

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H01388

研究課題名（和文）モノリシック光電子ピンセットの創成とオンチップ分離濃縮・拡散センシングの実現

研究課題名（英文）Development of monolithic optoelectric tweezer for on-chip purifying, concentrating and sensing device

研究代表者

田口 良広（Taguchi, Yoshihiro）

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・教授

研究者番号：30433741

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、プラスチック基板を用いたマイクロ流体デバイスで、ナノバイオ試料のサイズ、凝集性質や分子間相互作用を高速・簡易に分析可能なセンシングチップの開発を行った。本センシングチップでは、ナノバイオ試料の夾雑物を分離し、ナノバイオ試料の濃縮が可能である。ドラッグデリバリー等に应用可能な脂質二重膜であるリポソームを用いて、ピコリットルオーダーの極微量液滴内でこれら操作が可能であることを実験的に検証し、提案手法の妥当性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したモノリシック光電子ピンセットは、光学素子や電極孔が一体成型されたプラスチック基板を用いて光誘起電泳動によるマイクロスケール濃度格子の励起を可能とする全く新しい技術であり、夾雑物の分離やナノバイオ試料の濃縮と拡散係数のリアルタイムモニタリングをオンチップで同時に達成することができる。小型可搬性（あるいは高密度実装性）に優れ、コスト・生産性も両立する本提案手法は、患者の傍らで簡易・迅速に化学反応分析を行うオンサイト診断や医薬製剤プロセスにおける大規模並列分散処理を実現し、化学分析における技術革新と新産業創出を加速する。

研究成果の概要（英文）：In this research, the novel plastic-based sensing chip, which can measure the size, aggregation properties, and intermolecular interactions, was developed. The purifying and concentrating devices were monolithically integrated on the proposed sensing chip. The validity of the monolithic optoelectric tweezer was confirmed through the experiments using the liposome in the pico-litter order droplets.

研究分野：ナノ・マイクロ熱物性工学

キーワード：光電子ピンセット 拡散係数 センシングチップ 熱物性

### 1. 研究開始当初の背景

エクソソームなどの細胞外小胞やたんぱく質等のナノバイオ試料のサイズ、高次構造、分子間相互作用や凝集性質は、創薬研究において非常に重要なパラメータであり、医薬品の品質・安全管理上、高精度にモニタリングする必要がある。例えば抗体医薬品では、ナノバイオ試料の凝集によって免疫原性が生じ、薬理活性が著しく失活するばかりでなく安全性に影響を及ぼすため、ガイドラインの策定が急務である。しかしながら、サイズ排除クロマトグラフィなど従来手法では、測定時間が長く測定可能レンジ(サイズや濃度)が限定されるためナノバイオ試料のモニタリングには適さず、凝集メカニズムについて不明な点が多いのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、夾雑物が存在する実在系において、ピコリットルの極微量サンプルの拡散係数を高速に測定し、ナノバイオ試料のフォールディング構造や分子間相互作用を明らかにする新しいプラスチック製のセンシングチップを世界に先駆け実現することである。本研究で開発するモノリシック光電子ピンセットは、光学素子や電極孔が一体成型されたプラスチック基板を用いて光誘起誘電泳動によるマイクロスケール濃度格子の励起を可能とする全く新しい技術であり、夾雑物の分離やナノバイオ試料の濃縮と拡散係数のリアルタイムモニタリングをオンチップで同時に達成することができる。小型可搬性(あるいは高密度実装性)に優れ、コスト・生産性も両立する本手法は、患者の傍らで簡易・迅速に化学反応分析を行うオンサイト診断や医薬製剤プロセスにおける大規模並列分散処理を実現し、化学分析における技術革新と新産業創出を加速する。

### 3. 研究の方法

本研究では、干渉励起型の光電子ピンセットを用いてナノバイオ試料を駆動し、マイクロメートルサイズの縞状濃度分布を形成し、その高速な拡散挙動を検知することで拡散係数モニタリングを達成する。本方法により、拡散係数をバイオマーカーとしてナノバイオ試料のサイズ、高次構造、分子間相互作用や凝集性質をリアルタイムにモニタリングすることができる。さらに、出口応用を見据え、ピコリットルオーダーの極微量ナノバイオ試料を精製・濃縮し、ミリ秒オーダーで分子間相互作用等の化学分析が可能なプラスチック製リアルタイム拡散係数センシングチップを以下の項目に従って開発する。

