

令和 4 年 4 月 13 日現在

機関番号：53901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22405

研究課題名(和文) 機械加工による濡れ性の変化を利用した細胞培養マイクロ流路デバイスの開発

研究課題名(英文) Development of cell culture microfluidic devices utilizing wettability change by machining

研究代表者

神永 真帆 (Kaminaga, Maho)

豊田工業高等専門学校・機械工学科・助教

研究者番号：20879986

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロ流路デバイスの鋳型を作製する際に切削を用いると、立体培養細胞の取り扱いに適した大型のデバイスを作製することができる。しかし、加工面が荒いために管路抵抗の増加や液残りが発生しやすく、流体を制御しづらいという課題がある。そこで、加工に伴う表面微小形状の変化による濡れ性の変化を調査したところ、送り速度と、切削方向が水接触角に影響することが分かった。今後、これらの結果を基にマイクロ流路デバイスの濡れ性を変化させて疎水表面と親水表面を作り分けることで、流体制御に応用することができると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マイクロ流路デバイスは、環境の詳細なコントロールや実験の自動化が可能であり、生物分野の研究に広く用いられている。大型の細胞塊や組織を使用した現実に近い実験を行うためには、切削加工により大型のデバイスを作製する必要があるが、加工面が荒いために管路抵抗の増加や液残りが発生しやすく、流体を制御しづらいという課題がある。そこで、本研究では切削加工の短所の影響を小さくすることを目的とし、切削条件を変えた場合の水接触角と算術平均粗さを調べた。今回の調査結果をもとにして、大型のマイクロ流路デバイスを容易に作製できれば、生物実験の効率化につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：Cutting can be used in the fabrication of microfluidic device molds to produce large devices suitable for handling three-dimensional cultured cells. However, the rough surfaces of the workpieces increase the resistance and cause fluid residues, making it difficult to control the fluid flow. The changes in wettability due to changes in surface microstructure during machining were investigated, and it was found that the feed rate and the direction of cutting affected the water contact angle. Based on these results, the wettability of microfluidic devices could be changed to create hydrophobic and hydrophilic surfaces, which could be applied to fluid control in the future.

研究分野：マイクロ流体

キーワード：切削加工 濡れ性 微細加工 マイクロ流路 細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マイクロ流路デバイスは、環境の詳細なコントロールや実験の自動化が可能であり、生物分野の研究に広く用いられている。しかし、より現実に近い実験を行うためには、取り扱う細胞を単層培養細胞(10~100 μm)から三次元培養細胞(100 μm ~)へとスケールアップさせる必要があり、従来行われてきたフォトリソグラフィでのデバイス作製が困難となっている。

この課題を解決する手段として、切削や3Dプリントによって流路鑄型や流路を作製する方法がある。この方法は従来手法と比較して、設備が安価、自動加工が可能、設計変更が容易というメリットがある。一方で、フォトリソグラフィよりも加工面が荒いために管路抵抗の増加や液残りが発生しやすく、流体を制御しづらいという課題がある。

課題解決のためには、加工面の特性を調査し、マイクロ流路デバイス内での流体制御に反映させる必要がある。さらに、それを応用すれば外部装置を用いない流体制御も可能となる。

流体制御で重要となる物体表面の濡れ性は、表面粗さと材料の性質だけでなく、表面微小形状のパターンによっても変化する。しかし、加工から生じる表面微小形状のパターンと濡れ性に関する体系的な研究は行われていない。そこで、本研究においては、切削や3Dプリントにおける課題とされてきた加工面粗さのマイクロ流路デバイスにおける有効利用手法と、加工法特有の表面微小形状が濡れ性に与える影響の解明に取り組むこととした。

2. 研究の目的

本研究は、加工に伴う表面微小形状の変化を利用し、細胞培養マイクロ流路デバイスへ応用可能な外部装置を用いない流体制御手法を開発することを目的とする。これにより、表面に追加工を施すことなく、加工から生じる表面微小形状を利用して濡れ性を変化させ、流体制御に利用することを目指す。将来的には、三次元培養細胞に適用可能で、外部装置が不要、かつ安価なデバイスを短時間で作製可能になることで、創薬研究や極限環境での実験に効果を発揮することが期待できる。

