**Boxcar 型電極を用いた誘電泳動力による
マイクロ流路内粒子の離隔と整列機構**本間 怜人^{*1}, 巽 和也^{*2}, 栗山 怜子^{*2}, 中部 主敬^{*3}**Particle separation and alignment technique in microchannel flow
by dielectrophoretic force using boxcar-type electrode**Renato HONMA^{*1}, Kazuya TATSUMI^{*2}, Reiko KURIYAMA^{*2} and Kazuyoshi NAKABE^{*3}^{*1, *2, *3} Department of Mechanical Engineering and Science, Kyoto University
Kyotodaigaku-katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8540, Japan

Received: 30 March 2020; Revised: 8 July 2020; Accepted: 29 September 2020

Abstract

We have developed a technique which can control the particle interval (spacing), velocity and timing in microchannel flow by exerting dielectrophoretic (DEP) force on the particles periodically over time and space using the boxcar electrode. Controlling the interval of the particles to align with even space in the microchannel can improve the performance of the sensor, sorter, and encapsulation system for particles and cells in the microfluidic devices. One of the concerns about this technique is whether we can align the particles when several particles are located in the same periodic area. In the present study, we conducted numerical simulations and measurements for the motion of 12μm polystyrene particles flowing in the boxcar electrode region to evaluate how the particles separate when they are located in the same periodic area, and understand their motion characteristics during the separation process. The result showed that the two particles approach each other, change their position, and separate due to the DEP forces, flow velocity distribution, and collision between the particles. The particle located in the downstream side then moves to the upstream periodic region in a repetitive manner until it fits in a vacant region. We measured the frequency distribution of the number of particles in the periodic area at the inlet and outlet of the boxcar electrode and observed only 0 and 1 particle in each periodic area at the outlet. This represents that particles entering the boxcar electrode region with random interval separate and align with even interval by the time they reach the outlet.

Keywords : Particle alignment, Dielectrophoretic force, Boxcar-type electrode, Microchannel flow, Periodic force**1. 緒 言**

マイクロ流体デバイスを用いた粒子や細胞の分析、分取、液滴封入に関する技術では、マイクロ流路を流れる粒子の流路断面内の位置、主流方向の間隔、速度、主流方向位置の通過タイミング、それぞれを制御することは機器の精度と処理能力を左右する重要な課題である (Baret et al., 2009, Chen et al., 2013, Shields et al., 2015). 例えばフローサイトメトリーのように粒子・細胞の特性を光学・電気センサにて測定し、下流にて外力により粒子・細胞を分取する (sorting) 場合、センサや分取部を通過する時の粒子・細胞の位置、速度、タイミングは測定信号や粒子・細胞を動かし選り分ける力に影響する。流路断面内における粒子と細胞の位置が変化すれば、センサの光や電場を通過する位置が異なり信号強度や波形が変化し、また分取領域における粒子と細胞を動かす力も変化するため、断面内の位置決めを行うことにより信号と作用する力のばらつきが抑えられる (Sun et al., 2007, Cheung et al., 2010). さらに粒子と細胞の主流方向間隔を一定にすることで、計測での相互干渉を防ぎ、また1個の粒子と細胞を精度よく分取することが可能となる (Shields et al. 2015, Tatsumi et al., 2016). またマイクロ流路内で液滴

Fig. 1 Schematic of the boxcar-type electrodes and the concept of controlling (aligning) the particle interval (spacing), velocity, and timing control using the dielectrophoretic force generated by the boxcar-electrodes.

を連続的に生成し、その中に粒子や細胞を封入する技術（encapsulation）では、1液滴に1粒子を封入する場合、粒子密度を高めて収率を上げるには粒子同士の間隔と通過タイミングを液滴生成のものと同期することが重要になる（Abate et al., 2009, Lagus and Edd, 2013, Mazutis et al., 2013）。

マイクロ流路の主流方向断面内にて粒子を位置決めする（focusing）1つの方法として、遠心力、せん断流れにおける揚力、2次流れ等、流れを活用する技術がある（Di Carlo et al., 2007, Oakey et al., 2010, Xuan et al., 2010）。この他に静電気力や誘電泳動（Fiedler et al., 1998, Zhu et al., 2009, Tatsumi et al., 2016）、音波（Laurell et al., 2007, Wood et al., 2008）、磁力（Afshar et al., 2011）、光学力（Čižmár et al., 2006）等、粒子に働く様々な力を用いて粒子の流路断面内での位置を決める方法が提案されている。一方、粒子を流れの中で主流方向に等間隔に整列する方法として、粒子間に生成される流れ場により両粒子に働く力を利用して粒子を整列する Inertial Microfluidics と呼ばれる手法がある（Kemna et al., 2012, Chung et al., 2013, Gao et al., 2017）。しかしながら、この方法は粒子の速度や時間間隔を任意に設定することが難しい他、流路のある主流方向位置を粒子が通過するタイミングを予測もしくは制御できない。これに対して、粒子に作用する誘電泳動力を空間と時間に亘って周期的に変化させることでマイクロ流路を流れる粒子や細胞の位置、間隔、速度、そしてタイミングを制御する技術が提案されている（本間他, 2018, Tatsumi et al., 2019）。

本研究では、Boxcar 型電極付設マイクロ流路における粒子整列機構の提案と特性評価を行い、特に1周期領域に1粒子が配置する機構について検証する。Boxcar 型電極を用いた誘電泳動力によるマイクロ流路内での粒子整列機構の概念図を図1に示す。Boxcar 型電極で形成される交流電場により、粒子を主流方向に加速と減速させる誘電泳動力が流路の主流方向に周期的に分布する。ここで通電を周期的にオン・オフすることにより、1周期領域を移動する間に通電時において粒子には正の仕事と負の仕事がされるが、粒子はこれらの仕事が釣り合う（平衡）位置へと収束する。その結果、粒子同士の時間と空間の間隔は、それぞれ通電のオン・オフの周期および電極の周期長さと等しくなり、粒子速度もオン・オフの周波数と電極の周期長さの積と等しくなる。

