The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	高速熱応答マイクロプローブ法の開発と培養細胞試料への適用
Author(s)	片山, 貴志
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70753
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

博士学位論文

高速熱応答マイクロプローブ法の開発と培養細胞試料への適用

片山　貴志

２０１８年7月

大阪大学大学院工学研究科

高速熱応答マイクロプローブ法の開発と培養細胞試料への適用

論文要旨

顕微鏡の発明は細胞の存在を明らかにし、酵素・遺伝法則の発見・酵素結晶化・ＤＮＡ構造解明などを経て、分子細胞生物学の加速度的な発展を誘起した。ＥＳ細胞・ｉＰＳ細胞に代表される分化多能性を有する幹細胞作製技術と、人工的な分化誘導技術の確立は、ヒトゲノム解読完了というマイルストーンと合わせて、今後の再生医療における革新的な展開を期待させる。さらには細胞や微小生体組織・分子モータなどを部品として見立て、従来の無生物的な部品と組み合わせた、全く新しい機械システムの概念を生みだした。しかし、内部に分子レベルの複雑な構造とダイナミクスを内包している部品の大規模利用実現には、その状態把握に本質的な課題を抱えている。

本研究では、微小でソフト・内部に緻密な構造とダイナミクスを包含している試料と、従来的な硬く静的な機械部品との界面の観察方法について検討した。現在研究の場において主要な観察法として採用されている光学顕微鏡を補完できるモニタリング手段として、高速熱応答を利用するプローブ法を提唱した。センサ・試料界面近傍における熱拡散について古典的な熱伝導方程式の範囲のもとに検討し、実用的な条件下において熱源寸法が μｍを下回る領域まで適用可能な近似解析解を導出した。微細加工技術を応用してセンサを試作、高速・高精度検出が可能な回路方式の提案・実装と合わせて、その検出性能を検証した。最後に具体的な対象試料として、培養細胞に対する状態観察を実現したので報告する。

第一章では、生命現象の観察結果から触発されて進んできた科学の発展を概観し、生命現象に対する認識の変遷を素描した。次に２０世紀後半から劇的な発展を続けている分子細胞生物学を軸として、生物学が達成してきた研究成果を概観し、これらを背景にして生み出されてきた新しい機械システムの概念をまとめ、そこに内在する計測問題について論じた。また本研究が提唱する熱の散逸現象の利用法と、これを実現するために取り組んだ本研究の目的を述べた。

第二章では本提案の数理モデルとして核となる、二層界面近傍の瞬間点熱源に対する古典熱伝導方程式の解の詳細な分析を行った。本論文で構築を目指すプローブ法の設計指針、具体的にはプローブ位置を起点にして試料状態が観察できる空間分解能に対する見通しを得た。

第三章では前章で分析した基本解をもとにして、プローブ構造をモデル化した連続矩形熱源の近似解を導出した。この解は、2018 年時点での電子回路技術を前提に、測定試料として水と等しい物性を想定した場合、矩形熱源の長辺方向長さがおよそ 3×10^{-7}[m]までの微小寸法領域まで適用可能であり、一般的な細胞一つの寸法を下回る。また試料に対する加熱による影響を最小限にとどめることを目的として、複数の基本的幾何形状を持った熱源に対して、投入した熱が散逸するために必要な時間を評価した。

第四章では前述の解析モデルを実現できる、高速・精密な駆動・検出回路方式を提案し、実装した回路の性能を評価した。10[μs]の短時間加熱における温度変化を 0.0007[K]で検出できることに相当する安定性が実現できていることを確認した。微小熱源を実現できる構造のセンサ・デバイスの試作を行い、回路と組み合わせることでプローブとした。組み合わせたシステムによる測定性能を試料の熱伝導率換算で評価した結果、Δ0.001[W/(m・K)]の分解能を具えていることを示した。また前章で議論したモデルと実際の測定結果との比較検証を行い、良好な一致を得た。

第五章では前章までに確立した高速熱応答マイクロプローブ法の、培養細胞試料への適用について検討した。センサ上で接着細胞の培養を実現するため、センサの表面上に対して、良好な電気絶縁性を持ち生体親和性にすぐれた材料である poly(p-xylylene)の被覆を実施、被覆による検出感度への影響を評価した。次にマウス胎児由来の、標準的な接着性細胞である NIH/3T3 のセンサ表面における培養とプローブによる評価を行った。その結果、培養液と比較して、細胞試料の方が高いプローブ出力となることを確認した。これは現象を熱物性のみに置き換えて考えると、細胞の熱伝導あるいは体積当たりの比熱が、培養液と比較して小さな値であることを示唆している。この結果は組織レベルや単一細胞に対する既存の測定事例と一致する。さらに、細胞の状態変化検出の可能性を確認するために、人工的な操作で培養液の濃度を調整した時の、細胞への影響の検出を試みた。その結果、培養液が低濃度になると検出値が一定方向にドリフトし、その後培養液濃度を標準的な濃度に戻すと検出値も回復するが、完全には元の状態に戻らないことが確認された。細胞内部を含む、センサ感応部近傍で発生した状態変化をとらえたものと考える。

第六章では本研究の総括を行い、熱の散逸現象を利用した、細胞や微小生体組織のモニタリング法に関する今後の展望や課題について述べた。

以上本論文では、細胞に代表される分子レベルのダイナミクスを内包した微小で柔らかい試料に対する、高速熱応答を利用した新しい観察法実現を目指して研究を行った。サブμmまでの微小寸法に適用できるプローブの古典伝熱モデルを提示した。このモデルを実装したセンサ出力の時間的変動は、試料内部のダイナミクス存在を示唆することになる。実際のセンサ及び検出回路を試作してその性能を検証、これが培養細胞の状態観察に利用できることを示した。本研究で得られた成果は、今後期待される細胞や微小生体組織、これらに触発されて研究が進められている分子モータ技術などのバイオアクチュエータが実現する社会において求められる高度なモニタリング実現に向けて大きな意義があると考える。

Development of the micro-probe technique for the fast heating response and its application on cultured cells

ABSTRACT

The invention of the optical microscope revealed the existence of living cells. The accelerated evolution of the molecular cell biology occurred being led by the discovery of the enzyme and rules of inheritance, success of enzyme crystallization, elucidation of DNA structure. We expect the innovative progresses in the regenerative medicine through the inventions of the production procedures of stem cells having pluripotent differentiation abilities (e.g. ES or iPS cells), the establishments of the artificial control of differentiation, and the completion of the decoding of the human genome. By stimulating from these scientific progresses, researchers had created the new system concept which fuses the living objects including cells, micro tissues, molecular motors, and conventional abiotic machines. There are intrinsic challenges for applying the living components which have molecular-level complex structures and dynamics inside.

In this thesis, the observation method of the interface between the living sample and the conventional hard and static mechanical component, was discussed. The method is applying the heat dissipation phenomena and can be a monitoring tool which complement optical approaches. The fundamental solution which is the core equation describing the heat diffusion at the interface between the sample and sensor was analyzed. The approximate analytic solution for rectangular heat source on the interface which is the model of the real sensor was derived. The solution is valid for lower than 1 [μm] length. The sensor devices which realize the mathematical model were fabricated using MEMS technologies, and their performances were evaluated by combining the unique electrical circuit which makes possible to detect the temperature change on the rectangular pattern fast and precisely. Finally, as a demonstration of this technique for the real application, the observed results of the cultured cells were reported.

In the 1st chapter, the transition of the scientists' recognition of life phenomena was overviewed. The research outcomes of the biology from the progresses of molecular cell biology in the latter half of the 20th century, were sketched and explained the new system concept which fuse biotic and abiotic components. The purpose of this thesis was described.

In the 2nd chapter, the detailed analysis was executed for the exact mathematical solution of the instantaneous point heat source placed near the interface of 2 semi-infinite regions bordering with planar perfect thermal contact. The existing solution was re-arranged from the physical viewpoint, and the physical interpretations were given term-by-term. The probing depth of the probe was evaluated and the system design guidelines were confirmed.

In the 3rd chapter, the approximation solution for the continuous rectangle heat source on the planar interface between two regions was derived. This solution is valid for the short rectangular length down to 3×10^{-7}[m], and this is smaller than most of the single cells. The required time for the heat dissipation was also estimated in order to minimize the heat degradation of the thermally fragile samples.

In the 4th chapter, the sensor devices which realize the mathematical model were fabricated and evaluated their performances. With 0.4-10[μs] short electrical current pulses heating, the system lower detection limit was estimated to be 0.0007[K] temperature change as the standard deviation. This is equivalent to Δ0.001[W/(m・K)] resolution as the sample thermal property difference.

In the 5th chapter, the application of this method for cultured cells was discussed. The poly(p-xylylene) thin film, which has bio-compatibility, was evaporated onto the sensor surface and its influence on the sensitivity was evaluated. The cultivation of the mouse fibroblast-like cell (NIH/3T3) on the sensor surface was established and the sensor responses for the cells were detected. As the results, the cultured cells were estimated to be lower thermal conductivity or lower volumetric specific heat capacity compared to the culture medium. These agreed with existing reports. The detections of the internal state variation in the cells were demonstrated. The concentration of the cultured medium was changed and its influences on the cells were evaluated. The sensor output drifted during the low culture medium concentration period, and did not perfectly recovered after the recovery of the concentration. This indicates the successful observation of the state variation occurring near the probe-cell interface including intracellular phenomena.

In the 6th chapter, the results were summarized and the future prospects of the new monitoring method using heat diffusion as a probe, were discussed.

In this paper, new observation technique was proposed for small, soft, and the samples including molecular-level dynamics by utilizing heat diffusion phenomena. The geometrical characteristics of the mathematical solutions for the instantaneous point heat source near the interface were revealed. The approximate solution for continuous rectangle heat source was derived which describes the sensor operations. The fluctuation on the sensor outputs can express the existence of the dynamics emerging inside the living samples. The sensor devices and drive-detection electrical circuit were developed and applied for the observation of the cultured cells. The method has a potential to realize the advanced monitoring of the cell, micro living tissues, and molecular-motors.

目次

第１章　緒言 1
　１.１　本研究の背景 3
　１.２　本研究の目的 6
　１.３　本論文の構成 8
第２章　古典的熱伝導方程式に基づいたプローブ駆動法に関する設計指針検討 11
　２.１　本章の背景と目的 12
　２.２　B.M.W.解の構造と項別の特徴分析 15
　　２.２.１　解T_1及びT_2の概形 17
　　２.２.２　領域１と２の両方の物性値で表現される項：I_1, I_2 18
　　２.２.３　物性パラメータβとσの役割 28
　２.３　B.M.W.解の時間発展の幾何学的性質 29
　　２.３.１　ステージⅠ：ガウス核近似が可能な期間　$0 < t < t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}$ 30
　　２.３.２　ステージⅡ：遷移期間　$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}} < t < t_{\mathrm{II}\to\mathrm{III}}$ 31
　　２.３.３　ステージⅢ：z'の影響が消滅する期間　$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{III}} < t$ 32
　　２.３.４　スケール変換した形式における B.M.W.解の図示例 34
　２.４　プローブと試料の界面に配置された熱源から発生した熱の広がり 41
　２.５　本章のまとめ 43
第３章　高速熱応答マイクロプローブ法の伝熱モデル構築 45
　３.１　本章の背景と目的 46
　３.２　プローブ法の解析モデル 48
　　３.２.１　界面上に配置された連続矩形熱源の平均温度に対する近似解の導出 48
　　３.２.２　解析モデルに基づくプローブの動作解析 53
　３.３　試料加熱終了後の熱散逸特性 57
　３.４　本章のまとめ 62
第４章　高速熱応答マイクロプローブ法の実装と性能の評価 63
　４.１　本章の背景と目的 64
　４.２　駆動・検出回路 66
　　４.２.１　データの取得と統計処理 69
　　４.２.２　回路部の安定性評価 71
　４.３　センサ・デバイス 74
　　４.３.１　センサ・チップの作製 74

4.3.2　センサ・デバイスの作製 77
4.4　計測システム 80
4.5　センサによる計測性能評価 81
4.5.1　センサ・デバイスの静特性評価 81
4.5.2　高速熱応答マイクロプローブの動作特性評価 89
4.5.3　理想的なモデルからの乖離に関する考察 96
4.6　本章のまとめ 99
第5章　高速熱応答マイクロプローブ法による培養細胞の計測 101
5.1　はじめに 102
5.2　センサ・デバイス感応部表面の被覆による測定感度への影響評価 103
5.3　評価対象としたNIH/3T3細胞の性状 105
5.4　センサ・デバイス上でのNIH/3T3細胞の培養 109
5.4.1　ディッシュにおけるNIH/3T3細胞の継代手順 109
5.4.2　センサ・デバイスにおけるNIH/3T3細胞培養の手順 110
5.5　培養細胞の高速熱応答マイクロプローブ法による測定 112
5.6　高速熱応答マイクロプローブ法による細胞の状態変化観察の検討 114
5.7　本章のまとめ 120
第6章　結言 121
6.1　はじめに 122
6.2　本研究で得られた結果のまとめ 123
6.3　今後の展望 125
第7章　付録 129
7.1　界面近傍に配置された瞬間点熱源のモデルと解（B.M.W.解） 130
7.1.1　領域1の物性値のみで表現される項：$F_{\pm 1}$ 132
7.2　主要な特定幾何形状を有する無限領域中の連続熱源解 134
7.2.1　連続点熱源解 135
7.2.2　連続線熱源解 135
7.2.3　連続面熱源解 136
7.2.4　連続帯熱源解 137
7.3　理論的検討及び実験に用いた材料の熱物性値 139
7.4　細胞とセンサ・デバイス表面との接着部に想定される微細構造 141
謝辞 143
業績リスト 145
参考文献 149

第１章　　緒言

生命にかかわる現象は、古来より人間にとって好奇心を掻き立てられる対象であった。近代科学的な活動が始められてからも、科学者たちが明に暗に生命現象から様々なインスピレーションを与えられてきた事例は枚挙にいとまがない。

Julius Robert von Mayer はヒトの静脈血の色の変化の観察結果を通して、異なる形式間でのエネルギ変換の際にエネルギが保存することを提示する熱力学第一法則を発見したとされている[1]。同じく第一法則の定式化に主導的な役割を果たした Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz の専門は生理学であった[2]。William Thomson, 1st Baron Kelvin による熱力学第二法則の表現は秀逸である。「生命なき物質的作用因(inanimate material agency)によって物体の任意の部分をまわりの物体の最も冷たいもの以下に冷却することによっては、力学的効果を生み出すことはできない」[3]。Helmholtz は三原色に関する理論を確立させたが、これは早い段階から同じ問題に強い興味を持って取り組んでいた James Clerk Maxwell との感動的な対面につながった[4]。Maxwell による速度分布則は Ludwig Eduard Boltzmann に研究の起点を与え、エントロピーの統計解釈という生死を賭けた難題に至らしめた。「生物の生存闘争全体は、したがって原料を求める争いではない－あらゆる生物の原料は空気、水、土の中にあり余るほどある。またエネルギーを求める争いでもない。こちらは熱の形であらゆるものに充満している。熱い太陽から冷たい地球へと流れるエネルギーの形で利用できるようになる、エントロピーをかけた闘いである。」[5]
Robert Brown による花粉中の微粒子の観察結果に基づくブラウン運動の発見は[6]、Albert Einstein による確率論・統計力学における貢献につながった[7]。Erwin Rudolf Josef Alexander Schrödinger による偉大な踏み込み、「生物体は負エントロピーを食べて生きている」[8]という言明は、狭義の意味における科学的貢献を超える形で、James Dewey Watson をはじめ多くの生物学者に決定的な心理作用を及ぼした[9]。

このように概観してみると、物理や化学に分類される科学の発展の中では、生命現象を理解するために検討した結果を生命現象から無生物的に理解できる現象として切り離していく作業が重要な位置を占めていたように見える。アキレスと亀のパラドックスではないが、2018 年現在においても生命現象は様々な科学的疑問の汲み尽せぬ泉である。

著者は、前世紀までの生物学における発展を背景に今世紀に入って加速度的に発展し始めた「生命と機械とが融合したシステム」を実現していく科学的取り組みの中で、生物－無生物界面において生命の基本単位とされる細胞や微小生体組織の生命活動をモニタリングする、という課題に注目した。本研究では、無生物的と理解される熱力学第一・第二法則とフーリエ則とを組み合わせることで導出される熱伝導方程式とその解を武器にして、生命的現象を観察する手法について検討した。本章では本研究の具体的背景、目的を述べたのちに、本論文の構成について述べる。

