

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 ジャークタノン, チャイナロン (Chaktranond, Chainarong)

本論文は, Performance Assessment of Micromixers for Bio-fluidic Processing with Magnetic Beads (磁性粒子を用いたバイオフィューディック・プロセッシングのためのマイクロ混合器の性能評価に関する研究)と題し, 6章より成っている.

近年のマイクロ加工技術の急速な発展に伴い, 従来の生化学分析プロセスをチップ上にマイクロ化・集積化する研究が注目を集めている. システム全体の微小化・自動化により, 必要サンプル量の大幅削減, 人的労力の削減, 分析時間の大幅短縮, さらには, 微小デバイスのみ可能な高付加価値(単一生体分子の操作, 検出など)などの利点が期待されている. このような微小スケールシステムにおいては, 流体や混入物質の混合が非効率的となる. したがって, 試料・試薬などの混合をいかにして促進するかが非常に重要な課題となる. 本論文は, 抗原抗体反応を基にした磁性粒子による細胞の選択分離プロセスをマイクロ化した際の, 磁性粒子と標的細胞の混合促進手法に関する数値的・理論的研究を行ったものである.

第一章は序論である. まず, 再生医療とその可能性について概観した後, その第一段階として特定の細胞を抽出する際に細胞への負担が少なく且つ信頼性の高い抽出手法の開発が必要であると述べている. 次に, 細胞抽出手法として蛍光標識分離法(FACS)と磁気標識分離法(MACS)について概説し, 細胞への負担の観点からMACSが有利であり, さらにこれを微小化することにより高効率なシステムを構築できると述べている. 微小システムにおいてはレイノルズ数が小さくなることから, 必然的に流体や混入物質の混合が非効率的となることを指摘した上で, 従来提案された混合促進デバイスについて, 流路形状の工夫などによる受動デバイスと変動圧力・外部磁場など外部駆動力を用いる能動デバイスに分けて概説している. このうち, 抗原抗体反応と磁性粒子を用いたマイクロ細胞分離システムを念頭におき, 能動デバイスとしてはSuzuki et al. (2004)によって提案されたマイクロ磁気混合器を, 及び受動デバイスとしてはTan et al. (2005)によって提案されたマイクロ積層混合器を, 本研究における数値解析の対象とすることが述べられている. また, 本数値解析を通じて用いられた仮定がここにまとめられている.

第二章では, 本研究で用いられた数値計算手法, 及びマイクロ混合器の性能評価指標が詳述されている. 連続相である液体の基礎方程式, 即ち非圧縮性ナビエ・ストークス方程式は, 二次中心差分を用いて空間的に離散化し, 数値安定性及び精度に優れた三次ルンゲ・クッタ/クランク・ニコルソン法に基づくフラクショナル・ステップ法を用いて時間積分している. また, 蛇行する複雑な形状の流路を計算対象とするための手法として埋め込み境界法を採用し, 計算の高効率化をはかっている. 細胞及び磁性粒子は固体粒子の質点として扱い, その運動をラグランジュ的に追跡する

手法をとっており、その運動方程式はクランク・ニコルソン法を用いて時間積分している。マイクロ混合器の性能評価指標としては、従来の研究で用いられた指標について概観した後、本研究において適当なものとして、ポアンカレ断面、リアプノフ指数といったカオス力学における指標、及び、磁気粒子の細胞への付着割合、粒子密度変動、乖離長さスケールといった工学的な指標を用いることが述べられ、これらの定義及び計算手順が詳細にまとめられている。

第三章では、能動混合デバイスであるマイクロ磁気混合器 (Suzuki et al., 2004) を取り上げ、印加する外部変動磁場が磁性粒子の混合、及び磁性粒子の細胞への付着割合に与える影響を検討している。混合器の形状は二次元的な蛇行流路であり、これに複数取り付けられた電極を用いて時空間的に磁場を変動させるようになっている。数値解析は、まず二次元平面内の運動に関するものについて行われている。それによると、基本的な制御パラメータは、変動磁場の周波数の無次元数であるストローハル数と、磁場によって駆動される粒子の終端速度と連続相流体の平均流速の比である強度係数の二つであり、この二つのパラメータを変化させることで混合の状態が顕著に変化することが示されている。リアプノフ指数を指標とした場合に混合が最も促進されるのはストローハル数、強度係数ともに1のオーダーの場合であるが、より実際的な指標である付着割合を用いると、上述の条件のほかに、強度係数が6程度の場合にも粒子と細胞の付着が顕著になることが示され、この二つの条件における付着割合の極大化が異なる機構によるものであることが粒子運動の可視化を用いて示されている。次に三次元解析を行なったが、全ての磁性粒子が底面に沈降するという結果が得られている。この現象について理論的な検討及び実験 (Suzuki, 2003) との比較を行なった結果、磁性粒子を重力と逆方向に駆動する力の存在は考えにくく、したがってこの混合器を用いて起こる磁性粒子の混合が底面近傍における二次元的なものであると結論付けられている。

第四章では、受動混合デバイスであるマイクロ積層混合器 (Tan et al., 2005) を取り上げ、理想的な条件で理論的に予測される混合性能と、実際の混合性能の比較を行なっている。混合器の形状は三次元的な蛇行流路に分岐・回転・合流を合わせた形となっており、基本的には流体層を分割し層状に重ねることによって混合距離を小さくするという原理に基づいている。理想的な条件では混合器のユニット数を  $n$  とした場合に  $2^n$  の層が出来るため、混合距離はその逆数に比例することとなるが、数値計算を行なった結果、約4ユニット以上では混合距離の減少が飽和する結果が得られている。この原因について、ポアンカレ断面を用いて粒子の運動を解析した結果、4ユニットを周期とする軌跡が存在すること、またこの周期点近傍の粒子が島状の構造を形成し、この領域では混合が起こらないこと等を示している。さらに、この島状構造が形成される原因として、流路の分岐・回転・合流の方向がいつも同じであることにありと結論づけている。そこで、この問題を解決するために、混合器1ユニットごとに分岐・回転・合流の方向が交互に変わる混合器形状を新たに提案している。数値計算の結果、島状構造の形成が抑制されること、また定量的にも元の混合器よりも高い混合性能が得られることが検証されている。

第五章では、前二章で展開した議論を踏まえ、実用場面における能動デバイスと受動デバイスの

一般的な比較を試みている。また、これに関し、数値解析では無視されていたが磁性粒子及び細胞が受けるであろう分子拡散の効果の概算を行なっている。

第六章は結論であり、本論文で得られた成果をまとめている。

以上、本論文では、マイクロ流路内において磁性粒子及び細胞の混合を促進するデバイスの数値シミュレーションを用いた評価およびその改良設計を行った。外部変動磁場を用いた混合器に関しては、二次元平面内の混合及び細胞への付着を最大にする制御パラメータを明らかにするとともに、このデバイスで起こる混合が二次元的なものであることを示した。積層型混合器に関しては、提案されている形状の流路における粒子運動を詳細解析するとともに、理想的な混合が行なわれない原因及びその機構を指摘し、これら解析に基づき、より優れた混合器を提案した。本論文で用いた数値解析手法、提案した定量的指標、及び得られた混合促進機構に関する知見は汎用性の高いものである。従って、本論文は、マイクロ生化学分析分野のみならず、微小スケールの熱流体制御手法についての新たな知見を加えるもので、熱流体工学をはじめ機械工学の上で寄与するところが多い。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。