

研究終了報告書

「マイクロ格子構造を用いた自動液体サンプリング」

研究期間: 2021 年 10 月～2024 年 3 月

研究者: 矢野 浩規

1. 研究のねらい

本研究の目的は、Internet of Things (IoT)型の分子センサの開発に向け、外部からの液体サンプリングや化学処理といった人が行う作業を代替・自動化する、電気毛管現象 (Electrocapillary)にもとづく微小領域で正確に液体を扱える新たな技術を開発することである。

トイレの排水や下水からヒト由来の分子情報をリアルタイムかつ広範囲に取得することが可能になれば、感染症パンデミック時に地域の感染症状況を可視化したり、個人の健康異常を早期に知らせたりするシステムの実現につながり、感染症や高齢化に対応するロバストな社会の実現に貢献すると考えられる。これまでも、排水や下水からのヒト由来の分子情報取得に関する試みはあるが、サンプル液体の採取や分子検出作業を人が行う必要があるため、リアルタイムかつ広範囲に展開することは困難である。そこで、外部からの液体サンプリングや化学処理といった人が行う作業を代替・自動化し、リアルタイムかつ広範囲な分子情報の取得を可能にする IoT 型の分子センサの開発に向け、微小領域で正確に液体を扱える新たな技術の実現を目指した。具体的な取り組みとしては、3 次元のマイクロ構造を用いた毛管現象という研究代表者の独自技術と、電氣的に構造表面の濡れ性を変える Electrowetting on dielectric (EWOD)を組み合わせた Electrocapillary にもとづく、液体操作技術の実現を目指した。特に、本研究では、人が行う作業を代替・自動化する技術の開発の第一歩として、測定対象液体からの自動的な液体サンプリングの実現に取り組んだ。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、(1)Electrowetting による 3 次元格子構造への液体サンプリング及び排出技術の開発、(2)電氣的サンプリング/排出時の格子構造中での液滴アレイ化技術の開発、および(3)液滴ベースの分子センシングの実証、という研究課題に取り組んだ。

研究課題(1)では、3 次元のマイクロ構造を用いた毛管現象と Electrowetting on Dielectric(EWOD)を組み合わせ、Electrocapillary による液体サンプリング及び排出技術の実現を目標とした。まず、平板上での EWOD の実証と凹凸面の EWOD への影響を評価し、その知見を活用して、EWOD により濡れ性の制御が可能な流路上での Electrocapillary の実証に成功した。また、3 次元マイクロ構造中でも同様に Electrocapillary による水溶液の吸引が可能であることを示すとともに、予めマイクロ構造をオイルに浸漬しておくことで、電圧印可の切り替えにより液体のサンプリングと排出の制御が可能であることを示した。

研究課題(2)では、Electrocapillary による液体輸送技術を用いて、デジタル PCR 等への応用が可能な微小液滴アレイの形成技術の実現を目標とした。研究代表者のこれまでの研究で得られた知見と本技術を組み合わせ、Electrocapillary による液体輸送で水溶液とオイル

の非混和性界面を、8 面体状に連結したピラー構造を持つ格子構造に通過させることで、液滴アレイの生成が可能であることを示すとともに、界面活性剤の添加による液滴生成率の向上を確認した。

研究課題(3)では、提案した **Electrocapillary** による液体輸送で生成された液滴アレイを用いて、デジタル PCR による核酸増幅を実証し、本技術のバイオセンシングへの応用可能性を示すことを目標とした。まず、微小な油中水滴を生成可能なウェルアレイ型のデバイスを製作し、ウェルアレイ中に生成された 1 nL スケールの微小液滴中での PCR による遺伝子増幅を実証した。さらに、**Electrocapillary** による液体輸送機能を用いた油中水滴生成機構を製作し、デジタル PCR へ利用可能なサイズの微小液滴のアレイ中で、PCR による遺伝子増幅を確認した。

(2)詳細

研究課題(1)