1.1　本研究の背景

酵素の単離(1926)や DNA 構造解明(1953)は、２０世紀後半における分子細胞生物学の飛躍的な発展を先導した。ヒトゲノム解読完了(2003)というマイルストーンは、生物を還元主義的にとらえる視点からの勝利宣言のように思われる。「生命とは、このうえなく精妙に秩序立てられているとはいえ、要するに物理学と化学の問題にすぎなかったのだ。」[9]ヒトの傷病を支配する免疫メカニズムの理解[10]などは、分子細胞生物学の医療応用という文脈において特筆すべき成果である。不老不死や健康長寿は、科学者にとっても永遠の夢である。

人体の欠損を補う技術への要望は古来よりあったと思われるが、第一次世界大戦の不幸な結果から本格化したとされる。素朴で自然な要望ではあるが、このことが人工的な機械と生命体との融合の難しさを表面化させたと考えられる。免疫システムの理解は臓器移植に関する大きな困難を取り除き、生物－無生物の融合という難題を迂回する道を切り開いたかに見えたが、ドナー不足という問題に早期に直面してしまった[11]。

分化多能性を有した幹細胞の作製技術の発明と[12, 13]、人工的な分化制御技術の確立（たとえば[14]）は、ドナー不足を根本から解決できる再生医療という新たな研究分野を切り拓いた。これらの科学的成果の波及効果は医療分野にとどまらず、生体応用に関する倫理的な問題を劇的に低減するという面に現れた。生物が細胞や微小組織レベルで有している機能を、医療分野以外で直接的に応用するという発想を現実的なものとした。

生命の非医療応用に関する歴史は、そもそも狩猟や農耕にまでさかのぼることができる。建築材や衣料としての植物の利用、ミツバチによる蜂蜜の採集、運搬における馬や牛の使役など、[cm]から[m]スケールの個体の利用は長い歴史がありながら、現在でも他に代えがたいものがある。

分子細胞生物学の発展に裏付けられた非医療応用の代表例のひとつは、抗原抗体反応などの分子素子を利用した多様な分子に対する微量検出技術であろう[15, 16]。分子同士の特異反応性は、生命現象の緻密なメカニズムを支える根幹のひとつである。特異反応性と蛍光標識技術とを組み合わせた分析手法は、生物学の枠を超えて様々な分野で利用されている。[cm]から[m]スケールの個体の利用や、[nm]オーダの生体産生分子の利用は歴史的に早期から実現してきたのに対して、[μm]から [mm]オーダの細胞や微小生体組織の利用が本格的に取り組まれるようになるまでに時間がかかっているように見えるのは興味深い。

2003 年に森島らは、心筋細胞を用いたマイクロピラーの駆動を報告した[17]。筋細胞が持っている、ATP の形で保持された化学エネルギを運動エネルギに変換する機能を直接利用する発想であり、MEMS 技術との組み合わせによってはじめて実現された。筋細胞はこの寸法領域におけるアクチュエータとして優秀な性能を有しており、今日でも活発に研究がおこなわれている。

細胞が持っている機能の応用は、さらなる生物－無生物の融合に進んでいる。運動機能の利用に限定しても、細胞の内部で運動をつかさどっている微小管と分子モータとを取り出

し、人工的な空間内に閉じ込めることで、微小空間内に複雑な分子運動ネットワークを作り出すことに成功している[18]。このような機構は、細胞が分裂や移動をする際に利用しているメカニズムであり、[nm]から[μm]のスケールをつなぐ、生物的なものと無生物的な人工物とが不可分に融合したシステムと見ることができる。

筆者は、当該科学領域の発展を概観することによって、人工的に製造された機械と、自然界に存在する生命体とを融合させたシステムを実現するための設計的アプローチを着想した（Fig. 1-1）。人工的に製造された機械は、既存の物理・化学・工学などを援用して、自然界には存在しない機能を実現できる。一方で自然界に存在する生命体は、人工的・無生物的な機械には実現できない機能を発現しているのみならず、そのもの自体の存在に価値がある場合も多い。これらの良いところを組み合わせる発想が、生物－無生物の融合であるが、もともとの設計思想・原理の違いからその実現は容易ではない。

Fig. 1-1 では、このギャップを埋めるための設計方針を示している。機械部品と生命体との間に「生物－無生物接続用部品」を配置し、この部品の中で階層的に生物から無生物を接続していく。部品の中には、その機械接続側には無生物的な接続層、生体側には生物的な接続層を構成し、これらの接続層をさらに接続する、界面層の大きく三層構造を考える。

「無生物接続層」では、無生物サブシステムと電気的・機械的接続の機能を実現するが、主には既存の設計技術が援用できる。新しく搭載しなければならない機能は、界面層との接続を可能とする仕組みであり、主に寸法的な面から MEMS 技術の援用が考えられる。

「生物接続層」では二つの新しい機能実現が求められる。一つ目は、生体側と生物接続層とを生命工学的に接続する機能である。もともとの生体側には含まれず、しかしながらその生体からの物質輸送などを利用して無理なく接続できる、新しい生体組織層のようなものが想定される。実際の生体の中にも、異なる臓器間を接続するような構造、軟骨や接着タンパク質などが存在することから、これらの構造から学ぶことができる。もう一つの機能は界面層との接続である。こちらの機能も生体的に作られることが想定され、結果的に生物接続層は細胞組織の層構造のようなものになるだろう。たとえば生体内の血管は、内皮・基底膜・平滑筋・外膜といった多層構造を取っており、ここからの連想でもある。

最終的な生物－無生物間の接続の難しさは、「界面層」に集約されている。機械側は人工的な設計であることからある種の幾何学的空間配置が実現されることが望ましく、MEMS 的な技術が利用される。生体側は幾何学的ではない、テクスチャを構成することが必要であることから、何らかの自己組織化的な手法が必要となるだろう。

無生物接続層・界面層・生物接続層の 3 層からなる生物－無生物接続用部品は、生体側の負担を考えると生体とは切り離した *in vitro* 環境で製造され、最終的な生体との接続時のみ *in vivo* 的な作業がなされる。Fig. 1-1 が示している設計指針は、極めて保守的な思想に基づいたものである。

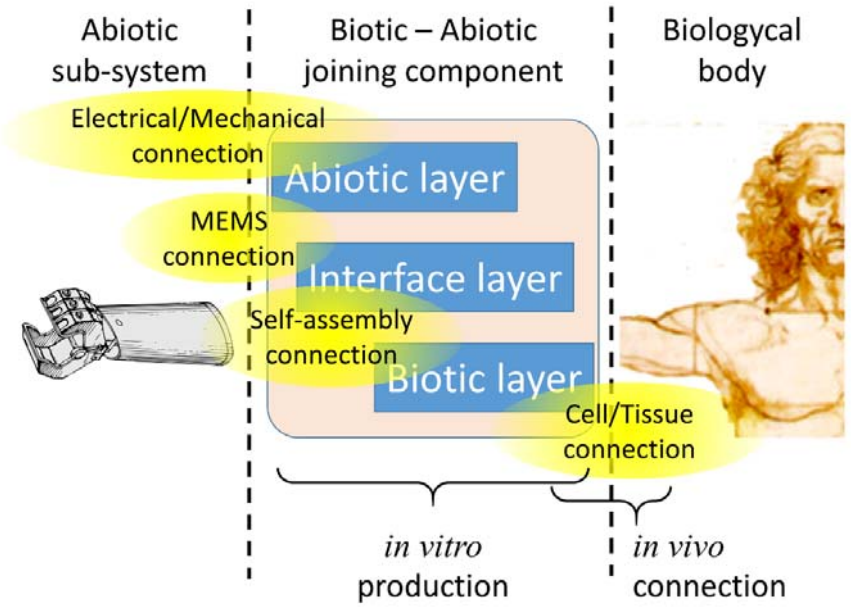


Fig. 1-1　Design approach of the biotic-abiotic interface.

以上のような生物－無生物の融合技術を想定すると、その界面において生体側の状態をモニタリングする技術の重要性と、要求される仕様とが想起される。２０世紀後半からの分子細胞生物学の発展を支えてきたのは、１６世紀末に発明された光学顕微鏡と、蛍光標識に代表される染色技術との組み合わせであった。可視光の回折限界に到達して久しいこれらの手法と、原子レベルの観察が可能ではあるが本質的に生きたままの観察が困難な電子顕微鏡などの手法との間をつなぐ領域には、大きな未解決の課題が横たわっている。

1.2　本研究の目的

本研究では生物－無生物の界面において、μm オーダの空間分解能を有した生体側の状態モニタリングが実現できる観察手法を提唱することを最終的なビジョンとしている。観察するべき情報は「生命活動」であり、厳密には生命の定義にさかのぼらなければならないが、生命の定義自体が困難であることはよく知られている[19]。

そこで本研究では、次のような特徴を備えた現象を生命現象的特徴と捉えることとした。

・物質・エネルギの交換が行われる、開放系である。
・内部に、分子オーダの緻密な構造・ダイナミクスが存在している。
・恒常性に代表されるような、自発的自己保持機能がある。
・増殖・分化に代表されるような、様々な非線型的現象が発生している。
・ソフトで、様々な外的刺激に対して敏感である。

これらの特徴は、本章冒頭で概観した、物理学者たちが読み解いてきた生命現象の特徴の書き換えともいえる。また前項前半で述べた分子細胞生物学が解き明かしてきた具体的な生命現象の特徴も含んでいる。さらには計測の観点から看過できない課題も表現されている。このように列挙してみると、蛍光標識法を利用した光学顕微鏡がなぜ主要な観察法とされているかを理解することもできる。

著者はこの様な現象を観察できる方法として、熱をプローブとして用い、その散逸現象を精密に計測することを通して試料の状態を捉える発想に思い至った。

熱はすべての物質に担持され、物質の輸送に伴って輸送される。物質の輸送がなくても熱自体が伝熱により自ら散逸していくが、この輸送は媒質中に存在する原子・分子オーダの構造を反映して進行していく。散逸は熱力学第二法則に則って厳密に発生し、恒常性のようなものは存在しない。マクロ領域における伝熱現象の線型性は強固なものである。熱の輸送に伴う温度変化はあまねく自然界に存在することから、その変化量を許容範囲内にとどめることができれば、生命現象にとって対処しうる外的刺激とみなすことができる。発熱方法が可視光に頼らないものであれば、空間解像度として回折限界からも解放されうる。線型偏微分方程式の範囲内で考える伝熱現象には、上記した生命現象的特徴は全く含まれておらず、完全な死の世界に対する数理解析的表現とみなすことができる。この視座に立って現れる計測値上の偏差を、生命現象の兆候とみなす発想である。計測において最も高い感度を実現できるアプローチのひとつが零位法であるが、本法は生命現象に対する零位法となることを目指している。

以上の考察をもとに、本研究ではμm オーダ寸法の熱源から微量な熱を発生させた時の応答に対する精密な計測を通して、生物試料状態のモニタリングが可能となる新しいプローブ法の構築を目指す。Fig.1-2 に本研究が目指すプローブ法の概念図を示す。

はじめにプローブ法の駆動条件に関する設計指針と、センシング寸法に関する理解を得ることを目的として、古典的な熱伝導方程式が表現している範囲に限定した、界面近傍の熱伝導について検討する。測定対象の寸法を、細胞の標準的な寸法である直径 10[μm]程度と設定した場合に、熱源から広がった熱が試料寸法内に留まる条件を明らかにし、以降の章で検討するシステムの設計条件を定める。

次に実際に試作評価を行う矩形熱源を備えたプローブの解析モデルを構築する。均一媒質中に配置された無限長の矩形（帯）熱源の解析モデルは良く知られており[20]、熱物性計測法としての採用実績もある。しかしながら本研究ではプローブとなる熱源を小さくし、また熱源の片側が試料とは別の基板材料となる配置を取る事が目標であり、新たな解析モデルを持つことが望まれる。構築したモデルを利用して、プローブの測定動作について定量的に把握することを目的とする。

ここまでの予備的検討をもとにして、実際のプローブの試作及び性能評価を行う。既存の回路では実現が困難な、微小熱源の発熱を高速かつ精密に制御し、発熱による熱源の温度変化を精密に測定することができる、独自アーキテクチャの駆動・検出回路を実装する。微細加工技術を応用して、様々な熱源寸法のセンサ・チップを作製、駆動・検出回路と組み合わせることでプローブとする。プローブ法の性能評価を目的として、熱物性値が既知の流体試料を測定した際に得られる出力値を評価する。構築した解析モデルとの比較を行い、動作の検証を行う。

最後に培養細胞を測定対象とした検討を行う。センサ表面の生体適合性付与と電気的絶縁確保とを企図した被覆の実施と測定感度への影響を評価する。センサ上において接着性の細胞培養とその測定を実現し、本提案の適用可能性を実証することを目的とする。

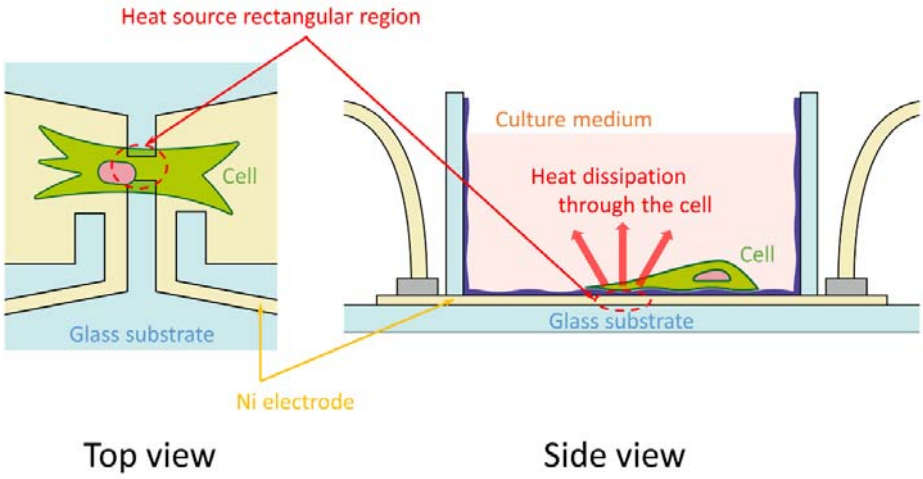


Fig.1-2　Conceptual diagram of the thesis.

１.３　　本論文の構成

本論文全体の流れを Fig.1-3 に示す。

第２章では、プローブと試料とが界面熱抵抗がない理想的な状態で平面を介して接触している状況において、界面近傍に存在する瞬間点熱源が作り出す温度場を表した解に基づいた検討を行う。具体的にプローブとして採用を検討している材料の物性値をもとに、プローブと試料とに挟み込まれた熱源から発生した熱が、時間に対してどの程度の深さにまで到達するかを確認し、プローブ法の駆動方式に対する設計指針を得る。

第３章では、プローブ構造を表現した解を導出し、プローブの具体的な動作について検討する。ガラス基板上に矩形熱源を形成し、その上に基板とは熱物性の異なる試料を配置した際の、試料の熱物性の違いと熱源の温度上昇との関係を明らかにする。また試料に対する加熱による劣化を抑制するために、観察時に投入した熱が散逸するために必要な待機時間を評価する。

第４章では第３章で検討したプローブの動作が実現できる駆動・検出回路を実現する。前章の検討の結果、類縁の計測法において採用実績の多いロックイン増幅器では十分な性能が発揮できないことが想定されたことから、独自の回路方式を採用し、その性能評価から着手する。異なる熱源寸法を持った、プローブのセンサとなるチップを試作し、その特性を評価する。解析モデルから予測される結果と対照することで、プローブとしての動作を検証する。

第５章では、本計測法の培養細胞の観察への応用を検討する。細胞がセンサ感応部上に存在することの検出、また感応部上に接着している細胞の状態変化が検出できるかについて検討する。

第６章で本論文の成果をまとめ、今後の展望について述べる。

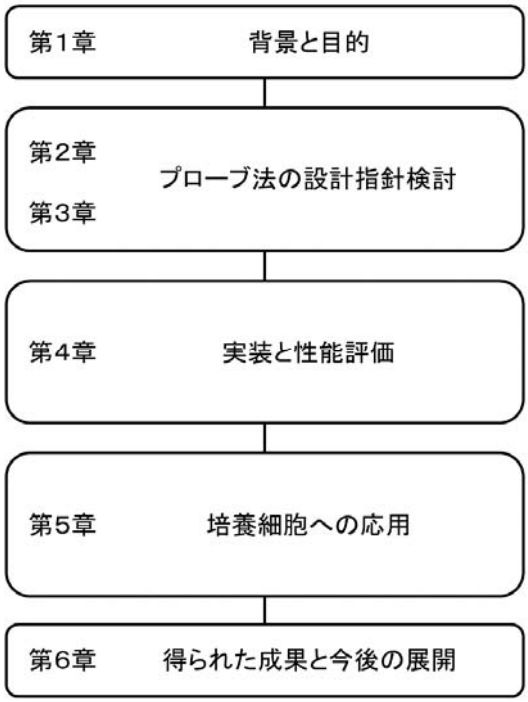


Fig.1-3　Flow of this thesis.

