

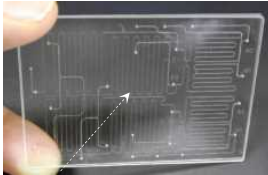
ナノ流路開閉バルブを実装した 超微量極限分析システム

慶應義塾大学 理工学部 システムデザイン工学科
准教授 嘉副 裕

2022年2月17日

マイクロ流体デバイス工学

▶ ガラス

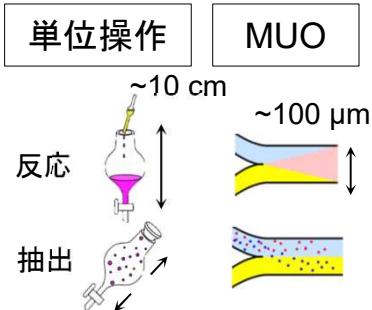


M. Tokeshi et al., *Anal. Chem.* (2002)

SEM画像

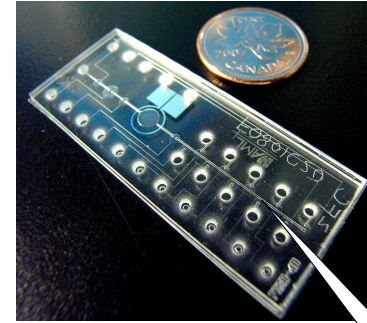


▶ 集積化の方法論: マイクロ単位操作 (MUO)



マイクロ流体デバイス工学の進展

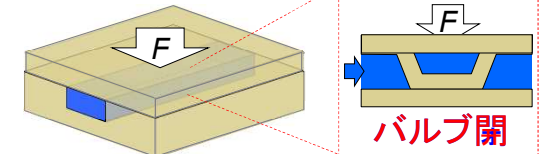
▶ ポリジメチルシロキサン (PDMS): 世界の大多数



耐薬品性 ×
光学特性 ×
表面処理 ×
使い捨て

Sieben, Vincent J.; Debes-Marun, Carina S.; Pilarski, Linda M.; Backhouse, Christopher J. (2008). "An integrated microfluidic chip for chromosome enumeration using fluorescence in situ hybridization". *Lab on a Chip*. 8 (12): 2151–6. doi:10.1039/b812443d. ISSN 1473-0197. PMID 19023479.

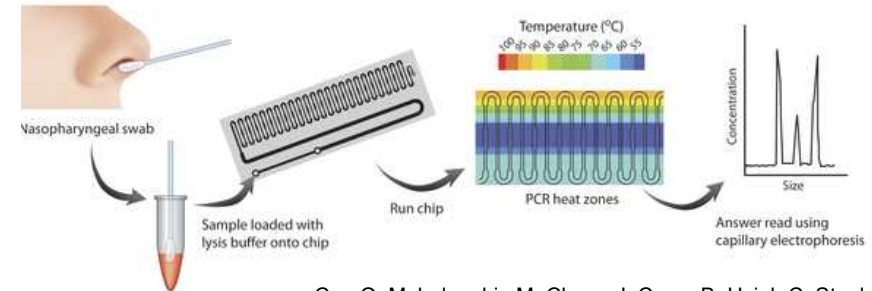
流路開閉バルブ



高度な流体操作を実現

M. A. Unger, et al., *Science* (2000)

▶ 分析への展開 DNA分析 (PCR)



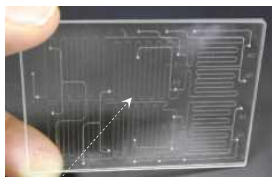
電気泳動
細胞分離, etc.

Cao Q, Mahalanabis M, Chang J, Carey B, Hsieh C, Stanley A, et al. (2012) Microfluidic Chip for Molecular Amplification of Influenza A RNA in Human Respiratory Specimens. *PLoS ONE* 7(3): e33176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033176>

水溶液系かつ単純な分析に限定

ナノ流体デバイス工学

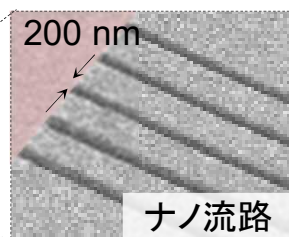
▶ ガラス



M. Tokeshi et al., *Anal. Chem.* (2002)

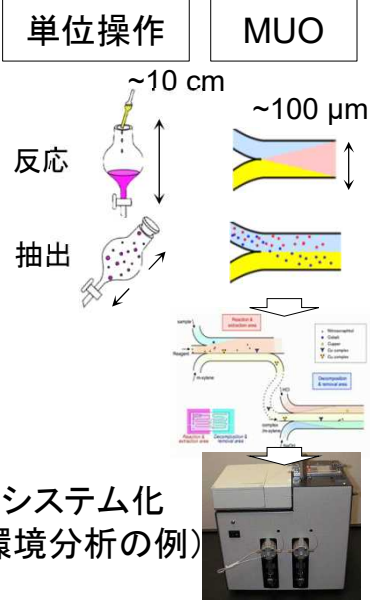
耐薬品性 ○
光学特性 ○
表面処理 ○
再利用可 ○

SEM画像

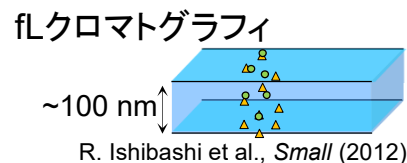


ナノ流路

▶ 集積化の方法論: マイクロ単位操作 (MUO)

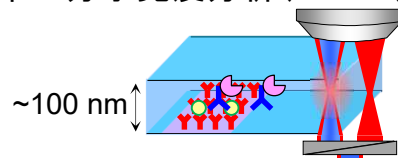


▶ ナノ単位操作 (NUO)



R. Ishibashi et al., *Small* (2012)

単一分子免疫分析 (ELISA)



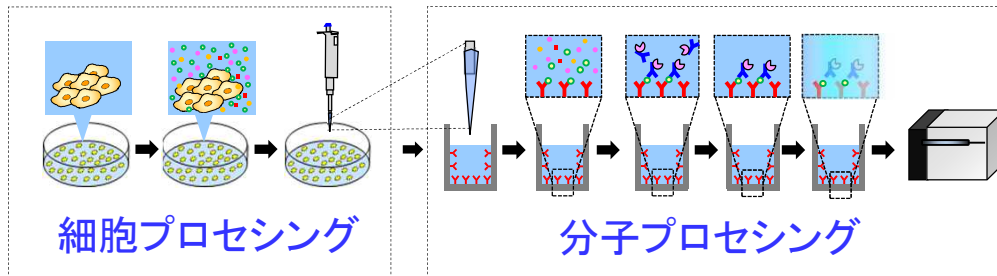
K. Shirai et al., *Small* (2014)