3. 研究の方法

(1) 切削条件による水接触角の変化

切削条件の変化による、水接触角変化を調べた。材料は、一般的にマイクロ流路デバイスに用いられているポリジメチルシロキサン(PDMS)とした。

表面の粗さ、表面微小形状のパターンは削り方、ピ

ックフィードのピッチ(Pf)、送り速度を変化させることで変えた。ボールエンドミル OSG WXLEBD R0.25 \times 1.1 \times 4、主軸の回転数 5000 RPM、切り込み深さ 0.02 mm に設定し、切削方向は Fig.1 に示す 2 種類、送り速度は 40 mm/min, 50 mm/min, 60 mm/min, 70 mm/min の 4 種類、ピックフィードのピッチは 0.05 mm, 0.10 mm, 0.15 mm, 0.20 mm の 4 種類、計 32 種類の条件で CNC フライス盤(originalmind kitmill RZ300)を用いて ABS 樹脂を切削し、PDMS に転写した。

接触角計(協和界面科学社製 DM-501)を用いて 1 μL の水滴を表面に落とし、1 秒ごとに接触角を 10 回計測した。各条件につき実験を 10 回ずつ繰り返し、それらの値の平均値を求めた。また、水接触角を切削方向に対して Fig.1 に示す Parallel, Vertical の 2 方向から測定した。

(2) 算術平均粗さの水接触角への影響の検討

先行研究から、表面の微小形状が水接触角の変化に影響することがわかっている。そこで、表

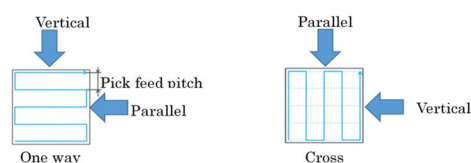


Fig.1 切削方向

面微小形状の様子を算術平均粗さによって計測し、水接触角の変化との関係を確認した。

PDMS は表面が柔らかく、粗さ測定が難しい。そこで、ABS 樹脂の型から UV レジン (seria 速乾 UV レジンクリア) に表面の転写をし、算術平均粗さを表面粗さ計 (ミツトヨ サーフテスト SJ-201P) で調べた。

4. 研究成果

(1) 切削条件による水接触角の変化

送り速度に対する水接触角の変化

送り速度に対する水接触角を Fig.2 に示す。One way 0.10 mm Vertical では、送り速度が 60 mm/min になるまでは水接触角が 113.12°から 120.74°へ増加していくが、送り速度が 70 mm/min になると水接触角は 116.75°に減少している。多くの条件で送り

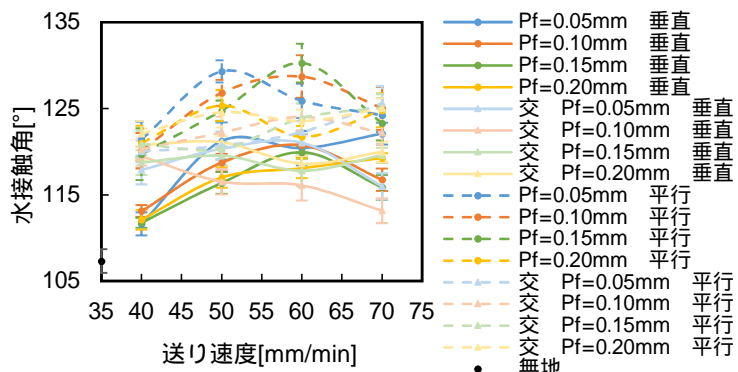


Fig. 2 送り速度に対する水接触角の変化

速度を増加させると水接触角も増加するが、ある送り速度に達すると水接触角が減少する。また、いずれの条件でも無地の 107.32°より水接触角が増加し、無地より親水性に変化したものはなかった。One way の送り速度に対する水接触角と、Cross の送り速度に対する水接触角を比較すると、方向以外の条件が同じ場合には Parallel 方向の水接触角のほうが Vertical 方向の水接触角より角度が大きくなることが分かった。

送り速度が小さく、凹凸自体の大きさや間隔が小さい時は凹凸部分に水が入り込みにくいので Cassie-Baxter 理論に従う。送り速度が増加し、凹凸自体のサイズや間隔が、ある程度まで増加すると凹凸部分に水が入り込み Wenzel 理論やピン止め効果に従う。このように、送り速度によって水接触角の変化の要因が変化したことで、送り速度の増加により水接触角が増大するが、ある送り速度に達すると水接触角が減少する現象が起きたと考えられる。また、ピン止め効果によって、方向以外の条件が同じだと Parallel 方向の水接触角のほうが Vertical 方向の水接触角より角度が大きくなったと考えられる。