「Electrowetting による 3 次元格子構造への液体サンプリング及び排出技術の開発」

本課題では、3 次元のマイクロ構造を用いた毛管現象と EWOD の融合という本研究のコアとなる **Electrocapillary** 技術の実現に取り組んだ。

EWOD を生じさせるためには、構造に導電性を持たせるとともに、液体との接触による短

絡を防ぐため導電層の上に絶縁層を形成する必要がある。本研究では、**Electrocapillary** によって液体吸引可能な構造体の製作のために、以下の方法を適用した。まず、光造形方式の 3D プリンタで 3 次元マイクロ構造を製作し、次にスパッタリングまたは無電解メッキ法によって導電性薄膜を形成した後、パリレン膜を形成することで EWOD により濡れ性の変更が可能、つまり **Electrocapillary** によって液体吸引が可能な構造を製作した。

スパッタリングによる導電性薄膜形成においては、マグネトロンスパッタを用いて合計 150 nm 程度の厚さのクロム-金または酸化インジウムスズ(ITO)の薄膜を 3 次元マイクロ構造の表面に形成した。無電解メッキによる導電性薄膜形成においては、受託サービスを利用してニッケルを形成した。図 1 に無電解メッキによってニッケル薄膜が形成された 3 次元マイクロ構造を示す。また、誘電層(絶縁ポリマ層)には、10 μm 程度の厚みのパリレンを形成した。

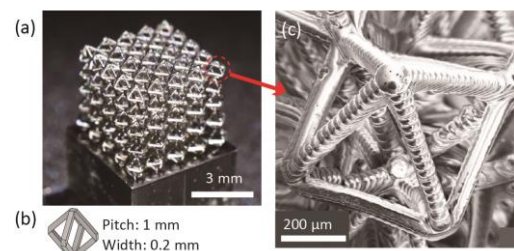


図 1 製作した 3 次元マイクロ構造. (a) ニッケル層を形成した 3 次元格子構造. (b) 格子条件. (c) 1 ユニットの拡大 SEM 画像.

1-1：平板上での Electrowetting 実証と凹凸面の形成による濡れの向上

この小課題では、3 次元マイクロ構造中での **Electrocapillary** による液体吸引の実証のための準備として、使用する材料および製作方法で EWOD による接触角の制御が可能かを検証した。具体的には、平板と凹凸面を有する基板を製作し、基板と板上に滴下した塩化カリウム水溶液の間に電位差を与えた場合の接触角変化を測定した(図 1-1(a))。なお、本研究を通して、実験には塩化カリウム水溶液を使用した。ニッケルと金の 2 種類の金属と凹凸面の有無に関して、4 通りの組み合わせで実験を行った(図 1-1(b))。図 1-1(c)のように、0~1000 V の範囲で 100 V ずつ印可電圧の値を上昇させていくと、接触角の減少が確認されたが、400 V を超えると顕著な接触角変化が生じなくなった。図 1-1(d,e)を見ると、平板と比べ凹凸面を有する基板の方が、高電圧時の

接触角の値が小さくなることが確認された。構造製作を行う光造形方式の 3D プリンタでは、構造表面に $10\text{ }\mu\text{m}$ スケールの段状の印刷跡が形成されるが、本小課題の結果から微細構造のパターンは接触角変化を大きくするため、この印刷跡は液体吸引に有利に働くことが示唆された。

1-2 : 3 次元構造中への Electrowetting の適用と液体サンプリング・排出実験

この小課題では、本研究の目指す液体サンプリング技術の駆動原理となる Electrocapillary による液体操作の実証を目指した。

まず、Electrocapillary による液体吸引性能を検証するため、矩形断面を有する開放されたマイクロ流路（流路幅 $200\text{ }\mu\text{m}$ 、深さ 1 mm 、長さ 30 mm ）を用いて、電圧印加時の液体挙動を観察した。図 1-2(a,b)のように、印加電圧を 100 V ずつ上昇させていくと 200 V で液体の浸透が開始し、 500 V 程度で変化しなくなった。この評価をもとに、以降の実験では、 500 V を液体操作の基本電圧に設定した。

