

# 生体細胞の同定・分離・ハンドリングに適した

## 誘電泳動力の測定方法

### Measuring Method of The Dielectrophoresis Force

#### Suitable for Identification, Separation and Handling

今里 浩子<sup>1,3</sup>, 山川 烈<sup>2,3</sup>

1) 産業医科大学病院 臨床検査・輸血部

2) 九州工業大学大学院 生命体工学研究科 脳情報専攻 3) ファジィシステム研究所

Hiroko IMASATO<sup>1,3</sup>, Takeshi YAMAKAWA<sup>2,3</sup>

1) Department of Laboratory and Transfusion Medicine, University Hospital of Occupational and Environmental Health

2) Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology

3) Fuzzy Logic Systems Institute, Japan

**Abstract:** *If the nuclear folding and clefting characteristic of monocytoïd cells are not present, the morphologic features observed under light microscopy may not be sufficient to clarify the diagnosis. Much more reliable methodology should be developed for the clinical examination. Dielectrophoresis (DEP) is the motion of a matter caused by polarization effects in a non-uniform electric field. The dielectrophoretic force would be the candidate to achieve the separation, handling and characterization of the biological cells in the medium. It is not so easy to measure this extremely small motive force, though it is very important. This paper describes the methodology to measure the dielectrophoretic force of several tens of femto-Newtons.*

**Keywords:** *clinical laboratory automation, dielectrophoresis, separation, handling, characterization, biological cells, controllable gravitational force, femto-Newton.*

Hiroko IMASATO

Iseigaoka 1-1, Yahata-nishi, Kitakyushu, 807-8555, Japan

Phone: +81-93-603-1611(Ext: 3071), Fax: +81-93-691-6133, E-mail: imasato@clnc.uoeh-u.ac.jp

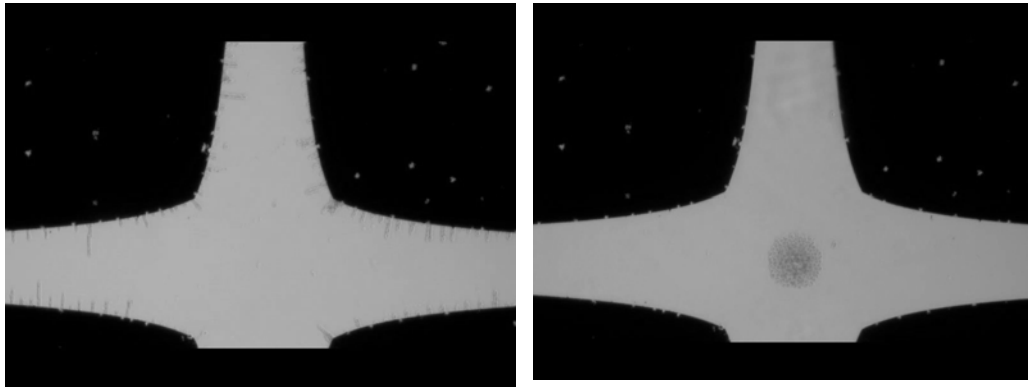
## 1. はじめに

誘電泳動とは、不均一電場内におかれた物質が電場とそれにより誘導される双極子モーメントの相互作用により駆動される現象である。この現象を利用して、現在、生体試料の同定・分離・ハンドリングをはじめ、さまざまな分野で研究が進められている[1,2] 図1に著者らが実験して得た四重極電極における赤血球の正の誘電泳動と負の誘電泳動を示している。この結果からもわかるように、われわれは、近い将来、誘電泳動力 (dielectrophoretic force : DEP force)

が、生体試料検査法の開発に大いに役立つと確信している。

特定の物質に生じたこの駆動力、すなわち、誘電泳動力を測定し、理解することは極めて重要であるが、その具体的数値を求めることは容易ではない。一般に設計された電極によって生ずる誘電泳動力を解析的に求めることは不可能に近いので、有限要素法を用いて、計算によって求められる。しかしこれは、実際の誘電泳動力を測定していることにならない。

本研究では、どのような形状の電極の場合であっても適用できる、重力を利用した誘電泳動力の直接的測定方法を提案する。



(a)正の誘電泳動 (20Vpp,1MHz)

(b)負の誘電泳動 (20Vpp, 80MHz)

図1 . 四重極電極における赤血球の誘電泳動

実際にマイクロ加工技術を利用してデバイスを試作し, その中でポリスチレン・ビーズに生じる誘電泳動力の測定を実施した.