第２章　　古典的熱伝導方程式に基づいたプローブ駆動法に関する設計指針検討

２.１　本章の背景と目的

本研究で検討するプローブの基本的な動作は、熱源の形状を矩形に単純化したうえで熱の散逸を伝熱に限定してモデル化することによって、簡易的に把握することができる。プローブの基板材料と測定試料との二つの材料に挟まれた界面に、矩形状の熱源が配置されるモデルを考える。基板と試料とが熱的にみて熱源に対して十分大きい場合には、二つの半無限領域が平面を介して隣接していると近似することができる。

二つの隣接した半無限領域における拡散問題は古くから議論され、源泉が含まれない条件のものは今日では初等的な問題として多くの教科書で取り上げられている（たとえば[21-23]）。モデルに源泉を含めた場合は問題が複雑になるが、一次元については瞬間面熱源の問題として 1894 年に Sommerfeld によって報告された[24, 25]。三次元の問題は、中性子の Aging に関する問題を検討する中で 1949 年に Bellman、Marshak、Wing によって報告された[26]。導出当初から、同型の支配方程式である熱伝導問題に応用できることが指摘されていた。Bellman らによるモデルとその解を付録７．１に示す。以下、この解を B.M.W.解と呼ぶ。B.M.W.解は二つの隣接した半無限領域におけるグリーン関数に相当することから、これをもとにして様々な時空間形状を持った熱源に対する解を導出することができる。Bellman らによる報告後速やかに、この解の重要性が理解された所以と考える[27]。本研究が考えるモデルから見ても重要な基本解となる。

一方で当該論文の引用履歴からみると、B.M.W.解が幅広く利用されてきた実績があるようには見受けられない。筆者はその原因として以下のものを考えている。

１．導出前後の時期から、計算機による数値解析に関連する技術が飛躍的に発展した。個別具体的により複雑な問題まで対応できることから、B.M.W.解に頼る必要性が低くなった。
２．モデルの複雑さに起因して、解法及び解の表現式が複雑であることが嫌忌された。
３．伝熱に関する科学的議論の中心が、B.M.W.解が対象としている仮定の範囲（媒質の熱物性値が等方・均一・一定で、界面に熱抵抗がない）から離れていった。計算機を利用して、非等方・不均一・変動する物性値を持った材料に対する問題への取り組みや、界面熱抵抗自体を議論することに論点が置かれるようになった。
４．採用実績の低さが、さらに輪をかけて B.M.W.解の有効性を実証する機会を奪った。

２．については付録７．１から確認されるように、表現式から直接物理的な意味を読み解くことは容易ではなかった[28]。特に解の中に積分が含まれている点が、解釈を難しくしている。

３．については、解析解によるアプローチからも議論が進められていた[29]。一方で物性値をテンソル量として扱う必要性等から数式としての複雑さが増大してしまう。

４．については本来解析解が導出された場合、様々な面からその有効性を検証することが求められる。導出法の数学的妥当性からはじまり、得られた解の物理的妥当性を何らかの形で示すことが多い。たとえば具体的な数値を解に代入した時の解の例示、自明な結果となる特殊な条件における解の表現能力確認、別解との比較、実験結果に基づく検証、などがこれに相当する。B.M.W.解についてはそのような例がほとんど見当たらず、解を応用する際の課題となっていたと考えられる。

2001 年頃からの、Shendeleva による一連の拡散型方程式が支配する界面近傍における物理現象に関連する研究の中で、Bellman らの研究が再評価された[28, 30, 31]。Shendeleva の研究の動機は、光学的な手法により拡散媒質を測定するために用いるセンサの原理式導出であった。測定値から逆算して物性値を算出する必要性があるため、数値解のみならず解析解を持つことが望まれた。表現式の複雑さという問題に対して Shendeleva は、地震波・幾何光学・波動光学からの発想を援用した。界面において、熱などの拡散する実体があたかも反射・屈折しているようにとらえることができる、Wave diagram というある種の作図手法を提案した。この手法を利用することにより、Bellman らの解を初めて直観的に把握するための手掛かりが得られた。

しかし Shendeleva も指摘しているように、依然としてこの基本解の表現式は複雑なままであり、代数的なアプローチから物理的解釈が可能となったわけではない。また Wave diagram 自体は、温度分布を理解するために最も重要となる等温線を表しているわけではない。界面近傍での熱の拡散を定性的にとらえることはできても、正確に理解するためにはその都度の計算機による数値計算が必要であるという課題もあった。さらには幾何光学等の援用は、時間発展に関する解釈を欠落させてしまう。解表現の複雑さから数値計算を回避することは困難だが、基本解の表現している内容をより踏み込んで把握する方法が望まれる。

本研究においても Shendeleva と同様の動機として、得られたセンサ出力からどのように熱が散逸しているかを解析するために、モデルに対して数値解だけではなく解析解を持つことが望ましい。また観察対象である細胞などのμm オーダの生体試料ではこれまでに計測事例がほとんど報告されておらず、計算機シミュレーションに入力するモデルについて実験的な知見が不十分である。そこで本研究では、試料を極めて単純な古典的モデルに近似する立場を取る事とした。このような立場から今後数多くの実験データを積み上げていくことができれば、将来的には数値解析に供することができる情報を蓄積できることを期待している。本研究では以上のような立場に基づき、古典的な B.M.W.解に立ち戻ることでプローブの基本モデルを検討することとした。

本章では、具体的に以下の項目について検討を行う。

1．表現式から直接、B.M.W.解が表している内容を読み解く手段を提供する。
2．界面近傍における熱の分配に関わる B.M.W.解の核心的な表現内容を明確にする。
3．B.M.W.解の時間発展が備えている普遍的な性質を明らかにする。
4．B.M.W.解に具体的な数値を代入して例示することで、上記した内容や解自体の妥当性を確認する。

以上の結果をもとにして、本論文で検討するプローブの動作、具体的には基板と試料との界面に配置された熱源から発生した熱が、試料中に時間とともに広がっていく様子について評価を行う。B.M.W.解を用いた解析から、計測する時間が長くなると観察できる空間解像度が低下してしまう課題が確認される。これらの情報から、プローブ法の駆動・検出回路の設計指針を得ることを本章の目的とする。

２.２　B.M.W.解の構造と項別の特徴分析

付録７．１に示した B.M.W.解は、オリジナルの報告をもとに Carslaw と Jaeger によって熱伝導問題に整理し直されたものであり[27]、今日ではこの表現式が最も標準的なものと考えられる。本研究ではこの表現式を C.J.表現と呼ぶ。本節では C.J.表現に対して新たな表現式を提案する。これは C.J.表現と恒等なものであるが、項別の物理的意味合いを考慮しながら実施された、非自明な式変形作業によって得られたものである。式変形作業の指導原理は、以下の３点である。

１．解に含まれる指数関数や相補誤差関数の外部にある項が、x, y, zそれぞれの次元のどこに帰属するかを明確にする。
２．解に含まれるパラメータ変数uに明確な機能を付与したうえでそれを明示的に表す。
３．数学的・物理学的に不自然な項を解消する。

１．は、B.M.W.解の導出や C.J.表現への整理の過程で数学的には不要であった。物理的に重要な空間次元への洞察が行われなかった結果、表現式の可読性が低下していた。

２．は、パラメータ変数uの出自に関わる。パラメータ変数uは、B.M.W.解導出の過程において、ラプラス変換された関数の積を逆ラプラス変換する際に重畳積分として現れる。その結果、時間変数tに関わるものと直観的には受け止められるが、これだけでは物理的解釈に困難が発生していた。

３．は、C.J.表現において重視されていたと推察される、解表記の短さを犠牲にしてしまうデメリットがあるが、応用面では必須の視点である。

まず C.J.表現をいくつかの項の積に再配置する。副作用として解表記が長大なものになってしまう課題を補償するため、解をいくつかのブロックに分割し、その特徴を明記した関数名をつける。Fig. 2-1 に、採用した命名規則を整理する。

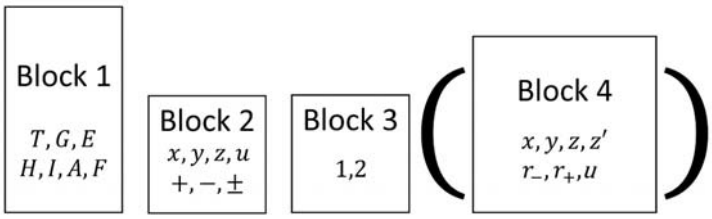


Fig. 2-1　Naming rules for the functions.

Block 1 : Characteristic of the function, one capital letter

T: Temperature, G: Gaussian, E: Complementary error function

H: Combination of Gaussian and Complementary error function

I: Integral, A: Coefficient, F: General

Block 2 : Optional letters for identification, subscript

Block 3 : Domain to be expressed, subscript number 1 or 2

Block 4 : Enumeration of arguments except for material properties

２.２.１　　解T_1及びT_2の概形

C.J.表現は以下のように書き直すことができる。

$$
\begin{aligned}
T_1(x,y,z,z',t) &= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}}(F_{\pm 1} + I_1) \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}}\left\{G_{-1} + G_{+1} + \int_0^1 G_x \times G_y \times F_{z1} du\right\} \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}}\left\{G_{-1} + G_{+1} + \int_0^1 G_x \times G_y \times (G_{z1} \times H_{z1}) du\right\} \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}}\left[G_{-1} + G_{+1} + \int_0^1 G_x \times G_y \times \left\{G_{z1} \times \left(A \times (G_{zu1} + E_{zu1})\right)\right\} du\right] \qquad (2-1)
\end{aligned}
$$

$$
\begin{aligned}
T_2(x,y,z,z',t) &= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} I_2 \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \int_0^1 G_x \times G_y \times F_{z2} du \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \int_0^1 G_x \times G_y \times (G_{z2} \times H_{z2}) du \\
&= \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \int_0^1 G_x \times G_y \times \left\{G_{z2} \times \left(A \times (G_{zu2} + E_{zu2})\right)\right\} du \qquad (2-2)
\end{aligned}
$$

解は定数係数部と、ガウス関数や積分を含む関数部との積の形になっている。定数係数部は、数学的な面を重視した文献では正規化して表現されることが多い。本論文では、後に領域の反転について議論するが、その際の混乱を避けるため、定数係数部も明記する方法をとる。式$(2-1)$最右辺の大括弧内の関数項を$-\infty < x, y < \infty$,$0 < z < \infty$の範囲で積分したものと、$(2-2)$式の積分項を$-\infty < x, y < \infty$,$-\infty < z < 0$の範囲で積分したものの和は常に 1 となることが要請される。当該モデルの仮定の下では温度変化を与える熱エネルギである顕熱が保存することに対応する。付録７．１で整理する様に、G_{-1}は導出時から自明の源泉項、G_{+1}は導出の過程で現れる源泉項の鏡像である。両者ともに、式中には領域 1 の物性値だけが含まれている。C.J.表現や今回提案する表現などに関わらず、B.M.W.解の解釈を難しくしているのはI_1, I_2である。

２.２.２　　領域１と２の両方の物性値で表現される項：I_1, I_2

界面$z=0$における温度は、I_1, I_2のみで記述される。

$$I_1(x,y,z,z',t) = \int_0^1 G_x \times G_y \times F_{z1} du \qquad (2-3)$$

$$I_2(x,y,z,z',t) = \int_0^1 G_x \times G_y \times F_{z2} du \qquad (2-4)$$

被積分関数は、x, y, zそれぞれの関数の積の形になっている。次元間の独立性は、パラメータ変数uに関する積分によって失われる。前述したように、この積分が閉形式に解消しないことがB.M.W.解を複雑なものとしている。以降ではこれら被積分関数の項別の性質を解析することにより、I_1, I_2の備えている物理的意味合いが明示できる表現式を導出する。

２.２.２.１　　xとy方向の分布を表現する項：G_x, G_y

G_x, G_yの項はそれぞれ、xとy方向の分布を表現している。

$$\begin{aligned} G_x(x,t,u) &= \frac{\beta}{\sqrt{4\pi\alpha_1 t(\beta^2 u + 1 - u)}} \exp\left\{-\frac{\beta^2}{4\alpha_1 t(\beta^2 u + 1 - u)} x^2\right\} \\ &= \frac{1}{\sqrt{4\pi\tilde{\alpha} t}} \exp\left(-\frac{x^2}{4\tilde{\alpha} t}\right) \quad , \qquad \tilde{\alpha}(u) = \alpha_1 u + \alpha_2(1-u) \end{aligned} \qquad (2-5)$$

G_yはG_xと同型なので省略する。指数関数の外部項と、指数関数内外におけるパラメータuの取りまとめ方に特徴がある。

本表現式における指数関数の外部項では、G_xとG_yとが正規化ガウス関数となるように変数が配分されている。これらの$-\infty < x, y < \infty$における積分は、変数u, βなどに関わらず常に１となる。これはx, y方向の熱拡散では、温度の空間方向の積分値が保存されることを表している。この方向に界面は存在しないので、物理的に妥当な内容である。$(2-3)$～$(2-5)$式より、x, y方向に関するパラメータ変数uによる積分は熱拡散率を走査しながらのガウス核の重ね合わせと解釈することができる。この積分を通して、G_xとG_yの中に含まれる唯一の物性値である熱拡散率がα_2からα_1に向かって走査される。$(2-5)$最右辺はこのことを明確に表現している。$(2-5)$式には、熱伝導率k_1, k_2が明示的には含まれていない点が特筆す

べき特徴である。

パラメータ変数uは、B.M.W.解導出途中で、時間変数tに関するラプラス変換後の二つの指数関数の積を、逆ラプラス変換した結果現れる。時間に関する重畳積分の積分範囲上限側を正規化したものである。単純に考えると時間に関連した操作に見えるが、この視点からは物理的な働きが見通しにくい。本表現式のように物性値と不可分に組み合わせることで、上記の機能が明確になる。$(2-5)$式を見ると自明と思える内容であるが、パラメータ変数uが物性値と常に共存する、という視点はオリジナルの論文や C.J.表現からは必ずしも自明でなく、これまでにそのような視点で議論されることはなかった。

２.２.２.２　　z方向の分布を表現する項：F_{z1}, F_{z2}

F_{z1}, F_{z2}の項はz方向の分布を表現している。この方向に界面が存在するモデルに基づくB.M.W.解の、界面における熱の分配に関連する本質的部分に入っていく。

$$F_{z1}(z, z', t, u) = G_{z1} \times H_{z1} \tag{2-6}$$

$$F_{z2}(z, z', t, u) = G_{z2} \times H_{z2} \tag{2-7}$$

F_{z1}, F_{z2}がG_{z1}とG_{z2}によって因数分解されている点が、本表現式の特徴である。この因数分解は、C.J.表現$(7-3)$及び$(7-5)$それぞれに含まれる二つの exp 項の前者の内部項が、物理的解釈困難であることを解消するための処理である。2.2.2.1 項で考察したパラメータ変数uの機能をそのままz方向にも適用することで、C.J.表現におけるこれら exp 項に関する特殊性が意識されることとなった。