粒子が整列するには、Boxcar 型電極の1周期領域内に2個以上の粒子が存在する場合、2粒子が離隔し、1周期領域に1つの粒子が配置する必要がある。例えば、図1に示す場合では1周期領域にある2粒子は誘電泳動力により同じ釣り合いの位置（平衡位置）へと収束しようとするため、1周期内に複数の粒子が配置する可能性がある。そこで Boxcar 型電極付設流路について誘電泳動力と流体力を考慮した3次元粒子運動の数値解析を行い、1周期領域内に2粒子が位置する場合、両粒子を離隔できるかの検討および粒子の運動特性の評価を行った。さらに、Boxcar 型電極領域の入口と出口における1周期領域内の粒子数に関する頻度分布を求め、両者を比較することで粒子の離隔と整列に関する性能評価を行った。

Fig. 2 Schematic of the microfluidic-device. (a) Layers composing the device and the schematic of electrodes patterned on the glass substrate and the wiring of each electrode. (b) Schematic of the microchannel and the location of the electrodes. (c) Overview of the rail-type and boxcar-type electrodes attached to the bottom wall of the microchannel.

2. 実験および計算の手法と条件

2・1 実験手法と条件

本実験で用いたマイクロデバイスの模式図を図2に示す。図2(a)に示すように、デバイスは白金電極をスパッタリングにより成膜した2枚のガラス基板と、それらの間に流路形状を型取って成膜したSU-8 (MicroChem, SU-8 3050) の層から構成される。図2(b)に示すように、マイクロ流路の上流には3本の入口流路を設け、中央入口流路から粒子懸濁液を圧縮空気により駆動するポンプを用いて流量 Q_1 で送液した。側流にはシリンジポンプを用いて水溶液のみを供給し、その流量 ($Q_2=Q_3$) を制御することでマイクロ流路内の流量を調整した。また電極が付設された領域でのマイクロ流路の幅と高さは、それぞれ $200\mu\text{m}$ と $H=58\mu\text{m}$ である。

流路の上壁全面にグラウンド電極を、下壁にはRail型電極とBoxcar型電極を付設した。Rail型電極は主流方向に平行な2本の電極から形成される。電極領域の上流端での電極間隔は $100\mu\text{m}$ であり、 2mm の長さで間隔 $50\mu\text{m}$ まで狭まった後に平行に位置する。Rail型電極により形成される誘電泳動力は、粒子のспан方向位置と高さ方向位置を変化させ、粒子を電極間の中心線上と流路下壁近傍に集中させる (Tatsumi et al., 2016)。したがって、中央入口流路から流入する粒子はRail型電極により捕獲され、電極中心線上に集中して下流に位置するBoxcar型電極領域の入口へと誘導される。

Boxcar型電極の寸法を図2(c)に示す。Boxcar型電極の幅は $50\mu\text{m}$ であり、主流方向のピッチと横方向の電極 (以下では枕木電極と称す) の幅はそれぞれ $L_{\text{pitch}}=50\mu\text{m}$ と $10\mu\text{m}$ である。Boxcar型電極領域の長さは 4mm あり、周期領域の数は80である。Rail型電極およびBoxcar型電極とグラウンド電極にはコンタクトプローブとハイブリッドIC端子を用いて配線し、ファンクションジェネレータ (エヌエフ回路設計ブロック, WF1974) を用いて通電した。基板の配線部における電圧はオシロスコープを用いて測定した。

実験で用いたマイクロ粒子は直径 $12\mu\text{m}$ のポリスチレン粒子 (Thermoscientific, 4212A) である。作動流体は超純水にラウリル硫酸ナトリウム (sodium lauryl sulfate: SLS) を $0.1\text{wt}\%$ 混合した水溶液を用いた。界面活性剤であるSLSは粒子の凝集および流路壁への付着を防ぐために添加した。これは2本Rail型電極では流路下壁近傍に粒子を集中させるため粒子が流路壁に付着しやすいためである。一方、界面活性剤を添加できない場合では、3

Fig. 3 Computational domain (unit in μm).

本 Rail 型電極を用いることで粒子の高さ位置を壁面から一定距離に離れた位置に集中することも可能である (新谷他, 2013). 流路に供給する懸濁液の粒子の体積密度は $\phi=0.1\sim0.2\%$ である. この濃度は測定において Boxcar 型電極の 1 周期領域 (時間) に流入する粒子密度が約 0.7 となるように調整して設定した.

粒子の位置と運動は倒立顕微鏡と高速度カメラ (Vision Research, Phantom V1610) を用いて撮影した. 撮影の空間分解能と速度は, それぞれ $1.76\mu\text{m}/\text{pixel}$ と 5000fps である. 撮影した動画から, 2 次元粒子運動解析ソフト (ライブラリー, Move-tr/2D Ver7.90) を用いて粒子の位置と速度を求めた. 粒子の中心位置は解析ソフトによって検出されたピクセル群の面積重心で決定し, 粒子速度はその重心位置の時間変化から求めた.

実験条件として, 粒子懸濁液が流れる主流の流量は $Q_1=0.60\mu\text{L}/\text{min}$ であり, 側流の流量は共に $Q_2=Q_3=1.50\mu\text{L}/\text{min}$ とした. 断面平均流速は $u_m=5.17\text{mm}/\text{s}$ である. Rail 型電極と Boxcar 型電極には 10MHz の交流電圧を $V_{\text{p-p}}=18\text{V}$ で印可した. Boxcar 型電極では, この交流電圧をファンクションジェネレータの信号バースト機能を用いて, 周波数 125Hz で間欠的に印可した. なお, 流路のレイノルズ数は, $u_m=5.17\text{mm}/\text{s}$ と水力直径を基準として $Re=0.52$ であり, 粒子直径基準のレイノルズ数は, 粒子運動が収束し, その平均速度が制御目標速度である $u_p^*=6.25\text{mm}/\text{s}$ であるとする $Re_p=0.084$ である.