## 2. 原理

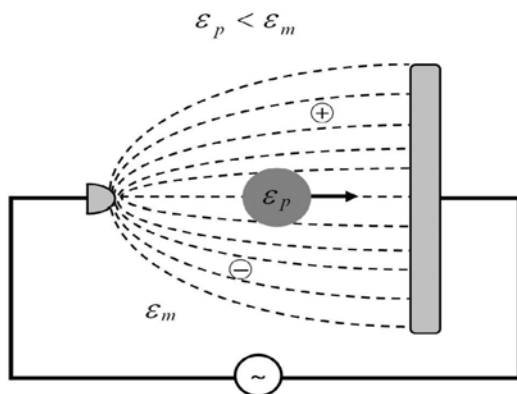


図2 .  $\epsilon_p < \epsilon_m$  の場合における誘電泳動 .  
(負の誘電泳動)

$\epsilon_p$  : 粒子の誘電率,  $\epsilon_m$  : 溶液の誘電率.

### 2.1 誘電泳動力

図2のように, 誘電率の異なる粒子と溶液が存在する環境下 ( $\epsilon_p < \epsilon_m$  の場合) において, そこに不均一電界が印加されると, 粒子は電界の弱い方に移動する. この現象は, H. A. Pohl により, 誘電泳動 (dielectrophoresis) と名付けられた[3].

このように粒子が不均一な電界から受ける誘電泳動力は, 次のようにあらわすことができる [4].

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_0\epsilon_m r^3 \text{Re}(f_{CM}) \nabla E_{rms}^2 \quad (1)$$

$\epsilon_0$  は真空の誘電率,  $\epsilon_m$  は溶液の誘電率,  $r$  は粒子の半径,  $E_{rms}$  は電界の実効値である.  $f_{CM}$  は Clausius-Mosotti factor であり, 下記の式であらわされる.

$$f_{CM} = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \quad (2)$$

$\epsilon_p^*$  and  $\epsilon_m^*$  は粒子と溶液の複素誘電率である. 複素誘電率は

$$\epsilon^* = \epsilon + \sigma/(j\omega) \quad (3)$$

であらわされる. ここで  $\epsilon$  と  $\sigma$  はそれぞれ誘電率と導電率である.

よって, Clausius-Mosotti factor および誘電泳動力は周波数に依存することがわかる.

### 2.2 測定原理

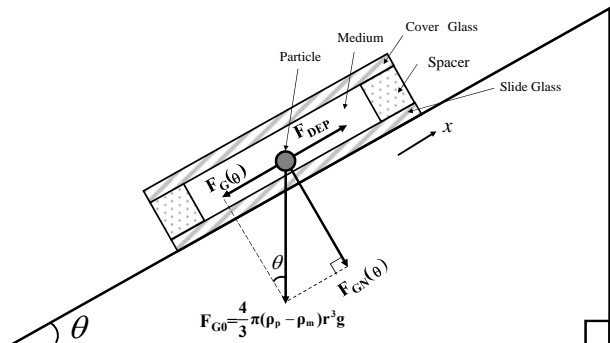


図3 . 斜面重力 (基準量) の調節により計測される誘電泳動

誘電泳動力を測定するために 零位法 を用いる。すなわち、重力を利用して、(1)式に等しい逆向きの力を作る。図3に示すように、水平面と $\theta$ の角をなす斜面上に配置されたデバイス中の水に分散した粒子の誘電泳動力 (DEP force:  $F_{DEP}$ ) は斜面上に沿って上向きであり、重力の斜面上に沿った水平成分  $F_G(\theta)$  は、斜面下方である。その力  $F_G(\theta)$  は、

$$\frac{4}{3}\pi r^3(\rho_p - \rho_m)g \sin \theta \quad (4)$$

である[5]。

### 3. 実験

#### 3.1 実験試料

誘電体粒子としてポリスチレン・ビーズ ( $9.9\mu\text{m}^\phi$ , 比重 1.06, 誘電率 2.4 ~ 2.65, Duke Scientific Co., Ltd.) を使用し、蒸留水中に浮遊させた。

