

氏名(本籍)	佐藤航(新潟県)		
学位の種類	博士(工学)		
学位記番号	博甲第4597号		
学位授与年月日	平成20年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	数理物質科学研究科		
学位論文題目	界面張力を利用した微小送液システムとそのバイオ・ケミカル集積回路への応用		
主査	筑波大学教授	博士(工学)	鈴木博章
副査	筑波大学教授	工学博士	宮崎修一
副査	筑波大学教授	工学博士	丹羽修
副査	筑波大学教授	博士(工学)	神原貴樹
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	富重圭一

### 論文の内容の要旨

近年、化学物質の分析はあらゆる分野においてその需要が高まっており、オンサイトでのセンシングを可能とする簡易かつ小型の分析機器の開発が期待されている。これを実現するため、微小化学分析システム( $\mu$ TAS)と呼ばれる化学分析システムを小型化した次世代デバイスの研究が盛んに行われている。この微小システムの主な構成要素としてはマイクロポンプ(送液)、マイクロリアクター(反応)、マイクロセンサ(検出)などが挙げられ、この一連の操作をワンチップ上で行える集積型マイクロシステムを構築することがこの論文の目的である。そこでまず、大きな課題となっているマイクロポンプに着目し、エレクトロウエットイングと呼ばれる現象を利用することで、センシングシステムとの集積化に適した微小送液機構を作製している。次に、この微小送液システムをセンシングシステムと集積化することで、血液分析を目的とした多項目検出型集積化化学分析システムを作製し、また、この化学集積回路を、今後再生医学などでその需要が高まると考えられる細胞の機能計測への応用を目的として、肝細胞のアンモニア代謝機能を測定するシステムを構築し、その広い可能性を示している。

エレクトロウエットイングとは電極と溶液間の界面張力が印加電位に応じて変化する現象であり、この界面張力は溶液の微小化に伴ってその影響が顕著になる。そのため、マイクロポンプには非常に適した原理であるといえる。この原理に基づいて作製した送液システムは、電極を形成したガラス基板、流路を形成したガラス基板で構成され、駆動部のないシンプルな構造である。エレクトロウエットイング自体は既知の現象であるが、この論文では、低電圧でのエレクトロウエットイングを実現するために、金電極上の電気二重層を効果的に使用したことに新規性が認められる。さらに、この電極電位の正確な制御を実現するために三電極系を送液システムの基本構造として使用している。まず、エレクトロウエットイングの特性を評価するために、金電極上での接触角変化を測定した。1M KClの微小液滴において $-0.9V$  (vs. Ag/AgCl)の電位で49度の接触角変化が起こり、小さな電圧で界面張力が制御できることを示した。さらに、実際にこの接触角変化を利用し、バルブレスで自在に送液を制御できる微小送液システムを作製し、その特性評価を行った。作

製したシステムでは電位によって送液速度が制御できることを明らかにし、 $-1.1V$  (vs. Ag/AgCl) では  $87\mu\text{m/s}$  であった。また、流路のサイズによっても送液速度を制御することができ、流路の高さが  $70\mu\text{m/s}$  の時には  $24\mu\text{m/s}$  であったが、高さが  $1/2$  倍の  $35\mu\text{m/s}$  では  $95\mu\text{m/s}$  に増加し、本システムがより微小化に適した送液原理であることを明らかにした。また、送液時の消費電力は  $10\mu\text{W}$  以下であり、従来の送液原理と比べ、微小化によって送液特性が改善されるだけでなく、格段に小さい駆動電圧及び消費電力で送液できることがこの研究の特色である。