2・2 計算手法と条件

計算領域を図 3 に示す. 計算領域の主流方向とスパン方向の長さは, それぞれ $100\mu\text{m}$ と $200\mu\text{m}$ であり, 計算領域の高さは $H=50\mu\text{m}$ である. Boxcar 型電極の主流方向のピッチは $L_{\text{pitch}}=50\mu\text{m}$ であり, 枕木電極の幅と長さは, それぞれ $50\mu\text{m}$ と $10\mu\text{m}$ であり実験と等しい. 計算領域の中心と枕木電極間中央は一致する.

はじめに流路内の電場強度分布を有限要素法に基づく解析ソフトウェア (COMSOL Multiphysics Ver5.3a) を用いて求めた. 電場計算の境界条件は, 計算領域の上壁にあるグラウンド電極と下壁に付設した Boxcar 型電極間に正弦波の交流電圧を印可した. その電圧および周波数は, それぞれ 18V と 10MHz とした. 電極以外の境界では電気絶縁条件を適用した. また流体の比誘電率は $\epsilon=80.0$ とした.

計算で得られた電場強度分布から Clausius-Mossotti 関数と 3 次精度の電場強度分布を適用した Multipole 法 (Washizu and Jones, 1994, Jones and Washizu, 1996, Tatsumi et al., 2016) を用いて粒子に作用する誘電泳動力を求めた.

一方, 粒子に作用する流体力として流路壁面と流れのせん断速度の影響を考慮した修正ストークス抗力を求めた (Goldman et al., 1967a, 1967b, Cooley and O'Neill, 1969). これらのモデルでは, せん断流れによる粒子の回転運動を含めた粒子に働く主流方向の力への付加的な効果と壁により高さ方向に作用する力が考慮されている. また計算の妥当性は, 梯子型電極を用いた誘電泳動力による粒子整列機構において, 粒子速度分布に関する実験結果との比較により確認している (Tatsumi et al. 2019).

これらの誘電泳動力と流体力に基づく粒子の運動方程式を求め, それを 4 次の Runge-Kutta 法を用いて解いた. なお, 実験と同様に誘電泳動力は周期 $f_{\text{on-off}}=125\text{Hz}$ で粒子に作用するとした. さらに 2 粒子の運動を計算する場合, 粒子同士の衝突では, 法線方向成分は完全弾性衝突とし, 2 粒子が接触した状態で粒子の速度差がある

Fig. 4 Contour maps of the dielectrophoretic force F_{DEP} distributions on x - z plane at $y=0\mu\text{m}$.

Fig. 5 Distributions of (a) the z component of F_{DEP} , (b) particle height position z_p , (c) streamwise force exerted on the particle F_x , and (d) particle streamwise velocity u_p , all shown in relationship to the particle x position over one periodic area obtained by the computation for the particle in periodic state.

とき、接線方向の粒子間の摩擦係数を 0.5 として粒子間の摩擦を考慮した。粒子の直径、密度、比誘電率は、それぞれ $d_p=12\mu\text{m}$ 、 $\rho_p=1.05\times 10^3\text{kg/m}^3$ 、 $\varepsilon_p=2.65$ とした。

流体の粘性は $\mu_f=8.97\times 10^{-4}\text{Pa}\cdot\text{s}$ とした。流路内の断面平均流速は実験の値と等しくなるように設定した。流速分布として矩形流路内の定常層流流れの速度分布を適用した。ここで、計算領域の高さは $50\mu\text{m}$ であり実験の流路高さとは異なる。そのため流路断面内の速度分布は両者で異なるが、粒子の周期運動に大きく影響せず、本計算結果に基づいて実験との比較および粒子運動特性を評価する。

3. 結果と考察

3・1 誘電泳動力分布と平衡状態における運動特性

はじめに、計算で求めた誘電泳動力分布、および粒子が周期的な運動を行い定常状態（平衡状態）にある場合における粒子に作用する力と粒子運動に関する分布について考察を行う。図 4(a) と (b) に電場分布により粒子に作用する誘電泳動力 F_{DEP} の主流方向成分 $F_{DEP,x}$ と高さ方向成分 $F_{DEP,z}$ の x - z 平面での分布を示す。また、図 5 に 1 周期領域における粒子に作用する z 方向の誘電泳動力 $F_{DEP,z}$ 、粒子 z 方向位置（高さ位置） z_p/H 、粒子に作用する主流方向の力 F_x 、そして粒子主流方向速度 u_p の分布をそれぞれ示す。 F_x は粒子にかかる主流方向の誘電泳動力 $F_{DEP,x}$ と流体力 $F_{flow,x}$ の和である。

図4では枕木電極間の領域 ($0.1 < x/L_{pitch} < 0.9$) の上流側と下流側それぞれにて、主流方向の誘電泳動力は正の値 ($F_{DEP_x} > 0$) と負の値を示し ($F_{DEP_x} < 0$)、その大きさは枕木電極に近づく程、大きくなる。また、枕木電極の近傍では高さ方向の誘電泳動力は正の値を示し ($F_{DEP_z} > 0$)、それ以外の領域では負の値を示す ($F_{DEP_z} < 0$)。図5(a)と(b)に示すように、粒子が定常状態である場合は、枕木電極近傍 ($x_p/L_{pitch} < 0.2$) を通過する時刻は通電の時間帯と重なるため、誘電泳動力により粒子の高さ位置 z_p は増大するが、枕木電極の下流では負の F_{DEP_z} により z_p は減少する。矩形断面流路内の層流流れにおける流路の高さ方向の速度分布の影響により、前者においては流れにより粒子を加速する力が働き、後者では減速の効果が現れる。この粒子の高さ位置における流れの影響と主流方向の誘電泳動力 F_{DEP_x} により、図5(c)と(d)に示すように通電時には、はじめに主流方向に正の力が粒子に働いて u_p は増大し、その後に負の力が働き u_p は減少する。非通電時では、粒子に誘電泳動力は作用せず、粒子の位置における流体に追従して粒子は一定速度で流れる。