- (1) プラスチック製光誘起誘電泳動チップの開発
- (2) 光学的分離・濃縮技術の開発
- (3) ピコリットル極微量試料のセンシング技術開発
- (4) リポソームを用いた妥当性検証

### 4. 研究成果

- (1) プラスチック製光誘起誘電泳動チップの開発

光電子ピンセット用の光導電膜成膜方法はプラズマ CVD (Chemical Vapor Deposition: 化学気相成長)法が従来用いられてきた。しかしながら、光学素子や貫通穴が一体成型された異形基板や耐熱温度が低いプラスチック基板には CVD 法を適用することが原理的に不可能である。本研究では、光干渉用のレンズや電極用貫通穴などの各種コンポーネントを一体成型したプラスチック基板に、誘電泳動が誘起可能な光導電膜(水素化アモルファスシリコン)をスパッタ成膜する技術を確認した(図1)。特にプラスチック製光誘起誘電泳動チップに適した基板材料を決定し、プロトタイプ(図2)による実証実験により妥当性を明らかにした。

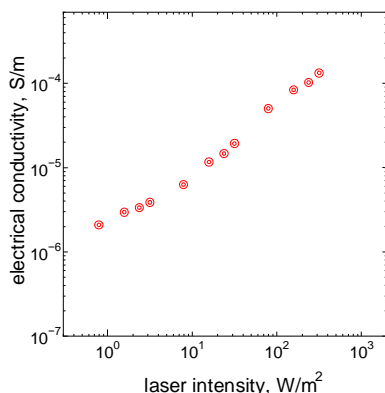


図1 光導電率測定結果

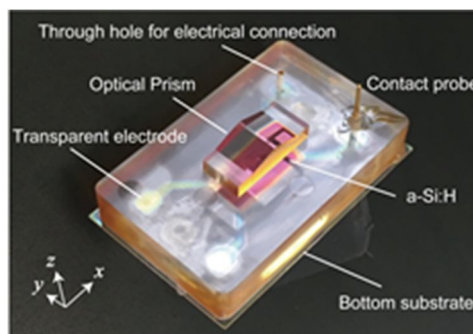


図2 プラスチック製光誘起誘電泳動チップ

### (2) 光学的分離・濃縮技術の開発

夾雑物が存在する実在系において、高速な拡散係数センシングを実現するために、光電子ピンセット技術を用いて光学的な分離・濃縮技術を開発した。2光束干渉したレーザー光の片方の光学位相を変調することで、干渉縞が水平方向に平行移動させることに着目し、動的に変化する縞状の光誘起誘電泳動によって、大きさや誘電率の異なるナノバイオ試料を分離・濃縮する技術(図3)を確立するに至った。特に、大きさや誘電率が異なるサンプルでは、駆動可能な周波数や光強度が異なり、追従可能な干渉縞スキャン速度に限界が存在するため、これらパラメータを制御することでナノバイオ試料の分離・濃縮を実現している。