fL・単一分子: 分析の極限

汎用的かつ高度な分析

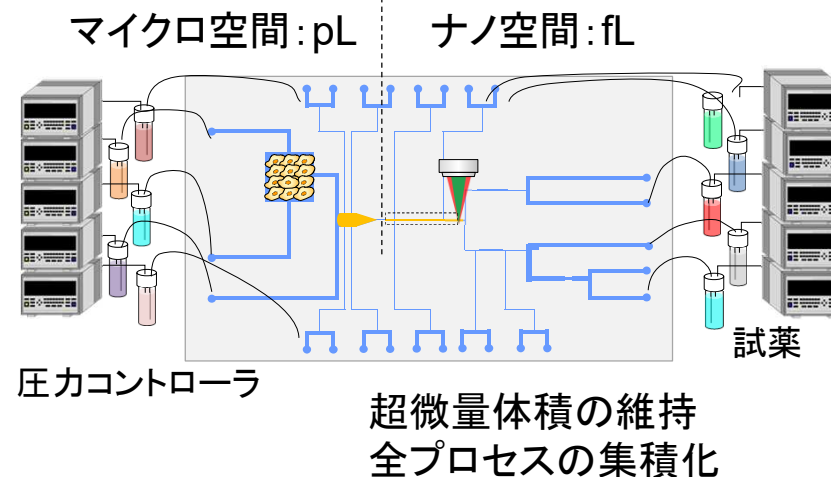
複雑かつ高度な分析への展開

▶ バイオ・医療分野: 1細胞プロテオミクスを切望



課題: 微小空間での複雑な化学プロセッシング

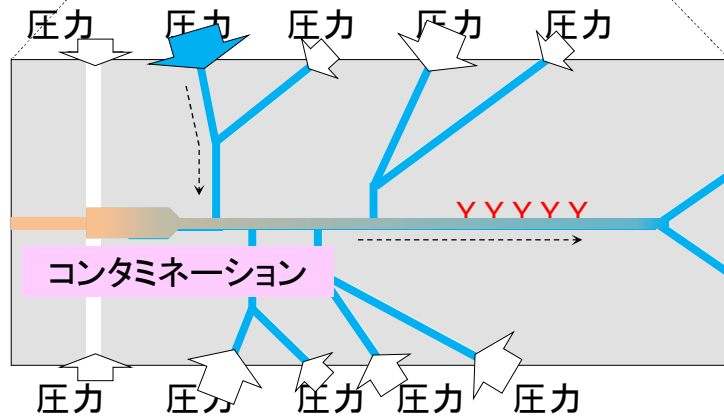
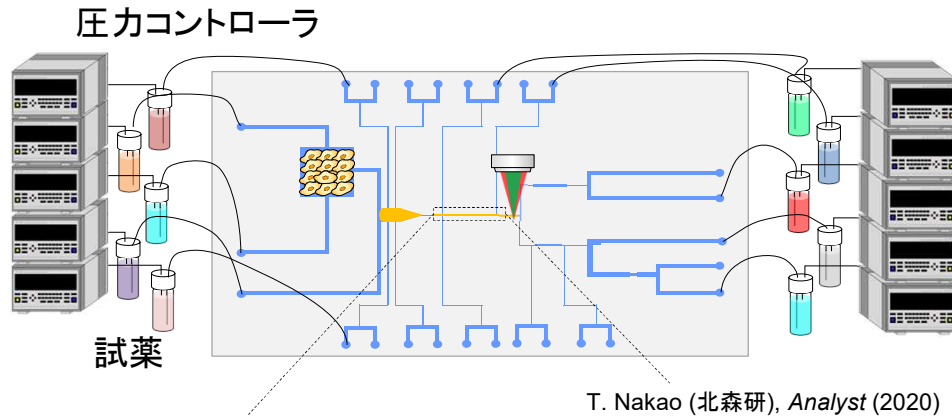
▶ マイクロ・ナノ統合流体デバイスによる分析



単一細胞が産生するタンパクの免疫分析に成功

T. Nakao et al., *Analyst* (2020)

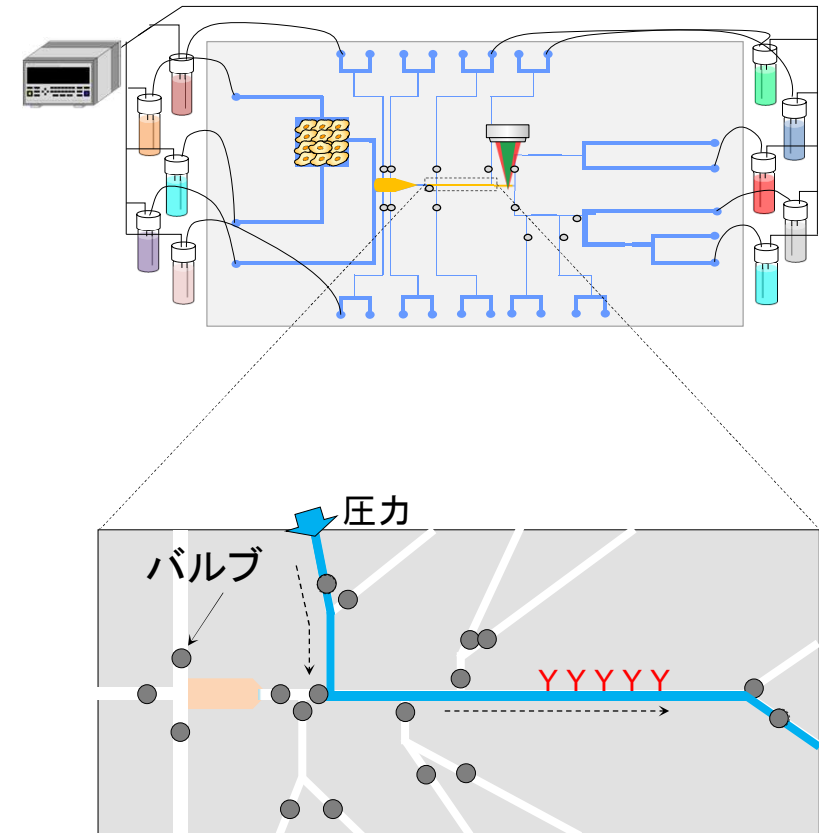
▶ 圧力による流体制御



極めて困難な操作, 熟練者のみ操作可
化学プロセスの集積化の限界

▶ 流路開閉バルブによる流体制御

分析のさらなる高度化のために必須



デバイスの設計概念を根本から転換

簡便・確実な操作, ユーザーが誰でも操作可

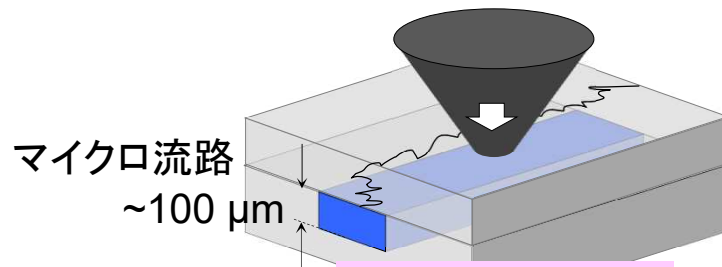
	PDMSの流体デバイス におけるバルブ				ガラスの流体デバイス におけるバルブ	
	材料変形	剛体組込	表面張力	相転移	表面張力	相転移
バルブ 閉						
バルブ 開						
	M. Unger, <i>Science</i> (2000) E. Araci, <i>Lab Chip</i> (2012)	C. Yamahata, <i>Sens. Act. B</i> (2005) T. Nakahara, <i>Magnetochem.</i> (2018)	N. Yu, <i>Sens. Act. B</i> (2018)	D. J. Beebe, <i>Nature</i> (2000)	K. Mawatari, <i>Anal. Chem.</i> (2014)	Y. Xu, <i>Adv. Mater.</i> (2016)
サイズ 領域	~10 μm	~100 μm	~100 μm	~100 μm	100 nm ~ 10 μm	100 nm ~ 1000 nm
繰り返し 操作	○	○	×	○	×	○
耐薬品性	×	×	×	×	○	×

