイクロチップ独自の分離担体として更に利用が広がると期待される。

3. 検出技術

これまでのガラス器具を用いたマクロな実験とは異なり、マイクロチップ上で化合物を分析する場合、流路が小さく検出部に存在する分析対象分子数が極めて少ないため高感度の検出法が必須である。感度の面に着目して、検出法のマイクロチップ分析への適用性を考えてみたい。

(1) 紫外 (UV) 吸光検出法

紫外可視吸光検出は、誘導体化を必要とせず大部分の化合物を検出することが可能であり、その高い汎用性から HPLC やキャピラリー電気泳動 (CE) では最も一般的である。しかしながら、微細流路で微量化合物を扱うマイクロチップ分析では感度が不十分で報告例はわずかである[20]。

(2) レーザー励起蛍光 (LIF) 検出法

蛍光分子をレーザーで励起して生じる蛍光を検出する LIF 法は、検出感度が高いため分析対象がマイクロチップ分析同様に少ないキャピラリー電気泳動で広く用いられてきた。マイクロチップ分析でも一般的な検出法であり、フルオレセインを f mol/L オーダーで検出可能である[21]。検出の前に蛍光誘導体化が必要であり、誘導体化操作の煩雑さ、コンタミネーションによる分析精度の低下などが問題となるが、この点に関しては、オンチップでの蛍光誘導体化反応を行うことで解決できる[22]。蛍光基を有する特定の化合物だけを特異

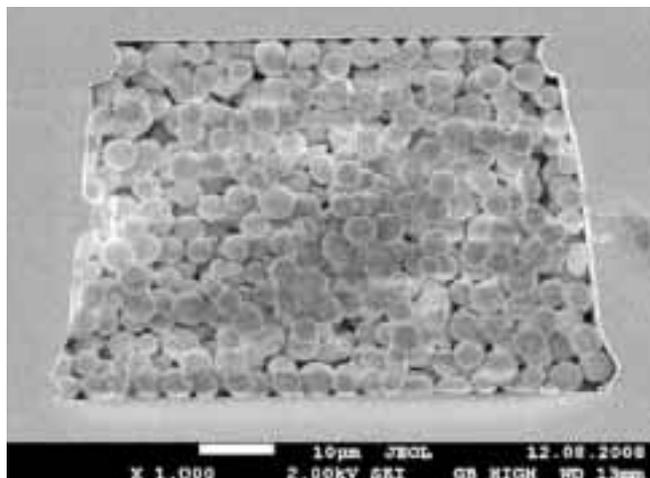


Figure 5. Scanning electron micrograph of a cross-section of microchip separation channel packed with 3 μm -sized particles. Reprinted with permission from Ref[14].

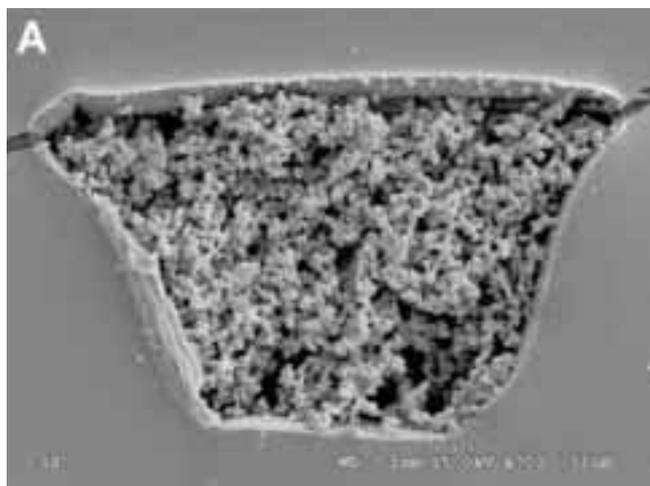


Figure 6. Scanning electron micrograph of a cross-section of microfluidic channel containing monolith covalently attached to the wall. Reprinted with permission from Ref[16].

