バイオレジストを用いた超精密オンチップ流体制御

On-chip accurate flow control by using Bioresist

○学 伊藤 啓太郎 (名大) 正 佐久間 臣耶 (阪大)
横山 義之 (富山県工業技術センター) 正 新井 史人 (名大)

Keitaro Ito, Nagoya University, ito.keitaro@biorobotics.mech.nagoya-u.ac.jp

Shinya Sakuma, Osaka University

Yoshiyuki yokoyama, Toyama Industrial Technology Center

Fumihito Arai, Nagoya University

We present an innovative on-chip flow control system. Proposed on-chip control system consists of cell delivery channel and flow control channel. Flow control channel is connected in parallel to cell delivery channel. Flow control in a cell delivery channel is achieved by changing flow resistance in flow control channel. Changing of flow resistance is achieved by using gel actuator made of Bioresist. Bioresist is thermo responsive biocompatible photoresist. Novelties of this on-chip flow control system are shown as follows. (1) It is possible to actuate under 1V. (2) It is easy to integrate other cell measurement devices. Here, we fabricated and demonstrated this system and achieved on-chip flow control.

Key Words: Microactuator, Thermo sensitive gel, Bioresist, in-situ flow control, micro fluid system,

1. 緒言

近年 Micro-Total Analysis Systems (μ -TAS)分野においてマイクロ流体チップ等の Lab-on-a-chip デバイスを用いた単一細胞の特性解析が盛んに行われている[1]-[3]. これらは細胞をマイクロ流路内に導入し、流路内のオンチップアクチュエータ及びセンサにて力学的・電気的特徴量を計測する. このように、オンチップ単一細胞特徴解析においては流路内で細胞の動きを精密にコントロールする必要がある、細胞搬送の為に精密流体制御技術が必要である[4].

従来、我々は MEMS 技術を用いてパターンニング可能な温度応答性樹脂であるバイオレジストとオンチップ局所加熱用マイクロヒーターを用いて細胞の搬送流制御を行ってきた[5]-[7]. しかし、ゲルアクチュエータ近傍を細胞が通過する際に、熱による細胞へダメージを与える可能性がある. また、バイオレジストへの接触の問題があった. そこで本研究では搬送流路系へ直接バイオレジストを配置して流体制御を行うのではなく、搬送流路の側流にバイオレジストを配置しオンチップ流体制御を行う. バイオレジストを用いて流路抵抗を能動的に切り替えることで受動的に搬送流路内の流速分布を制御する.

2. オンチップ流体制御

2.1 オンチップ流体制御

マイクロ領域におけるマイクロ流体チップ内での流体制御技術を考えると、マイクロ流路内ではその代表的な特徴である低レイノルズ数環境の層流流れが支配的である. その為に従来は図 1(a-1)に示すように、チップ外部の接続したポンプによって、搬送流路内の細胞が搬送される流れを制御することでこれを達成している(図 1(a-2)). しかし、このメカニズムでチップ内部の複数個所で流体制御を達成するためには、打ち出し用の外部ポンプの並列化もしくは、打ち出し力の精密制御による搬送流路への打ち分け等の方法を適応する必要がある、ポンプ接続の煩雑化、接続時に混入する気泡除去の問題など、細胞特徴量計測デバイスに適応することは困難である.

Fig.1 Concept of On-chip flow control system.

そこで、本研究においては、外部からアクチュエータを接続するのではなく、図 1(b-1)に示すように、チップ内部にアクチュエータを配置し、流路系の流体抵抗を変化させることで、図 1(b-2)に示すように、細胞が搬送される流線を制御する。

2.2 二分岐流路への応用

アクチュエータに細胞が付着することを防ぎ、流体素子駆動における細胞への熱的・電氣的・機械的ダメージを防ぐために、図 2 に示すように、搬送流路と並列に配置した流量制御用流路にアクチュエータを配置する。アクチュエータは、MEMS 技術を用いてパターニング可能な温度応答性樹脂であるバイオレジストとオンチップ局所加熱用マイクロヒーターを用いて作製し、それらがバルブとして流路を開閉することにより流体制御を行う。流量制御用流路がオープンになると搬送流路内の流体の一部が流量制御用流路に流れ搬送流路の流線が変わる。

図 3 に流量制御用流路に配置した流体制御素子の開閉パターンを示す。上の流量制御用流路が開いた際には搬送流路内の流線が上側により流れが上方向に切り替わり、上下の流量制御用流路が共に開き/閉じた際には搬送流路の流線は変化せず真ん中に流れ続ける。

今回の実験では、搬送流路の幅を $50\ \mu\text{m}$ 、流量制御用流路を両側に配置しその幅をそれぞれ $100\ \mu\text{m}$ 、搬送流路の下流に分岐流路を二つ配置しその幅をそれぞれ $50\ \mu\text{m}$ とし、高さを $10\ \mu\text{m}$ とした。