ピックフィードのピッチに対する水接触角の変化

ピックフィードのピッチに対する水接触角を Fig.3 に示す。ピックフィードのピッチに対する水接触角の変化の様子は、他の条件によって大きく異なることがわかる。

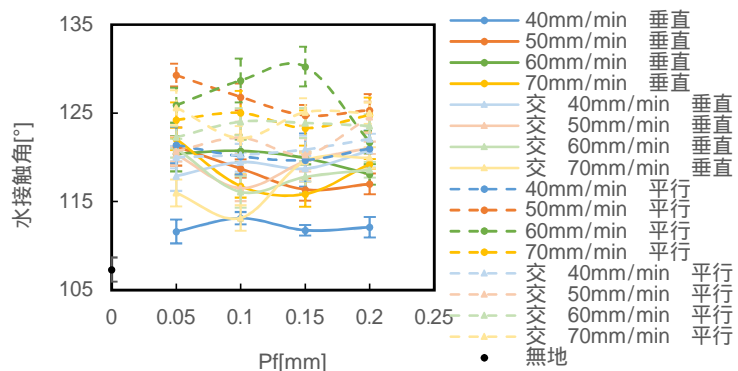


Fig. 3 ピックフィードのピッチに対する水接触角

(2) 算術平均粗さの水接触角への影響の検討

水接触角を測定する方向と 90°の方向の表面粗さが水接触角に関係するとして、加工表面の表面粗さに対する水接触角の変化を Fig.4 に示す。基本的に算術平均粗さが増加すると水接触角も増加するが、2.3 μm より算術平均粗さが増加すると水接触角は減少に転じる。Cassie-Baxter 理論、Wenzel 理論、ピン止め効果ともに凹凸が増加すると撥水性を強調するが、凹凸の間隔とのバランスが悪くなると水接触角が減少すると考えられる。

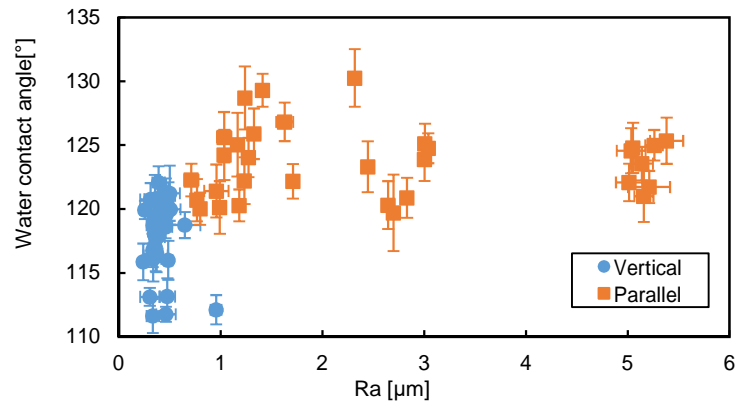


Fig.4 算術平均粗さに対する水接触角

本研究から、以下のことがわかった。1) 送り速度が増加すると凹凸が大きくなり、水接触角が増加するが、送り速度がある値より大きくなると水接触角が減少していく。2) Vertical 方向の算術平均粗さは Parallel 方向と比べて 2~10 倍になり、測定方向以外の条件が同じ場合、Vertical 方向の凹凸が作用する Parallel 方向から測った水接触角の方が Vertical 方向から測った水接触角より大きくなる。3) 基本的に算術平均粗さが増加すると水接触角も増加するが、2.3 μm より算術平均粗さが大きくなると水接触角は減少する。4) いずれの条件でも無地の 107.32° より水接触角が大きくなり、無地より親水性に変化したものはなかった。これらの結果から、切削条件を変化させることでマイクロ流路デバイスの濡れ性を変化させ、疎水表面と親水表面を作り分けることで、流体制御をすることができると考えられる。

一方で、送り速度の変化と表面粗さの変化の関係性と、水接触角への影響には未知の点が残った。今回は表面粗さを算術平均で計測したが、今後最大高さでの表面粗さの計測や実際の表面形状自体を測定し、切削条件と加工表面、加工表面と水接触角の関係を調査する必要があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------