続いて、8 面体状に連結したピラー構造からなる 3 次元マイクロ格子構造での実験を通して微小領域での液体操作性を評価した。格子構造のユニット構造の 1 辺の長さは 1 mm で、柱幅は 0.2 mm とし、図 1-2(c)のように囲いに覆われた $5\times 5\times 3$ の格子構造を製作した。製作した格子構造を用いて Electrocapillary による 3 次元マイクロ格子構造への液体吸引実験を行った。格子構造と水滴との間に 500 V の電位差を与えると、液滴が格子構造に吸引

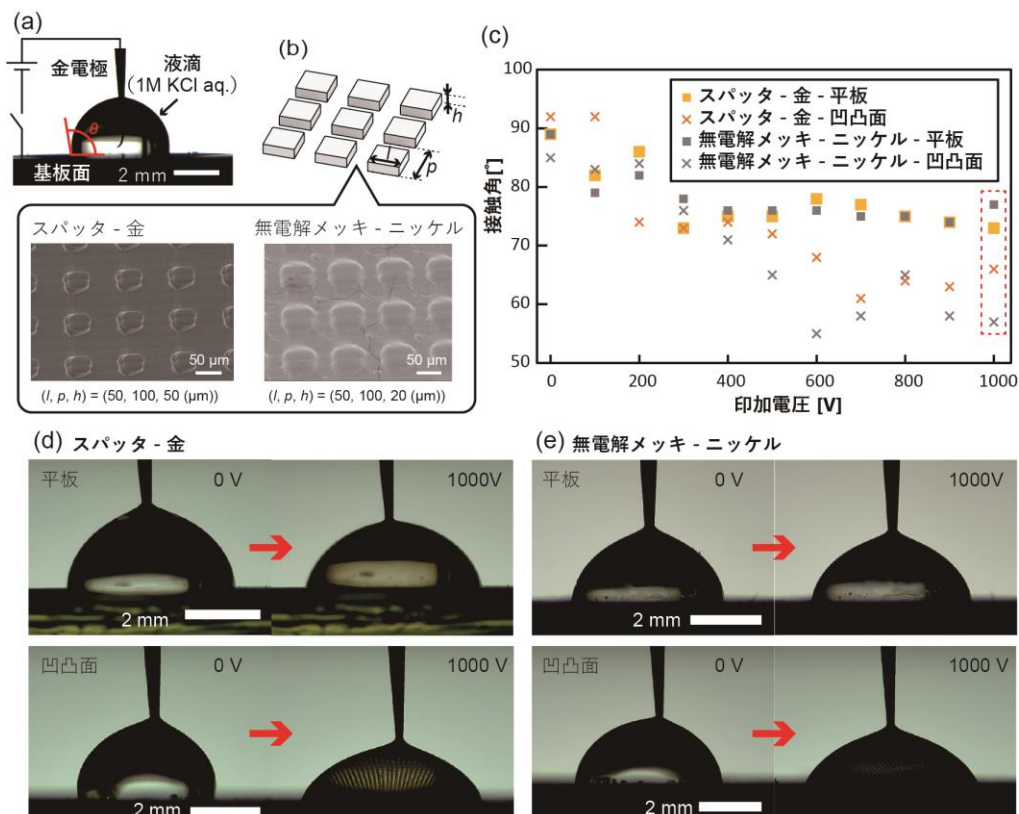


図 1-1 Electrowetting on dielectric (EWOD)による基板の濡れ性の変化に伴う、液滴の接触角変化の観察。(a)実験セットアップ。(b)凹凸面を有する平板の模式図と SEM 画像。(c)パリエレンがコーティングされた基板上での液滴の接触角の測定値。(d)スパッタリングにより金薄膜が形成された基板上での液滴の接触角の変化。(e)無電解メッキによりニッケル薄膜が形成された基板上での液滴の接触角の変化。