2.2.2.2.1　　z方向の温度分布のうちガウス分布で表現できる成分項：G_{z1}, G_{z2}

G_{z1}, G_{z2}の項は、z方向の温度分布に内在する、ガウス分布で表現できる成分を表現している。ここでも、C.J.表現では議論されていなかった指数関数外部項への割り当てと、指数関数内外のパラメータuの取扱いに特徴がある。

$$G_{z1}(z,z',t,u) = \frac{\sigma}{\sqrt{4\pi\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}} \exp\left\{-\frac{\sigma^2 (z+z')^2}{4\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}\right\}$$
$$= \frac{1}{\sqrt{4\pi\widetilde{\omega} t}} \exp\left\{-\frac{(z+z')^2}{4\widetilde{\omega} t}\right\} \qquad (2-8)$$

$$G_{z2}(z,z',t,u) = \frac{\sigma}{\sqrt{4\pi\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}} \exp\left\{-\frac{\sigma^2 \left(\frac{k_1}{k_2} z + z'\right)^2}{4\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}\right\}$$
$$= \frac{1}{\sqrt{4\pi\widetilde{\omega} t}} \exp\left\{-\frac{\left(\frac{k_1}{k_2}\right)^2 \left(z + \frac{k_2}{k_1} z'\right)^2}{4\widetilde{\omega} t}\right\} \qquad (2-9)$$

$$\widetilde{\omega}(u) = \alpha_1 u + \alpha_2 \left(\frac{k_1}{k_2}\right)^2 (1-u) \qquad (2-10)$$

G_{z1}は、$z = -z'$に中心を持つ正規化ガウス関数となるように、指数関数の外部項が選択されている。$-\infty < z < \infty$の範囲における積分で、他のパラメータ如何に関わらず 1 となる。G_{z2}もまた、$z = -(k_1/k_2)z'$に中心を持つ正規化ガウス関数となるように指数関数外部項が選択されている。$-\infty < z < \infty$の範囲における積分で、他のパラメータに関わらずk_2/k_1となる。G_{z1}, G_{z2}におけるパラメータuの役割は、x, y方向の分布を表すG_x, G_yにおけるそれと同等で、物性値を走査していると解釈できる。$\widetilde{\omega}$と$\widetilde{\alpha}$との大きな違いは、前者では熱伝導率k_1, k_2が、熱拡散率α_1, α_2に内包されない形で明示的に表れる点である。熱伝導率の比は、G_{z1}ではパラメータuの積分範囲の$u = 0$側において、G_{z2}ではパラメータuの積分範囲の$u = 1$側において、より強く影響を与える。

界面において領域 1 と領域 2 とに熱が分配される当該モデルにおいて、G_{z1}, G_{z2}項のようにT_1, T_2それぞれの内部にz方向の何らかの保存量が現れることは興味深い。この点も C.J. 表現からは自明でなかった情報である。実際にはG_{z1}が解として採用されるのは$0 < z < \infty$の範囲、G_{z2}が解として採用されるのは$-\infty < z < 0$の範囲であること、またG_{z1}, G_{z2}は温度

の次元を持つ項に掛けられる無次元項であって、比熱の異なる二つの領域が存在するなかでの保存量であることに留意が必要である。

もうひとつG_{z1}, G_{z2}について重要な点は、次項で議論するように B.M.W.解が、領域 1 と 2 の物性値を一致させ、$z' \to 0$の極限を取る事で均一無限領域における瞬間点熱源解に収束することを暗示できていることである。この収束は、物理的に考えると B.M.W.解のモデルにとって自明なことであるから、B.M.W.解の妥当性検証のプロセスの中で本来真っ先に確認すべき点である。しかしながらこれまでにこの点が明記された文献は確認されていない。その理由と思われる点が以下で論じられる。

2.2.2.2.2　　z方向の温度分布について非ガウス分布的な調整を行う項：H_{z1}, H_{z2}

ここまでの再配置作業によって、B.M.W.解の解釈に関する困難はH_{z1}, H_{z2}に集約されている。

$$H_{z1}(z, z', t, u) = A \times (G_{zu1} + E_{zu1}) \tag{2-11}$$

$$H_{z2}(z, z', t, u) = A \times (G_{zu2} + E_{zu2}) \tag{2-12}$$

$$A(u) = \frac{1}{\sigma^2 u + 1 - u} \tag{2-13}$$

$$G_{zu1}(z, z', t, u) = \frac{\sigma^2(z + z')}{\sqrt{\pi\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}} \sqrt{\frac{u}{(1-u)}} \exp\left\{-\frac{(z + z')^2}{4\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)} \times \frac{(1-u)}{u}\right\} \tag{2-14}$$

$$G_{zu2}(z, z', t, u) = \frac{-\frac{k_1}{k_2} z(1-u) + \sigma^2 u z'}{\sqrt{\pi\alpha_1 t u(1-u)(\sigma^2 u + 1 - u)}} \exp\left[-\frac{\{(1-u)z' - \beta\sigma z u\}^2}{4\alpha_1 t u(1-u)(\sigma^2 u + 1 - u)}\right] \tag{2-15}$$

$$E_{zu1}(z, z', t, u) = \left\{1 - \frac{\sigma^2(z' + z)^2}{2\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}\right\} \mathrm{erfc}\left\{\frac{(z' + z)}{\sqrt{4\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}} \sqrt{\frac{(1-u)}{u}}\right\} \tag{2-16}$$

$$E_{zu2}(z, z', t, u) = \left\{1 - \frac{\sigma^2 \left(\frac{k_1}{k_2}\right)^2 \left(z + \frac{k_2}{k_1} z'\right)^2}{2\alpha_1 t(\sigma^2 u + 1 - u)}\right\} \mathrm{erfc}\left\{\frac{(1-u)z' - \beta\sigma z u}{\sqrt{4\alpha_1 t u(1-u)(\sigma^2 u + 1 - u)}}\right\} \tag{2-17}$$

$(2-14)(2-15)$式の指数関数の内部項は、それぞれ式$(2-16)(2-17)$の相補誤差関数の内部項の平方根となるように、F_{z1}, F_{z2}を因数分解するG_{z1}, G_{z2}が選択されている。$G_{zu1} + E_{zu1}$が、二重積分相補誤差関数$\mathrm{i^2erfc}$の、相補誤差関数と指数関数とによる組み合わせ表示と極

めて類似した形式になっている点に[32]、H_{z1}内部にガウス核の多重な重ね合わせが内包されていることが暗示されている。

H_{z1}, H_{z2}の詳細な解析に先立って、これらの関数が備えている特徴について確認する。B.M.W.解の特別な状態として、領域 1 と 2 の物性値が等しく、熱源位置を界面上においた極限$z' \to 0$を考える。以下の議論ではこの操作を「均質化」と呼び、均質化された解の関数はアスタリスクをつけて表現する。均質化された B.M.W.解は、原点に中心を置く均一無限固体中の瞬間点熱源解に収束することが求められることから、${F_{\pm 1}}^* + {I_1}^* = {I_2}^*$が要請される。ここで${F_{\pm 1}}^* \to 0$であるから、${I_1}^* = {I_2}^*$となる。ゆえに${F_{z1}}^* = {F_{z2}}^*$である。ここで${G_{z1}}^*, {G_{z2}}^*$はすでに原点に中心を置く正規化ガウス関数となっているので、$\int_0^1 {H_{z1}}^* du = \int_0^1 {H_{z2}}^* du = 1$でなければならない。

$$A^* = 1 \tag{2-18}$$

$${G_{zu1}}^*(z, 0, t, u) = \frac{z}{\sqrt{\pi \alpha_1 t}} \sqrt{\frac{u}{(1-u)}} \exp\left\{-\frac{z^2}{4\alpha_1 t} \times \frac{(1-u)}{u}\right\} \tag{2-19}$$

$${G_{zu2}}^*(z, 0, t, u) = \frac{-z}{\sqrt{\pi \alpha_1 t}} \sqrt{\frac{(1-u)}{u}} \exp\left\{-\frac{z^2}{4\alpha_1 t} \times \frac{u}{(1-u)}\right\} \tag{2-20}$$

$${E_{zu1}}^*(z, 0, t, u) = \left(1 - \frac{z^2}{2\alpha_1 t}\right) \mathrm{erfc}\left\{\frac{z}{\sqrt{4\alpha_1 t}} \sqrt{\frac{(1-u)}{u}}\right\} \tag{2-21}$$

$${E_{zu2}}^*(z, 0, t, u) = \left(1 - \frac{z^2}{2\alpha_1 t}\right) \mathrm{erfc}\left\{\frac{-z}{\sqrt{4\alpha_1 t}} \sqrt{\frac{u}{(1-u)}}\right\} \tag{2-22}$$

uに関する分子と分母の反転は、積分範囲の反転によって解消する。以上のことより、次式が成立すれば均質化からの要請は満たされる。

$$(1-2B^2)\int_0^1 \mathrm{erfc}\left\{-B\sqrt{\frac{(1-u)}{u}}\right\}du - B\sqrt{\frac{4}{\pi}}\int_0^1 \sqrt{\frac{u}{(1-u)}}\exp\left\{-B^2\frac{(1-u)}{u}\right\}du = 1,$$

$$B = \frac{z}{\sqrt{4\alpha_1 t}} \qquad (2-23)$$

$(2-23)$の第一式は、Bに様々な値を代入しても成立することを数値積分で容易に確認できる。しかし既存の指数関数や相補誤差関数に関連した公式のみから、このような恒等関係の存在を発見したり、代数的に証明したりすることは容易ではない[33, 34]。

注目すべきは、H_{z1}, H_{z2}のような項やパラメータuによる積分が、一次元の Sommerfeld 解には表れないという点である[25]。本章における検討のように空間次元別に項に分けて解析を進める中で、直観的にz方向に一次元界面近傍に配置された熱源解に相当する項が現れるものと期待していた。実際にはH_{z1}, H_{z2}を含んだI_1, I_2は、B.M.W.解のみに含まれる固有の項である。このことからI_1, I_2が、界面における熱の領域 1 ないし 2 への分配に関して、界面と垂直方向に関する熱拡散の影響を含めて表現している項であると理解することができる。Sommerfeld 解には、熱が界面をまたぐ、z方向のみに関する動的平衡状態が表現されていると解釈することができるが、B.M.W.解にはxやy方向に関する拡散を含めながらの動的平衡が表現されるはずであり、これはまさに B.M.W.解固有の表現内容である。なかでもH_{z1}, H_{z2}項がその中心を担っている。

均質化に対するここまでの検討結果から、H_{z1} ,H_{z2}が、F_{z1} ,F_{z2}に含まれているガウス分布的性質G_{z1} ,G_{z2}を調整する役割を担っていると解釈できる。またこの調整の必要性が、領域 1 と 2 との物性値の差から生み出されていると読み解くことができる。以降の分析は、H_{z1}に焦点を当てて進める。

G_{zu1}及びE_{zu1}の挙動を理解するために、極端な条件下での関数の形を数値計算した結果をFig. 2-2 に示す。新しいパラメータΨを導入することで、G_{zu1}及びE_{zu1}はその形状が二つのパラメータΨとσとで決定される、uの関数であると見なすことができる。

$$G_{zu1}(z,z',t,u) = G_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = \frac{2\sigma^2\Psi}{\sqrt{\pi(\sigma^2u+1-u)}}\sqrt{\frac{u}{(1-u)}}\exp\left\{-\frac{\Psi^2}{(\sigma^2u+1-u)}\times\frac{(1-u)}{u}\right\} \quad (2-24)$$

$$E_{zu1}(z,z',t,u) = E_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = \left\{1-\frac{2\sigma^2\Psi^2}{(\sigma^2u+1-u)}\right\}\mathrm{erfc}\left\{\frac{\Psi}{\sqrt{(\sigma^2u+1-u)}}\sqrt{\frac{(1-u)}{u}}\right\} \quad (2-25)$$

$$\Psi = \frac{z+z'}{\sqrt{4\alpha_1 t}} > 0 \quad (2-26)$$

$$\lim_{u\to 0} G_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = \lim_{u\to 0} E_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = 0 \quad (2-27)$$

$$\lim_{u\to 1} G_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = \infty \ , \lim_{u\to 1} E_{zu1}(\Psi,\sigma,u) = (1-2\sigma^2\Psi^2) \quad (2-28)$$

式$(2-24)$と Fig. 2-2 とから、G_{zu1}は非負の、uに関する単調増加関数であることが確認できる。それに対してE_{zu1}は、Ψとσとの値次第で正負どちらの値も取りうる関数で、増加／減少関数のどちらにもなり得る。

式$(2-5)$と$(2-10)$の解析において指摘したように、uに関する積分は熱拡散率などの物性値を走査しながらガウス核の重ね合わせを実行する役割を担っている。積分領域の$u=0$側近傍の領域ではα_2が支配的であり、$u=1$側近傍の領域ではα_1が支配的となる。このことを考慮するとG_{zu1}は、「α_1側を調整する項」とみなすことができ、E_{zu1}は「α_2側を調整する項」とみなすことができる。Ψが小さな値をとるということは、注目している領域が界面に近いか加熱開始後長時間が立ったことを意味する。Fig. 2-2 によると、この場合E_{zu1}は$u\approx 0$から$u=1$の範囲で 1 になる。Ψが大きな値をとるということは、注目している領域が界面から遠いか加熱開始直後であることを意味する。この場合G_{zu1}とE_{zu1}とは$u=1$近傍のみで非ゼロの値を取る。σが小さな値をとるときは、G_{zu1}は$u=1$近傍以外でゼロとなり、E_{zu1}だけがH_{z1}を決定する。σが大きな値をとるときは、G_{zu1}はつねにH_{z1}に影響を与える。

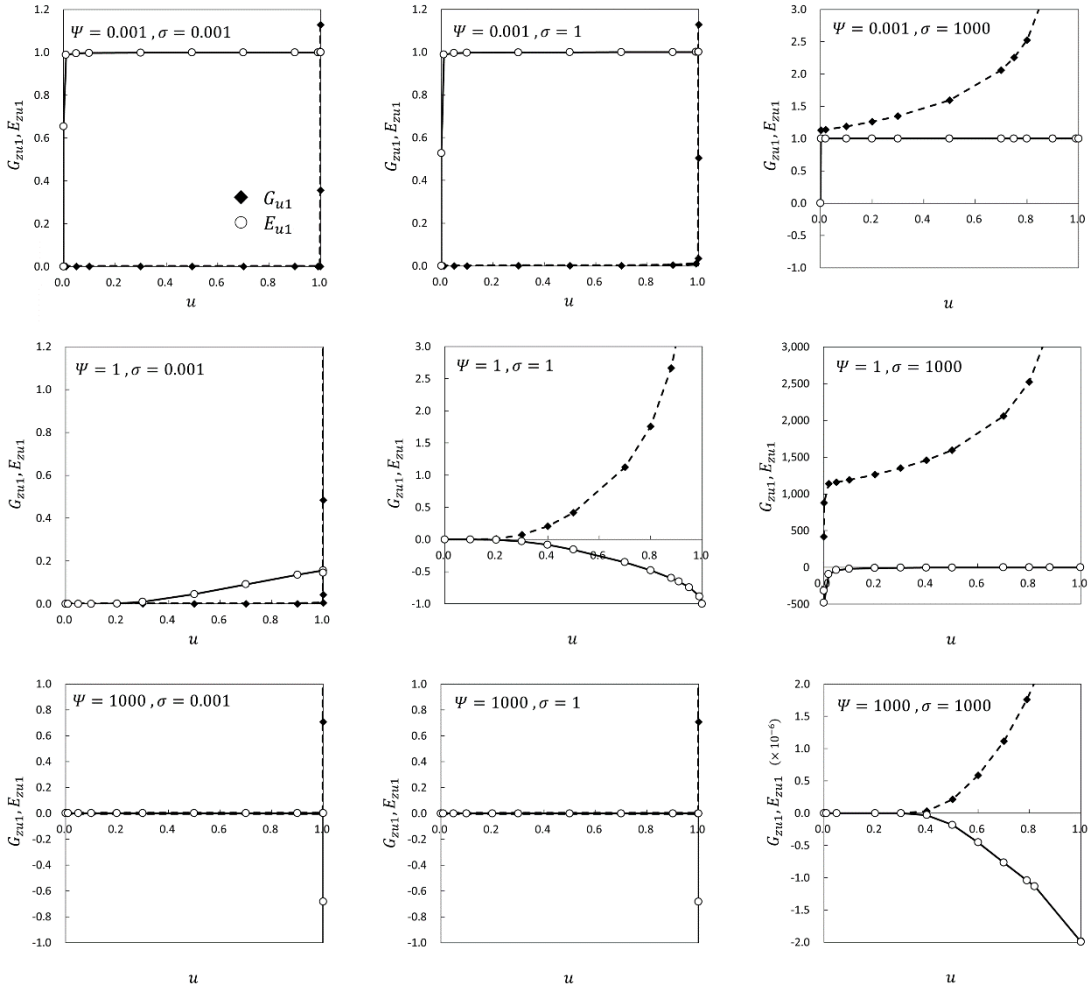
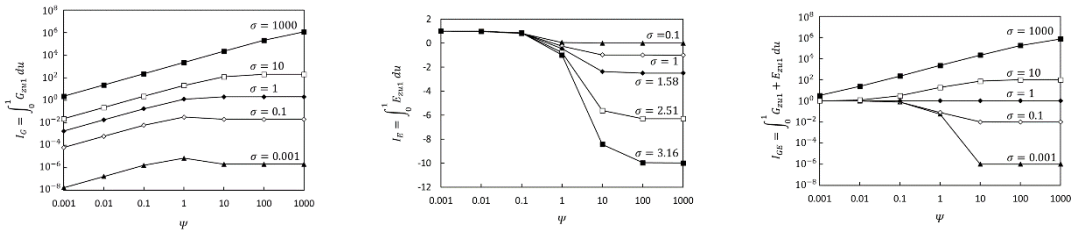


Fig. 2-2 Form of the functions $G_{zu1}(u)$ and $E_{zu1}(u)$ in extreme conditions.