#### 3.2 デバイス作製

スライドガラス表面に厚さ約  $1\mu\text{m}$  のアルミニウム薄膜をスパッタで形成し、フォトリソグラフィにて電極を作製した。さらに、電極の表面全体を厚さ約  $1\mu\text{m}$  の感光性ポリイミド (フオトニス, 東京応化工業) で被覆した。約  $100\mu\text{m}$  のシリコンゴム膜をスペーサとして円形のチャンバーを形成し、実験試料を注入し、カバーガラスで覆った。(図4参照)

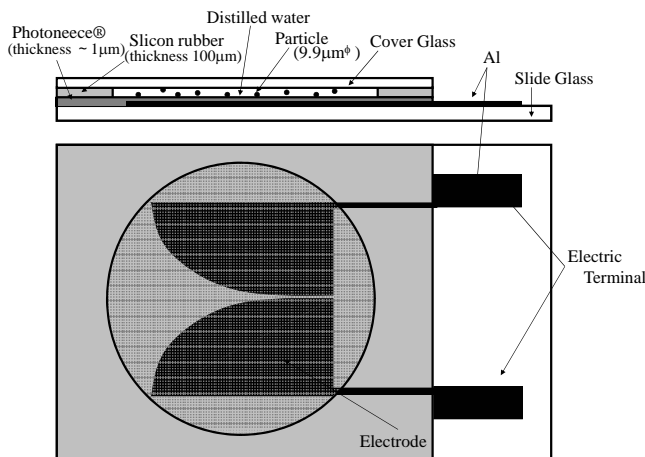


図4. 誘電泳動実験用デバイス

#### 3.3 実験装置

誘電泳動実験を顕微鏡下で行うためにデバイスを顕微鏡にセットし、 $\theta$ および $\phi$ を独立に調整できるような可変式傾斜台(顕微鏡ホルダー)を試作し、これに顕微鏡を固定した(図5参照)

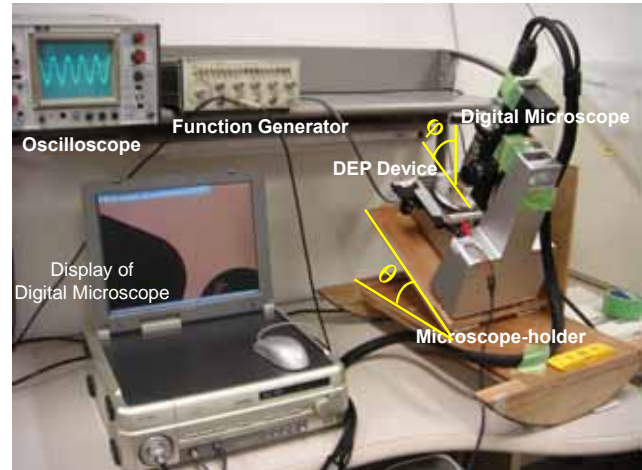


図5. 実験装置外観

#### 3.4 実験方法および結果

ファンクションジェネレータからデバイスに供給する正弦波信号の電圧振幅および周波数ならびに傾斜角度 $\theta$ に対するポリスチレン・ビーズの移動量のステップ応答および静特性を測定した。

##### ステップ応答

角度 $\theta$ のステップ応答を計測した。印加電圧 20Vpp および周波数 1MHz において、角度 $\theta$ をステップ状に変化させ、ポリスチレン・ビーズの移動量を記録した。ポリスチレン・ビーズの静止が物理吸着や摩擦によるものでないことを確認したうえで、その定常状態を確定した。角度は  $15^\circ$  から  $60^\circ$  に、また  $60^\circ$  から  $15^\circ$  にステップ上に変化させた。その結果を図6に示す。この図から、時定数は3分と1.9分であり、およそ15分で定常状態に達することがわかる。

##### 静特性

角度 $\theta$ および周波数をそれぞれ変化させた場合のポリスチレン・ビーズの移動量を定常状態になるのを待って測定した。

その結果をそれぞれ、図7、図8に示す。角度を変化させた場合は、角度 $\theta$ を上げるにつれて、斜面重力が増大し、誘電泳動力に抗してポリスチレン・ビーズが下方に移動している。ここで  $10^\circ$  は 52fN ( $1\text{fN} = 10^{-15}\text{N}$ ) を、 $60^\circ$  は 259fN を意味する。