ガラスのマイクロ・ナノ流体デバイスで有用なバルブなし

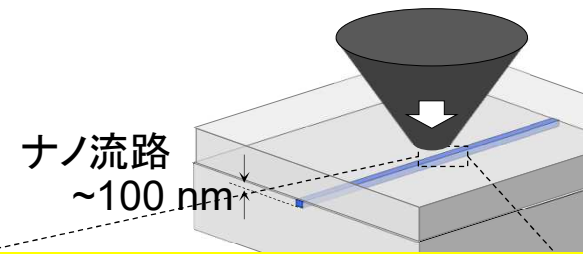
本発明: ガラスの流路開閉バルブ

▶ ガラス変形を用いた流路開閉

条件: 変形時のガラスへの応力 < 破断応力 (~1 GPa)



応力: ~100 GPa
> 破断応力



繰り返し操作 ○
耐薬品性 ○

着想: ナノスケールのガラス弾性変形

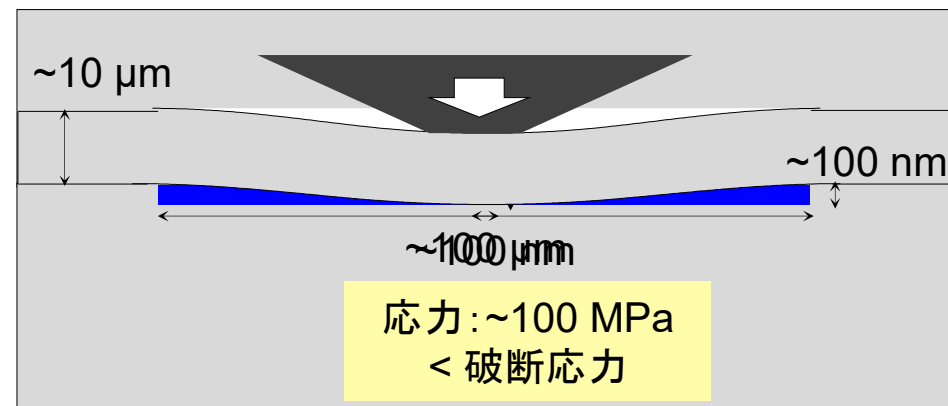
材料力学による見積もり
ガラスの変形量・応力

$$w \propto \frac{L^3}{Et^3}$$

$$\sigma \propto \frac{L}{t^2}$$

w : 変形量
 σ : 応力
 E : ヤング率
 t : 材料厚さ
 L : 流路幅

ナノ流路開閉バルブ



応力: ~100 MPa
< 破断応力

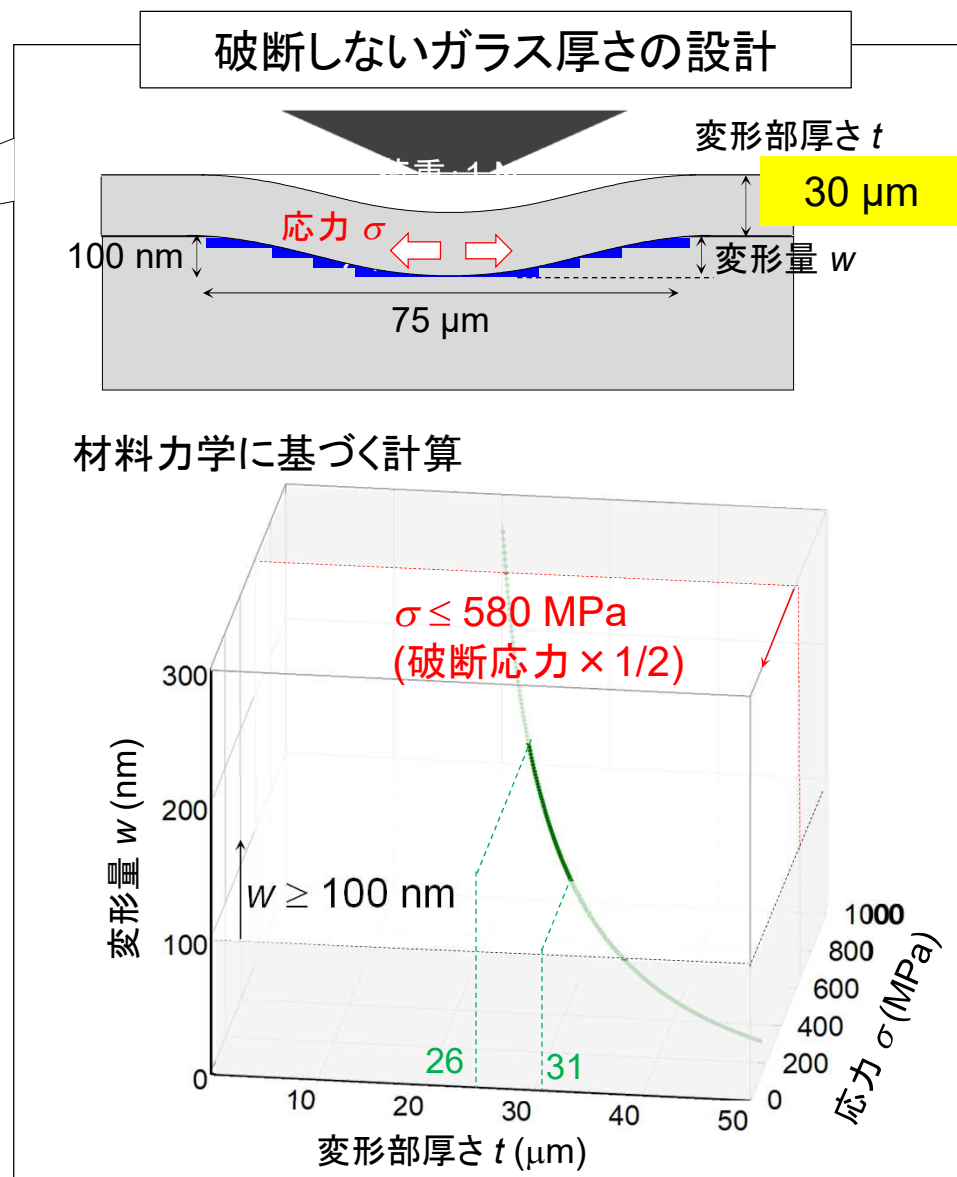
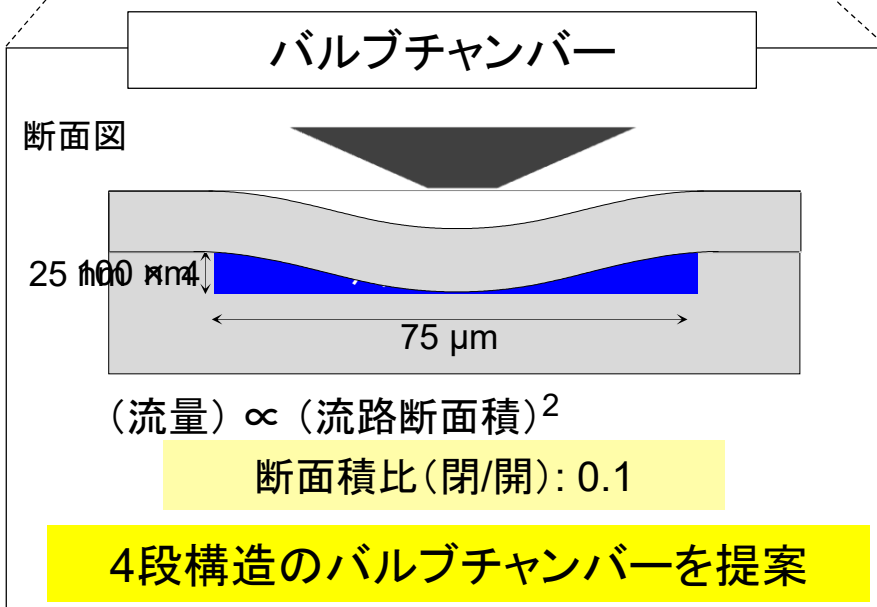
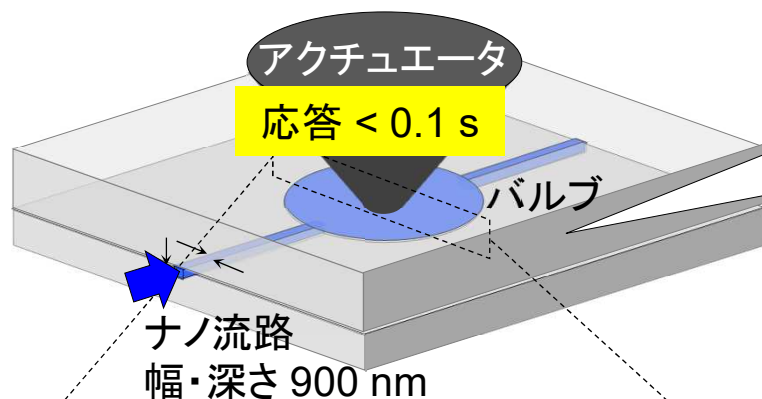
流れの停止