図1の模式図に示すように、Boxcar型電極の1周期領域を粒子が通過する間に、通電時に粒子に働く正と負の仕事が釣り合い (和が0となる)、粒子運動が定常となる状態を平衡状態とすれば、粒子の平均速度は変化せず運動も周期的になる。これに対して、平衡状態から時間および空間的に位相差が存在する場合、図4(a)と図5(c)を比較しても分かるように、それに合わせて加速および減速の力が付加的に作用する。これにより粒子は平衡状態に収束する。また、粒子が平衡状態にある場合、粒子はBoxcar型電極領域の1周期の長さ L_{pitch} と通電の周期 $t_{on-off} = 1/f_{on-off}$ の間に進むため、粒子の平均速度は $u_p^* = L_{pitch}/t_{on-off} = L_{pitch}f_{on-off}$ となる。さらに、粒子間の距離と時間間隔はそれぞれ L_{pitch} と t_{on-off} と等しいか、その整数倍となる。

3・2 Boxcar 型電極における粒子の運動評価

図6にBoxcar型電極領域の入口と出口における粒子の写真を示す。図6(a)に示すBoxcar型電極領域の入口では1周期領域に2個以上の粒子が位置する場合が確認できる。一方、図6(b)に示す出口では、各1周期領域に位置する粒子の数は0か1個である。したがって、粒子は1周期領域に複数個存在していても、Boxcar型電極を流れることで粒子は互いに離隔し、1周期領域に1個ずつ配置 (整列) する様子が伺える。

実験で粒子の運動を観察した時に、同じ周期領域に2つの粒子が位置する場合において両粒子が離隔する様子が確認できた。その一例として、同じ周期領域に位置する2粒子が互いに離れる様子を撮影した連続画像を図7に示す。画像はBoxcar型電極の下方から撮影され、初期位置として下流に位置する粒子を粒子1、上流の粒子を粒子2とする。また、図中の座標軸は周期的に運動する場合の粒子と共に移動する周期領域を示す。図では粒子1は減速し、粒子2が粒子1を追い越して下流に流れる様子が見られる。また粒子2は共に移動する周期領域内に位置するが、粒子1は後述するように1つ上流の周期領域に移動する。

粒子1と粒子2の関係と運動特性を評価するために、図8に撮影動画から求めた2粒子それぞれの速度 u_p に関する分布を示す。図中の記号付き折れ線図は測定結果であり、赤色の折れ線図は3.3節で述べる数値解析結果を示す。また、斜線領域は2粒子が接触している時間帯を示す。図に示す時間帯では粒子1の速度 u_p は減少し、粒子2と接触した時はその減少量は大きい。これに対して粒子2は粒子1よりも u_p は大きい値を示し、粒子1との接触時には増加する。これらの分布からも粒子2が粒子1を追い越す様子が分かる。この粒子の離隔の特性を評価するために3・3節では2粒子の運動に関する数値計算を行った。

3・3 離隔効果の運動評価

ここでは各粒子が平衡状態にあり整列しているところに、追加で粒子が同じ周期領域に設置した場合での粒子の運動特性を検討する。計算開始時において周期的な運動を行い平衡状態にある粒子を粒子2、同じ領域に混入した粒子を粒子1とする。粒子1と2の計算開始時の位置を表1に示す。粒子1と2の y 方向位置は共に流路スパン方向 (電極スパン方向) の中央である。粒子2の初期位置は粒子が平衡状態の時の通電開始時の位置であり、粒子2に対して粒子1は下流に配置する。

粒子1と2の時間に対する軌跡を図9(a)に示す。また図9(b), (d) に $-0.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 1.5$ の領域を流れる時の粒子の軌跡および、その時に粒子に働く主流方向誘電泳動力 F_{DEP_x} と高さ方向誘電泳動力 F_{DEP_z} の分布をそれぞれ示す。図9(c), (e) には同様に $1.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 3.5$ の領域における粒子の軌跡と粒子に作用する誘電泳動力の分布を

Fig. 6 Photographs of the particles flowing at the inlet and outlet of the boxcar-electrode region.

Fig. 7 Snapshots of the particle separation process observed in the experiment. Images are taken from the bottom side of the channel and the axis shows the same periodic region in which the particle in periodic (equilibrium) state locates.

Fig. 8 The velocities of particle 1 and particle 2 obtained from the measurement and computation at the moment when particles contact and separate. The hatched area represents the time when the particles are in contact.

Table 1 Initial positions of Particle 1 and Particle 2 shown in Fig. 9.

$x_{p1}(0)/L_{pitch} [\mu m]$	$z_{p1}(0)/H [\mu m]$	$x_{p2}(0)/L_{pitch} [\mu m]$	$z_{p2}(0)/H [\mu m]$
0.6	0.25	-0.052	0.25

示す。図中の円で表す粒子位置は、図 9(b), (d)では $t/t_{on-off}=0$ の時の粒子を、(c), (e) では $t/t_{on-off}=2.0, 2.5, 3.0$ の時の粒子を示す。また図 9(a)では 1 周期 (t_{on-off}) 毎の粒子位置を四角記号により打点し、(b)~(e) では半周期 ($t_{on-off}/2$) 毎に打点する。さらに図 9(a)では四角記号での粒子の周期を括弧内の数字で示し、周期的な運動を行う場合 (平衡状態) の粒子が 1 周期に主流方向に移動する範囲を破線で表す。

図 9(a)と(b)に示すように粒子 2 は、はじめの 1~2 周期では図 5 に示す周期的な運動と同じ軌跡を示す。これに対して、下流側に位置する粒子 1 に作用する主流方向と高さ方向の誘電泳動力 $F_{DEP,x}$ と $F_{DEP,z}$ は負の値を示し、粒子は減速する。これにより 2 粒子は接近し、2 周期目開始時 (図 9(c)と(e)) では粒子は接した状態で運動する。この時、図 9(e)に示すように粒子 2 には高さ方向の誘電泳動力は正方向に働き、粒子 1 には負方向に働く。これにより粒子 2 は、正の $F_{DEP,x}$ とその高さ位置が流速の速い領域へと上昇することにより加速する。一方、粒子 1 は高さ位置が下がることにより減速する。その結果、図 9(c)と(e)で示す軌跡の通り、粒子 2 は粒子 1 の上を接触しながら追い越し下流へと流れる。

(a) Motion trajectory of the two particles ($0 \leq x_p/L_{pitch} \leq 3.5$, $0 \leq t/t_{on-off} \sim 3$). The number in the bracket shows the time period in which the particle at that position is initially located. The area shown by the broken lines represents the region in which the particle at periodic (equilibrium) state moves in one period.

