

マイクロ・プロセス・トモグラフィーによる 高濃度多次元バイオチップの開発

High concentration multi dimensions bio chip by micro process tomography

1091014



研究代表者

千葉大学大学院 工学研究科

教授

武 居 昌 宏

【研究の目的】

直径が μm であるマイクロ流路を用いた、バイオチップの研究が多く行われている。しかしながら、この従来のマイクロ流路では、ナノサイズの高濃度粒子を超高速高効率に分析するという発想が存在しない。したがって、現在、サイトメトリーや遺伝子解析などの人間生活レベル発展のための最重要項目について、大きな足かせとなっていた。本研究の目的は、多次元的にナノサイズの高濃度粒子を超高速高効率に分析するマイクロ流路を用いたバイオチップを開発することにある。

【研究の内容、成果】

1. 研究の内容

マイクロチャンネルの応用範囲は広く、医療や機器、科学などその用途は多岐にわたり、マイクロチャンネルは大きさを変えずに数を増やすことにより生産量を増大させるために、実験室での合成から工業的な生産への移行が格段に高速・効率的に行えると期待されている。これらのために、マイクロチャンネル内での粒子の分離や分級などの技術が不可欠である。

本研究ではマイクロチャンネル内での電場による粒子操作技術を確認させるため、初めに基礎研究とし、①から⑥について研究を行った。

① 高濃度多次元バイオチップの詳細設計：前

年にすでに実施した基本設計を元に、Fig.1とFig.2に示した通り今までにない120個もの多数の電極をマイクロ流路に配置したセンサを設計し、MEMSセンサを応用したMPTを製作して固液二相流のインピーダンスを測定した。ナノ粒子の三次元的な分布を求めることができた。

② 高濃度多次元バイオチップの製作および多次元MPTバイオ流体チップの製作：基本設計に従い、自作にて製作し、その製造ノウハウも蓄積することができた。電気的な処理、AD変換器後のソフトウェア的処理なども、自作にて行った。インピーダンス値の特徴成分のみを抽

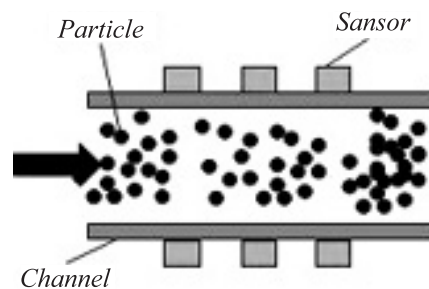


Fig.1 マイクロ流路のPT側面図

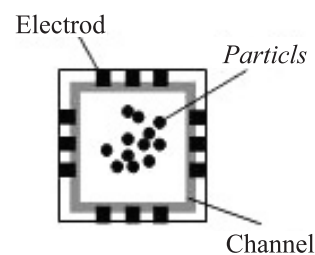


Fig.2 マイクロ流路のPT断面図

出できた。

③ 多次元 MPT 用感度マップの計算：マイクロ流路断面マイクロ粒子位置の全パターンについて感度マップを計算した。本研究代表者が開発した IPT において実績のある一般化ベクトル・サンプルドパターンマッチングを用いた画像再構成法のパラメータを、多次元 MPT 用に最適に調整した。



Fig. 3 120 個の電極を配置した MPT センサ



Fig. 4 実験装置

④ 定量供給における画像再構成の調整：静止した一様分散液体を Fig. 3 に示したセンサ内に挿入し、インピーダンス・アナライザーにより周波数特性を把握し、そのインピーダンス値の妥当性を定量的に検討し、センサの各周波数条件を変化させ、精度が高くなるように周波数およびセンサを調整した。12 個のセンサへの交流周波数は 100 Hz～100 MHz まで可変とした。センサ出力は大幅にノイズが含まれていたため離散ウェーブレットによるノイズ処理法を適用した。

⑤ 高濃度多次元バイオチップによる可視化計測実験：Fig. 4 に示した通り、水の流量、粒子

供給量を変化させて、ファンクション・ジェネレータにより印加電位と周波数を変化させインピーダンスを計測した。実施項目③で求めた感度マップより、濃度分布画像を取得し、データベースを構築することができた。

⑥ 動的制御の可能性の検討とまとめ：全実験データを基にして、精度の確認を行った。さらに、動的制御の可能性について理論的に検討した。

2. 研究の成果

実験より得られた粒子挙動を以下に示す。Fig. 5 は、 $d=1.3\mu\text{m}$, $E=1\text{ V/mm}$, $f=100\text{ kHz}$ における電極近傍の粒子挙動を時系列に示したものである。画像のコントラストを調整して示しており、右側の黒い部分は電極であり、 t は電場印可からの時間である。ここで、矢印に示す 2 つの粒子に着目すると時間経過とともに相互の粒子の位置関係を保ちながら粒子は右側から左側にほぼ平行に移動する。なお、ほかの粒子も同様にほぼ平行に移動し、これらの粒子の挙動は、その強弱はあるものの、いずれの電場強度、周波数ならびに粒子径についても同様である。

