

# Lab on a Chip デバイスにおける マイクロ流路内圧力の無侵襲測定技術の開発

熊本大学 大学院先端科学研究部

森田 康之

## 1. はじめに

Lab on a Chip 技術は、微小空間内で流体操作、化学反応、分析、細胞培養などを行う基盤技術であり、Micro-TAS、マイクロリアクター、Organ on a Chip などの多様なデバイスへ展開されている<sup>1,2)</sup>。これらのデバイスでは、試料量の低減、反応時間の短縮、高感度分析、実験条件の精密制御などが可能であり、医療診断、創薬、生物工学、化学合成、環境分析などの分野で重要性が高まっている。特に近年では、細胞や生体試料を扱うマイクロ流体デバイスの利用が拡大しており、流路内における圧力、流速、せん断応力などの物理情報を正確に把握することが、デバイス性能の評価や実験再現性の確保に不可欠となっている。

一方、マイクロ流路内の圧力測定には、依然として課題が残されている。従来は、外部圧力センサを流路に接続し、測定孔や分岐流路を介して圧力を取得する方法が一般的である。しかし、この方法では、センサ接続のための余剰構造が必要となり、流路構造の複雑化、死容積の増加、流れ場の乱れ、汚染リスクの増大、デバイス小型化の阻害といった問題が生じる。特に、封止型デバイスや使い捨て型デバイス、細胞培養チップのように内部環境の清浄性や閉鎖性が重要となる用途では、圧力測定用の付加構造そのものが実用上の制約となる。

そこで本研究では、圧力センサを流路内に組み込むことなく、マイクロ流路内圧力に起因して生じるデバイス基材の微小変形を外部から光学的に計測し、その変形情報から流路内圧力を推定する無侵襲圧力測定技術の開発を目的とした。具体的には、透明かつ軟質な PDMS 基材中に蛍光粒子を分散させ、流路内圧力に伴う基材変形を蛍光粒子の変位として捉える。さらに、得られた画像にデジタル画像相関法 (Digital Image Correlation: DIC 法)<sup>3)</sup>を適用することで、流路周辺の微小変位場を定量化し、弾性力学モデルに基づいて圧力へ換算する。本手法は、従来のように圧力を直接取り出すのではなく、圧力によって生じる構造応答を外部から読み取る点に特徴がある。本研究により、圧力測定用の余剰流路や測定孔を設けることなく、マイクロ流路内圧力を評価できれば、Lab on a Chip デバイスのさらなる小型化、高集積化、信頼性向上に寄与することが期待される。

## 2. 研究の目的と基本原理

本研究の目的は、Lab on a Chip デバイスにおけるマイクロ流路内圧力を、圧力センサを用いることなく、非接触・非侵襲に測定する技術を開発することである。従来の圧力測定では、外部圧力センサを接続するための測定孔や余剰流路が必要となる。これに対し、本研究では、流路内圧力によって生じるデバイス基材の微小変形を外部から光学的に計測し、その変形情報から圧力を逆算する。すなわち、圧力を直接取り出すのではなく、圧力によって生じた構造応答を読み取ることにより、流路内部に侵入することなく圧力を推定する点に本研究の基本的な考え方があ

本研究で対象とするデバイス基材は、マイクロ流体デバイスで広く用いられるポリジメチルシロキサン (PDMS) である。PDMS は透明性、柔軟性、加工性に優れるため、光学観察を併用した変形計測に適している。本研究では、PDMS 基材中に蛍光粒子を分散させ、その内部にマイクロ流路を形成する。流路内に流体圧力が作用すると、流路壁はわずかに膨張し、それに伴って流路周辺の PDMS 基材にも微小変形が生じる。このとき、PDMS 中に分散された蛍光粒子は、基材変形に追従して移動する。したがって、圧力負荷前後の蛍光粒子画像を取得し、粒子群の移動量を解析することで、流路周辺の変位場を求めることができる。

変位場の計測には、DIC 法を用いる。DIC 法は、変形前後の画像における輝度値分布の相関を利用して、任意点の移動量を求める全視野変位計測手法である。本研究では、PDMS 中に分散した蛍光粒子群がランダムパターンとして機能する。この蛍光粒子画像に DIC 法を適用することで、流路周辺に生じた微小な変位分布を定量的に取得する。DIC 法により得られる変位場は、流路内圧力に起因する基材変形を反映しているため、この変位情報を圧力推定に用いることができる。