(b) Trajectory and $F_{DEP,x}$ ($-0.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 1.5$, $0 \leq t/t_{on-off} \sim 1$)

(c) Trajectory and $F_{DEP,x}$ ($1.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 3.5$, $1 \leq t/t_{on-off} \sim 2.5$)

(d) Trajectory and $F_{DEP,z}$ ($-0.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 1.5$, $0 \leq t/t_{on-off} \sim 1$)

(e) Trajectory and $F_{DEP,z}$ ($1.5 \leq x_p/L_{pitch} \leq 3.5$, $1 \leq t/t_{on-off} \sim 2.5$)

Fig. 9 The trajectory of the two particles moving in the boxcar-electrode region over multiple periods and the dielectrophoretic forces F_{DEP} exerted on the particles. The additional particle (Particle 1) enters the periodic region in which Particle 2 is located at the periodic (equilibrium) position.

Fig. 10 The trajectory of Particle 1 moving in the boxcar-electrode region over multiple periods. The additional particle (Particle 1) enters the periodic region in which Particle 2 is located at the periodic (equilibrium) position.

Fig. 11 Time distribution of the distance between two particles initially located in the same periodic region of the boxcar-electrode. The initial position of midpoint of the two particles $x_{p-p}^*(0)$ is varied in the streamwise direction.

この時、各周期領域を基準として見た場合、粒子1を追い越した粒子2は計算開始時に平衡状態にあった同じ周期領域内で再び収束し、粒子1は1つ上流の周期領域に移動する。このように1周期領域に2粒子が位置する場合、誘電泳動力と流れ場により主流方向に対して互いに逆向きの力が両者に作用して2粒子は接近する。そのまま粒子に働く高さ方向の誘電泳動力の向きの違いにより、粒子1と2の位置が入れ替わり、粒子1は上流の周期領域へと移動する。

粒子1がこのような運動を繰り返すかを検証するため、各周期領域に平衡状態にある粒子が存在するとし、粒子1が図9と同じ初期位置を持つ場合について16周期分の計算を行った。図10に粒子の軌跡を示す。図では1周期毎の粒子位置を四角記号で示す。粒子1は1~3周期 ($0 \leq t/t_{on-off} \leq 3$) では図9と同じ軌跡を示し、上流側の周期領域へ移動する。4~6周期 ($3 \leq t/t_{on-off} < 6$) でも粒子1は、次の周期領域に存在する平衡状態にある粒子と共に1~3周期と定性的に同じ動きをする。これにより、粒子1はさらに上流の周期領域に移動する。7~8周期と9~11周期でも粒子1は同様に上流の周期領域に移動する。そして7~11周期と12~16周期での粒子軌跡は互いに等しい分布となる。これ以降は5周期ごとに粒子1は同じ運動を周期的に繰り返し、その度に上流の周期領域に移動する。このことから、Boxcar型電極領域にて整列された粒子群に追加の粒子が混入した場合、その粒子は周期的な運動を繰り返して上流の周期領域へと移動することが分かった。このことから周期領域にて超過する粒子がここで示した運動を繰り返し、空きの領域に収まることで図6(b)に示すように粒子が整列すると考えられる。

最後に、Boxcar型電極の同じ周期領域に2粒子が位置する場合には離隔効果が現れることを一定の範囲内で示すために、整列されていない（平衡状態にない）2粒子を配置した場合として、2粒子が主流方向に接して並んでいる状態について、初期位置を変えて粒子運動の計算を行った。2粒子の初期位置は、高さ位置を等しく $z_{p,0} = 12.5 \mu\text{m}$ とし、2粒子の中心の主流方向位置 $x_{p-p}^*(0)/L_{pitch}$ を0から0.1間隔で変化させた。図11に2粒子間の距離 l_{p-p} の時間に対する分布を示す。 l_{p-p}/L_{pitch} は初期値である0.24から振動しながら増大し、全ての粒子について時間経過と共に $l_{p-p}/L_{pitch} = 1$ もしくは2に収束する。このことから検討した条件内ではあるが、Boxcar型電極の同じ周期領域内に位置する2粒子は離隔され、それぞれ異なる周期領域に配置できることが分かる。

なお、本節で考察した粒子の運動特性は、本研究で設定した一定の条件範囲で成り立つものであり、粒子径と電極の周期長さの比がある値以下になれば、2粒子は離隔せず、同じ周期領域に収束すると考えられる。また、流速が粒子制御速度 $u_p^* = L_{pitch}/t_{on-off}$ と大きく異なる場合は誘電泳動力による粒子速度の修正が行えなくなるため、粒子を一定間隔で整列することができないと考えられる。これらの整列可能な条件の範囲を検証することは、本手法において重要であり、今後の課題である。

3・4 1周期領域内の粒子数に関する統計分布

Boxcar型電極の1周期領域にて2つ以上の粒子が位置する場合、粒子同士が離隔して1周期領域内に1粒子のみが配置することを評価するため、Boxcar型電極領域の入口と出口の流路断面を1周期ごとに通過する粒子の数

Fig. 12 Frequency distributions of the number of particles in the periodic area at the inlet and outlet of the boxcar-electrode region in the case of average number of particles in a periodic area $\lambda=0.70$.

n を求めた. この粒子数 n は平均粒子速度が一定であれば, 1 周期領域に位置する粒子数と等しくなる. 図 12(a) と (b) に, それぞれ Boxcar 型電極の入口と出口での n に関する頻度分布を棒グラフとして示す. 測定周期数は 83 であり, その間に通過した粒子の総数から求めた 1 周期ごとに通過する平均粒子数は 0.70 である.