2.3 FEM による流体解析

設計した流路で、FEM による流体解析を行った。FEM 解析の際の流路内の流線の様子を図 4 に示す。FEM 解析は搬送流路の流速を $100\ \mu\text{m/s}$ とした。流量制御用流路を上下両方とも閉じた際には搬送流路の中心で流れが分岐することが確認でき、流量制御用流路を片側のみ閉じた際には搬送流路の中心から上 $10\ \mu\text{m}$ 程度が流路が切り替わることが確認できる。

2.4 作製

オンチップ流体制御素子のプロセス図を図 5 に示す。ゲルの加熱に必要な電極はリフトオフ法を用いて作製し、流路は生体適合性を考慮し PDMS のモールディングで作製した。

- ① ガラス基板を洗浄後、リフトオフ法の犠牲層となる LOR(Nippon Kayaku Co. Ltd.)をスピコート後 OFPR(Tokyo Ohka Co. Ltd.)のパターニングをする。次に、Cr/Au をスパッタした後、LOR および OFPR を除去することで、リフトオフ法にて、Cr/Au のパターンを作製する。
- ② バイオレジストをスピコートし、パターニングを行い、流体制御素子を作製する。
- ③ ネガ型のフォトリソレジストである SU-8(Nippon Kayaku Co. Ltd.)をパターニングし、その上に PDMS 樹脂をモールディングすることで流路を作製する。
- ④ モールディングによって作製した PDMS カバーをガラスにボンディングすることでパッケージングし、最後に配線を行いマイクロ流体チップの作製をする。

Fig. 2 Concept of on-chip flow control.

Fig. 3 Concept of on-chip flow control.

Fig. 4 FEM analysis of flow line

3. 実験

流路切り替え実験

作製したマイクロ流体チップを用いてオンチップ流体制御実験を行った。図 6 に実験の様子を示す。流量制御用流路の上下の流路を閉じた際には流体は中央で二分岐することがわかる。電極に 0.64 V の電圧を印加し下の流路をオープンにした際には中央の約 $10\ \mu\text{m}$ の流体が右下方のチャンネルに流れることが確認できた。また、電圧を印加後完全に流れが安定するまで数 100 ms 程度かかった。一般に、ゲルの応答速度はゲルの代表長さの二乗に比例するといわれているため、流体制御素子の大きさを小さくする事により応答速度は向上すると考えられる[8]。

本実験結果は 2.3 章における FEM 解析と同等の結果であった。このことから本実験における流れは理想的な層流流れに近いと考えられる。

4. 結言

本稿では温度応答性ゲルアクチュエータをマイクロ流体チップ内部に配置し流量制御用流路の流体抵抗を変化させることで細胞搬送の為の流路の流線を変化させ、マイクロ流体チップ内部で高精度な流体制御を行った。本稿で提案する手法は装置構成全体が顕微鏡と PC のみと非常にシンプルな構成で有るため他の細胞計測デバイスとのインテグレーションが容易である。今後は細胞の特徴量計測デバイスを集積化させる。

謝 辞

本研究の一部は文部科学省の科研費(23106002)の助成及び日産化学工業株式会社の協力を得て行った。

文 献

- [1] S. Sakuma and F. Arai, "Cellular Force Measurement Using a Nanometric-Probe-Integrated Microfluidic Chip with a Displacement Reduction Mechanism," J. Robot. Mechatronics, vol. 25, no. 2, pp. 277–284, 2013.
- [2] J. S. Dudani, D. R. Gossett, H. T. K. Tse, and D. Di Carlo, "Pinched-flow hydrodynamic stretching of single-cells," Lab Chip, vol. 13, no. 18, pp. 3728–34, Sep. 2013.
- [3] D. Barat, D. Spencer, and G. Benazzi, "Simultaneous high speed optical and impedance analysis of single particles with a microfluidic cytometer," Lab Chip, 2012.
- [4] S. Sakuma, K. Kuroda, C.-H. D. Tsai, W. Fukui, F. Arai, and M. Kaneko, "Red blood cell fatigue evaluation based on the close-encountering point between extensibility and recoverability," Lab Chip, vol. 14, no. 6, pp. 1135–41, 2014.
- [5] Y. Yokoyama, M. Umezaki, T. Kishioka, E. Tamiya, and Y. Takamura, "Micro- and Nano-fabrication of Stimulus-responsive Polymer using Nanoimprint Lithography," J. Photopolym. Sci. Technol., vol. 24, pp. 63–70, 2011.
- [6] Keitaro Ito, Shinya Sakuma, Yoshiyuki Yokoyama, Fumihito Arai, "Photoprocessible thermo-sensitive gel actuator for functional microfluidic devices", Proc. of The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers), pp.1811–1814, 2013
- [7] Keitaro Ito, Shinya Sakuma, Yoshiyuki Yokoyama, Fumihito Arai, "Simple and Smart Microfluidic Gel Actuator", Proc. of The 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, Freiburg, pp. 1145–1147, 2013
- [8] T. Tanaka, E. Sato, and Y. Hirokawa, "Critical kinetics of volume phase transition of gels," Phys. Rev. Lett., vol. 55, pp. 2455–2458, 1985.

Fig. 5 Process flow of flow control components.

Fig. 6 Photos of flow control experiments.