圧力への換算には、円筒状流路を有する弾性体の変形問題を考える。流路を円孔、周囲の PDMS を弾性体とみなすと、流路内圧力により生じる半径方向変位は、流路内圧力、PDMS の弾性率、ポアソン比、流路径、および流路中心からの距離に依存する。簡略化すれば、半径方向変位は圧力に比例し、流路中心から離れるにつれて減少する。したがって、DIC 法により得られた流路周辺の変位分布と、弾性力学に基づく変形モデルを対応させることで、マイクロ流路内圧力を推定できる。

図 1 に、本研究で用いる圧力推定の基本原理を示す。まず、PDMS 基材中に蛍光粒子を分散させたマイクロ流路デバイスを作製する。次に、流路内に流体を導入し、圧力負荷前後の蛍光粒子画像を共焦点レーザー顕微鏡により取得する。その後、DIC 法により蛍光粒子群の変位分布を求め、得られた変位分布を弾性力学モデルに入力することで、流路内圧力を算出する。本手法では、圧力センサや測定孔を必要としないため、流れ場を乱さずに圧力を評価できる。さらに、局所的な圧力値だけでなく、流路長手方向の複数位置で変位場を取得することにより、圧力分布や圧力損失の評価にも展開できる。

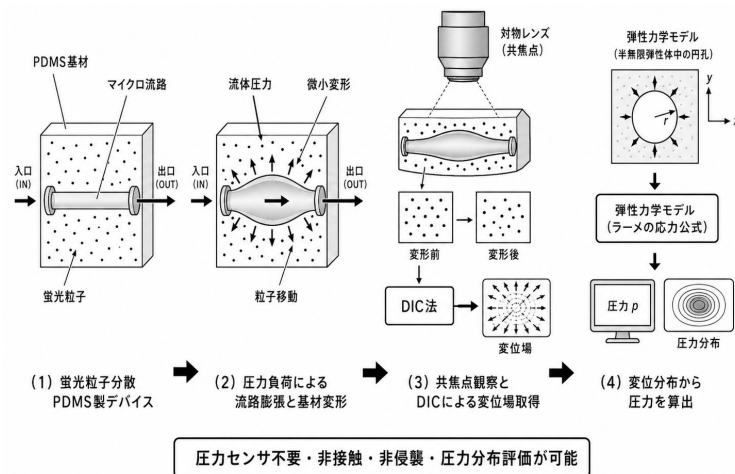


図 1. 蛍光粒子を用いたマイクロ流路内圧力の無侵襲測定原理

### 3. マイクロ流路内圧力の無侵襲測定実験および圧力評価

本研究では、提案手法の原理実証を行うため、蛍光粒子を分散した PDMS 製簡易マイクロ流路デバイスを作製し、流路内圧力によって生じる基材変形を DIC 法により計測した。図 2 に、作製した PDMS 系簡易マイクロ流路試料および実験系全景を示す。PDMS 基材中に蛍光粒子を分散させ、その内部に直線状のマイクロ流路を形成した。蛍光粒子は、DIC 法におけるランダムパターンとして機能し、圧力負荷前後の粒子群の移動を追跡するための変位マーカーとして用いた。流路両端にはインレットおよびアウトレットを設け、外部から流体を導入できる構造とした。これにより、流路内に既知の圧力を負荷し、その際に生じる PDMS 基材の変形を光学的に観察できる実験系を構築した。

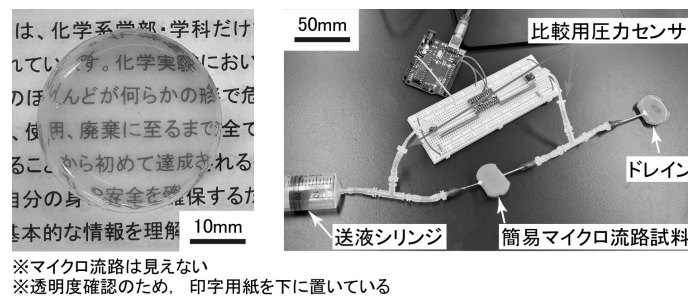


図 2. PDMS 系簡易マイクロ流路試料（左）と実験系全景（顕微鏡設置前）

作製した試料に対して流体圧力を負荷し、流路周辺に分散した蛍光粒子の画像を共焦点レーザー顕微鏡により取得した。取得した圧力負荷前後の画像に DIC 法を適用し、流路近傍の粒子変位を解析した。図 3 に、流路近傍における蛍光粒子画像、DIC 法により求めた変位分布、および半径方向位置に対する変位分布を示す。圧力負荷により、流路周辺の蛍光粒子は流路中心から外側へ向かって変位し、その変位量は流路から離れるにつれて減少した。この結果は、流路内圧力によって PDMS 基材が半径方向に膨張し、その変形を蛍光粒子の移動として検出できることを示している。すなわち、流路内部に圧力センサや測定孔を設けることなく、流路内圧力に起因する基材変形を外部から取得できることが確認された。