図 12(a)では $F(n)$ は $n=0$ で最大となり, n が増加するに従い減少する. ここで重要なのは $n=2, 3$ にて $F(n)$ が 0 とならず値を示すことである. これは 1 周期内に粒子が 2 個以上存在することを示し, $n \geq 2$ である割合は全体の約 17%を占める.

ここで 1 周期領域に粒子が位置する率が比較的小さく, その事象がランダムであるとすれば, ポアソン分布を用いてその発現確率を表すことができる. 1 周期領域にある粒子数の期待値 λ を 0.70 として求めたポアソン分布を図 12(a)に散布図として示す. 実験で求めた n の頻度分布とポアソン分布とは 3%以下の誤差で一致する. したがって, Boxcar 型電極領域の入口では粒子がランダムに流入し, 1 周期領域に 2 個以上の粒子が位置する場合があります, その確率はポアソン分布にて表すことができることが分かる.

これに対して, 図 12(b)では $F(n)$ は $n \geq 2$ の場合では 0 であり, 2 個以上の粒子が 1 周期領域に存在しないことが分かる. 3.2 節と 3.3 節で示したように, 1 周期領域に 2 個以上ある場合は, 粒子は隣接する周期領域へと移動し, 空いた周期領域に収まることで 1 周期領域に 1 個の粒子が配置され, 粒子が整列される.

緒言で述べたように流路内にて粒子を 1 個単位で等間隔に整列することで, センシング, 分取, カプセル化の精度と処理能力を向上することができる. 例えば, 粒子をランダムに流した時の 1 周期領域内の粒子数 n を前述のポアソン分布から求めると, $n \geq 2$ となる割合を 0.01 以下にするには粒子数の期待値 λ を 0.15 以下にする必要がある. この場合, 1 周期領域に粒子 1 個が充填される割合は約 0.13 であり, 0.85 以上の割合で領域が空 ($n=0$) となるため収率は低い. これに対して本手法を適用した場合, $n=1$ の割合が λ と等しくなる. 従って, λ が 1 を超えない範囲で粒子密度を上げることで収率と処理能力を向上することができる.

4. 結 言

本研究では, Boxcar 型電極を用いて空間と時間に対して周期的に誘電泳動力を粒子に付加することで, マイクロ流路を流れる粒子同士を隔離し整列できることを示した.

Boxcar 型電極領域に流入する粒子について, 1 周期領域内に位置する粒子の頻度分布を求めた結果, 入口では 2 個以上の粒子が存在する割合が約 17%であった. これに対して領域出口では 1 周期領域内に位置する粒子数は 0 または 1 のみであった. これにより粒子同士を隔離し, 周期領域に 1 個の粒子を配置できることを示した.

同一周期領域に 2 粒子が位置する場合, 誘電泳動力と流速の分布により上流の粒子は加速, 下流の粒子は減速し, 上流の粒子が下流の粒子を越えることで両者は入れ替わる. この時, 下流の粒子に大きな減速効果が働き, 粒子は上流の周期領域に移動する. 移動した粒子は, その周期領域に粒子が位置する場合, 同様の運動を繰り返す, さらに上流の周期領域へと移動することを示した. これにより周期領域内の超過の粒子は上流へと移動し,

空いた周期領域に収まる．従って，粒子数密度が周期領域の数密度以下の場合，Boxcar 型電極領域の長さを十分に取れば全ての粒子を離隔し，それぞれの周期領域に 1 個の粒子を配置して整列することができる．

以上のように本手法では粒子を整列することが可能であるが，それに加えて，通電の周期 $f_{\text{on-off}}$ を変化させることで粒子速度を制御することが可能である．また，通電の周期と位相から粒子が主流方向の特定の位置を通過するタイミングを予測および制御することも可能である特徴を持つ．一方，粒子径や流速等について，本手法が有効である条件を明らかにしていく必要がある．

謝 辞

本研究は JSPS 科研費 17K18841 の助成を受けたものである．マイクロデバイス製作の一部は「低炭素研究ネットワーク」京都大学ナノテクノロジーハブ拠点の支援によるものである．記して謝意を表する．

文 献

- Abate, A. R., Chen, C.-H., Agresti, J. J. and Weitz, D. A., Beating Poisson encapsulation statistics using close-packed ordering, *Lab on a Chip*, Vol.9, No.18 (2009), pp.2628-2631.
- Afshar, R., Moser, Y., Lehnert, T. and Gijs, M. A. M., Three-dimensional magnetic focusing of superparamagnetic beads for on-chip agglutination assays, *Analytical Chemistry*, Vol.83, No.3 (2011), pp.1022-1029.
- Baret, J.-C., Miller, O. J., Taly, V., Ryckelynck, M., El-Harrak, A., Frenz, L., Rick, C., Samuels, M. L., Hutchison, B. H., Agresti, J. J., Link, D. R., Weitz, D. A. and Griffiths, A. D., Fluorescence-activated droplet sorting (FADS): efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity, *Lab on a Chip*, Vol.9, No.13 (2009), pp.1850-1858.
- Chen, T., Wu, T.-H., Kung, Y.-C., Teitell, M. A. and Chiou, P.-Y., 3D pulsed laser-triggered high-speed microfluidic fluorescence-activated cell sorter, *Analyst*, Vol.138, No.24 (2013), pp.7308-7315.
- Cheung, K. C., Di Berardino, M., Schade-Kampmann, G., Hebeisen, M., Pierzchalski, A., Bocsi, J., Mittag, A. and Ta'rnok, A., Microfluidic impedance-based flow cytometry, *Cytometry, Part-A*, Vol.77A, No.7 (2010), pp.648-666.
- Chung, A. J., Gossett, D. R. and Di Carlo, D., Three dimensional, sheathless, and high-throughput microparticle inertial focusing through geometry-induced secondary flows, *Small*, Vol.9, No.5 (2013), pp.685-690.
- Čižmár, T., Šiler, M. and Zemánek, P., An optical nanotrap array movable over a millimetre range, *Applied Physics B*, Vol.84, No.1 (2006), pp.197-203.
- Cooley, M. D. A. and O'Neill, M. E., On the slow motion generated in a viscous fluid by the approach of a sphere to a plane wall or stationary sphere, *Mathematica*, Vol.16, No.1 (1969), pp.37-49.
- Di Carlo, D., Irimia, D., Tompkins, R. G. and Toner, M., Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels, *PNAS*, Vol.104, No.48 (2007), pp.18892-18897.
- Fiedler, S., Shirley, S. G., Schnelle, T. and Fuhr, G., Dielectrophoretic sorting of particles and cells in a microsystem, *Analytical Chemistry*, Vol.70, No.9 (1998), pp.1909-1915.
- Gao, Y., Magaud, P., Baldas, L., Lafforgue, C., Abbas, M. and Colin, S., Self-ordered particle trains in inertial microchannel flows, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.21, No.10 (2017), pp.154-164.
- Goldman, A. J., Cox, R. G. and Brenner, H., Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall I: Motion through a quiescent fluid, *Chemical Engineering Science*, Vol.22, No.4 (1967a), pp.637-651.
- Goldman, A. J., Cox, R. G. and Brenner, H., Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall II: Couette flow, *Chemical Engineering Science*, Vol.22, No.4 (1967b), pp.653-660.
- 本間怜人，野間淳志，巽和也，栗山怜子，中部主敬，誘電泳動力を用いたマイクロ流路内粒子ピッチングシの制御特性評価，日本機械学会第 5 回マイクロナノ工学シンポジウム講演論文集 (2018)，31am3-PN-79.
- Jones, T. B. and Washizu, M., Multipolar dielectrophoretic and electrorotation theory, *Journal of Electrostatics*, Vol.7, No.1 (1996), pp.121-134.