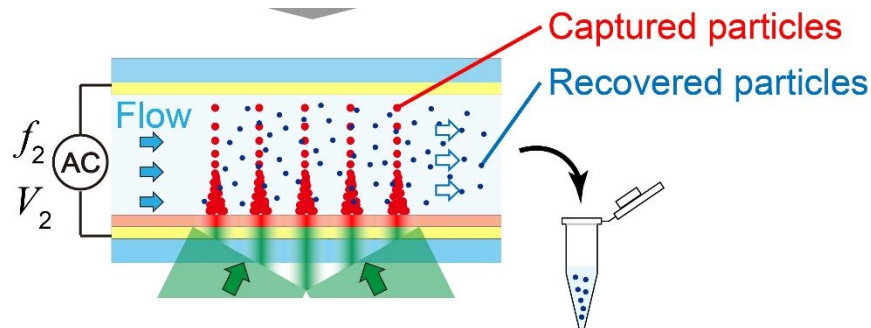


図3 光誘起誘電泳動を用いた光学的分離・濃縮手法

### (3) ピコリットル極微量試料のセンシング技術開発

本研究では、ピコリットル液滴の生成には、連続相として油相流体、分散相として水相流体を用いた液滴形成を用い、送液速度や流路パラメータを制御することで任意の液滴列を形成する。また、液滴を光電子ピンセットによってマニピュレートし、自在に混合・反応・分離等の操作をマイクロ流体チップ内で実現する新しいセンシングチップの創生を目指している。そこで、ピコリットル液滴を形成するための2相合流流路を有する新しい流体チップを設計した。流路幅、流路長をパラメータとして、有限要素解析から最適な流路設計を行った(図4)。また、圧縮空気を用いた送液システムならびに、マイクロ流体チップのパッケージングシステムを設計した。液滴内に分散するナノ試料に対する、光電子ピンセットによる誘電泳動力を明らかにした。特に、油相が存在することによる誘電泳動力への影響は未解明であり、有限要素解析を用いて励起パラメータを検証した。ピコリットル液滴内のナノ試料に対して2光束干渉したレーザーを照射し、光誘起誘電泳動による縞状の濃度分布形成と物質拡散過程を観察するための光路設計を行った。液滴そのものを光電子ピンセットによって駆動可能を検証するために、励起パラメータを解析的に明らかにした。

次に、微細加工施設において光電子ピンセットとピコリットル液滴用マイクロ流体チップが統合されたセンシングチップの作製を行った。光電子ピンセット用の水素化アモルファスシリコン薄膜と電極用のITO薄膜が成膜された基板に、SU-8フォトリソを用いてピコリットル液滴生成用のマイクロ流路を形成した。作製したセンシングチップは、油相ならびに水溶液相を圧送する送液システムにパッケージングすることで、2つの油相ポートおよび2つの水相ポートを用いることで、2種類の異なるサンプルを内包したピコリットル液滴列を形成することができる(図5)。

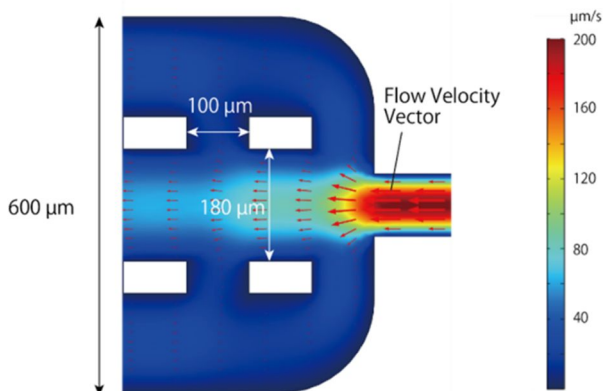


図4 液滴列形成用流路解析

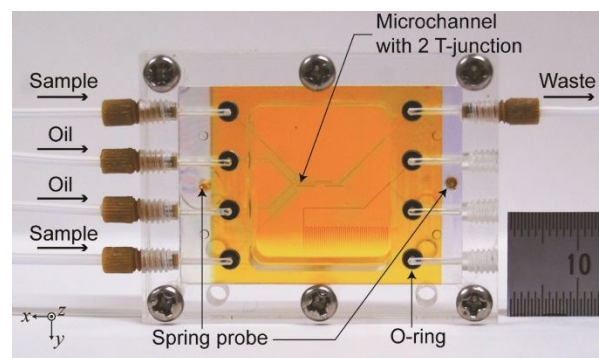


図5 作製した液滴センシングチップ

まず、光電子ピンセットでナノ試料のサイズや分子間相互作用をセンシング可能か実験的に検証を行った。図6に示すように、サイズの違いに起因した拡散係数変化をセンシングすることに成功した。また、表面修飾基の違いによる拡散係数の違いも検出できており、提案するセンシング手法の妥当性が実験的に示された。また、ナノ試料を内包したピコリットル液滴を形成し、ピコリットル液滴内試料を光電子ピンセットでマニピュレートできることを明らかにした(図7)

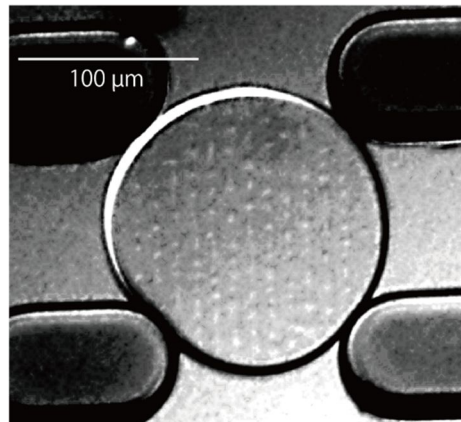
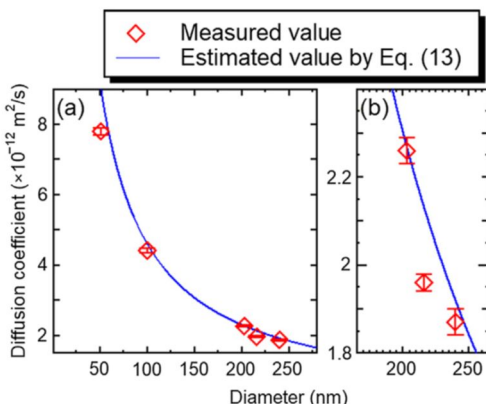


