

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20241031

研究課題名(和文) 水力的的手法によるマイクロ・ナノ構造体の高速連続分離原理の確立

研究課題名(英文) Investigation of Rapid and Continuous Separation Principle for Micro/Nano Structures Using Hydrodynamic Methods

研究代表者

関 実 (SEKI MINORU)

千葉大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：80206622

研究分野：生物化学工学

科研費の分科・細目：ナノマイクロ科学・マイクロナノデバイス

キーワード：分離工学，微粒子分級，流体素子，セルソーター，マイクロ流体工学，血液分析

1. 研究計画の概要

PFF法とHDF法は密接に関連した原理に基づき、簡便な操作と簡単な構造を用いて、精密な連続粒子分級を可能にする点で優れているが、その分離のメカニズムや適用限界については明らかになっていない。そこで、本研究の具体的な目的は、以下の4点である。

- (1) PFF法とHDF法の分離精度，分離速度を支配する要因を解析し，そのメカニズムを明らかにすること。
- (2) 両分離手法において適用可能な粒子や液滴等の種類や大きさ・形状，分離効率に影響を与える因子などを明らかにすること。
- (3) 両分離手法を応用した種々の操作によってその有効性を実証すること。
- (4) 両分離手法と他の分離手法を組み合わせ、簡便でありながら高度な分離が可能となる手法を開発すること。

2. 研究の進捗状況

- (1) PFF法とHDF法の両手法とも、層流系の流れに乗った対流移動とブラウン運動による流れの直角方向への遷移のバランスが分離精度を決める重要な因子であり、PFFでは分離に有効な時間という概念が提起できる。一方、HDFでは、流れによる押しつけと溶媒の多段分離の結果として、粒子の位置を一定に保つことが有効であった。
- (2) 数百nm～数十 μm 程度の大きさ、球形および長円形などの種々の形状、変形しないポリマー粒子から細胞・液滴・気泡のような柔らかい粒子、DNAのような高分子に対しても、本手法が適用可能であることを明らかにしてきた。
- (3) HDFを応用した全血からの血漿分離、白血球と赤血球の分離、白血球のサイズ分離、

肝組織からの実質細胞の分離、酵母のセルサイクルに依存した分離が可能であることを明らかにしたほか、存在確率の低い種々の細胞の分離濃縮が可能であることを明らかにしてきた。また、細胞に対する短時間化学処理、粒子のフォーカシング、気泡や液滴の濃縮による分離操作など可能であることも明らかにしてきた。

- (4) PFF法と遠心力の組み合わせにより、粒子の大きさに依存した分離が可能であることを示した。この場合、デバイスの回転による遠心力だけでなく、カーブした流路による密度差分離も可能であることを明らかにしてきた。また、PFF法と磁気分離法(MACS)の組み合わせにより、細胞の大きさ、表面抗原の有無に基づく2次元分離が可能であることも明らかにしてきた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

両分離手法の原理・適用範囲の明確化およびその応用範囲の拡大と有効性の検証という多岐に渡る課題に対して、多くの検討を行い、後述のように13報の論文、46件の学会発表、3件の著書、2件の特許など、適切な成果を得ていると考えている。また、直接の目的とは異なる関連する成果もいくつか上がっているため、順調に進展していると言えよう。

4. 今後の研究の推進方策

- (1) 23年度が最終年に当たるので、全体を取りまとめるような実験を加えて行く計画である。結果として、これまで明らかになってきた分離が難しいような条件を超えられるような手法の提案ができるようにしたい。