- Kemna, E. W. M., Schoeman, R. M., Wolbers, F., Vermes, I., Weitz, D. A. and van Berg, A., High-yield cell ordering and deterministic cell-in-droplet encapsulation using Dean flow in a curved microchannel, *Lab on a Chip*, Vol.12, No.16 (2012), pp.2881–2887.
- Lagus, T. P. and Edd, J. F., High-throughput co-encapsulation of self-ordered cell trains: cell pair interactions in microdroplets, *RSC Advances*, Vol.3, No.43 (2013), pp.20512–20522.
- Laurell, T., Petersson, F. and Nilsson, A., Chip integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles, *Chemical Social Reviews*, Vol.36, No.3 (2007), pp.492–506.
- Mazutis, L., Gilbert, J., Lloyd, U., Weitz, D. A., Griffiths, A. D. and Heyman, J. A., Single-cell analysis and sorting using droplet-based microfluidics, *Nature Protocols*, Vol.8, No.5 (2013), pp.870–891.
- Oakey, J., Applegate, R. W., Arellano, E., Di Carlo, D., Graves, S. W. and Toner, M., Particle focusing in staged inertial microfluidic devices for flow cytometry, *Analytical Chemistry*, Vol.82, No.9 (2010), pp.3862–3867.
- Shields IV, C. W., Reyes, C. D. and López, G. P., Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation, *Lab on a Chip*, Vol.15, No.5 (2015), pp.1230–1240.
- 新谷拓宙, 川野光輝, 巽和也, 勝本洋一, 中部主敬, レール電極を用いた誘電泳動現象による粒子の誘導, 日本機械学会第5回マイクロナノ工学シンポジウム講演論文集 (2013), 7AM2-C-3.
- Sun, T., Green, N. G., Gawad, S. and Morgan, H., Analytical electric field and sensitivity analysis for two microfluidic impedance cytometer designs, *IET Nanobiotechnol*, Vol.1, No.5 (2007), pp.69–79.
- Tatsumi, K., Kawano, K., Okui, H., Shintani, H. and Nakabe, K., Analysis and measurement of dielectrophoretic manipulation of particles and lymphocytes using rail-type electrodes, *Medical Engineering and Physics*, Vol.38, No.1 (2016), pp.24–32.
- Tatsumi, K., Kawano, K., Shintani, H. and Nakabe, K., Particle timing control and alignment in microchannel flow by applying periodic force control using dielectrophoretic force, *Analytical Chemistry*, Vol. 91, No.10 (2019), pp. 6462–6470.
- Washizu, M. and Jones, T. B., Multipolar dielectrophoretic force calculation, *Journal of Electrostatics*, Vol.33, No.2 (1994), pp.187–198.
- Wood, C. D., Evans, S. D., Cunningham, J. E., O’Rourke, R., Wälti, C. and Davies, A. G., Alignment of particles in microfluidic systems using standing surface acoustic waves, *Applied Physics Letters*, Vol.92, No.4 (2008), 044104.
- Xuan, X., Zhu, J. and Church, C., Particle focusing in microfluidic devices, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.9, No.1 (2010), pp.1–16.
- Zhu, J., Tzeng, T.-R. J., Hu, G. and Xuan, X., DC dielectrophoretic focusing of particles in a serpentine microchannel, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.7, No.6 (2009), pp.751–756.

References

- Abate, A. R., Chen, C.-H., Agresti, J. J. and Weitz, D. A., Beating Poisson encapsulation statistics using close-packed ordering, *Lab on a Chip*, Vol.9, No.18 (2009), pp.2628–2631.
- Afshar, R., Moser, Y., Lehnert, T. and Gijs, M. A. M., Three-dimensional magnetic focusing of superparamagnetic beads for on-chip agglutination assays, *Analytical Chemistry*, Vol.83, No.3 (2011), pp.1022–1029.
- Baret, J.-C., Miller, O. J., Taly, V., Ryckelynck, M., El-Harrak, A., Frenz, L., Rick, C., Samuels, M. L., Hutchison, B. H., Agresti, J. J., Link, D. R., Weitz, D. A. and Griffiths, A. D., Fluorescence-activated droplet sorting (FADS): efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity, *Lab on a Chip*, Vol.9, No.13 (2009), pp.1850–1858.
- Chen, T., Wu, T.-H., Kung, Y.-C., Teitell, M. A. and Chiou, P.-Y., 3D pulsed laser-triggered high-speed microfluidic fluorescence-activated cell sorter, *Analyst*, Vol.138, No.24 (2013), pp.7308–7315.
- Cheung, K. C., Di Berardino, M., Schade-Kampmann, G., Hebeisen, M., Pierzchalski, A., Boci, J., Mittag, A. and Ta’rnok, A., Microfluidic impedance-based flow cytometry, *Cytometry, Part-A*, Vol.77A, No.7 (2010), pp.648–666.
- Chung, A. J., Gossett, D. R. and Di Carlo, D., Three dimensional, sheathless, and high-throughput microparticle inertial focusing through geometry-induced secondary flows, *Small*, Vol.9, No.5 (2013), pp.685–690.
- Čižmár, T., Šiler, M. and Zemánek, P., An optical nanotrap array movable over a millimetre range, *Applied Physics B*, Vol.84, No.1 (2006), pp.197–203.