図6 センシングチップによる拡散係数測定結果

図7 液滴内試料のマニピュレーション

#### (4) リポソームを用いた妥当性検証

提案したセンシングチップの妥当性を検証するために、ドラッグデリバリー等に应用可能な脂質二重膜であるリポソームを作製し、オンチップ分離・濃縮と表面官能基の違いによる拡散係数の変化をセンシングした。これまでに、リポソームを光誘起誘電泳動によってソーティングした事例はない。これはナノ粒子であるリポソームが様々な液体を内包する脂質二重膜構造であり、表面官能基の種類によって様々な誘電特性を示し、光誘起誘電泳動を局所的に誘起することが困難であるからである。本研究では、様々なリポソームを独自に作製し、その誘電特性を解析的かつ実験的に明らかにするとともに、オンチップ分離・濃縮を実現するマニピュレーションパラメータを明らかにしている。

本研究では、ホスファチジルコリン等で構成される脂質を用いた超音波処理とナノメンプレン押し出しによる脂質二重膜の作製を行った。攪拌時間や押出回数等の作製プロトコルを決定した。作製したリポソームならびに提案手法によって分離・濃縮したリポソームの粒径分布を評価する手法を確立した。本研究ではリポソームを個々に染色し、透過型電子顕微鏡を用いて粒径分布評価を行った(図8)。作製したリポソームの誘電特性評価を行った。特に、印加電圧と印加周波数を様々に変更し、操作能をパラメトリックに評価した(図9)。リポソーム液滴列を生成する新しいマイクロ熱流体デバイスを作製し、液滴内リポソームをマニピュレート可能な励起条件を明らかにした。