G_{zu1}、E_{zu1}と、これらの和を積分した$I_G = \int_0^1 G_{zu1} du$, $I_E = \int_0^1 E_{zu1} du$,$I_{GE=} \int_0^1 (G_{zu1} + E_{zu1}) du$のそれぞれを Fig. 2-3 に示す。$I_G$が正値を保持するのに対して、$I_E$は負の値を取る事ができる。$I_{GE}$は正値を保持し、その結果$T_1 > 0$が満たされる。

$$\lim_{\Psi \to 0} I_G = 0 \ , \lim_{\Psi \to 0} I_E = 1 \qquad (2-29)$$

$$\lim_{\Psi \to \infty} I_G = 2\sigma^2 \ , \lim_{\Psi \to \infty} I_E = -\sigma^2 \qquad (2-30)$$



(a) (b) (c)

Fig. 2-3 Form of the integral of $G_{zu1}(u)$, $E_{zu1}(u)$ and their summation.

式$(2-29)$によると、Ψが小さな値を取っている時、I_{GE}は主としてI_{E}によって決定されている。I_{E}の被積分関数であるE_{zu1}は$0 < u < 1$の範囲で比較的大きな値の変化がなく、I_{E}自体は 1 に収束する傾向がある。式$(2-30)$によると、I_{GE}はΨが大きな値を取っている時、すなわち界面から遠く離れた場所、あるいは加熱直後、σ^2に収束する。I_{GE}はσの値次第で、Ψが大きな値を取る時に幅広い正の値を取りうるが、これは最終的には$A(u)$との積がとられる。$A(u)$は$u = 1$において$1/\sigma^2$である。I_{GE}の被積分関数$G_{zu1} + E_{zu1}$は、Ψが大きな値を取っている時、$u = 1$近傍でのみ非ゼロになる。その結果、$I_{GE} \times A(u)$は相殺され、その値は 1 以内におさまる。

２.２.２における議論を通して、T_1の解を構成しているI_1項の持っている意味合いが明らかになった。さらにはT_1に対して対称性をもったT_2の表記を得ることができた。

2.2.3　物性パラメータβとσの役割

βは熱拡散率の比の平方根であり、領域２への温度場の広がりやすさの指標と考えることができる。βが大きな値をとるということは、領域１よりも領域２の方が温度の高い領域が広がりやすいことを意味する。

σは領域１と領域２の熱浸透率の比と等しい。このパラメータは、領域１から領域２に向かっての熱の奪われやすさを表現していると考えることができる。σが大きな値をとるということは、伝導的か蓄積的かに関わらず、領域２が領域１から熱を奪いやすいことを意味している。そのため、T_1は迅速に減衰する。

２.３　B.M.W.解の時間発展の幾何学的性質

無限均一領域に対する基本解は、x, y, zそれぞれの方向に関して等方的である。三次元解の時間発展を二次元平面に写像しても、重大な情報の欠落はない。この平面上で、同心円状等温線の発生、拡大、消失を可視化することができる。この基本解は自己相似的なので、座標軸のスケール変換を通して時間非依存の幾何形状に集約することができる[35, 36]。この性質は、熱物性や投入した熱量などの違いの結果現れる温度分布の違いを比較する際に便利な特徴である。

領域が分割されていることによって、B.M.W.解は一般的には球対称性を備えない。また自己相似性を備えていないため、解を時間非依存の形状に写像することができない。本節では、前節で解析した結果を応用して、B.M.W 解の時間発展が備えている幾何学的な性質を議論する。

初めに、$F_{\pm 1}$の項と、被積分関数$G_x \times G_y \times G_{z1}$,$G_x \times G_y \times G_{z2}$に着目する。指数関数の外部項には空間変数が存在せず、時間変数tの次数は-3/2 で共通している。そのため、これらの項は$t^{3/2}$を掛けることによって時間非依存の形にスケール変換することができる。指数関数の内部項では、$t^{-1/2}$がxとyの両方にそれぞれ掛かっている。そのため、これらの軸方向に関しては$t^{-1/2}$を掛けることで時間非依存の形にスケール変換することができる。z方向に関しては、$F_{z1} = G_{z1} \times H_{z1}$,$F_{z2} = G_{z2} \times H_{z2}$の項と、$G_{-1}$と$G_{+1}$の中の$z$に関連する部分は複雑で、スケール変換することは難しい。

領域 1 については、G_{-1}とG_{+1}とでは異なるz関連の項$(z - z')$と$(z + z')$とにそれぞれ$t^{-1/2}$が掛けられている。これがz方向の一括でのスケール変換を困難にしている理由である。

F_{z1}では、すべてのz関連の項は$(z + z')$と$t^{-1/2}$とが積の形をとっている。しかし、式$(2-29)(2-30)$と Fig. 2-3(c)とから、I_{GE}は$\Psi \to 0$と$\Psi \to \infty$とで異なる値に収束する性質があることが分かっている。$z, z' > 0$の条件から、$\Psi = (z + z')/\sqrt{4\alpha_1 t}$は最小値$\Psi_{\min} = z'/4\alpha_1 t$を持ち、これは時間変数$t$の増加とともに Fig. 2-3(c)を右から左に移動する。その結果、I_{GE}自体はその関数の形としてはスケール変換可能ではあるのだが、Ψの値域が時間とともに変化するために、時間非依存にはならない。

これら二つの点が、領域 1 の解を時間非依存な形にスケール変換することを阻んでいる。

領域 2 の解に対しては、解から直接自己相似性を抽出することは容易ではない。そこで以下では間接的な解析を行う。領域 2 の支配方程式付録 7 . 1 の(7−1)式の第二式自体は、次式で表されるように任意の$\mu > 0$に対して相似性がある。

$$\mu^3 T_2(\mu x, \mu y, \mu z, \mu^2 t) = T_2(x, y, z, t) \qquad (2-31)$$

そのため、$z = 0$の境界条件に相似性があれば、T_2に対しても相似性が期待できる。これ

は、$\lim_{z\searrow 0} T_1 = \lim_{z\nearrow 0} T_2$に、$(2-31)$と同等の相似性があれば満足される。すなわち、$T_1$に自己相似性が実現されれば、同時に$T_2$にも自己相似性が実現される。

以上の考察に基づいた結果、B.M.W.解は三つのステージに分割できる。

2.3.1　ステージⅠ：ガウス核近似が可能な期間　$0 < t < t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}$

領域１の温度に対するG_{+1}の影響は$t \to 0$においてゼロに収束し、tの増加とともにその影響が大きくなる。最大$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}$の時刻まで$G_{+1}$の影響は無視することが可能であり、これは領域２の物性を無視できることを意味する。

この時間領域においてはT_1は$q/(\rho_1 C_{p1}) \times G_{-1}$と近似することができるので、$(z-z')$に対して時間非依存のスケール変換が可能となる。物理的解釈としては、ほとんどのすべての熱が熱源近傍に留まっており、領域２に到達していないと考えられる。$T_2 \approx 0$であり、スケール変換に影響を与えない。

$0 < t < t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}$の時間領域のことを、ステージⅠ（ガウス核近似が可能な期間）と呼び、これに引き続く期間はステージⅡ（遷移期間）と呼ぶ。ステージⅠとⅡの間の時間のしきい値$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}$は、次のように表現することができる。

$$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}} = \frac{z'^2}{4\alpha_1 \ln\left(\varepsilon_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}{}^{-1}\right)} \qquad (2-32)$$

$0 < \varepsilon_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}} < 1$は原点$(0,0,0)$における温度の、熱源位置$(0,0,z')$における温度に対する比であり、その値は例えば 0.0001 といった値が採用される。

ここで温度T_1と熱源からの距離r_-から、スケール変換された新しい変数を導入する。

$$\Theta_1 = t^{\frac{3}{2}} \times T_1 \qquad (2-33)$$

$$L = t^{-\frac{1}{2}} \times r_- \qquad (2-34)$$

これらの新しい変数を採用して、$z/\sqrt{t} - r/\sqrt{t}$面上へΘ_1を写像したものを Fig. 2-4 に示す。

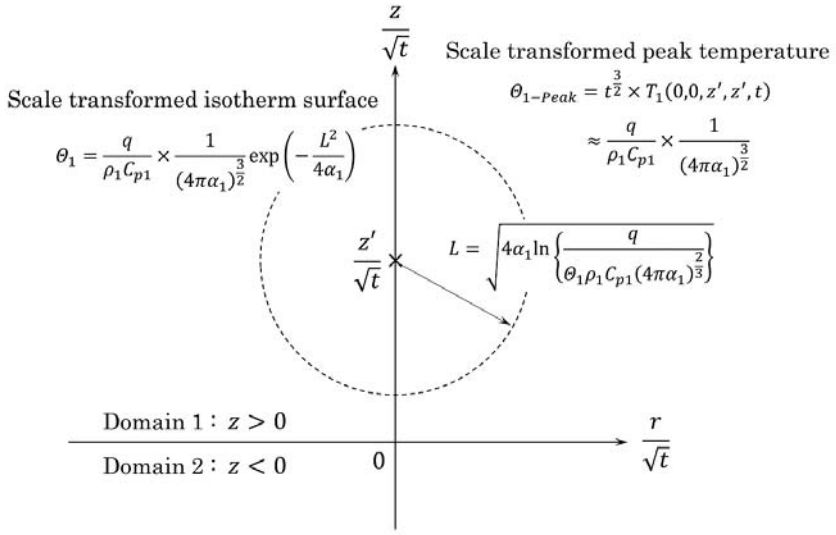


Fig. 2-4　Scale transformed isotherm surface in Stage I.

熱源位置の温度と点線で示された円上の温度との比は一定であり、次のように記述できる。

$$\varepsilon = \frac{\Theta_1}{\Theta_{1-Peak}} = \exp\left(-\frac{L^2}{4\alpha_1}\right) \qquad (2-35)$$

Fig. 2-4 の座標系では、点線で示された図形は時間非依存である。

2.3.2　ステージII：遷移期間　$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}} < t < t_{\mathrm{II}\to\mathrm{III}}$

このステージでは、領域 1 の物性値だけで決定されていた温度分布から、新しく領域 2 の物性値を反映した温度分布に遷移していく。この期間に対しては時間非依存のスケール変換を行うことは難しく、時間発展は動的にとらえる必要がある。

2.3.3　ステージⅢ：z′の影響が消滅する期間　$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{III}} < t$

時間の進行とともにz'の影響は相対的に小さくなり、再び時間非依存のスケール変換が可能となる。その臨界時間$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{III}}$は二つの因子によって決定される。

2.3.3.1　領域１の物性値だけで決定される臨界時間　$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}}$

ステージⅠにおいては、G_{-1}がT_1を支配している。これに引き続くステージでは、G_{-1}, G_{+1}, I_1が寄与を果たす。ここで二つの項の和$F_{\pm 1} = G_{-1} + G_{+1}$に関して、領域１全体での積分をとる。

$$I_{F_{\pm 1}} = \int_{-\infty}^{\infty} dx \int_{-\infty}^{\infty} dy \int_{0}^{\infty} (G_{-1} + G_{+1}) dz$$

$$= \frac{1}{\sqrt{4\pi\alpha_1 t}} \int_{0}^{\infty} \exp\left\{-\frac{(z-z')^2}{4\alpha_1 t}\right\} - \exp\left\{-\frac{(z+z')^2}{4\alpha_1 t}\right\} dz = \mathrm{erf}\left(\frac{z'}{\sqrt{4\alpha_1 t}}\right) \qquad (2-36)$$

$$\lim_{t\to\infty} I_{F_{\pm 1}} = 0 \qquad (2-37)$$

G_{-1}とG_{+1}とは相殺され、T_1はI_1によって支配される。このような手続きにより、$(z-z')$の項と$(z+z')$の項とが混在していることに起因した問題が解消される。

以下の近似を適用することにより、

$$\mathrm{erf}\left(\frac{z'}{\sqrt{4\alpha_1 t}}\right) \approx \frac{z'}{\sqrt{\pi\alpha_1 t}} \ , \left|\frac{z'}{\sqrt{4\alpha_1 t}}\right| \ \text{is sufficiently small} \qquad (2-38)$$

第一の臨界時間に関する表現が得られる。

$$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}} = \frac{z'^2}{\pi\alpha_1 (\varepsilon_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}})^2} \qquad (2-39)$$

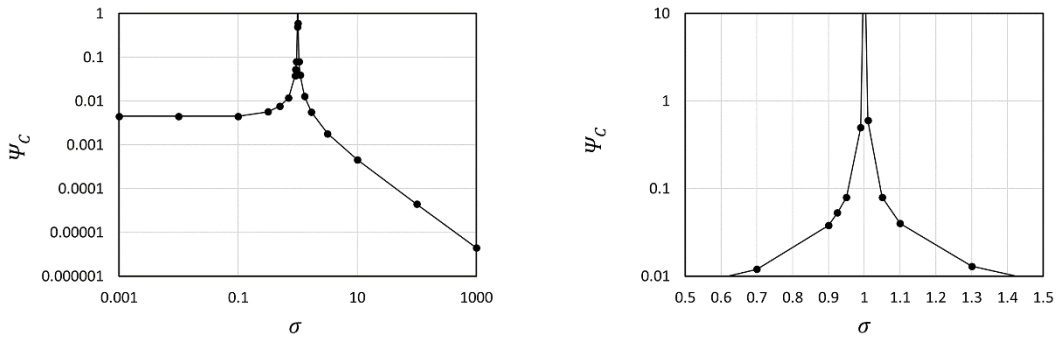
$0 < \varepsilon_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}} < 1$は$I_{F_{\pm 1}}$がゼロに収束したと見なすことができる判定基準であり、その値は

例えば 0.001 といったものが採用される。

2.3.3.2 領域 1 と 2 との両方の物性値から決定される臨界時間 $t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}$

$z=0$におけるI_{GE}は Fig. 2-3(c)において、時間発展とともに右から左に移動する。I_{GE}は$\Psi\to 0$の極限において 1 に収束するが、これは解におけるz'の影響が消失することを意味する。収束後、zと$(z-z')$との差を無視することによって、時間非依存のスケール変換が可能となる。

I_{GE}の収束は、Fig. 2-3(c)で見られるように、σの値に応じて異なる臨界値$\Psi=\Psi_{\mathrm{c}}$において達成される。σとΨ_{c}との間の関係を Fig. 2-5 に示す。収束の判定基準は$1-\varepsilon_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}<I_{\mathrm{GEth}}<1+\varepsilon_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}$に設定されている。Fig. 2-5 で使用されている$\varepsilon_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}$の値は 0.01 である。Fig. 2-5(a)で確認できるように、Ψ_{c}はσが小さい領域においてはσに対して独立で、一定値を取る。大きなσの値の領域においては、Ψ_{c}はσの増加とともに減少する。Fig. 2-5(b)から、Ψ_{c}は$\sigma=1$において特異点を取る事が分かる。これは、領域 1 と 2 の物性値がバランスした時$(\sigma=1)$に、領域 2 の物性値からくるz'の影響は消滅することを意味している。



（a）$0.001 \leq \sigma \leq 1000$　　（b）$0.5 \leq \sigma \leq 1.5$

Fig. 2-5　Lower critical value of Ψ for convergence of I_{GE}.