破断しないバルブ

流体力学・材料力学に基づく工学的設計

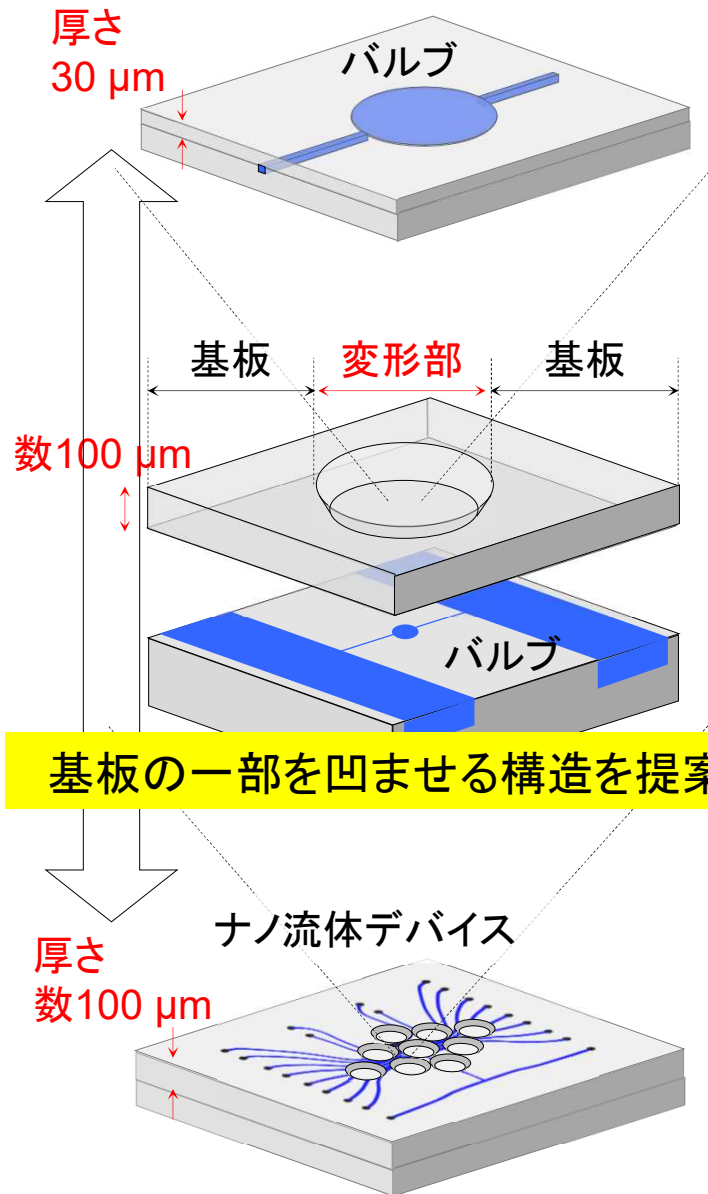
▶ ナノ流体デバイスにおける流体操作の要求

分析における流体操作	流れの停止・開放 (ELISAなど)	流れの高速切替 (クロマトグラフィなど)	繰り返し操作
バルブへの要求性能	流れの停止・開放 流量比(バルブ閉/開) < 1 %	応答時間 ~ 0.1 s	繰り返し利用 > 1,000 回



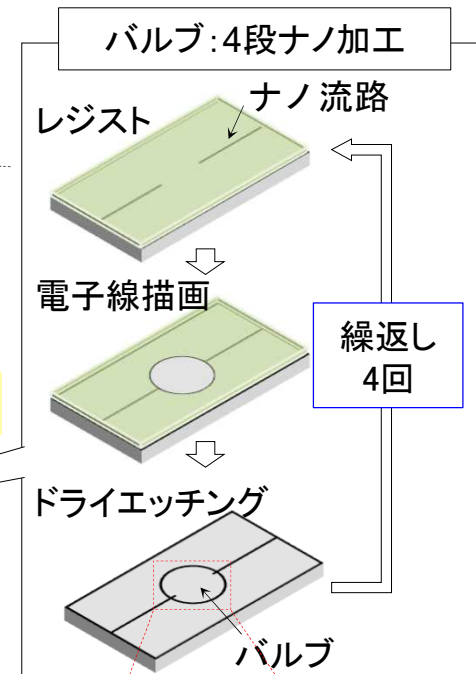
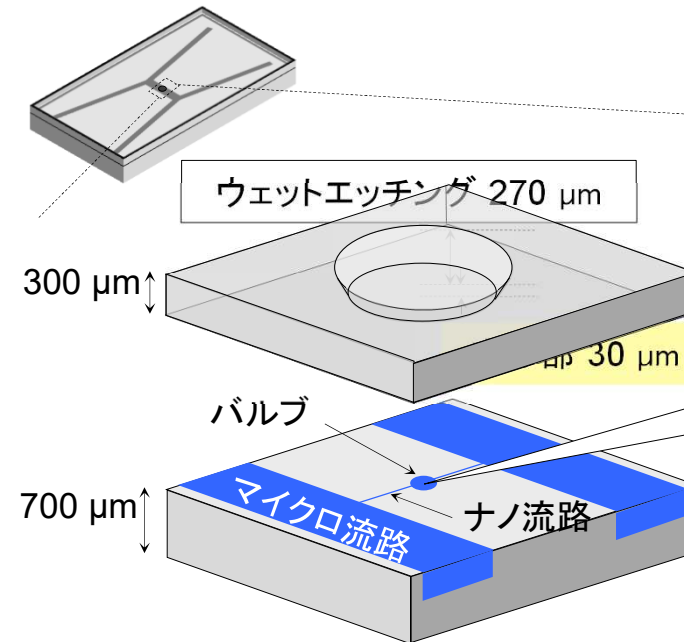
ナノ流体デバイスへのバルブの実装