さらに、この送液システムで問題であった送液速度の低さと送液時の電流の増大を解決するために、毛細管現象を利用した送液システムを提案した。システムの作製に当たり、マイクロシステム中での毛細管現象について理論的に検討した。これにより、毛細管現象による送液が、流路のサイズ、濡れ性、溶液の粘性に依存することを明らかにし、これが微小流路中での送液の様子を正確に表していることを実験によって確かめた。毛細管現象による送液速度は非常に速く、液溜から  $10\text{mm}$  の位置で  $20\text{mm/s}$  を示し、マイクロシステム中での高速な送液を実現した。さらに、この毛細管現象を制御するために、エレクトロウエットングをバルブとして応用した。このシステムでは、バルブを透過するときのみ  $-0.9V$  (vs. Ag/AgCl) の電位を印加するため、さらに消費電力の小さい送液機構を実現した。これらのことから、送液システムの作製、評価だけでなく、送液を実現する現象に対する理論的裏付けが示されており、微小システムにおける送液制御の基礎を築いたといえる。

さらに、この送液システムを応用し、電気化学センサを集積化することで、送液、反応、検出をワンチップ上で実現する集積化化学分析システムを作製した。作製したシステムではチップ上にグルコース、ラクテート、GOT、GPT 活性、pH、アンモニア、尿素、クレアチニンをそれぞれ測定するセンサを集積化し、それぞれのセンサが人の血液の正常範囲を測定できる性能を持つことを示した。さらに、血液などの実サンプルの測定を見据え、妨害物質を電氣的に除去するシステムを送液制御用の電極を使用することで実現し、測定時に前処理を必要としないシンプルな構造でのセンシングを可能にした。さらに、8項目の測定対象物質およびアルブミンを人の血液と同程度の濃度で混合した疑似血清を調整し、構築したチップで測定を行った。その結果、市販の測定キットと同程度の値を得ることができ、一般血液機能、肝機能、腎機能を評価することができることから、健康診断チップとしての使用が可能であることを示した。

集積化システムは臨床検査に限らず、医学研究用のツールとしての応用も期待できる。そこで、送液システムとアンモニアガスセンサを集積化したシステムを肝細胞のアンモニア代謝機能の測定に応用した。このシステムではアンモニアのガス化を促進する pH の調整を電流制御によって行い、可逆的に調整できるようにすることで、アンモニアの繰り返し測定を実現した。実際に、ラットから採取した肝細胞をチップ上で培養し、3時間のアンモニアの代謝測定を行い、アンモニア添加直後の30分で急激に代謝が進むことを明らかにした。また、チップで3時間後の代謝を測定した結果は、市販の測定キットにより得られた結果と良い一致を示した。さらに、このシステムは迅速かつ時間分解能の高い測定を実現した。

本研究は、微小化、低消費電力を念頭に置いた送液システムの研究を進めてきた点に特色がある。従来の研究では、マイクロポンプ、マイクロセンサと等、素子ごとの研究がほとんどであったが、この研究では送液機構と電気化学的センシングシステムを集積化することで、サンプルの送液、試薬の混合、測定対象の検出を微小なチップ上で実現し、 $\mu\text{TAS}$  の研究を大きく前進できたことが示されている。さらに、血液検査に代表される臨床診断に限らず、細胞の機能計測では再生医学など新たな医療分野の研究の発展を加速させるツールとしての応用も提案されている。現時点では、サンプリングシステム、演算装置、電源との集積化など課題は少なくない。しかしながら、この研究で構築したマイクロフルーイディックシステムおよびマイクロシステムは  $\mu\text{TAS}$  の基礎を築いた点は評価に値する。

## 審査の結果の要旨

この論文では、エレクトロウェットティングを送液機構として用いることで、電気化学センサを多数搭載したチップ上で複数の生化学分析が可能となることを示している。エレクトロウェットティングは既知の現象であるが、これを微小システムの送液機構に応用し、血液検査8項目を一滴のサンプルにおいて測定できる装置を実現した点に新規性が認められる。特に、この実現のためにシンプルで低消費電力を念頭に置いて研究を進めた点に特色があり、健康診断などへの実用化を含めた今後の展開が期待される成果である。

一方、この機構を培養肝細胞のモニタリングに応用し、チップ上で培養と分析を連続的に行うシステムも提案している。これにより、高い時間分解能で肝細胞のアンモニア代謝を測定しており、従来では困難な分析が可能となったことを示している。現象に対する理論的裏付けも示されており、この分野の一つの基礎を築いたことが評価に値する。

よって、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。