ここで二つ目の臨界時間に対して以下の表現が得られる。

$$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}} = \frac{z'^2}{4\alpha_1 {\Psi_C}^2} \qquad (2-40)$$

実際の臨界時間は$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}}$と$t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}$との大きい方の値となる。

2.3.4　スケール変換した形式における B.M.W.解の図示例

ここまでの議論によって、本章の目的としてあげた四つの項目のうちはじめの三つが実現した。本項では、B.M.W.解の時間発展について事例を示すことで、ここまで確認してきた内容の妥当性を確認する。また B.M.W.解が、熱源位置が界面近傍に漸近した場合においても安定であるかどうかは重要な性質であるが、これまでに確認された報告がなかった。そこで本項では、二つの領域の物性値が極端に異なる場合において熱源位置が界面をまたいだ際の、解の安定性を確認することとした。

本項では時間発展のなかでポイントとなる時刻のみを抜き出して表示する。グラフ中ではrを水平軸に、zを垂直軸に取っている。表示は、解が自己相似性を獲得したことが分かりやすくなるように、時間発展とともに座標軸を調整している。この表示で、温度分布の形状が不変になることは、自己相似性を実現したことを意味する。

具体的には、空間軸の描画範囲は$\sqrt{t}$倍することによって経過時間とともに変更されている。カラーコンター軸として$\log_{10} T$が取られている。その範囲は$(2/3)\log_{10}(t_{\mathrm{now}}/t_{\mathrm{before}})$倍

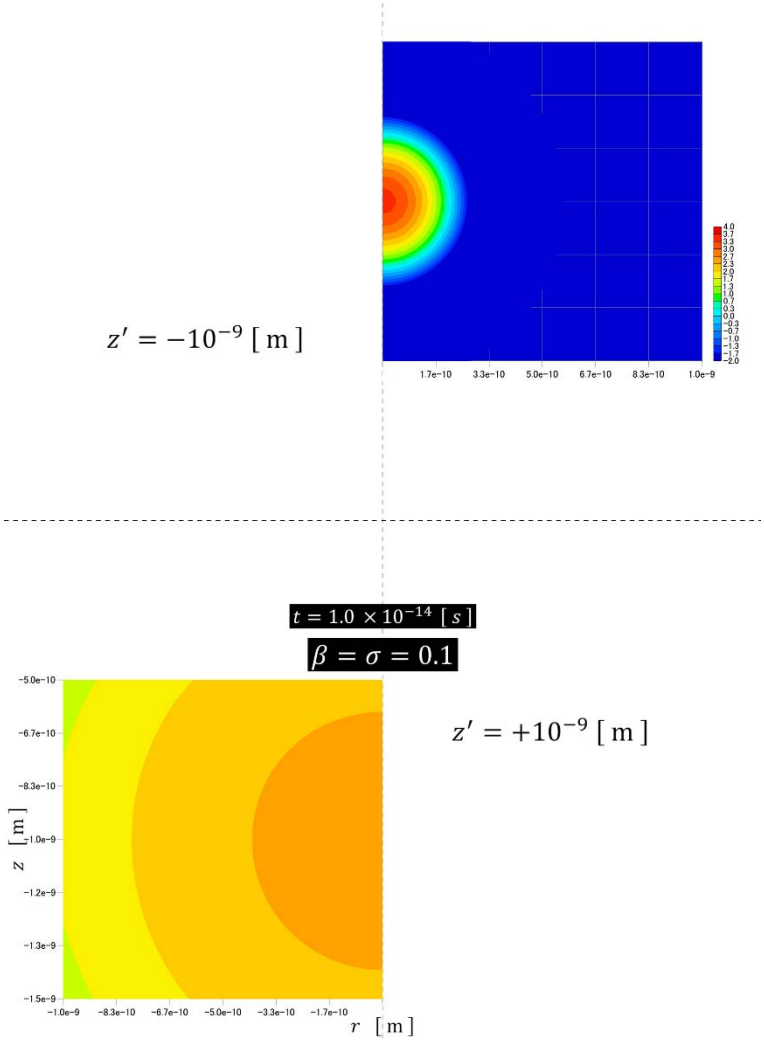
することによって経過時間とともに変更されている。ここでt_{now}は、熱が投入されてから、描画されているタイム・フレームまでの経過時間、t_{before}はその直前のタイム・フレームまでの経過時間である。共通の条件として、領域 1 の物性値は 27.5℃の純水の値に設定され、投入熱量は3.0×10^{-20} [J]としている。

本項における数値計算では、$\mathrm{z}' = 1 \times 10^{-9}$[m]と$\mathrm{t} = 1 \times 10^{-14}$[s]とを最小値として採用している。一方で本研究の第 4 章以降において実際に実装するプローブにおける最小寸法（熱源膜厚）は 1×10^{-8}[m]、装置の時間応答性能は、利得帯域幅積で 65[MHz]、セトリング・タイムで 8.5×10^{-8}[s]、加熱時間を決定する水晶発振器の Accumulated jitter で1×10^{-12}[s]のオーダである。空間・時間共に、特に時間方向において、本研究で実際に検出できる現象は、より時間が進行した領域であることが分かる。

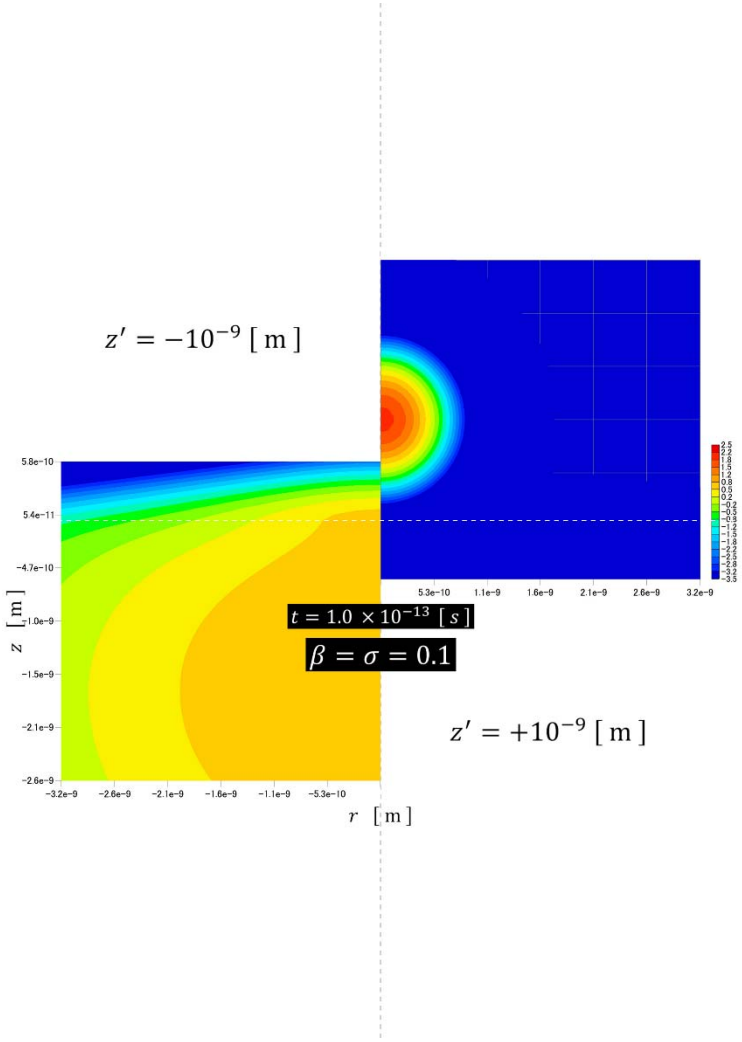
B.M.W.解は線型熱伝導方程式の解なので、原子オーダの寸法や時間領域においては実際の物理現象を正しく表現できてはおらず、近似解としての性質が強くなると考えられる。一方放物型偏微分方程式は平滑化作用という顕著な性質を持っており[37]、高い周波数成分の情報は急速に消失してしまう。本研究で用いているアプローチは、理論・実験の両面に関して原子オーダのミクロ現象について議論できる視点を持たず、個々の原子や分子に関する情報が消失した極限として収束した状態に限定したものである。逆に本章で議論した内容は数式上、空間や時間の具体的な数字とは関係なく成立する。マクロ現象とみなすことができる範囲内においては、熱抵抗の問題をのぞけば現象を良く記述できるものと考える。

なお B.M.W.解に含まれている無次元パラメータuによる積分は、積分領域の両端において特異点を取る。計算には、これに対応できる二重指数関数型数値積分を採用している[38]。

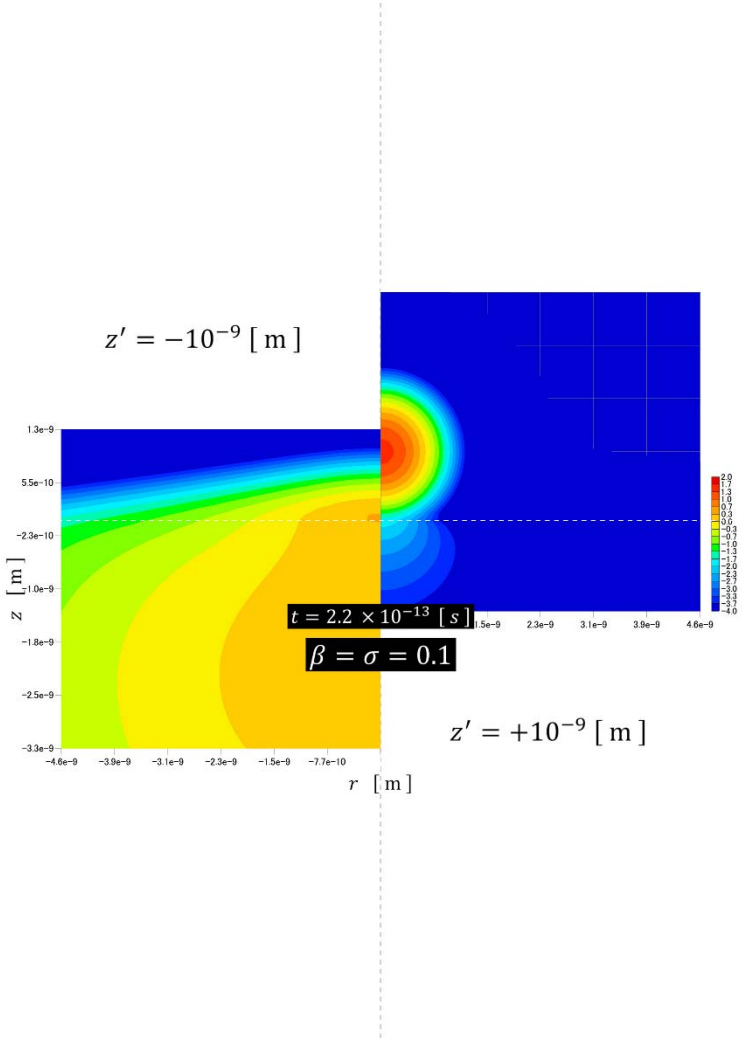
Fig. 2-6 は極端な条件下($\beta = \sigma = 0.1$)において、熱源位置が界面をまたいだ場合の解の安定性を例示している。グラフの右半分は熱源位置が$z' = +1.0 \times 10^{-9}$[m]の場合の温度分布の時間発展、左半分は熱源位置が$z' = -1.0 \times 10^{-9}$[m]の場合を示している。仮定より、B.M.W.解はz'に対して負の値を許さない。そこで Fig. 2-6 の左側のデータは、領域 1 と 2 の物性値をそれぞれ反転させることで、z'を正値に保って計算を行った。計算後、z軸を反転して描画した。熱投入直後の両領域の温度分布は、物性値の違いを反映して全く異なったものである。しかし1.0×10^{-8}[s]後には、温度分布はほとんど同一のものに収束する。



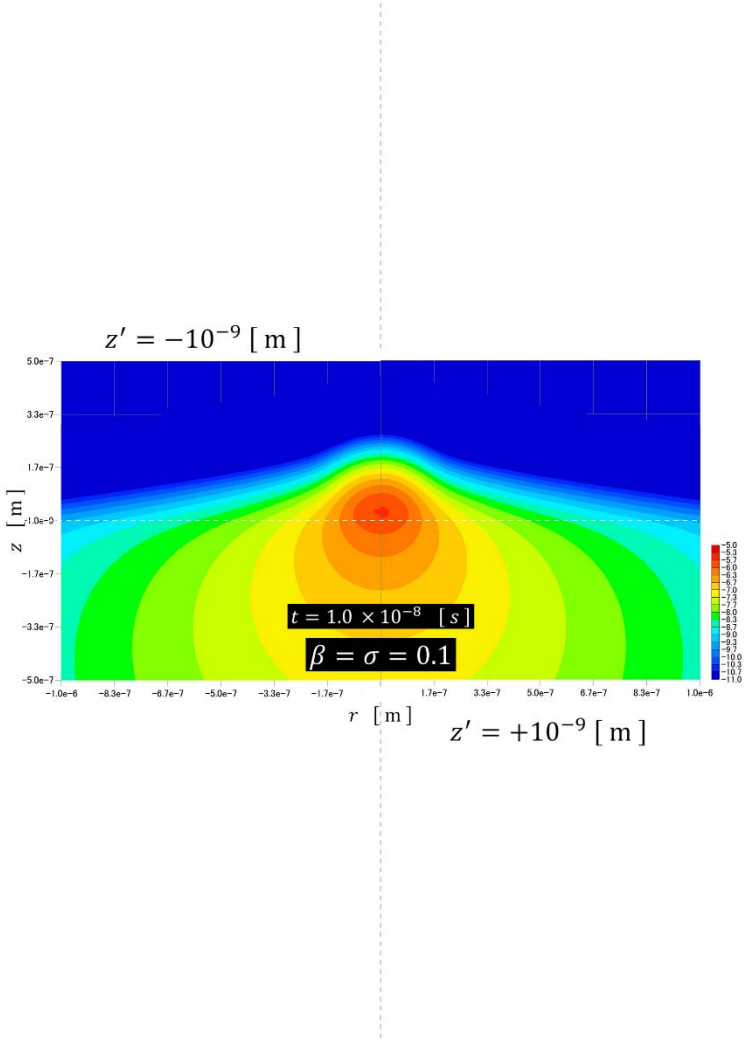
(a) Left : Stage II, Right : Stage I



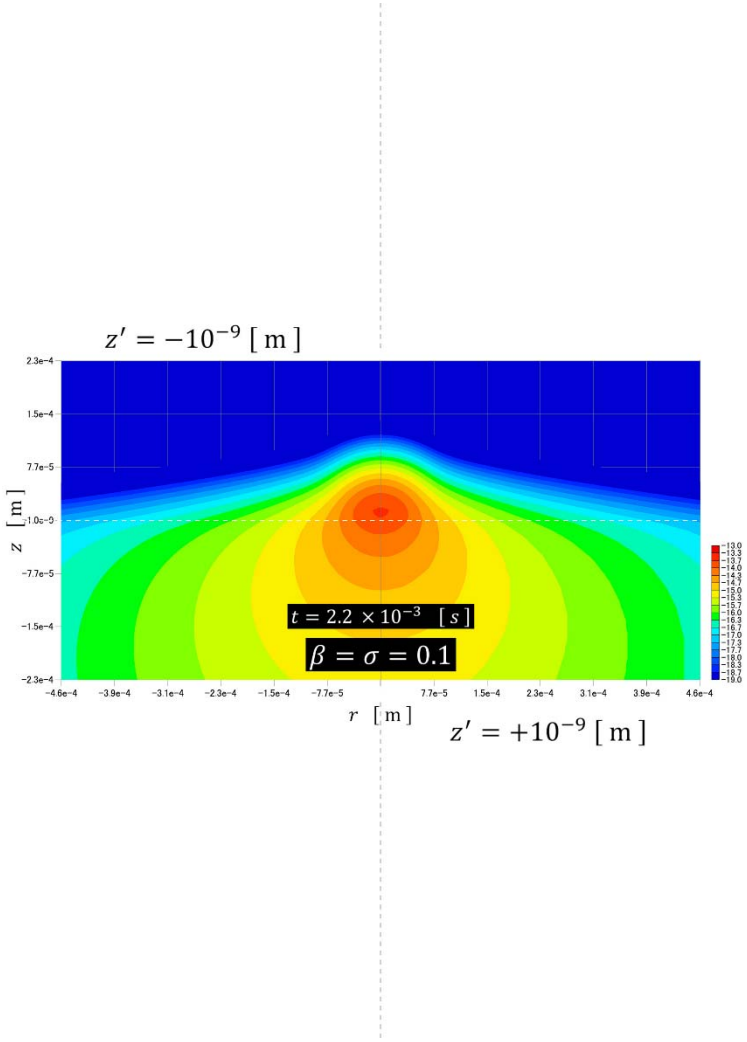
(b) Left : Stage II, Right : Stage I



(c) Left : Stage II, Right : Stage II



(d) Left : Stage III, Right : Stage III



(e) Left : Stage III, Right : Stage III

Fig. 2-6 Stability of B.M.W. solution with the heat source position stepping across the interface in extreme condition.