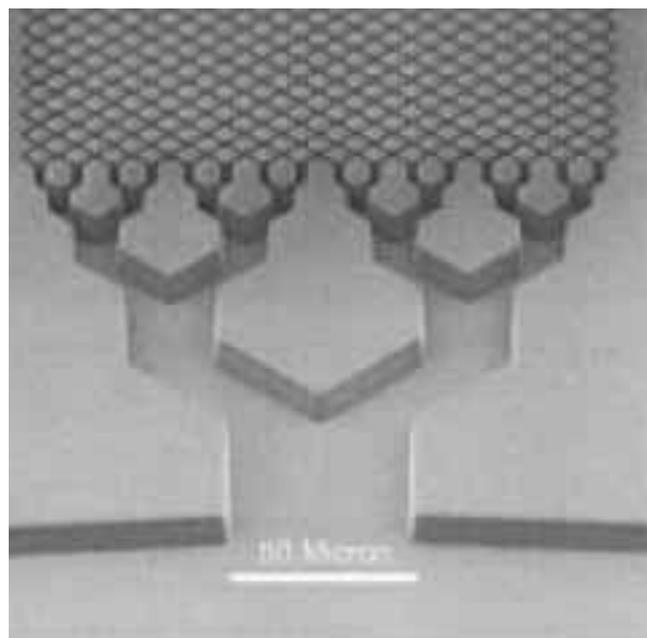


Figure 7. Scanning electron micrograph of a micro pillar array column. Reprinted with permission from Ref[17].

的に検出できるが、反対に網羅的な検出には不向きである。実際の応用例として、ストレスマーカーである唾液中に含まれる微量なコルチゾールを測定する手法が報告されている[23]。

(3) 電気化学検出法

電気化学検出は、試料を誘導体化せずに $n \text{ mol/L}$ オーダーで検出できる方法である[24]。マイクロチップ上に電極を作成するのが容易で、分光検出に比べて装置が大型化しない利点がある。ただし、酸化還元物質でなければならないなど分析対象を選ぶ点に注意が必要である。

(4) 質量分析 (MS) 検出法

質量分析計による検出法は一般的に感度が高い。マイクロチップの流路の末端にエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) のエミッターを作成し、ESI マススペクトルを直接測定する手法[25]は一般的な MS 検出法の一つであり (Figure 8)、質量分析計用の MS チップとしてアジレント・テクノロジー社から市販されている。また、先述のラボオンディスクで分離した成分をマトリックスレーザー支援イオン化法 (MALDI) で直接測定する方式も開発されている[26]。ただし、イオン化しにくい成分には適しておらず、検出法としては万能ではない。

(5) 熱レンズ顕微鏡 (TLM) 検出法

熱レンズ顕微鏡検出は、測定部位の最適な厚さが $10 \mu\text{m}$ と極めて薄いため、マイクロチップ分析のみに適用可能な高感度検出法である。その原理は、物質の光吸収、熱放出という光熱変換の原理に基づいているため、化合物によらず検出が可能であり、ポルフィリン誘導体をわずか数分子で検出するほど高感度である[27]。装置はマイクロ化学技研社より市販されており (Figure 9)、現在は小型の検出器[28]や円二色性検出器も開発されている[29]。

オンチップ分析の検出法について Table 2 にまとめた。感度の面から LIF 及び TLM がマイクロチップ分析に適していると考えられる。熱レンズ顕微鏡は感度のみならず、汎用性にも優れているため、現段階で最も適した検出法であるといえる。

4. オンチップ分光法

オンチップ分析法では、TLM や LIF による超微量検出が可能でも、目的成分の構造情報は得られない。目的成分だけ

を分離し、濃縮操作後に測定を行うとコンタミネーションやサンプルロスが避けられないため、オンチップで直接分光学的手法を用いて検出し、構造情報を得ることが求められる。そこで構造情報を得るための MS や NMR のオンチップ化の現状を以下に述べる。

(1) オンチップ MS

MS については、前述の MS チップがあるが、すでにオンチップでの分析について多くの検討がなされている。イオン

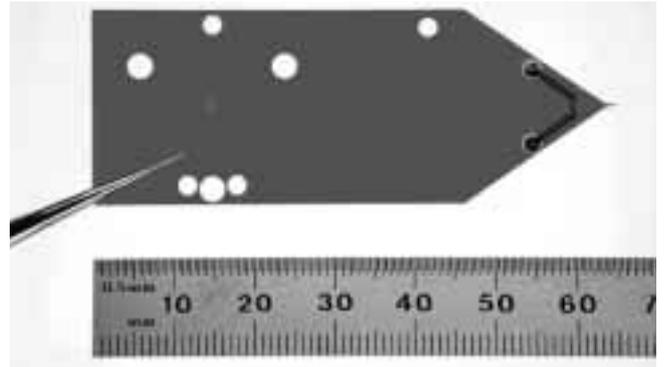


Figure 8. Photograph of a MS chip. The dark pattern on the right end of the chip is the electrodeposited metal for contact to the fluid flow channel near the electrospray tip. Reprinted with permission from Ref[25].



