

氏名（本籍）	武藤真和（東京都）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	甲第978号
学位授与の日付	2018年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	光誘起界面流れを用いた非接触液滴操作

論文審査委員	（主査）教授 山本 誠
	教授 佐々木信也      教授 石川 仁
	准教授 元祐 昌廣      教授 上野 一郎

## 論文内容の要旨

マイクロ流体力学（microfluidics）は、マイクロ・ナノスケールに幾何的に拘束された流体の振る舞いや、移動・混合・分離制御を取り扱う分野であり、その応用はインクジェットプリントヘッドなどの工学・化学分野をはじめとして、環境学・薬学・生化学・医療と学際的にまたがっている。この分野では、半導体集積回路のようにガラスチップ上に数十～数百  $\mu\text{m}$  の微小流路（マイクロチャネル）が作製されたマイクロ流体デバイスが用いられる。そこで現在では、実験室での混合・反応・分離・検出といった化学分析を、スケールダウンした一枚のチップ上のマイクロチャネルで再現するといった、 $\mu$ -TAS（micro-total analysis system）や lab-on-a-chip と呼ばれる研究分野が進められている。流れを微小空間にスケールダウンすることの特徴としては、装置の小型化や試料の微量化といった利点も挙げられるが、主には、化学反応の制御が高精度なことにある。

化学分析を行う試料の反応効率をさらに向上させるためには、比界面積を増加させ、分子の拡散距離を短くすることが必要となる。そこで、試料の体積を減少させるために、ナノ・ピコリットルの微小液滴に細胞や試薬を封入し、試験管のように扱うことが提案されている。この混相流（multi-phase flow）を利用した混相流型マイクロ流体デバイス（droplet microfluidics）と呼ばれる分野では、従来のマイクロ流体デバイスの特徴を有するだけでなく、さらなる試料の微量化や界面流動による反応の高効率化、単分散液滴による化学反応の並行処理といった利点に加わる。その応用先としては、ドラッグデリバリーや分子検出を必要とする化学や環境学だけでなく、多岐にわたる分野で注目が集まっており、国内でも機能性材料やソフトマター物理、遠心型デバイス内で人工細胞モデルの構築に成功した例も挙げられ、その急速な発展に伴い応用先の用途や分野も拡大している。混相流

型マイクロ流体デバイスに関する論文数も、ここ 15 年間で 100 倍以上に膨れ上がっており、より複雑かつ正確な操作が要求されているが、対象物に合わせて液滴の物性とサイズが決定してしまうのに対して、その液滴に対応した液滴操作法が必ずしも存在する訳ではない。また、操作の駆動力が流路形状や液滴物性に依存すること、駆動方向がリアルタイムに制御できないこと、選択的な液滴操作ができないこと、といった課題から、あらゆるサイズの液滴を、動かしたい方向に、動かしたい数だけ操作できないといった現状がある。

本研究では、上記の課題を克服するような、マイクロ・ナノ・ピコリットルの幅広いサイズの液滴に対応したフォトサーマル界面流れ (photothermal interfacial flow) を駆動原理とした光誘起界面流れを用いた非接触操作法を提案している。本手法では、従来、光ピンセットによりピコリットル液滴でしかできなかった自由度の高い操作を、レーザ光熱によりマイクロ・ナノリットルサイズまで拡大して実現させる。様々なサイズの液滴に対応させて駆動力を能動的に制御できる操作法の開発は、流体制御の新たなアプリケーションとして、分野を問わずに多くの領域への貢献が期待できる。さらに、その駆動因子の調査や駆動力の算出は、混相流型マイクロ流体デバイスにおける液滴の選別・捕捉・分裂・合体といった重要な操作特性の評価に繋がる架け橋となる。

本論文は全 6 章より構成される。以下に各章の論点について述べる。

1 章では、本研究における研究背景と既存の各種液滴操作法について述べる。その現状から見えてくる、混相流型マイクロ流体デバイス内で液滴を扱う上で求められる操作から本研究の説明へと展開し、操作における光や界面流れの有効性について研究例とともに紹介する。また、ダウンサイジングに伴い顕著となる界面現象についても、その原理とともに記載する。