される様子が確認された。続いて、液体サンプリングと排出という微小領域での液体操作性を実証した。具体的には、図 1-2(d)のように水溶液と混和しないシリコンオイル (10 cSt の動粘度) が満たされた格子構造への電圧印加を切り替えると、重力に逆らって水溶液を吸引・排出できることが確認された。

以上のように、本小課題を通して、Electrocapillary による液体吸引と排出が可能であることが示された。

研究課題(2)「電氣的サンプリング/排出時の格子構造中での液滴アレイ化技術の開発」

本課題では、本研究の Electrocapillary による液体操作技術と、デジタル Polymerase chain reaction (PCR)などのデジタル液滴ベースの分子検出技術を統合することを念頭に置き、提案手法を応用して微小液滴を生成する技術の実現に取り組んだ。液滴生成の方法として、研究代表者のこれまでの研究で発見した、オイルと水が図 2(a,b)のような 8 面体状のユニット構造からなる格子構造内を通過する時に液滴アレイが生成される現象 (H. Yasuga, Nat. Phys., 2021) を活用した。

2-1：液体排出時の液滴生成条件の探究

この小課題では、Electrocapillary による液体輸送で液滴生成可能な方法を検討した。具体的な実験方法としては、図 2(c)のように、構造と水溶液の間に電位差を生じさせて、ミネラルオイルと水溶液の非混和性界面を格子構造に通過させたときに液滴が生成されるかを検証した。具体的な検討項目として、ミネラルオイルに界面活性剤 (Span 80) を添加した場合に液滴生成が生じるかを検証した。結果として、図 2(d,e)のように Electrocapillary による液体輸送を用いて液滴生成が可能であることが確認された。また、Span 80 の濃度に応じて液滴生成率が変化し、1%程度で生成率が高くなることが分かった。

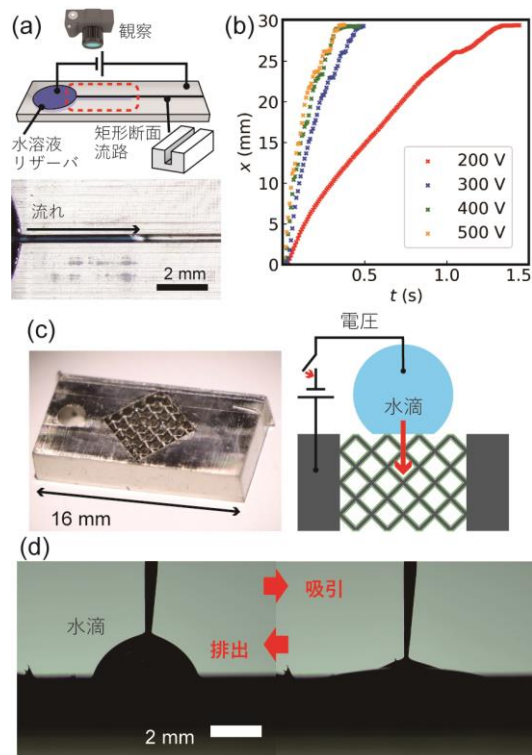


図 1-2 Electrocapillary による液体操作. (a)開放流路上での液体吸引. (b)浸透距離の時間発展への電圧値の影響. (c)枠構造に囲われた格子構造への液体吸引. (d)オイル浸漬状態の格子構造を用いた液体吸引と排出.