周波数を変化させた場合には、周波数が大きくなるにつれて、負の誘電泳動力が増大し、重力に抗してポリスチレン・ビーズが上方に移動していることがわかる。

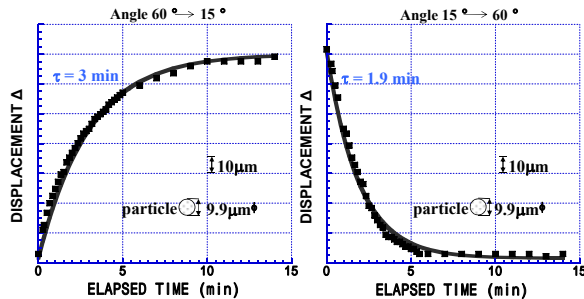


図6 . ポリスチレン・ビーズの位置の角度  $\theta$  におけるステップ応答

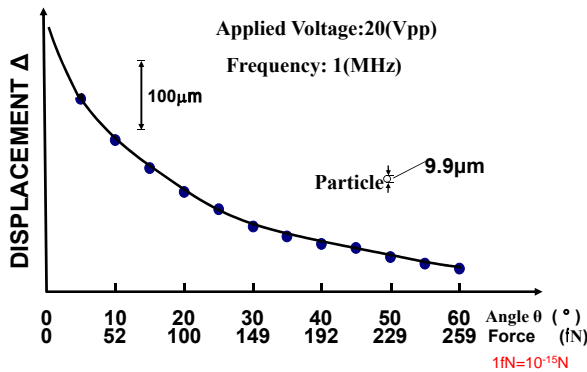


図7 . ポリスチレン・ビーズの角度依存性

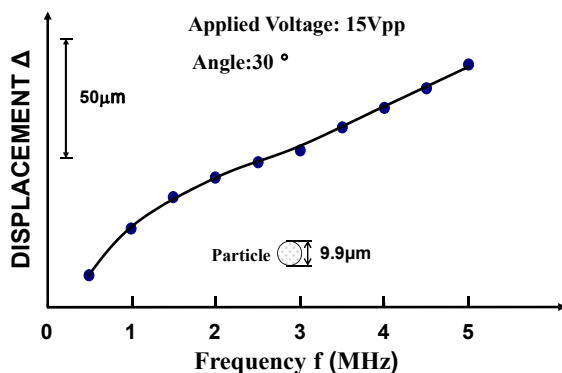


図8 . ポリスチレン・ビーズの周波数依存性

電極間任意の点における誘電泳動力の測定  
電極間中心線上の位置のみならず、任意の点における誘電泳動力を測定した。測定位置を定め、そこにポリスチレン・ビーズが移動するよ

うに、角度  $\theta$  とデバイスの方向  $\phi$  を変える。その結果を図9に示す。



図9 . 電極間任意の点における誘電泳動力

#### 4. 結 論

マイクロ加工技術により誘電泳動用のデバイスを作製し、さらに、重力の方向が調整可能である可変式傾斜台（顕微鏡ホルダー）を作製した。これらを使用することにより、負の誘電泳動力によるポリスチレン・ビーズの移動量のステップ応答および静特性を測定した。この試作装置により、25fNから259fN程度の誘電泳動力の測定が可能である。

また、電極間任意の点における誘電泳動力の測定が可能であることを示した。

#### 参考文献

- [1] Li, H. and Bashir, R., Dielectrophoretic separation and manipulation of live and heat-treated cells of *Listeria* on microfabricated devices with interdigitated electrodes, *Sensors and Actuators, B* 86, pp.215-221, 2002.
- [2] Gascoyne, P., Satayavivad, J., Ruchirawat, M., Microfluidic approaches to malaria detection, *Acta Tropica*, Vol.89, pp.357-369, 2004.
- [3] Pohl, H. A., *Dielectrophoresis*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp.6-47, 1978.
- [4] Jones, T. B., *Electromechanics of Particles*, Cambridge University Press, Cambridge, England, pp.5-33, 1995.
- [5] 山川 烈, 今里浩子, 「誘電泳動力の測定方法および装置」, 国内特許, 特願2007-262058, 2007年10月5日