Figure 9. Photograph of a thermal lens microscope (Institute of Microchemical Technology Co., Ltd. with permission).

Table 2. Detection methods for m-TAS.

Detection	Sensitivity	Versatility	Derivatization
Ultraviolet	+	++	NR
Electrochemical	++	+	NR
Laser induced fluorescence	+++	+	R
Mass spectrometry	++	++	NR
Thermal lens	+++	+++	NR

R: Required, NR: Not required

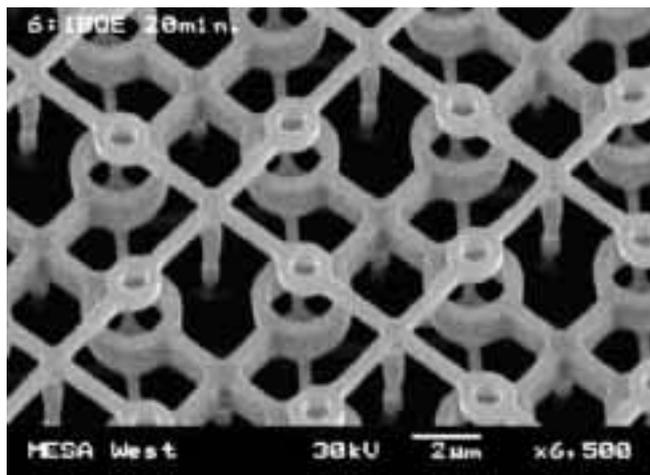


Figure 10. Scanning electron micrograph of microfabricated ion trap arrays. All layers have been defined in tungsten and the structure has been released giving air gaps between trap elements. $r = 1.0$ mm. Reprinted with permission from Ref[32].

化法はチップの流路の末端にキャピラリー状のエミッターを設けた ESI 法が一般的である。様々な質量分離部が開発されており、磁場型[30]、四重極型[31]、イオントラップ型[32] (Figure 10)、飛行時間 (TOF) 型[33] (Figure 11) とバラエティーに富んでいる。また装置も数センチ以下となっており、感度の問題を解決すれば、今後の可能性が十分に期待できる。

(2) オンチップ NMR

構造情報を得る上で最も強力なツールである NMR もプローブのオンチップ化の報告があり (Figure 12)、すでにオンフロー ^1H NMR 測定[34]、 H-H COSY [35]などの二次元測定も報告されている。装置はキャピラリー状の流路から、試料を注入し、中央の球形の試料セルに導入する。試料セルの容量は56nLであり、通常の LC-NMR の約1/1000である。感度が低いことが問題となる NMR においては、液量を減らして試料濃度を上げることやキャピラリー NMR のようにマイクロコイルによる感度の改善が期待できる。

IV. ファインケミカル分野におけるマイクロチップ分析の今後

企業のニーズからも明らかなように、HPLC 法のような汎用的な有機化合物分析法の小型化、低コスト化は全く新しい研究開発、品質管理体制を企業にもたらすと考えられる。これまで化学分析には高額な大型分析装置が必要であり、費用や装置スペースの制約は避けられなかった。しかし、マイクロチップ技術により分析装置が低価格で小型になり、各実験台で分析結果が得られるようになるかもしれない。実現すれば測定までのタイムラグがなくなり、研究の飛躍的なスピードアップに繋がるであろう。また小型で低価格な装置であれば、反応容器ごとにチップを接続して、オンライン分析をす