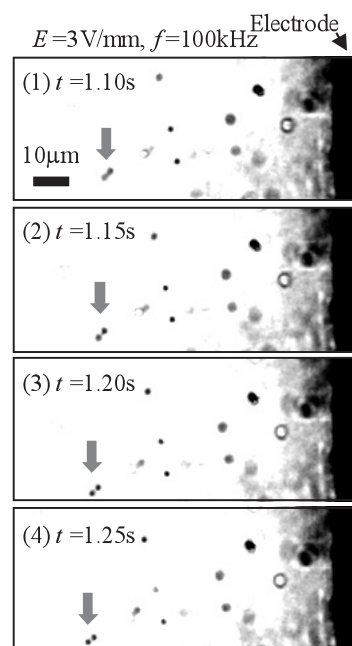


Fig. 5 電極付近の粒子の動き ($d=1.3\mu\text{m}$)

Fig. 6 は各周波数条件における粒子の移動速度を電場強度により整理した図である。代表として、粒子直径 $1.3 \mu\text{m}$ の結果を示す。電場強度の増加に伴い、粒子の移動速度は増大する。何れの周波数においても周波数に依らずほぼ同様の粒子の移動速度となっている。

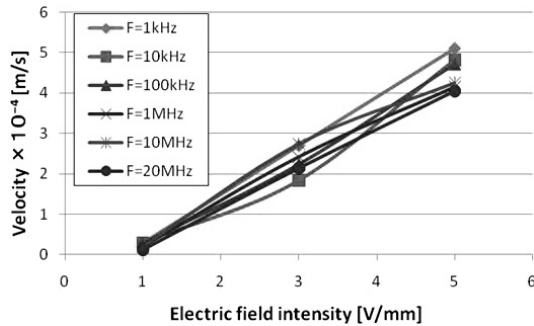


Fig. 6 交流電場における粒子の移動速度

Fig. 7 は電極中央部と電極端部における粒子の移動速度を周波数により整理した図である。粒子直径 $1.5 \mu\text{m}$ 、電場強度 5 V/mm の結果を示す。電極中央部より電極端部のほうが粒子の移動速度が増大する。

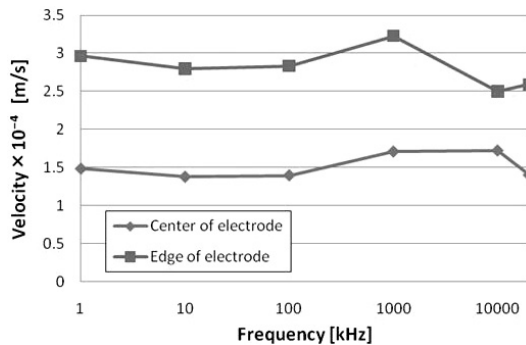


Fig. 7 電極位置の違いによる粒子の移動速度の変化

Fig. 8 は粒子（ポリスチレン）と媒質（水）の誘電率より求めた Clausius-Mossotti factor を周波数により整理した図である。

Fig. 5 において、粒子挙動は移動途中で粒子が可視できなくなることが多い。これは粒子の移動が平行に左に動いているわけではなく、斜め（上から下または下から上）に動いているため、CCD カメラのピントから外れてしまうためである。また、電極近傍と電極から離れた場

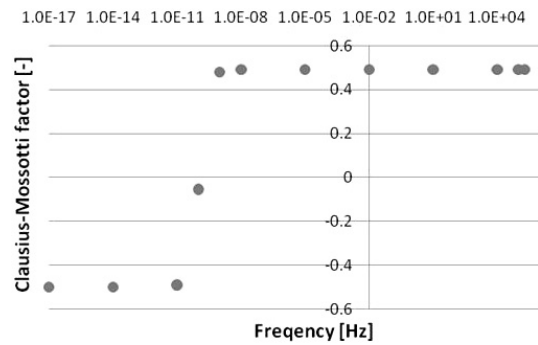


Fig. 8 Clausius-Mossotti 関数

所では面外速度の違いがみられた。このことから計測面内に局所的に三次元的な電場が構成されていると考えられる。

Fig. 6 において、電場強度 E に対応して速度は増大しているが、周波数による影響はほぼ見られなかった。このことは Fig. 8 に示した図で、周波数が 10^{-6} Hz 以降、 $K(\omega)$ が一定だったためである。このため周波数が変わろうが、誘電泳動 F_{dep} は影響を受けず、電場強度 E^2 の影響を受けたために Fig. 8 のような形になったと考えられる。また、本実験で使用したファンクション・ジェネレータは 1 Hz 以下の周波数を出力することができないため、周波数による粒子挙動の変化を測定することはできなかった。