課題: ナノ流体デバイスと変形部の両立

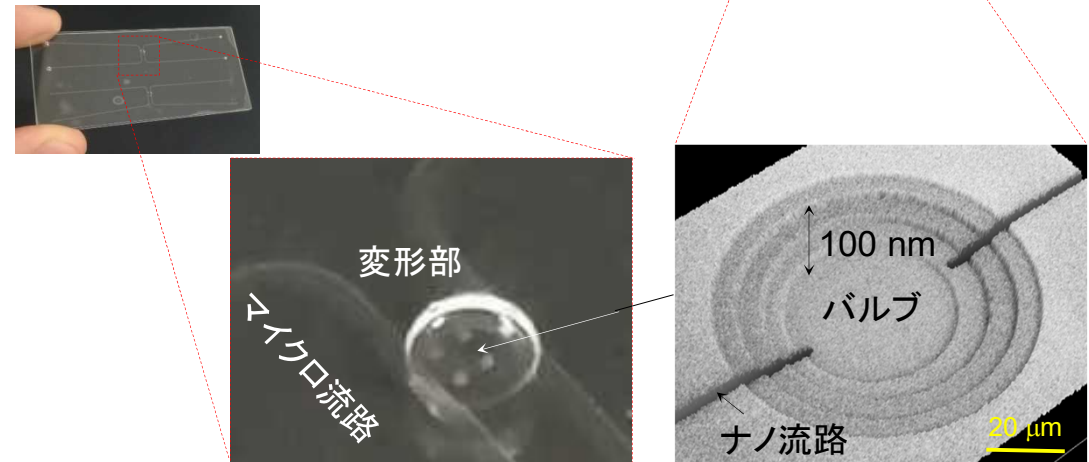


デバイスの作製

▶ デバイスの作製方法



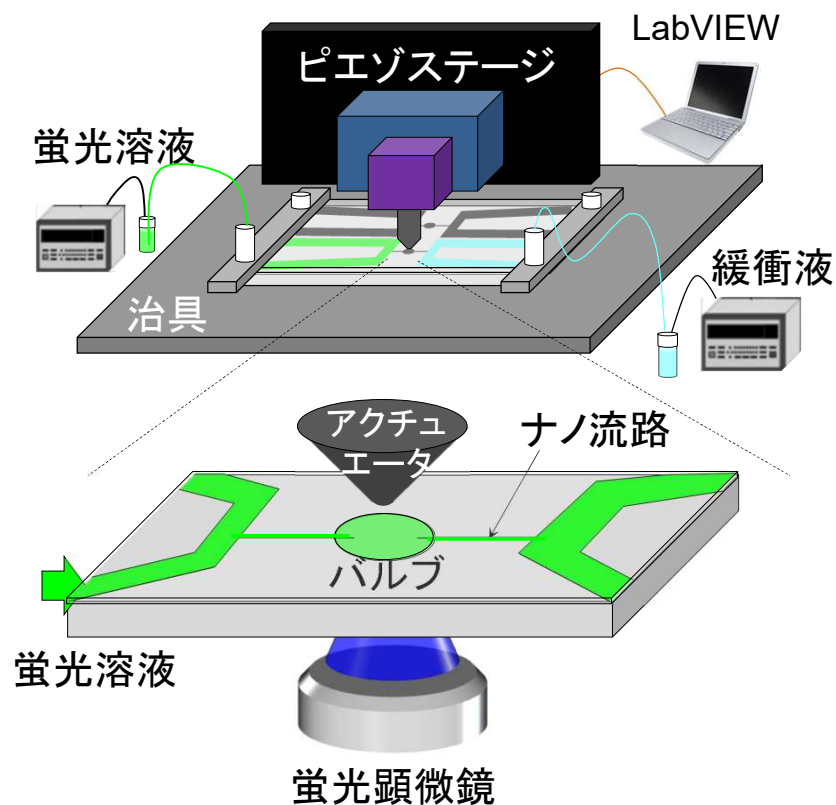
▶ 作製したデバイス



設計通りのバルブ作製に成功

実験:バルブの動作検証

▶ 実験セットアップ

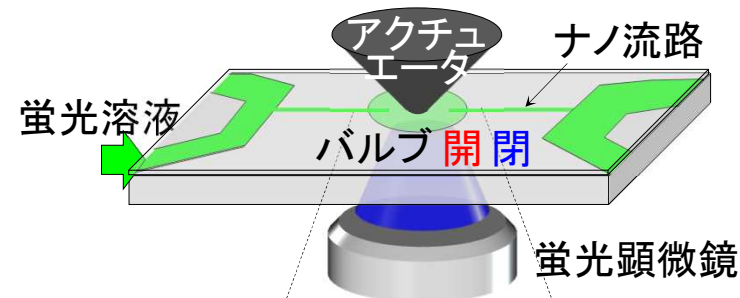


実験: バルブにおける蛍光強度変化の測定

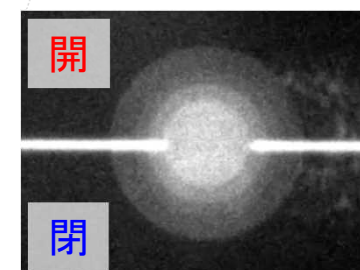
- (1) 動作検証
- (2) 性能評価:
応答時間
流れの停止・開放
耐久性