2 章では、レーザ光の光熱効果から誘起されるフォトサーマル界面流れを用いて実施された、混相流型マイクロ流体デバイス内での液滴のソーティングについて記載する。この液滴ソートでは、ddPCR 等の分野における不良サンプルや特定ウイルスを含む液滴の仕分けを想定している。そこで、液滴ソートと温度場の同時観測が可能なレーザ誘起蛍光法を取り入れた計測システムを構築し、レーザ光照射の光出力に依存する液滴のソート率を、光熱により発生した温度場という観点から調査した。実験では、液滴操作時の温度場をレーザ誘起蛍光法により計測し、得られた可視化画像と液滴の軌道を比較することで両者の関係性を結びつけた。また、分岐流路における液滴のソート率の向上には、液滴に作用する温度勾配や液滴形状による背圧上昇などを考慮する必要があることがわかった。

3 章では、液滴の駆動因子を数式的に導き、2 章で得られたデータを用いてソート特性の定量的な考察を試みた。液滴の駆動が連続相流体から抗力を受けることで誘発されるという発想のもと、Hadamard-Rybczynski の式から駆動力の依存因子を導いた。また、その際の駆動速度は、熱マランゴニ対流による界面流動速度から導出できると考え、依存因子を

含めた形で、駆動力を記述する式を導いた。そこから、駆動力は、液滴の温度勾配と表面積に依存する可能性が示唆された。さらに、2章で得られた可視化画像と液滴軌道の両実験データを駆動力の比例式に代入することで、ソート特性が液滴温度と加熱場-液滴の位置関係によって決定することを定量的に示した。

4章では、液滴操作が液滴サイズに影響することを実験的に示し、駆動力を定量的に導いた。液滴のサイズや速度に適応した操作法を選定し、液滴の軌道を設計するにあたっては、予め駆動力を見積もっておく必要がある。そこで、熱マランゴニ対流による気泡の駆動速度を求めた YGB 理論を導入することで、駆動力の理論値を算出した。算出に必要な、界面張力温度依存性や液滴両端の温度差といった各種パラメータは実験的に取得された。また、得られた駆動力の妥当性を検証するために、レーザ光照射による液滴の捕捉実験から求める駆動力の実験値と比較検証した。両者の比較から、理論値が液滴捕捉による実験値とも良い一致を示し、その値は数 nN 程度であることが判明した。

5章では、レーザ光照射による連続的またはパルスの加熱を想定した実際の操作に向けて、駆動力と操作特性について調査した。そこで、一定のレーザ光出力により液滴を駆動させる場合では、液滴-加熱場間距離と液滴サイズに依存することを確認した。また、浮力と粘度の温度依存性といった液滴物性も駆動力に影響を及ぼし、どちらも約 10%程度の誤差を有することがわかった。また、パルス加熱における加熱場や液滴内部流の立ち上がり時間（時定数）を理論的に導出した結果、数ミリ秒程度となり、ddPCR の液滴ソートにも対応できる可能性を示した。本操作手法と他の操作手法において、同サイズの液滴に作用する駆動力を比較した結果、本手法が最も強い駆動力を有しており、高速に流れる液滴操作にも対応できることを示した。また、pL- $\mu$ L サイズの液滴が操作できるため、数  $\mu$ m の大腸菌から数 100  $\mu$ m の単細胞生物まで幅広いサイズのサンプルを内包できる。

6章では、これまでの内容を総括する。各章で得られた知見を要約し、光誘起界面流れを用いた非接触液滴操作の可能性及び有用性を本研究の結論として述べる。

## 論文審査の結果の要旨

混相流型マイクロ流体工学 (droplet microfluidics) は、pL-nL サイズの微小液滴に細胞や試薬を封入することで、混合・反応・分離・検出といった化学分析を液滴内部にて再現する新しい分野である。比表面積を増加させ、分子拡散距離を短くすることで、界面流動による反応の高効率化、単分散液滴による並行処理といった利点を有することから、多岐にわたる分野での応用が期待されている。そこでは、より複雑かつ正確な微小液滴の操作が要求されるが、その液滴に対応した操作法が必ずしも存在するわけでは