- Cooley, M. D. A. and O'Neill, M. E., On the slow motion generated in a viscous fluid by the approach of a sphere to a plane wall or stationary sphere, *Mathematica*, Vol.16, No.1 (1969), pp.37-49.
- Di Carlo, D., Irimia, D., Tompkins, R. G. and Toner, M., Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels, *PNAS*, Vol.104, No.48 (2007), pp.18892-18897.
- Fiedler, S., Shirley, S. G., Schnelle, T. and Fuhr, G., Dielectrophoretic sorting of particles and cells in a microsystem, *Analytical Chemistry*, Vol.70, No.9 (1998), pp.1909-1915.
- Gao, Y., Magaud, P., Baldas, L., Lafforgue, C., Abbas, M. and Colin, S., Self-ordered particle trains in inertial microchannel flows, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.21, No.10 (2017), pp.154-164.
- Goldman, A. J., Cox, R. G. and Brenner, H., Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall I: Motion through a quiescent fluid, *Chemical Engineering Science*, Vol.22, No.4 (1967a), pp.637-651.
- Goldman, A. J., Cox, R. G. and Brenner, H., Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall II: Couette flow, *Chemical Engineering Science*, Vol.22, No.4 (1967b), pp.653-660.
- Honma, R., Noma, A., Tatsumi, K., Kuriyama R. and Nakabe, K., Study on control characteristics of pitching machine for particles in microchannel flow using dielectrophoretic forces, *Proc. of the 9th Symposium on Micro-Nano Science and Technology* (2018), 31am3-PN-79 (in Japanese).
- Jones, T. B. and Washizu, M., Multipolar dielectrophoretic and electrorotation theory, *Journal of Electrostatics*, Vol.7, No.1 (1996), pp.121-134.
- Kemna, E. W. M., Schoeman, R. M., Wolbers, F., Vermes, I., Weitz, D. A. and van Berg, A., High-yield cell ordering and deterministic cell-in-droplet encapsulation using Dean flow in a curved microchannel, *Lab on a Chip*, Vol.12, No.16 (2012), pp.2881-2887.
- Lagus, T. P. and Edd, J. F., High-throughput co-encapsulation of self-ordered cell trains: cell pair interactions in microdroplets, *RSC Advances*, Vol.3, No.43 (2013), pp.20512-20522.
- Laurell, T., Petersson, F. and Nilsson, A., Chip integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles, *Chemical Social Reviews*, Vol.36, No.3 (2007), pp.492-506.
- Mazutis, L., Gilbert, J., Lloyd, U., Weitz, D. A., Griffiths, A. D. and Heyman, J. A., Single-cell analysis and sorting using droplet-based microfluidics, *Nature Protocols*, Vol.8, No.5 (2013), pp.870-891.
- Oakey, J., Applegate, R. W., Arellano, E., Di Carlo, D., Graves, S. W. and Toner, M., Particle focusing in staged inertial microfluidic devices for flow cytometry, *Analytical Chemistry*, Vol.82, No.9 (2010), pp.3862-3867.
- Shields IV, C. W., Reyes, C. D. and López, G. P., Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation, *Lab on a Chip*, Vol.15, No.5 (2015), pp.1230-1240.
- Shintani, H., Kawano, K., Tatsumi, K., Katsumoto, Y. and Nakabe, K., Dielectrophoretic manipulation of particles using rail-type electrodes, *Proc. of the 5th Symposium on Micro-Nano Science and Technology* (2013), 7AM2-C-3 (in Japanese).
- Sun, T., Green, N.G., Gawad, S. and Morgan, H., Analytical electric field and sensitivity analysis for two microfluidic impedance cytometer designs, *IET Nanobiotechnol*, Vol.1, No.5 (2007), pp.69-79.
- Tatsumi, K., Kawano, K., Okui, H., Shintani, H. and Nakabe, K., Analysis and measurement of dielectrophoretic manipulation of particles and lymphocytes using rail-type electrodes, *Medical Engineering and Physics*, Vol.38, No.1 (2016), pp.24-32.
- Tatsumi, K., Kawano, K., Shintani, H. and Nakabe, K., Particle timing control and alignment in microchannel flow by applying periodic force control using dielectrophoretic force, *Analytical Chemistry*, Vol. 91, No.10 (2019), pp. 6462-6470.
- Washizu, M. and Jones, T. B., Multipolar dielectrophoretic force calculation, *Journal of Electrostatics*, Vol.33, No.2 (1994), pp.187-198.
- Wood, C. D., Evans, S. D., Cunningham, J. E., O'Rourke, R., Wälti, C. and Davies, A. G., Alignment of particles in microfluidic systems using standing surface acoustic waves, *Applied Physics Letters*, Vol.92, No.4 (2008), 044104.
- Xuan, X., Zhu, J. and Church, C., Particle focusing in microfluidic devices, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.9, No.1 (2010), pp.1-16.
- Zhu, J., Tzeng, T.-R. J., Hu, G. and Xuan, X., DC dielectrophoretic focusing of particles in a serpentine microchannel, *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol.7, No.6 (2009), pp.751-756.