バルブ開閉動作の検証

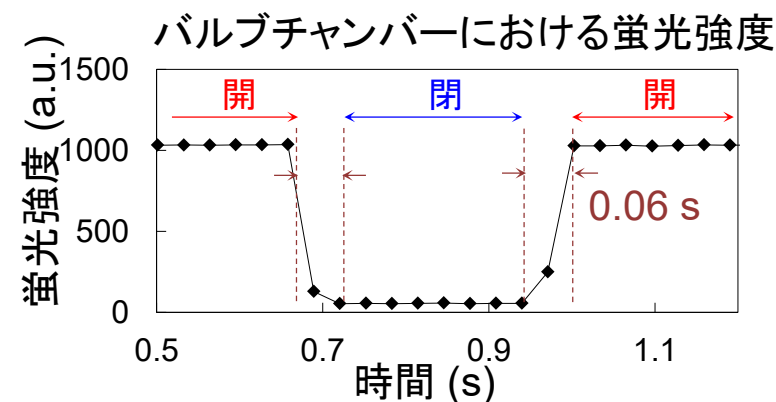
▶ 実験方法



▶ バルブ開閉動作



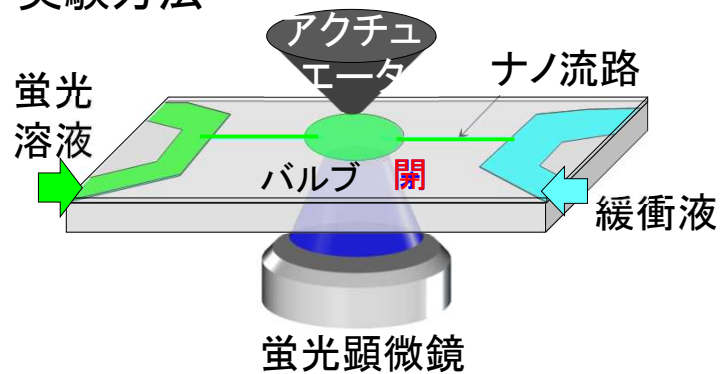
動作検証に成功



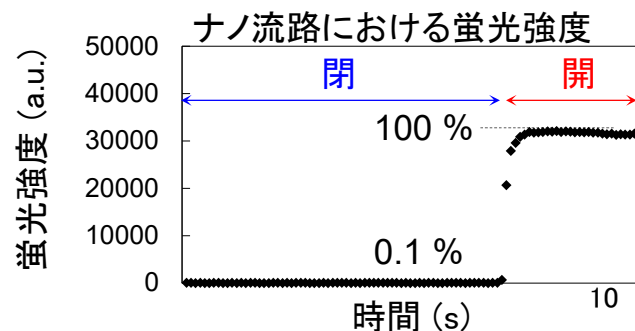
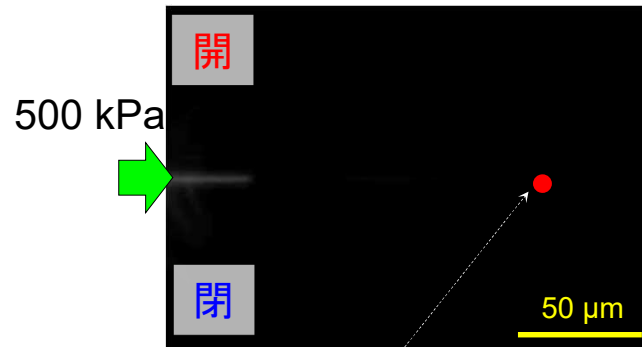
応答時間: 0.06 s (目標 < 0.1 s)

流れの停止・開放の検証

▶ 実験方法



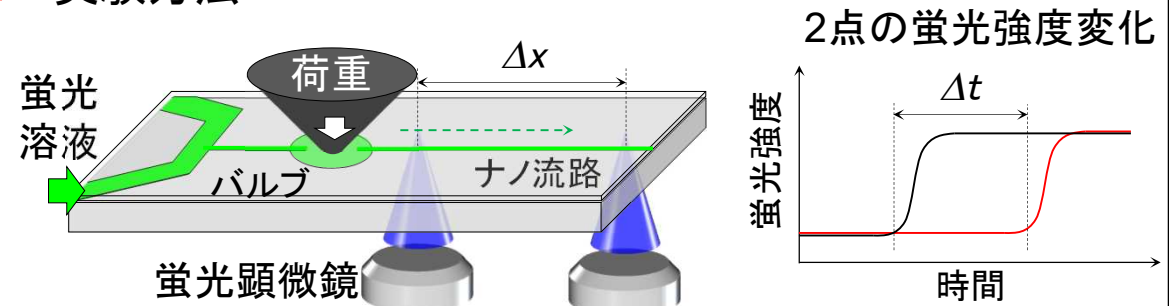
▶ バルブ開閉による流れの停止・開放



流れの停止・開放を検証(耐圧 500 kPa)

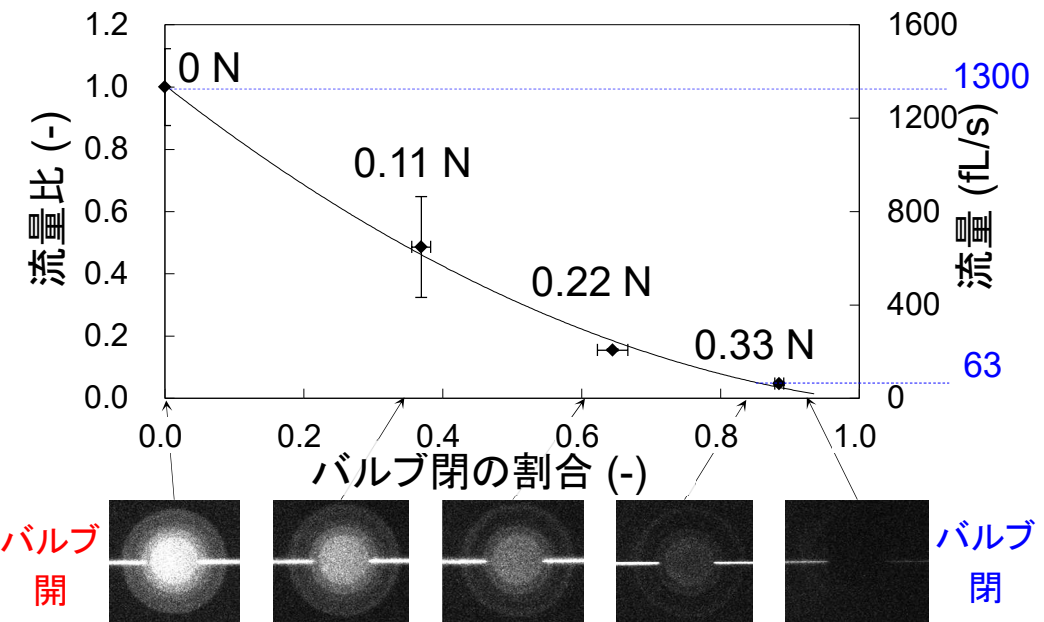
バルブ閉時の流量評価

▶ 実験方法



$$(\text{流量}) = (\text{流路断面積}) \times (\text{流速: } \Delta x / \Delta t)$$

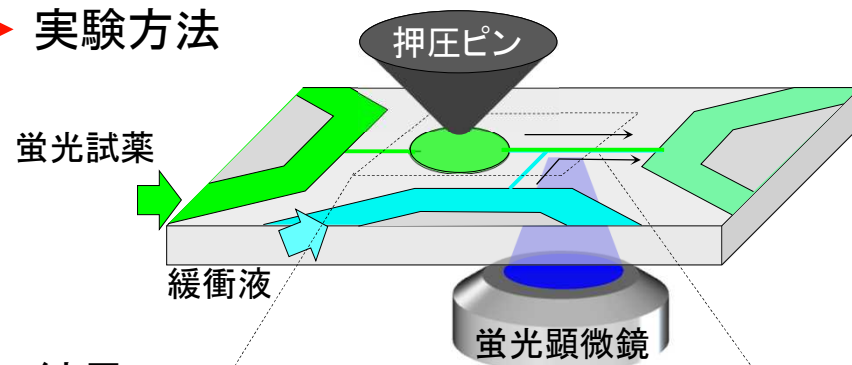
▶ バルブ閉の割合と流量の関係



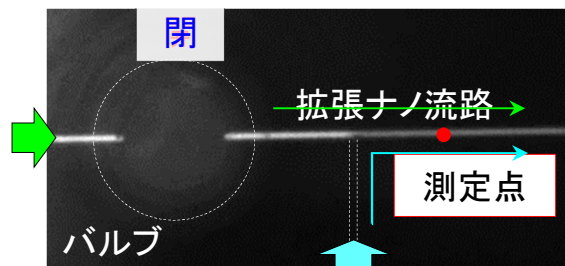
バルブ閉時の流量: 0.1 % (目標 < 1 %)