(2)マイクロフルイディクスの汎用的な技術基盤の確立という、より大きなテーマに繋がるような成果としたい。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① S. Sugaya, M. Yamada and M. Seki, Observation of Non-spherical Particle Behaviors for Continuous Shape-based Separation Using Hydrodynamic Filtration, *Biomicrofluidics*, 5, in press (2011) 査読有
- ② R. Aoki, M. Yamada, M. Yasuda and M. Seki, In-channel Focusing of Flowing Microparticles Utilizing Hydrodynamic Filtration, *Microfluidics and Nanofluidics*, 6, 571-576 (2009) 査読有
- ③ H. Maenaka, M. Yamada, M. Yasuda, M. Seki, Continuous and Size-Dependent Sorting of Emulsion Droplets Using Hydrodynamics in Pinched Microchannel, *Langmuir*, 24, 4405-4410 (2008) 査読有
- ④ M. Yamada, J. Kobayashi, M. Yamato, M. Seki, T. Okano, Millisecond Treatment of Cells Using Microfluidic Devices via Two-Step Carrier-Medium Exchange, *Lab Chip*, 8, 772-778 (2008) 査読有
- ⑤ T. Kawamata, M. Yamada, M. Yasuda, M. Seki, Continuous and Precise Particle Separation by Electroosmotic Flow Control in Microfluidic Devices, *Electrophoresis*, 29, 1423-1430 (2008) 査読有

[学会発表] (計 46 件)

- ① K. Toyama, M. Yamada, and M. Seki, Isolation of Cell Nucleus by Short-time Chemical Treatment in Carrier-medium Exchange Microchannels, *14th Intl. Conf. on Miniaturized Systems for Chem. and Life Sci. (MicroTAS2010)*, Oct. 3-7, 2010, Groningen, The Netherlands.
- ② M. Senaha, R. Mitamura, M. Yamada, and M. Seki, Two-dimensional Cell Sorting Device Employing Pinched-flow Fractionation and Magnetophoresis, *MicroTAS2010*, Oct. 3-7, 2010, Groningen, The Netherlands.
- ③ M. Seki (Invited), Continuous and Rapid Separation of Micro/Nano-Structures Using Microfluidic Systems, *13th Annual European Conference on Micro*

& Nanoscale Technologies for the Biosciences (NanoBioTech-Montreux 2009), Nov. 16-18, 2009, Montreux, Switzerland.

- ④ S. Sugaya, M. Yamada, and M. Seki, Visualizing Non-spherical Particle Behaviors for Continuous Shape-based Separation Using Hydrodynamic Filtration, *MicroTAS2009*, Nov. 1-5, 2009, Jeju Island, Korea.
- ⑤ S. Sunahiro, M. Senaha, M. Yamada, M. Seki, Pinched Flow Fractionation Device for Size- and Density-Dependent Separation of Particles Utilizing Centrifugal Pumping, *MicroTAS2008*, Oct.12-16,2008, San Diego, USA.

[図書] (計 3 件)

- ① 関 実 (分担)「イムノアッセイチップ」, in 「バイオチップ実用化ハンドブック」 (監修 金子周一, 堀池靖浩), NTS, 2010 年, pp.537-543 (610 頁)
- ② 関 実 (分担)「粒子ハンドリング」, in 「マイクロ・ナノ化学チップと医療・環境・バイオ分析」 (監修 北森武彦), 技術教育出版 (NTS), 2009 年, pp.62-78 (459 頁)
- ③ 関 実 (分担), 「マイクロ・ナノ流体デバイスを用いた細胞分離」, in 「細胞分離・操作技術の最前線」 (監修 福田敏男・新井史人), シーエムシー, 2008 年, pp.66-76 (387 頁)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

- ① 名称: エルトリエータ用マイクロ流路システムおよび粒子分離方法
発明者: 関 実, 山田真澄, 森尻智樹, 疋田敏勝
権利者: 千葉大学
種類: 特許
番号: 特願 2010-223564
出願年月日: 2010 年 10 月 1 日
国内外の別: 国内
- ② 名称: 連続的 2 次元粒子分離装置および粒子分離方法
発明者: 関 実, 山田真澄, 瀬名波 匡, 三田村龍典
権利者: 千葉大学
種類: 特許
番号: 特願 2010-223550
出願年月日: 2010 年 10 月 1 日
国内外の別: 国内