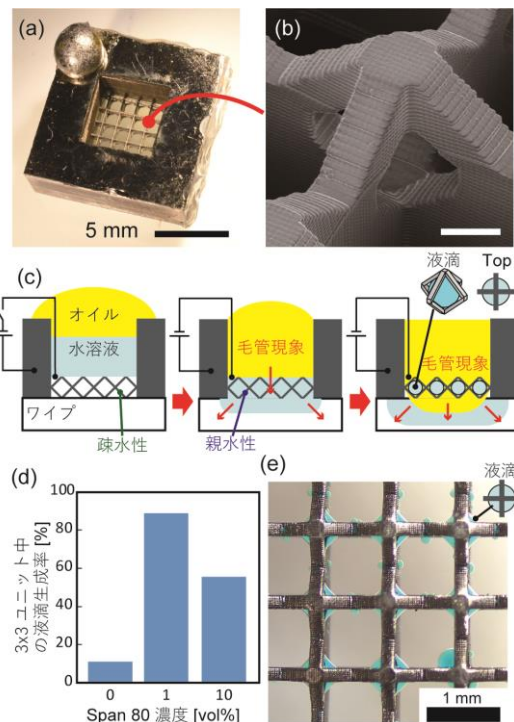


図 2 液滴アレイ生成. (a)枠に囲われた格子構造. (b)拡大 SEM 画像. (c)液滴生成手順. (d)異なる界面活性剤濃度における液滴生成率. (e)1% Span80 を用いた場合の生成液滴.

研究課題(3)「液滴ベースの分子センシングの実証」

本課題では、提案した Electrocapillary 技術とその駆動技術によって生成された液滴が実際の分子検出に応用可能であることを示すため、生成した微小液滴内で PCR による核酸増幅が可能かを検証した。PCR には、Thermofisher 社の Taqman アッセイにもとづく PCR 用のセルフトレーニング試薬キットを利用し、増幅が保証されている試薬を使用した。

3-1：3次元格子構造中でのデジタル PCR の実証

この小研究課題では、小研究課題 3-2 の準備として、Electrocapillary による液体輸送を用いずにマイクロ構造内に生成した微小油中水滴中での PCR を実施した。

3-2：サンプリング・排出機能を利用したデジタル PCR の実証

この小研究課題では、Electrocapillary による液体輸送で生成した液滴アレイを用いて、デジタル PCR に応用できるスケールの液滴で PCR を実施した。

3. 今後の展開

2.5 年の研究期間では、EWOD と 3 次元のマイクロ格子構造の統合という独自のアプローチを用いて、微小領域でも液体を吸引・排出できるサンプリング機能を実現した。本研究で実証した液体駆動は液体のサンプリングに留まるものではなく、一定体積の油中水滴を重力に逆らって輸送できるほど、想定外に大きな液体輸送性能があることが分かった。この結果は、3 次元マイクロ構造からなる単一のブロック内外で液体を移動させるだけでなく、ブロックからブロックへと 3 次元に液体を輸送できる機能へと本技術を拡張可能であることを示唆している。

4. 自己評価

Electrocapillary にもとづく独自の液体サンプリング技術の実現という目的に関しては、コロナ禍や所属機関の変更があった状況でもスムーズに成果を得ることができ、研究期間内で達成することができたと考えている。また、その液体輸送能力は、研究開始時に想定していたよりも高いことがわかり、計画以上の可能性を示せたと自負している。一方、Electrocapillary 現象に関しては先行研究も少なく、基礎的理解に関してより一層の研究が必要であると感じており、今後の研究で追究していきたいと考えている。また、以上のように、本研究で得られた成果の科学的、産業的なインパクトは非常に大きく、社会・経済に対しても高い波及効果が見込まれる。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 1件

1. Hiroki Yasuga, Ko Okumura, Yusuke Takei, "ELECTRO-"WICKING" INTO DIELECTRIC-COATED MICROSTRUCTURES," Digest Tech. Papers The 37th International Conference

on Micro Electro Mechanical Systems (IEEE MEMS 2024), pp. 21–25, 2024.

(2) 特許出願

研究期間全出願件数: 1 件 (特許公開前のものも含む)

(3) その他の成果 (主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 矢菅浩規、奥村剛、竹井裕介、「マイクロ構造中へのElectrocapillary現象を用いた微小液滴の生成」、第14回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、熊本城ホール(熊本市)、2023年11月6日(月)～9日(木)。
2. 矢菅浩規、奥村剛、「Electrowetting-on-dielectric によるマイクロ格子構造内への液体の浸透」、第 13 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、アスティとくしま 2022 年 11 月 14 日(月)～16 日(水)