fL/sの流量調整弁として使用可能

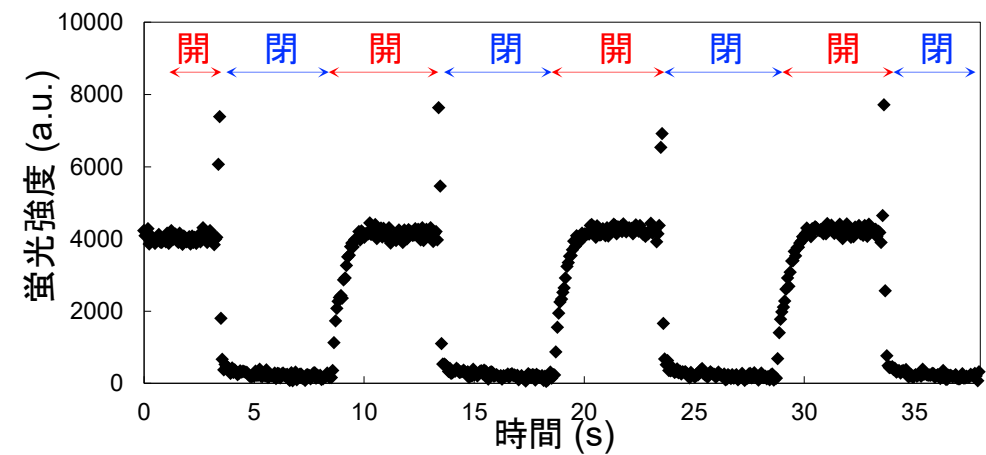
▶ 実験方法



▶ 結果

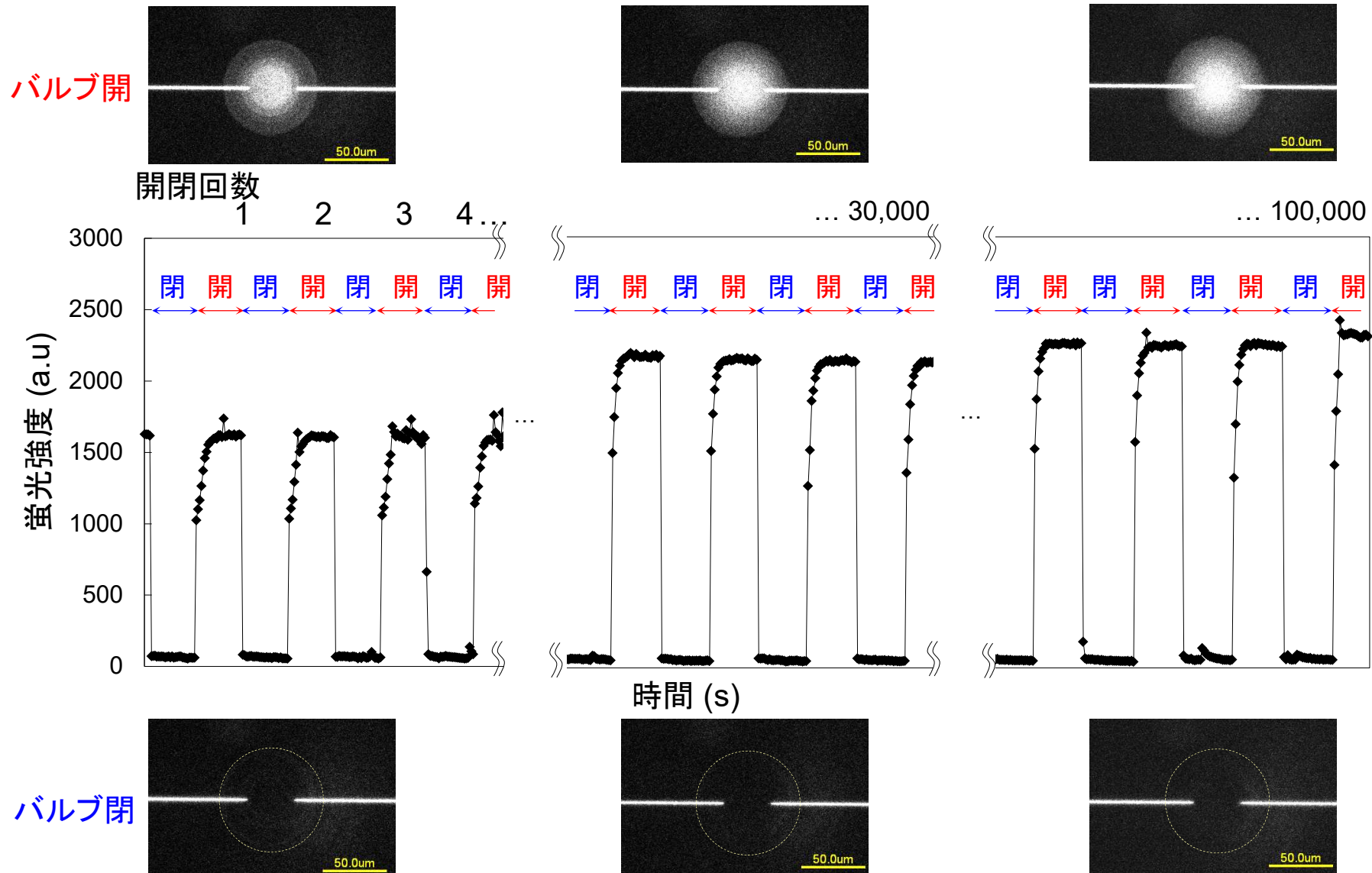


バルブの開閉に伴う蛍光強度の変化



複数試薬の切り替えへ応用可能

▶ 繰り返し開閉による耐久性の評価(開閉間隔:0.25 s)



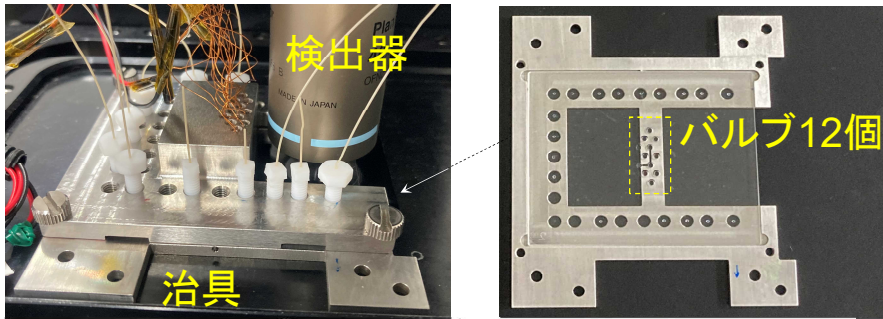
繰り返し開閉耐久性: > 10万回(目標 >> 1000回)

ガラスのナノ流路開閉バルブを初めて実現

	PDMSの流体デバイス				ガラスの流体デバイス		本発明
	材料変形	剛体組込	表面張力	相転移	表面張力	相転移	
バルブ閉							
バルブ開							
	M. Unger, <i>Science</i> (2000) E. Araci, <i>Lab Chip</i> (2012)	C. Yamahata, <i>Sens. Act. B</i> (2005) T. Nakahara, <i>Magnetochem.</i> (2018)	N. Yu, <i>Sens. Act. B</i> (2018)	D. J. Beebe, <i>Nature</i> (2000)	K. Mawatari (Kitamori Lab.), <i>Anal. Chem.</i> (2014)	Y. Xu, <i>Adv. Mater.</i> (2016)	
サイズ領域	~10 μm	~100 μm	~100 μm	~100 μm	100 nm ~ 10 μm	100 nm ~ 1000 nm	100 nm
耐薬品性	×	×	×	×	○	×	○
流れの停止・開放 (要求 < 1%)	○	×	○	○	○	○	○ (耐圧 500 kPa)
応答時間 (要求 ~ 0.1 s)	○	○	○	×	○	×	○ (0.06 s)
繰り返し利用 (要求 > 1,000 回)	○	○	×	○	×	○	○ (> 100,000 回)