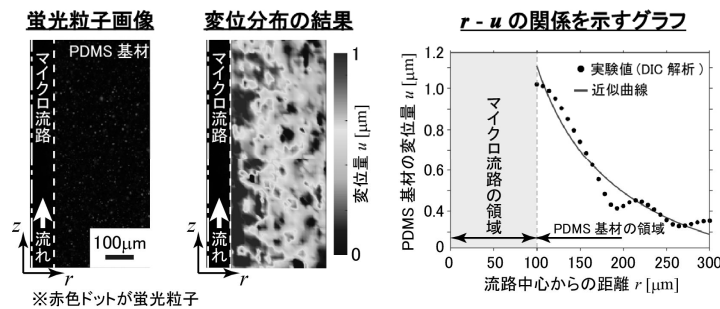


図 3. 流路近傍（右半側のみ表示）における変位分布。（左）蛍光粒子画像。（中）DIC により求めた変位分布。（右）半径方向位置  $r$  に対する微小変位分布  $u$

次に、得られた変位分布からマイクロ流路内圧力の算出を行った。本研究では、マイクロ流路を円孔、その周囲の PDMS を弾性体とみなし、円筒座標系における弾性体の変形問題として解析した。流路内圧力により生じる半径方向変位は、流路内圧力、PDMS の弾性率、ポアソン比、流路径、および流路中心からの距離に依存する。DIC 法により得られた半径方向変位分布は、流路から離れるにつれて減少する傾向を示し、弾性力学に基づく理論的な変位分布と整合した。さらに、この変位分布に弾性力学モデルを適用することで、流路内圧力を定量的に推定した。その結果、変位場計測に基づいて算出された圧力は、圧力センサにより得られた値と概ね対応することが確認された。このことから、本手法により、基材変形を介してマイクロ流路内圧力を推定できる見通しが得られた。

さらに、本手法を局所的な圧力推定にとどめず、流路長手方向の圧力分布評価へ展開することを試みた。流路に沿った複数位置で蛍光粒子画像を取得し、各位置における変位分布を DIC 法により求めた。その後、各位置の変位分布を弾性力学モデルに基づいて圧力へ換算し、流路長手方向に沿った圧力変化を評価した。その結果、上流側から下流側に向かって圧力が低下する傾向が確認された。これは、一定断面を有する直線マイクロ流路において、管内摩擦により圧力損失が生じるという流体力学的理解と整合する結果である。以上の結果より、蛍光粒子を分散した PDMS 製マイクロ流路デバイスを用いることで、流路内圧力に起因する基材の微小変形を DIC 法により検出できることが示された。また、得られた変位分布を弾性力学モデルと組み合わせることで、マイクロ流路内圧力を推定できることが確認された。さらに、流路長手方向の複数位置で変位場を取得することにより、圧力損失および圧力分布評価へ展開できる可能性が示された。一方で、現段階では、圧力換算値には実験ノイズやモデル化誤差の影響が含まれている。今後は、PDMS の弾性率評価、流路形状の実測、蛍光粒子分散条件の最適化、撮像条件および DIC 解析条件の標準化を進めることで、圧力推定精度および再現性の向上が必要である。

#### 4. 本手法の特徴と今後の展開

本研究で開発した手法の最大の特徴は、圧力センサを流路系に接続することなく、マイクロ流路内圧力を推定できる点にある。従来の外付け圧力センサ方式では、圧力を取り出すための測定孔、分岐流路、接続配管などが必要となる。これに対し、本手法では、流路内圧力によって生じる PDMS 基材の微小変形を外部から光学的に読み取り、その変位情報を弾性力学モデルに基づいて圧力へ換算する。したがって、流路構造に圧力測定用の付加構造を設ける必要がなく、流れ場を乱さずに圧力情報を取得できる。

また、本手法は局所的な圧力値の推定にとどまらず、流路に沿った圧力分布の評価へ展開できる点にも特徴がある。一般的な圧力センサでは、センサ接続部近傍の圧力を測定することが主となるが、本手法では、観察視野内の変位場を DIC 法により全視野的に取得できる。そのため、流路周辺の複数位置における変位場を解析することで、上流から下流に至る圧力低下や圧力損失を評価できる。本研究においても、流路長手方向に沿った圧力低下傾向を確認しており、単一点測定ではなく、分布計測へ発展し得る可能性が示された。