Fig. 6 において、電極中央部より電極端部の方が粒子の移動速度が増大しているが、前述した三次元的勾配が電極端部では大きく、電極中央部では小さいと考えられる。

マイクロチャンネル内での粒子の分離・分級を目的にし、基礎的な知見を得るために粒子の観察を行った。電場強度が増加するに伴い粒子の移動速度も増加し、各周波数においても同様の移動速度となることが明らかになった。今後、 $\text{Re}[K(\omega)] = 0$, $\text{Re}[K(\omega)] > 0$, $\text{Re}[K(\omega)] < 0$ が粒子にどのような影響を及ぼすか評価が必要である。

Fig. 9 は、プロセス・トモグラフィーにより、再構成されたマイクロ流路内のナノ粒子の濃度分布を示したものである。Fig. 10 は、その時間平均の濃度分布を定量的に示したものである。

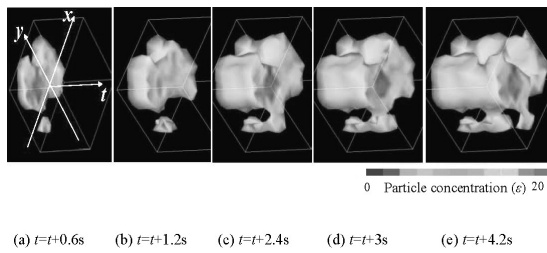


Fig. 9 プロセス・トモグラフィーにより再構成されたマイクロ流路内のナノ粒子の濃度分布 (50 frame/1 s)

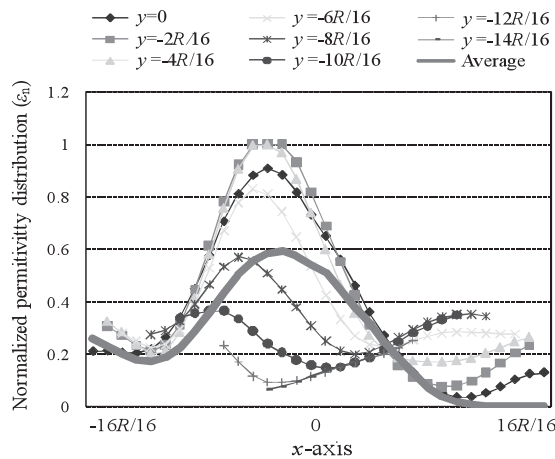


Fig. 10 X 軸断面におけるナノ粒子濃度分布

[今後の研究方向, 課題]

高濃度多次元バイオチップ開発のためのキーテクノロジーとして、管路断面の粒子濃度分布をリアルタイムで計測する電気プロセス・トモグラフィー (PT) 法がある。

今後の研究は、ナノサイズの高濃度微小粒子における混相状態の粒子濃度分布、粒子流速分布、粒子数分布、粒子流量分布、および、加速度分布を、高効率かつ高精度に求めることがで

きる高濃度多次元バイオチップを開発し、フローサイトメトリーや遺伝子解析に適用可能性を検討することを目標とする。

その意義は、この高濃度多次元バイオチップという機械が、遺伝子難病の解決や新薬開発の観点から、更には、新規産業の創出の視点からも人間社会に大きく貢献できることにある。

[成果の発表, 論文等]

1. T. Zhao, M. Takei and D. H. Doh, ECT Measurement and CFD-DEM Simulation of Particle Distribution in a down-flow fluidized bed, Flow Measurement and Instrumentation, Vol. 21, Issue 3, pp. 212-218 (2010)
2. K. Oshi, J.E. Choi, H. Obara and M. Takei, Measurement of Dielectrophoretic Velocities of Microparticles in a Minichannel, Journal of Japanese Society for Experimental Mechanics (日本実験力学会誌) Vol. 10, pp. 79-84 (2010)
3. T. Zhao and M. Takei, CFD-DEM Simulation of Particle Behaviors under Acceleration in a Solid Air Two Phase Flow, 日本冷凍空調学会論文集, Vol. 27, No. 2, pp. 161-168 (2010)
4. J. E. Choi, M. Takei and D. H. Doh, Simulation of the relationship between the Current Pattern and Particle Distribution in Electrical Resistance Tomography, Japanese Journal of Multiphase Flow 混相流, (日本混相流学会論文集) Vol. 24, No. 2, pp. 179-188 (2010)
5. J.E. Choi, T. Zhao and M. Takei, Real-Time Visualization of Multiphase Flow by Means of Electrical Proess Tomography, Journal of Research Institute of Science and Technology, Colleges of Science and Technology, Nihon University, No. 120, pp. 11-20 (2010)