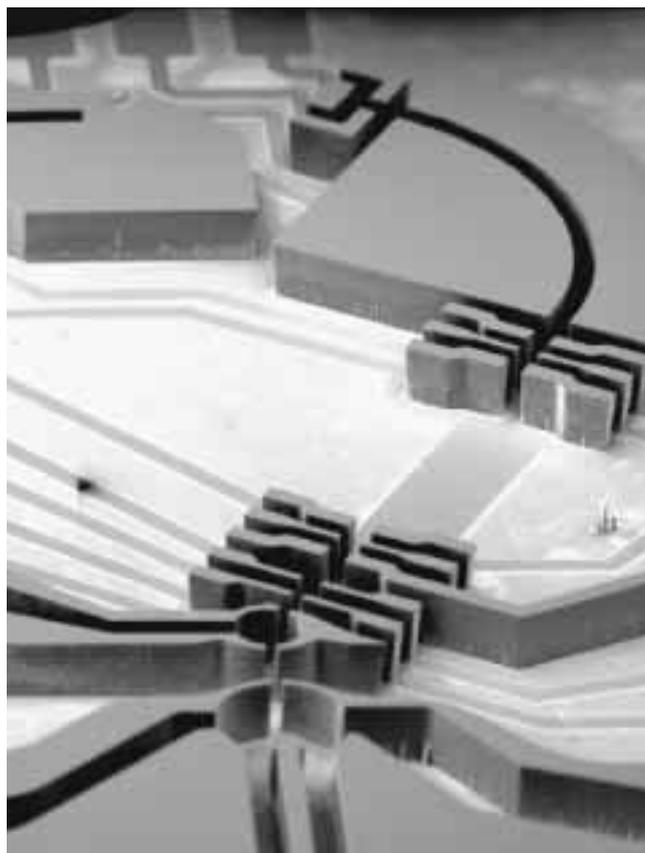


Figure 11. Scanning electron micrographs of the fully integrated TOF micro mass spectrometer. Reprinted with permission from Ref[33].



Figure 12. Scanning electron micrograph of a microfabricated Helmholtz coil. Fluidic microchannels are seen on top and bottom to interface spherical sample chamber with the external world. Reprinted with permission from Ref[35].

ることも可能であり、反応条件をリアルタイムモニタリングの結果から設定できるようになる。また同様に製造管理に関しても、現在のように製品を分析して評価するのではなく、反応をオンラインでモニターし、品質を確認しながら、各工程を管理していくことが可能になると考えられる。

一方で小型化による高性能化といった観点から見ると、高感度化のメリットが大きいであろう。TLM 検出による高感度検出や、NMR の小型化による感度向上はマクロな分析系では実現不可能であり、マイクロチップだからこそ実現することである。

集積化という点も注目に値する。マイクロチップ分析では、各機能を持つチップ同士をつなぎ合わせたり、一枚のチップ上に集積することで多機能なチップを作り出すことが可能である。これにより、少量の試料をチップに注入することで、クロマトグラフィー、検出、分光学的測定による多面的な構造情報 (LC-NMR-MS のような) を得ることができ、データベースを併用することで、検出=構造決定、すなわちピークが検出できたら構造式が分かるという究極のハイスループット分析技術の開発へと繋がるものと信じている。

その実現のためには、小型でも高性能な送液ポンプや高分離能な充填剤の開発、分光法のさらなる高感度化が不可欠である。現在のマイクロチップ分析はまだ研究段階であり、実用的な装置がやっと世の中に出始めた段階である。マイクロチップ分析が少しでも早く実用化され、その発展が社会のニーズになることを切望してやまない。