ない。例えば、液滴に DNA を内包することでゲノム解析により疾患診断を行う ddPCR では、高速で流れる液滴の軌道を制御する必要があるが、従来の操作法は制御に必要な駆動力を有していなかった。また、駆動力が流路形状や液滴物性に依存する、駆動方向がリアルタイムに制御できない、特定個数の液滴を選択的に操作できない、といった課題があった。

本研究は、pL- $\mu$ L の幅広いサイズの液滴を、動かしたい方向に、動かしたい数だけ操作することをコンセプトとして、フォトサーマル界面流れ (photothermal interfacial flow) を駆動原理とした光誘起界面流れを用いた非接触操作法を開発し、操作の駆動力の理論的評価と実験的計測に取り組んだものである。本論文は全 6 章より構成される。以下に各章の論点について述べる。

1 章では、本研究における研究背景と既存の各種液滴操作法について記述している。その現状から見える、混相流型マイクロ流体デバイス内で液滴を扱う上で求められる操作から本研究の説明へと展開し、操作における光や界面流れの有効性について研究例と共に紹介している。そこから本研究の位置付けを明確にし、本研究の目的を述べている。

2 章では、レーザー光を用いた光熱効果で誘起されるフォトサーマル界面流れを用いた、液滴のソーティングについて報告している。局所的な温度上昇により液滴周りの界面張力に勾配を発生させることで流れを引き起こして液滴を駆動することができ、分岐流路での液滴のソート率はレーザー光照射の光出力に依存することから、液滴操作時の温度分布をレーザー誘起蛍光法により計測し、実験から得られた温度場と液滴の軌道を比較することで両者の関係性を結びつけている。また、ソート率の向上には、液滴に作用する温度勾配や液滴による背圧上昇などを考慮する必要があることを明らかにしている。

3 章では、液滴の駆動因子を導き、2 章で得たデータを用いてソート特性の定量的な考察を試みている。熱マランゴニ対流による界面流動速度の式を展開することで、駆動力が液滴の温度勾配と表面積に依存することを見出している。さらに、2 章で得た温度場と液滴軌道の両実験データと駆動力の関係式を用いて、ソート特性が液滴温度と加熱場-液滴の位置関係によって決定することを定量的に示している。

4 章では、駆動力の理論式を導出することで理論駆動力を算出している。また、この理論の妥当性を検証するために、レーザー光照射によって液滴を流れ中で捕捉し、求まる駆動力の実験値との比較を行っている。結果として両者は良い一致を示し、駆動力の値は数 nN 程度であることを明らかにしている。

5 章では、レーザー光照射による連続的またはパルスの加熱を想定した実際の操作を想定し、駆動力と操作特性について検討した結果を報告している。連続加熱では駆動力が液滴-加熱場間距離と液滴サイズに依存し、パルス加熱では加熱場や液滴内部流の応答時間が数 ms 程度となることから、ddPCR などにおける液滴ソートに対応できる可能性を示している。また、他の操作手法と駆動力の大きさを比較した結果、本手法が最も強く、操作可能な液滴サイズの範囲も広いため、数 nm の菌類から数百  $\mu$ m の単細胞生

物まで幅広いサイズのサンプルを内包した液滴操作に適応できることを示している。

6 章では、各章で得られた知見を総括し、光誘起界面流れを用いた非接触液滴操作の可能性及び有用性を、本研究の結論として述べている。

本研究にて提案する手法の開発によって、従来、光ピンセットにより fL-pL サイズの液滴でしかできなかった自由度の高い操作を  $\mu\text{L}$  サイズにまで拡大して実現しており、光誘起界面流れによる駆動が、高速な液滴操作にも対応できることが明らかにされた。さらに、駆動因子の調査や駆動力の知見は、操作手法を選定して液滴の軌道を設計する上で必要不可欠な情報である。これを応用することで、デバイス内において液滴の選別・捕捉・分裂・合体といった操作を実現するための特性評価や機能デザインを行うことが可能となり、重要な知見を得ている。よって、本操作法は流体制御の新たなアプリケーションとして多岐に渡る分野、多くの領域への貢献が期待でき、本論文は多くの有益な知見を与えていることから、博士(工学)の学位論文として十分に価値のあるものと認められる。