ガラスのナノ流体デバイス工学における流路開閉バルブを初めて実現

▶ ナノ流体デバイス



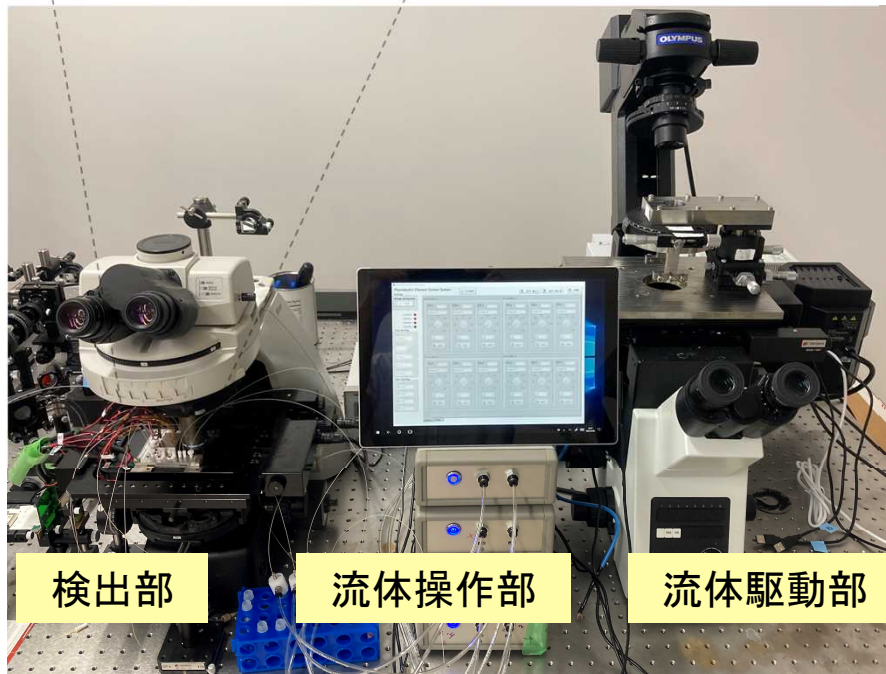
▶ pL免疫分析(タンパク分析)への応用

試料: 炎症促進性サイトカイン IL-6 (100 pM)
定容体積: 25 pL

1500分子(2.5 zmol)の検出に成功

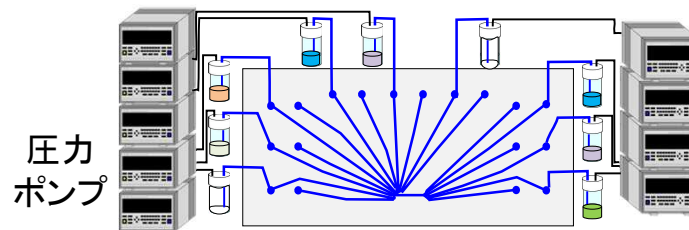
1細胞解析にも応用可能

▶ 流体駆動部・流体操作部・検出部の統合



ナノ流体デバイスにおける流体制御法の比較

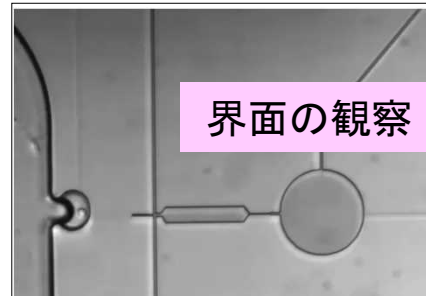
従来
(バルブなし, 圧力制御) T. Nakao (Kitamori Lab.),
Analyst (2019)



圧力操作画面



観察画面

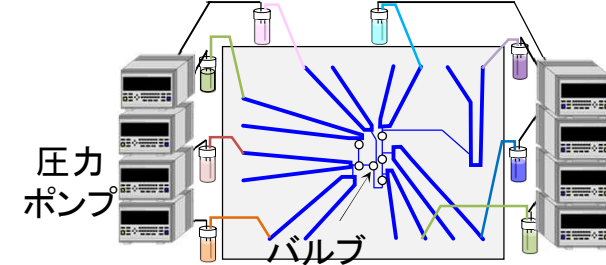


流路間の圧力バランス調整



熟練者のみが使用可

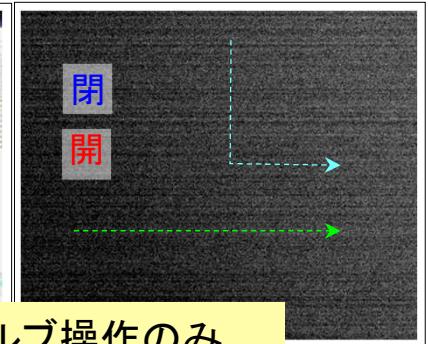
本発明
(バルブ制御)



バルブ操作画面



観察画面



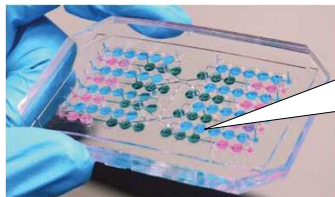
2箇所でのバルブ操作のみ



すべてのユーザーが
使用可能な極限分析システム

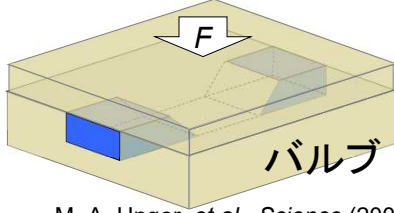
従来

PDMSを用いたマイクロ化学



S. R. Yazdi, et al., Lab Chip (2015)

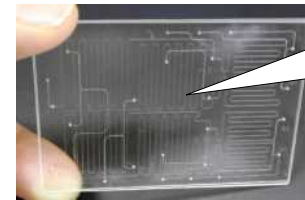
流路開閉バルブ



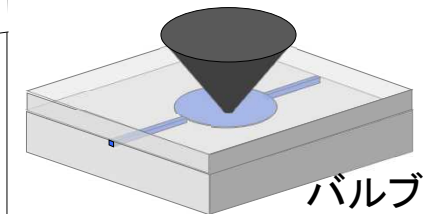
M. A. Unger, et al., Science (2000)

本発明

ガラスを用いたマイクロ・ナノ化学



流路開閉バルブ



流体
操作

流路開閉バルブ
化学プロセスの高度集積化

流路開閉バルブ
化学プロセスの高度集積化

材料
特性

耐薬品性 ×, 光学特性 ×

耐薬品性 ○, 光学特性 ○

合成

水系合成

水系合成

有機系合成

分析

電気泳動
蛍光イムノアッセイ
核酸分析 (PCR)

電気泳動
蛍光イムノアッセイ
核酸分析 (PCR)

溶媒抽出
ELISA
クロマトグラフィ

検出法

蛍光

蛍光
吸光
電気化学

汎用的かつ複雑なマイクロ・ナノ合成, 分析のツールをはじめて実現

実用化に向けた課題

- 加工プロセスの複雑さ：
 プロセスの簡易化を検討中
 他の剛性材料（アクリル等）を検討中
- 極限分析システムの実応用の検証

企業への期待

- ガラスやプラスチックの簡易成型技術をもつ企業との共同研究を希望
- 1細胞プロテオミクス解析等、超微量超高感度分析分野への展開を考えている企業には有用な技術

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ナノ流体デバイス及び化学分析装置
- 出願番号 : 特願2017-545818
- 出願人 : 国立研究開発法人科学技術振興機構
- 発明者 : 嘉副 裕、ピホシュ ユーリ、北森 武彦

お問い合わせ先

国立研究開発法人科学技術振興機構

知的財産マネジメント推進部 知財集約・活用グループ

TEL 03-5214-8486

e-mail license@jst.go.jp