Thermal properties of Domain 1 are equal to those of water at 27.5 ℃.

Thermal properties of Domain 2 are equal to those of $\beta = \sigma = 0.1$.

On the left half of this figure, the source is placed in Domain 2. ($z' = -10^{-9}$[m])

On the right half of this figure, the source is placed in Domain 1. ($z' = +10^{-9}$[m])

2.4　プローブと試料の界面に配置された熱源から発生した熱の広がり

点熱源から発生した熱が形成する温度分布の広がりは、本研究において検討するプローブ法が、熱源からどの程度の距離までの試料の状態変化を検出できるかの目安を与える。加熱からの経過時間が延びればそれだけ熱は広い範囲に拡散することから、より広い範囲の試料物性を反映すると考えられる。加熱・検出時間は、本法の空間解像度を定める重要な指標であり、以降で検討する駆動・検出回路の設計指針となる。

前節までの検討により、マクロ現象仮説に基づく古典的な伝熱解で検討する範囲においては、熱源が界面上に配置されて$z' = 0$となればステージの遷移は発生しないことが確認された。そのため解には自己相似性が成立し、特定の経過時間に対する温度分布を計算すれば、あとは空間軸と温度軸とをスケール変換することで、任意の経過時間に対する温度分布を把握することができる。Fig.2-7 に、基板材料を純水およびガラス、測定試料を純水に設定した際の、界面上に配置された点熱源に対する B.M.W.解を示す。なお本章と次章において数値計算の際に使用した物性値については、付録の Table 7-1 に整理する。

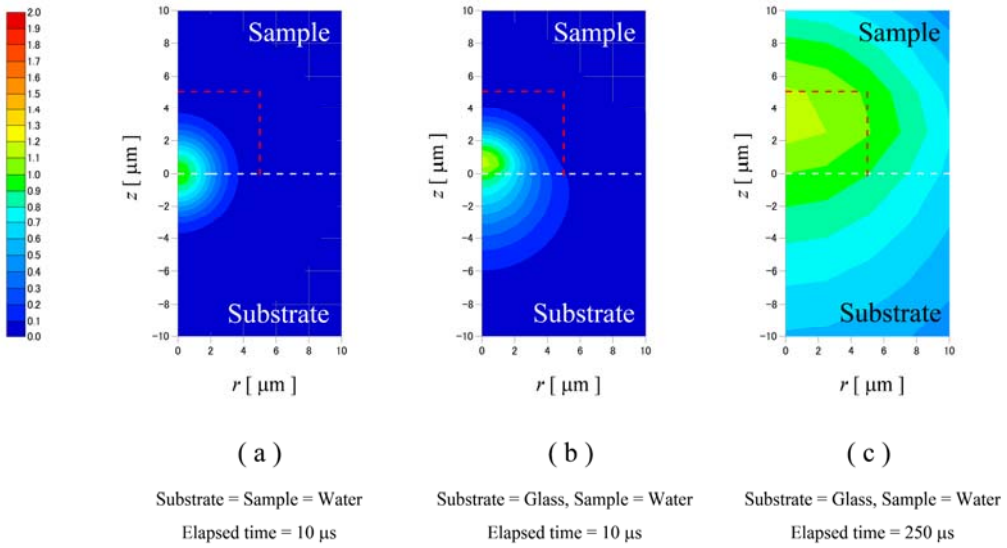


Fig.2-7　Comparison of the temperature distribution from the point source on the interface between glass substrate and pure water as a sample.

Fig.2-7 には、横軸に熱源からの水平方向の距離r、縦軸に界面位置を中心として上が試料、下が基板となるように垂直方向の距離zを示している。図中には白の破線で界面位置、目標となる試料寸法である直径 10[μm]に対する目安として熱源を中心として水平方向に半径 5[μm]、垂直方向に 5[μm]を示す位置を赤の破線で示している。熱源位置の温度によって正

規化し、20 分割したカラーコンターの中心が 1.0 となるように設定している。カラーコンターの目盛ひとつが、熱源位置温度の 10%に相当する。

(a)は基板・試料ともに純水であり、熱を発生させてから 10[μs]が経過した時点での分布を示している。これは均一媒質中の点熱源解を表したガウス核と同等の結果となっている。熱源位置温度に対して 10%にまで低減する位置は、水平・垂直方向共に 3.7[μm]である。

(b)は基板がガラス、試料に純水を設定した場合における、熱を発生させてから 10[μs]が経過した時点での分布を示している。二つの領域の熱物性の違いを反映して、温度分布の球対称性が失われている。この場合基板の方が体積当たりの比熱が小さく、熱伝導率が大きい事から、(a)と比較して熱源位置近傍の温度は相対的に上昇し、温度分布は基板内により広く広がった形となっている。10%低減位置は、水平方向が 5.1[μm]、垂直方向が 4.1[μm]と見積もられた。10[μs]の加熱時間であれば、投入した熱の大半は想定している試料の内部に留まっていると判断できる。

(c)には、(b)と同一の基板・試料条件のもと、250[μs] の経過時間における温度分布を示している。類縁の測定法である、周期加熱を用いた計測法で通常用いられる周波数域の上限に近い周波数 2[kHz]に対応した時間[39]である。周期の半分の時間を採用している。大半の熱が対象とする領域の外部にまで広がっていることが確認できる。10%低減位置は、水平方向が 25.6 [μm]、垂直方向が 20.5 [μm]と見積もられた。

以上の検討により、ガラス基板上に配置された水に近い熱物性を有した直径 10[μm]の寸法の試料を、界面上の熱源からの熱の拡散現象を利用して観察する場合、加熱・検出する時間は 10[μs]からそれ以下の時間に制限されることが好ましいと考えられる。

2.5　本章のまとめ

本章では、目標とするプローブ法の設計指針を得ることを目的として、基板と試料の界面近傍に配置された熱源からの熱拡散の性質について、古典的な線型熱伝導方程式の範囲に限定して検討を行った。

2.1では、平面を介して隣接した二つの領域の界面近傍に配置された瞬間点熱源が形成する温度分布を表現した一次元と三次元との二つの解を参照し、特に Bellman らによって導出された三次元解（B.M.W.解）に関する問題点を指摘した。本研究で検討するプローブをモデル化した解析解を構築するために用いることができる基本解となりうる反面、従来研究において解の持つ性質について十分には検討がされていない点について指摘した。

Bellman らによって導出され、Carslaw らによって整理された解表現は、代数的なコンパクトさを重視した反面、物理的な解釈が困難な形式となっていた。そこで2.2において物理的妥当性を指導原理として、解表現の再整理を行った。x, y, z三つの空間次元それぞれの現象を考慮した解表現を得ることに成功した。またそれぞれの項が担っている物理的表現を読み解くことができた。特に、Bellman らによる解導出の過程において、代数的な数式処理の中で登場したパラメータ変数uと、これによる積分の果たす役割を、「物性値を走査しながらの重畳」と見立てることができたことがポイントである。

2.2の解析を通して、興味深い恒等式$(2-23)$を見出した。これは均質化操作に伴う${H_{z1}}^{*}=1$という要請から導かれる恒等式である。数値解析的には有効数字限界の範囲まで$(2-23)$が成立することは検証できているが、既知の指数関数及び相補誤差関数に関わる公式から代数的に導出する方法は見いだせていない[33, 34]。B.M.W.解の導出から均質化操作までの流れは、本恒等式の最も簡単な証明法に思われるが、各項を級数展開するなどの方法でより直線的な証明も可能であろう。この等式の表している物理的意味と合わせて、本章の成果に関連する今後の検討課題である。

2.3では、前項で得られた表現をもとにして、B.M.W.解の時間発展において$t_{\mathrm{I}\to\mathrm{II}}, t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIA}}, t_{\mathrm{II}\to\mathrm{IIIB}}$の三つの臨界時間が存在することを示した。これらの臨界時間で区切られるステージI及びステージIIIにおいては、B.M.W.解は近似的に自己相似性を獲得することから、時空間軸をスケール変換することによって、解の幾何形状を静的にとらえることが可能となる。臨界時間の具体的な表現から分かるように、$z'=0$において臨界時間は消失する。すなわち、熱源がちょうど界面上に配置されると、B.M.W.解はすべての時間領域において自己相似性を獲得することを意味する。

2.4では、実際に採用を予定している基板材料と、測定対象に近いと思われる材料の熱物性を前提として、界面上に配置された熱源からの熱の広がりについて定量的な評価を行った。試料寸法として直径 10[μm]を想定した場合、加熱及び温度変化を計測する時間は10[μs]以内に抑制される必要があることが確認された。次章で検討するように熱源自体の寸法を小さく作製することも重要であるが、加熱・計測時間が長くなってしまうと、熱源寸法

を小さく作った効果が相殺されてしまい、空間解像度が低下してしまう。本研究で検討するプローブ法の駆動・検出回路の設計指針となる。

第３章　　高速熱応答マイクロプローブ法の伝熱モデル構築

3.1　本章の背景と目的

微分方程式の基本解は、その方程式が表す系が共通して備えている性質を凝縮した形式で表現している。一方で実際の現象を表現するためには、基本解を起点として、対象とする問題に応じた具体的な解を求める必要がある。

伝熱問題では、基本解あるいはグリーン関数と呼ばれる数学的手法が整備される以前より、様々な初期・境界条件の問題が取り扱われてきた。その中でも試料の熱物性を計測するような応用では、測定された時間－温度関係から熱物性値を算出する目的のために、様々な条件に対応した解析解が求められた。熱源の幾何形状、加熱あるいは冷却することによる熱の出入りの時間変化などを表現した解の導出やその利用が検討されてきた[20, 40-45]。付録7.2に、主な熱源幾何形状に対応して導出された解析解とその性質についてまとめた。中でも非定常法の一種である細線加熱法（Transient Hot-Wire、THW 法）と呼ばれる手法では、連続線熱源解とその性質が、線状の熱源を用いた熱伝導率計測法の測定原理として利用されている。これらの応用として、純粋な線熱源モデルの実験的実施に加えて、検出部の配置などに様々な工夫を適用することで、熱伝導率の絶対値を良好な不確かさで計測する方法が提案されている[46]。

一方でプローブ法などと呼ばれるアプローチでは、測定部の構造を簡潔なものに維持しながら、高い再現性で試料の熱物性情報を簡単に検出する方法が提案されている[39]。これらの手法では、試料の寸法や性状など様々な要因から、理想的な不確かさで計測できる手法を適用することが困難なアプリケーションへの対応が企図されており、製品の品質管理の現場などで幅広く応用されている（たとえば[39, 47-49]）。このようなアプリケーションにおいても、解析解を用いて測定された時間－温度関係から物性値への解析が行われている。本研究においても同様の目的で、具体的なプローブの解析モデルを持つことが望まれる。

本研究では試料が微小なサイズである点が第一の特徴であり、無限長の熱源長さをモデル化した THW 法の適用は原理的に望ましくない。類似の目的で取り組まれた従来研究では、微細加工の技術を駆使して熱源となる構造体を両端で保持した Free-standing の状態とし、解析解を導出・利用している例がある（たとえば[50, 51]）。これらのアプローチでは、熱源の全周を測定試料で満たすことができることから、解析解が導出しやすい点と、相対的に感度を高くできる点に特徴がある。一方で Free-standing 構造の脆弱性や加工コストに配慮が必要である。また熱源全周に試料を配置する必要があることから、試料に高い流動性が求められる。

本研究では主に流動性のない試料を計測可能とすることを目的として、Free-standing 構造ではなく、熱源を囲む半分の空間が試料、残りの半分がセンサ基板となる、片側測定構造の採用を検討している。同様の構造の下で検討した従来研究としては[43, 44, 52, 53]などが挙げられるが、これらにおいては一次元のモデルを中心として取り組まれている。一次元モデルでは2.1で指摘した Sommerfeld の解を利用することが可能となり、解析が簡便とな

る利点がある。一方で一次元とみなすことができる実験条件を構築するには、熱源を面方向に広くとったうえで、観察する時間－温度関係を加熱最初期に限定する必要がある。このことは試料の微細化にとって不利に働く。さらに Sommerfeld 解においては、熱伝導率と比熱との情報を独立に抽出できないという課題もある。

本章では前章で検討した結果を応用して、微小で流動性のない試料の高速熱応答モニタリングに必要なモデルである、プローブ基板と試料の界面上に配置された矩形熱源の時間－温度特性を表した近似解を導出する。導出された解を利用して、プローブの動作原理、具体的には測定試料の熱物性が変化した際に予測されるセンサ出力について検討する。次章で実装する駆動・検出回路の、目標となる仕様を明らかにする。さらには本研究が対象とするアプリケーションで重要となる、測定中の試料温度上昇抑制を実現するための指針を与えることを目的として、投入した熱の散逸特性について議論する。

3.2　プローブ法の解析モデル

プローブの基板と試料との間に配置された矩形形状をした金属薄膜電極を熱源と考えると、これは隣接半無限領域界面上に配置された連続矩形熱源の平均温度という形にモデル化できる。本節ではこの解の導出を検討する。

3.2.1　界面上に配置された連続矩形熱源の平均温度に対する近似解の導出

Fig. 3-1 に我々が対象とする問題のモデルを示す。

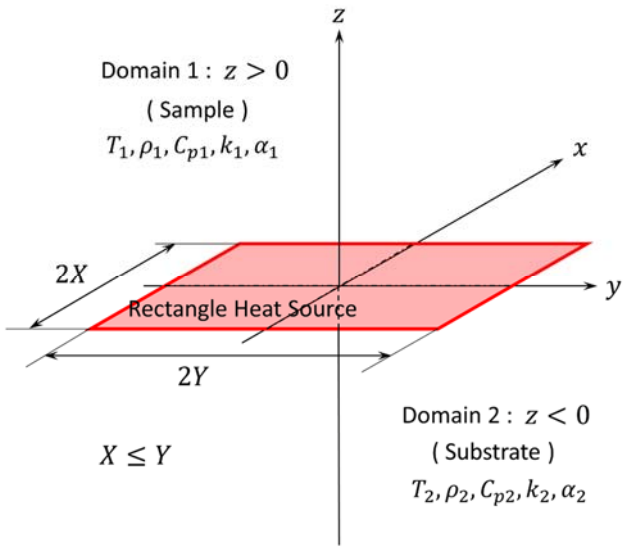


Fig. 3-1　Model for the rectangle heat source on the interface of two semi-infinite domains.