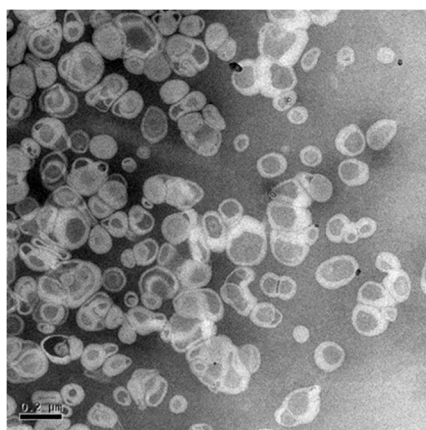


図8 作製したリポソームのTEM像

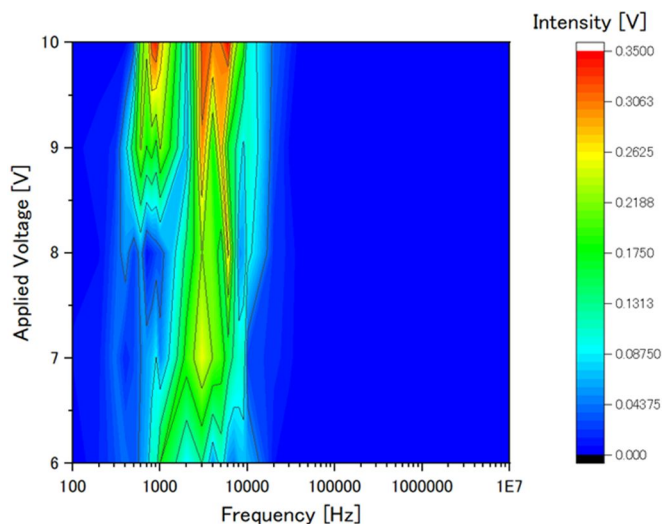


図9 リポソームの操作能評価

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kamata, M., Takaba, Y., Taguchi, Y., and Nagasaka, Y.	4. 巻 133C
2. 論文標題 Rapid and label-free sensing of intermolecular interactions using compact optical diffusion sensor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Heat and Mass Transfer	6. 最初と最後の頁 73-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2018.12.088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kamata, M., Taguchi, Y., and Nagasaka, Y.	4. 巻 26
2. 論文標題 Design of an optofluidic diffusion sensor by transient grating using dielectrophoresis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Optics Express	6. 最初と最後の頁 16970-16983
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1364/OE.26.016970	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kamata, M., Takaba, Y., Taguchi, Y., and Nagasaka, Y.	4. 巻 133C
2. 論文標題 Optoelectro-microfluidic Sensing of Intermolecular Interaction Using Interferometrically Photo-induced Dielectrophoresis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Heat and Mass Transfer	6. 最初と最後の頁 73-79
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2018.12.088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 3件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Yuto Kinoshita and Yoshihiro Taguchi
2. 発表標題 Study on Optical Manipulation Technique of Pico-liter Droplets and the Sample Encapsulated in the Droplet
3. 学会等名 2nd Asian Conference on Thermal Sciences（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小嶋樹、三浦大介、田口良広
2. 発表標題 レーザー誘起誘電泳動を用いたリボソームのソーティングに関する研究
3. 学会等名 第58回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢数夏実、齋藤美佳、木下雄斗、田口良広
2. 発表標題 光誘起誘電泳動を用いたマイクロ流体デバイスの開発
3. 学会等名 第58回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木下雄斗、田口良広
2. 発表標題 光誘起誘電泳動を用いたpL液滴のレーザーマニピュレーションと極微量拡散係数測定に関する研究
3. 学会等名 第41回日本熱物性シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下雄斗、大浦幹、田口良広
2. 発表標題 ピコリットル液滴を用いた拡散係数高速シーケンシャル分析プラットフォームの開発
3. 学会等名 第57回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Miura, D., Taguchi, Y. and Nagasaka, Y.
2. 発表標題 Nanoparticle Sorting Technique using Laser Induced Dielectrophoresis with Phase Modulated Interference
3. 学会等名 2019 International Conference on Optical MEMS and Nanophotonics IEEE OMN 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田口良広
2. 発表標題 光MEMSを用いた熱流体システムデザインとバイオ応用
3. 学会等名 TIA-MEMSサマー・セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taguchi, Y.
2. 発表標題 Recent Progress of Optical Sensing Techniques for Thermophysical Properties Engineering
3. 学会等名 Japan-China Heat Transfer Symposium 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平原央瑛, 田口良広
2. 発表標題 光導電膜パターンを用いた光誘起誘電泳動によるナノスケール試料のソーティング技術の開発
3. 学会等名 第56回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌田 慎, 田口良広, 長坂雄次
2. 発表標題 レーザー誘起誘電泳動を用いたpL 液滴内拡散係数測定デバイスの開発
3. 学会等名 第56回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大浦 幹, 宍戸 りさ, 田口 良広, 長坂 雄次
2. 発表標題 光学的マイクロ拡散センシングデバイス を用いた温度感受性リポソームの拡散係 数測定に関する研究
3. 学会等名 第40回日本熱物性シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shishido, R., Taguchi, Y. and Nagasaka, Y.
2. 発表標題 Diffusion Coefficient Measurement of a Liposome using a Micro Optical Diffusion Sensor
3. 学会等名 20th Symposium on Thermophysical Properties (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Okuwaki, T., Kamata, M., Taguchi, Y. and Nagasaka, Y.
2. 発表標題 Plastic based Microfluidic Chip for Optical Diffusion Sensor using Laser-induced dielectrophoresis
3. 学会等名 2018 International Conference on Optical MEMS and Nanophotonics (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Taguchi, Y
2. 発表標題 Optical Micro- and Nanoscale Sensing using MOEMS Technology for Thermophysical Properties Engineering
3. 学会等名 The International Symposium on Optoelectronic Technology and Application OTA2018 Conference on Micro Optics and MOEMS 2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三浦大介, 山本健太郎, 田口良広, 長坂雄次
2. 発表標題 位相変調干渉を用いた光誘起誘電泳動によるナノ粒子ソーティング技術の研究 測定原理の妥当性検証及び分離能評価
3. 学会等名 第55回日本伝熱シンポジウム
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

慶應義塾大学理工学部システムデザイン工学科 田口良広研究室  
<http://ntl.sd.keio.ac.jp/>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------