本手法は、特に PDMS などの透明かつ軟質な材料からなるマイクロ流体デバイスに適している。PDMS は、マイクロ流体デバイス、細胞培養チップ、Organ on a Chipなどで広く用いられる材料であり、光学観察との親和性も高い。このようなデバイスに本手法を適用できれば、細

胞培養時の圧力環境，流路内の流動安定性，デバイスの封止状態，流路形成不良などを，デバイス外部から非接触・非侵襲に評価できる可能性がある．したがって，本手法は，マイクロ流体デバイスの設計・試作段階における評価技術としてだけでなく，製造後の品質保証や不良検知にも応用できると考えられる．

一方で，実用化に向けては解決すべき課題も残されている．圧力推定精度の向上である．本研究では，DIC法により得られた変位分布から圧力を推定できることを示したが，圧力換算値には，蛍光粒子の分散状態，画像ノイズ，焦点位置，DIC解析条件，PDMSの弾性率，流路形状の作製誤差などの影響が含まれる．今後は，これらの誤差要因を個別に評価し，撮像条件，解析条件，材料物性値の取得方法を標準化することで，圧力推定の精度と再現性を高める必要がある．

以上のように，本手法は，圧力センサ不要，非接触，非侵襲，分布計測可能という特徴を有しており，Lab on a Chipデバイスの小型化，高集積化，信頼性向上に寄与する基盤技術となる可能性を有する．今後，圧力推定精度の向上，複雑流路への適用，観察系の簡便化を進めることで，細胞培養チップ，封止型マイクロ流体デバイス，試作デバイスの設計評価，さらには製造時の品質保証技術としての応用展開が期待される．

## 5. まとめ

本研究では，Lab on a Chipデバイスにおけるマイクロ流路内圧力を，圧力センサを用いることなく非接触・非侵襲に測定する技術の開発を目的として，蛍光粒子を分散したPDMS製マイクロ流路デバイスを作製し，その基材変形に基づく圧力推定を試みた．

まず，PDMS基材中に蛍光粒子を分散させ，内部に直線状のマイクロ流路を有する簡易デバイスを作製した．次に，流路内に流体圧力を負荷し，流路周辺に生じるPDMS基材の微小変形を，蛍光粒子の移動として共焦点レーザー顕微鏡により観察した．得られた蛍光粒子画像にDIC法を適用することで，流路周辺の変位分布を定量的に取得することができた．

さらに，取得した変位分布に弾性力学モデルを適用することで，マイクロ流路内圧力を算出した．その結果，圧力負荷に伴う流路周辺の変位は，流路中心から外側へ向かう半径方向変位として検出され，流路から離れるにつれて減少する傾向を示した．この変位分布は，弾性力学に基づく理論的傾向と整合しており，基材変形を利用して流路内圧力を推定できる可能性が示された．また，流路長手方向の複数位置において変位場を取得し，圧力へ換算することで，上流側から下流側に向かう圧力低下傾向を評価できることを確認した．

以上より，本研究で提案する手法は，圧力測定用の測定孔，余剰流路，外部圧力センサを必要とせず，マイクロ流路内圧力を外部から推定できる有望な無侵襲測定技術であることが示された．今後は，圧力推定精度および再現性の向上，PDMS物性値や流路形状の実測に基づくモデル精度の改善，複数流路や複雑流路への適用，ならびに観察系の簡便化を進めることで，Lab on a Chipデバイスの設計評価，品質保証，不良検知，細胞培養チップやOrgan on a Chipへの応用展開が期待される．

## 謝辞

本研究は、公益財団法人天野工業技術研究所の2024年度研究助成金の支援を受けて実施されました。ここに記して深く謝意を表します。

## 参考文献

- 1) A. Manz, N. Graber and H. M. Widmer, "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing," *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol.1, pp.244-248, 1990.
- 2) G. M. Whitesides, E. Ostuni, S. Takayama, X. Jiang and D. E. Ingber, "Soft lithography in biology and biochemistry," *Annual Review of Biomedical Engineering*, Vol.3, pp.335-373, 2001.
- 3) H. Schreier, J. J. Orteu and M. A. Sutton, *Image Correlation for Shape, Motion and Deformation Measurements*, Springer, 2009.