参考文献

- [1] トリフォノフ著「化学元素発見への道」内田老鶴圃, 1994.
- [2] 北森武彦「早わかりマイクロ化学チップ」丸善, 2006.
- [3] Huft, J.; Haynes, C. A.; Hansen, C. L. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 2999–3005.
- [4] 日本分析機器工業会「マイクロチップテクノロジーを用いた分析機器・技術に関する調査研究報告書」2001.
- [5] Haber, C. *Lab Chip* **2006**, *6*, 1118–1121.
- [6] Agilent technologies, Agilent 1260 Infinity Nanoflow Pump User Manual.
- [7] Wang, W.; Zhoua, F.; Zhaoa, L.; Zhang, J.; Zhua, J. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1170*, 1–8.
- [8] Gu, C.; Jia, Z.; Zhu, Z.; He, C.; Wang, W.; Morgan, A.; Lu, J. J.; Liu, S. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 9609–9614.
- [9] Green, R.; Vanapalli, S. A. *Lab Chip* **2009**.
- [10] Ezkerra, A.; Fernández, L. J.; Mayora, K.; Ruano-López J. M. *Lab Chip* **2011**, *11*, 3320–3325.
- [11] Fujii, T.; Sando, Y.; Higashino, K.; Fujii, Y. *Lab Chip* **2003**, *3*, 193–197.
- [12] Honda, N.; Lindberg, U.; Andersson, P.; Hoffmann, S.; Takei, H. *Clin. Chem.* **2005**, *51*, 1955–1961.
- [13] Effenhauser, C. S.; Bruin, G. J. M.; Paulus, A.; Ehrat, M. *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3451–3457.
- [14] Jung, S.; Ehlert, S.; Mora, J. A. Kraiczek, K.; Dittmann, M.; Rozing, G. P.; Tallarek, U. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 264–273.
- [15] Wu, Q.; Bienvenue, J. M.; Hassan, B. J.; Kwok, Y. C.; Giordano, B. C.; Norris, P. M.; Landers, J. P.; Ferrance, J. P. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 5704–5710.
- [16] Mair, D. A.; Geiger, E.; Pisano, A. P.; Fréchet, J. M. J.; Svec, F. *Lab Chip* **2006**, *6*, 1346–1354.
- [17] He, B.; Tait, N.; Regnier, F. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 3790–3797.
- [18] De Malsche, W.; Op De Beeck, J.; De Bruyne, S.; Gardeniers, H.; Desmet, G. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 1214–1219.
- [19] Slentz, B. E.; Penner, N. A.; Regnier, F. E. *J. Chromatogr. A* **2002**, *948*, 225–233.
- [20] Ericson, C.; Holm, J.; Ericson, T.; Hjertén, S. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 81–87.
- [21] Ros, A.; Hellmich, W.; Duong, T.; Anselmetti, D. *J. Biotechnol.* **2004**, *112*, 65–72.
- [22] Heleg-Shabtai, V.; Gratziany, N.; Liron, Z. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *571*, 228–234.
- [23] Tanaka, Y.; Naruishi, N. *YAKUGAKU ZASSHI* **2008**, *128*, 1595–1604.
- [24] Wang, J.; Pumera, M.; Chatrathi, M. P.; Rodriguez, A.; Spillman, S.; Martin, R. S.; Lunte, S. M. *Electroanalysis* **2002**, *14*, 1251–1255.
- [25] Yin, H.; Killeen, K.; Brennen, R.; Sobek, D.; Werlich, M.; van de Goor, T. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 527–533.
- [26] Gustafsson, M.; Hirschberg, D.; Palmberg, C.; Jörnvall, H.; Bergman, T. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 345–350.
- [27] Tokeshi, M.; Uchida, M.; Hibara, A.; Sawada, T.; Kitamori, T. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2112–2116.
- [28] Tokeshi, M.; Yamaguchi, J.; Hattori, A.; Kitamori, T. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 626–630.
- [29] Yamauchi, M.; Mawatari, K.; Hibara, A.; Tokeshi, M.; Kitamori, T. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2646–2650.
- [30] Diaz, J. A.; Giese, C. F.; Gentry, W. R. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2001**, *12*, 619–632.
- [31] Malcolm, A.; Wright, S.; Syms, R. R. A.; Dash, N.; Schwab, M. A.; Finlay, A. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 1751–1758.
- [32] Blain, M. G.; Riter, L. S.; Cruz, D.; Austin, D. E.; Wu, G.; Plass, W. R.; Cooks, R. G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *236*, 91–104.
- [33] Wapelhorst, E.; Hauschild, J. P.; Muller, J. *Sens. Actuators A* **2007**, *138*, 22–27.
- [34] Wensink, H.; Benito-Lopez, F.; Hermes, D. C.; Verboom,

W.; Gardeniers, H. J. G. E.; Reinhoudt, D. N.; van den Berga, A. *Lab Chip* **2005**, *5*, 280–284.
[35] Walton, J. H.; de Ropp, J. S.; Shutov, M. V.; Goloshevsky,

A. G.; McCarthy, M. J.; Smith, R. L.; Collins, S. D. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 5030–5036.