短辺の長さが$2X$、長辺の長さが$2Y$の矩形連続熱源上の平均温度について検討する。この種の問題は、瞬間点熱源解を時空間的に積分することで得られる。本節で対象とする問題の場合、前章で詳細な分析を行った B.M.W.解を時空間的に積分することになる。類似の検討は竹越らによって取り組まれた報告があるが[54]、無限大の熱源長さで、熱源の中心位置の温度のみを捉えたものであった。

熱源は界面上にあり、興味があるのは熱源上の温度だけなので、B.M.W.解は以下のように簡略化される。

$$T_p(x,y,t) = \lim_{z,z'\searrow 0} T_1(x,y,z,z',t) = \lim_{z,z'\nearrow 0} T_2(x,y,z,z',t)$$

$$= \frac{q_{(0,0)}}{\rho_1 C_{p1}} \times \frac{\sigma\beta^2}{8(\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}} \int_0^1 \frac{\exp\left\{-\frac{\beta^2 R^2}{4(\beta^2 u + 1 - u)}\right\}}{(\beta^2 u + 1 - u)(\sigma^2 u + 1 - u)^{\frac{3}{2}}} du \qquad (3-1)$$

ここでT_pは、界面上に配置された点熱源が作り出す、界面上の温度分布を表現している。矩形連続熱源上の平均温度算出は、以下の積分を実行することで実現できる。

$$\overline{T_r}(t) = \frac{1}{4XY} \int_{-Y}^{Y} dy \int_{-X}^{X} dx \int_0^t dt' \int_{-Y}^{Y} dy' \int_{-X}^{X} dx' \, T_p(x-x', y-y', t-t') \qquad (3-2)$$

ただし熱源の厚さZ_tはゼロと仮定している。$(3-1)$における熱量$q_{(0,0)}$ [J]は、$(3-2)$においては単位時間・単位面積当たりの熱量$q_{(2,1)}$ [J/(m^2・s)]となる。式$(3-1)$と、これを時空間変数で積分した$(3-2)$には、パラメータ変数uが含まれることから、複雑な形になっている。しかしこれらの被積分関数は積分可能なことから、Fubini の定理により積分順序が交換できる。そのためuに関する積分を最後に残すことで、$(3-2)$の積分は以下の簡略化された問題を解くことに集約される。

$$I(t) = \int_0^t dt' \int_{-Y}^{Y} dy \int_{-X}^{X} dx \int_{-Y}^{Y} dy' \int_{-X}^{X} dx' \frac{1}{\{4\pi\alpha_1(t-t')\}^{\frac{3}{2}}} \exp\left[-\frac{\{(x-x')^2 + (y-y')^2\}}{4\alpha_1(t-t')}\right] \qquad (3-3)$$

x, x'とy, y'とに関する積分は、別々に処理することができる。

$$I(t) = \int_0^t dt' \frac{1}{\sqrt{4\alpha_1\pi(t-t')}} \times \left[\frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} \exp\left\{-\frac{X^2}{\alpha_1(t-t')}\right\} - \frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} + 2X\,\mathrm{erf}\left(\frac{X}{\sqrt{\alpha_1(t-t')}}\right)\right]$$
$$\times \left[\frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} \exp\left\{-\frac{Y^2}{\alpha_1(t-t')}\right\} - \frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} + 2Y\,\mathrm{erf}\left(\frac{Y}{\sqrt{\alpha_1(t-t')}}\right)\right] \qquad (3-4)$$

$(3-4)$の被積分関数に含まれる$\exp \times \mathrm{erf}$と$\mathrm{erf} \times \mathrm{erf}$の項は、閉形式の形に積分を解消することができない。

付録７.２.２で整理した従来法である THW 法において採用されている連続線熱源解では、$0 \leftarrow Z_t = \mathrm{X} \ll Y \to \infty$を仮定している[40]。$Z_t, X \to 0$の仮定は$x, x', z$の積分回避を実現し、

$Y \to \infty$の仮定はyとy'の積分を 1 に収束させる。これらの仮定により、THW 法では温度過渡応答から成功裏に熱伝導率を抽出している。

付録７.２.４で整理した従来法である THS 法において採用されている連続帯熱源解では$0 \leftarrow Z_t \ll \mathrm{X} \ll Y \to \infty$と仮定し、$x$と$x'$の有限範囲での積分が実行される。この仮定により、THS 法では熱伝導率と熱拡散率を独立に抽出することに成功している。さらには非ゼロの$2X$によって、x方向の平均化効果が生じる。この特徴は THS 法を非流体試料に対して適用した時の優位性となる。

微細加工技術の発展はZ_tに対して、物理限界に近い$\approx 1 \times 10^{-10}$ [m]での実施を可能とした。我々が目標とする試料寸法を$\phi 10$ [μm] $= 1 \times 10^{-5}$ [m]とすると、$Y \to \infty$の仮定は取り除く必要があり、$(3-4)$式の積分は実行されなければならない。

ここで$(3-4)$式の最右項に注目する。

$$\frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}}\exp\left\{-\frac{Y^2}{\alpha_1(t-t')}\right\}-\frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}}+2Y\,\mathrm{erf}\left(\frac{Y}{\sqrt{\alpha_1(t-t')}}\right)$$

$$= 2Y\left[\frac{1}{\sqrt{\pi}\Phi}\{\exp(-\Phi^2)-1\}+\mathrm{erf}(\Phi)\right] = 2Y \times F_Y(\Phi)\ ,$$

$$\Phi = \frac{Y}{\sqrt{\alpha_1(t-t')}} \qquad (3-5)$$

F_Yを$F_{approx.}$に近似することを考える。異なるΦの範囲に適用可能な様々な$F_{approx.}$の、F_Yに対する相対誤差を Fig. 3-2 に示す。

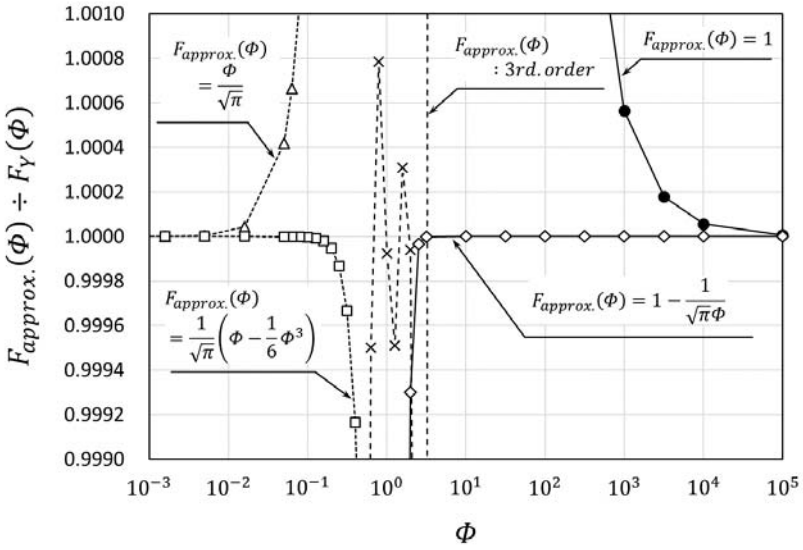


Fig. 3-2　Comparison of the relative approximation error with various approximation functions.

$F_{approx.} = 1$は、THW 法や THS 法における$Y \to \infty$の仮定と同意である。$F_{approx.} = 1 - 1/(\Phi\sqrt{\pi})$を取る事により、近似の適用範囲を$Y$に関して 10^{-4} から 10^{-3} 倍縮小できることが確認できる。

非定常法と呼ばれる熱物性計測法では、式$(3-5)$におけるのΦような、空間変数・時間変数・熱拡散率で構築された無次元パラメータが重要な役割を果たす。より小さな試料を測定したい場合、熱源寸法の縮小、すなわち空間変数の縮小が必要となる。一方で加熱時間は熱源からの熱の拡散距離を決定する。時間変数が空間変数とともに縮小されない場合、熱源を中心として広範囲に温度場が形成されてしまう。この広範囲に広がった温度場は大きな空間範囲の熱物性値に影響されることから、熱源寸法を縮小した効果は相殺されてしまう。

次章で議論するが、測温抵抗素子を用いた非定常法では、1[μV]あるいは 1[ppm]オーダの精密測定が求められる。一般に検出回路においては、帯域制限を行わない限り、精密性と高速性との両立は困難である。1[ppm]オーダの精度を達成するには、10^{7}[Hz]あるいは 10^{-7}[s]程度の領域に、現実的な限界がある。無限領域の物性値が水と同等であると仮定し($\alpha = 1.47 \times 10^{-7}$ [m^2/s])、加熱時間を$\Delta t = 1 \times 10^{-7}$[s]、$F_{approx.} = 1$ ($\Phi_{\min} \approx 1 \times 10^{4}$)を採用すると、$Y$の最小値は$Y_{\min} \approx 1.2 \times 10^{-3}$[m]となる。一方で$F_{approx.} = 1 - 1/(\Phi\sqrt{\pi})$, ($\Phi_{\min} \approx 3 \times 10^{0}$)を採用すると、$Y_{\min} \approx 3.0 \times 10^{-7}$[m]となり、これは我々の目標に対応できる。

$F_{approx.} = 1 - 1/(\Phi\sqrt{\pi})$の近似を用いることで、$(3-4)$式の積分に対して閉形式表現が得られる。

$$
\begin{aligned}
I(t) &\approx I_{approx.}(t) \\
&= \int_0^t dt' \frac{1}{\sqrt{4\alpha_1 \pi (t-t')}} \\
&\quad \times \left[\frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} \exp\left\{ -\frac{X^2}{\alpha_1(t-t')} \right\} - \frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} + 2X \operatorname{erf}\left(\frac{X}{\sqrt{\alpha_1(t-t')}} \right) \right] \times \left\{ 2Y - \frac{\sqrt{4\alpha_1(t-t')}}{\sqrt{\pi}} \right\} \\
&= 2Y \times \frac{2X^2}{\alpha_1\sqrt{\pi}} \left[\frac{\sqrt{\alpha_1 t}}{X} \left\{ 1 - \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left(\frac{X^2}{\sqrt{\alpha_1 t}} + \frac{3\sqrt{\alpha_1 t}}{2} \right) \right\} \operatorname{erf}\left(\frac{X}{\sqrt{\alpha_1 t}} \right) + \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left\{ X + \frac{(\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\pi}\, X^2} \right\} \right. \\
&\quad \left. - \frac{\alpha_1 t}{X^2\sqrt{4\pi}} - \left\{ \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left\{ \frac{\sqrt{\alpha_1 t}}{\sqrt{\pi}} + \frac{(\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\pi}X^2} \right\} - \frac{\alpha_1 t}{X^2\sqrt{4\pi}} \right\} \exp\left(-\frac{X^2}{\alpha_1 t} \right) - \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \operatorname{Ei}\left(-\frac{X^2}{\alpha_1 t} \right) \right] \qquad (3-6)
\end{aligned}
$$

$(3-6)$式を$(3-2)$式に適用することで、我々のモデルに対する解を得る。

$$
\begin{aligned}
\overline{T_r}(t) &= \frac{q_{(2,1)}}{\rho_1 C_{p1}} \times \int_0^1 du \frac{X}{\sqrt{\alpha_1 \tilde{\alpha}} \times \sqrt{\pi}} \times \frac{\sigma}{(\sigma^2 u + 1 - u)^{\frac{3}{2}}} \times f_r \\
f_r &= \frac{\sqrt{\tilde{\alpha} t}}{X} \left\{ 1 - \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left(\frac{X^2}{\sqrt{\tilde{\alpha} t}} + \frac{3\sqrt{\tilde{\alpha} t}}{2} \right) \right\} \operatorname{erf}\left(\frac{X}{\sqrt{\tilde{\alpha} t}} \right) + \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left\{ X + \frac{(\tilde{\alpha} t)^{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\pi}X^2} \right\} - \frac{\tilde{\alpha} t}{2\sqrt{\pi}X^2} \\
&\quad - \left\{ \frac{1}{3\sqrt{\pi}Y} \left(\frac{\sqrt{\tilde{\alpha} t}}{\sqrt{\pi}} + \frac{(\tilde{\alpha} t)^{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\pi}X^2} \right) - \frac{\tilde{\alpha} t}{\sqrt{4\pi}X^2} \right\} \exp\left(-\frac{X^2}{\tilde{\alpha} t} \right) - \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \operatorname{Ei}\left(-\frac{X^2}{\tilde{\alpha} t} \right) \qquad (3-7)
\end{aligned}
$$

$(3-7)$式と、付録７.２.４で整理した THS 法の解$\overline{T_s}(t)$である$(7-18)$式とを比較することで、THS 法における議論を踏襲できる。

まず基本的な点として、$Y \to \infty$の極限において$I_{approx.}(t)/(2Y)$が THS 法の解に収束することは容易に確認できる。

$(3-7)$式のf_rは$(7-18)$式のf_sと同様に無次元関数であり、すべての時間変数がここに集約されている。$Y \to \infty$の極限を取っているf_sとは異なり、f_rにはYが含まれている。$\tilde{\alpha}$はf_rに含まれている唯一の物性値であり、この点もf_sに含まれる唯一の物性値がαであることと一致している。前章で議論したように、$\tilde{\alpha}$は無次元パラメータuによる積分を通して、α_2からα_1に向かって線型に走査される物性値パラメータという意味を持っている。このように、f_rもまた時間－温度曲線の形状を決定し、熱拡散率が唯一含まれる物性値である。センサ基板の熱拡散率α_2は、一つの実験の間では固定値であると仮定できる。その結果、時間－温度曲線の形状は、試料の熱拡散率α_1だけから決定されることになる。

$(3-7)$式におけるf_rの外部項は複雑に見えるが、これもまた$(7-18)$式におけるf_sの外部

項と同様の物理的意味に解釈できる。

$$1/\left(\rho_1 C_{p1} \times \sqrt{\alpha_1 \tilde{\alpha}}\right) = \frac{1}{k_1} \times \sqrt{\frac{\alpha_1}{\tilde{\alpha}}} \qquad (3-8)$$

$\tilde{\alpha}$とα_1の値はf_rから得られるため、$(3-7)$式からk_1とα_1とに関する情報を別々に取得できる。

3.2.2　解析モデルに基づくプローブの動作解析

前項で導出されたプローブ法の解析モデル$(3-7)$を用いて、具体的な基板及び試料の熱物性を想定した場合におけるプローブ法の動作について解析を行う。検討は、熱物性計測法としても採用実績のある従来モデルであるTHS法の解析解を用いた結果と比較しながら進めていく。モデルとして用いる熱源は、測定対象試料の寸法を想定して幅 10[μm]、長さ10[μm]とし、厚さは無視できるものとする。従来モデルの場合は長さが無限長を想定していることになる。投入熱量は1×10^{-4}[J/s]に設定し、従来モデルの場合は発熱密度が一致するように調整する。基板材料として実際に本研究で採用するソーダライムガラスを、試料としては細胞試料と近いことが想定される純水を基準とする。また次章においてプローブの動作を実験的に検証する際に用いる、熱物性値が既知の流体試料であるメタノールと空気についても評価を行う。従来モデルの場合は基板と試料の物性値の違いが表現できないことから、基板も試料と等しい熱物性を持っていると仮定する。

Fig. 3-3 に、試料を純水としたときの熱源上の平均温度の時間推移を示す。

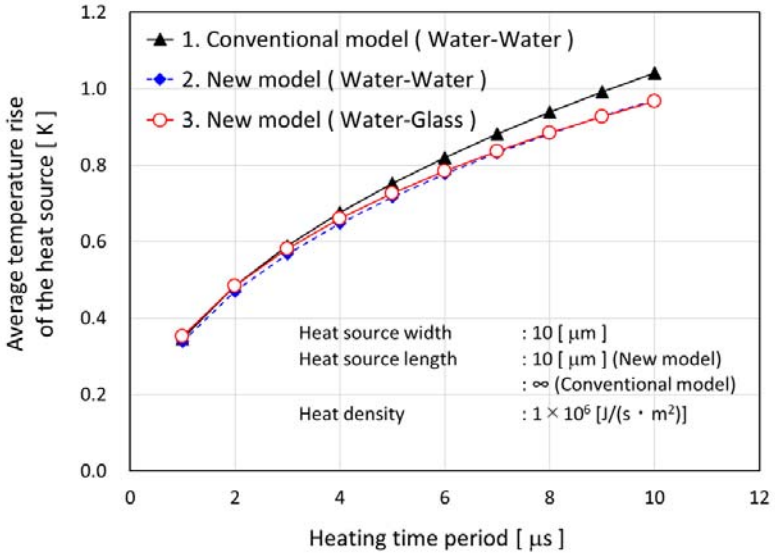


Fig. 3-3　Average temperature rise on the rectangular heat source placed on the interface of glass substrate and water as a sample.

グラフ中には、以下の３つの異なるモデルの結果を示している。

１．熱源の長さが無限長で基板と試料との熱物性の違いを表現できない従来モデル
２．新しいモデルにおいて、基板と試料との物性を両方とも水に設定した場合
３．新しいモデルにおいて、基板にガラス、試料に水を設定した場合

１．と２．との差異が、熱源長を無限長から 10[μm]に短縮した時の影響を表している。熱源長軸方向への熱の散逸を反映して、有限長のモデルの方が温度上昇は低く抑制されている。３．の結果との間にほとんど違いが表れていないのは、水とガラスの熱物性値に基づく偶然の一致である。

次にメタノールを試料とした場合の熱源の温度上昇を Fig. 3-4 に示す。

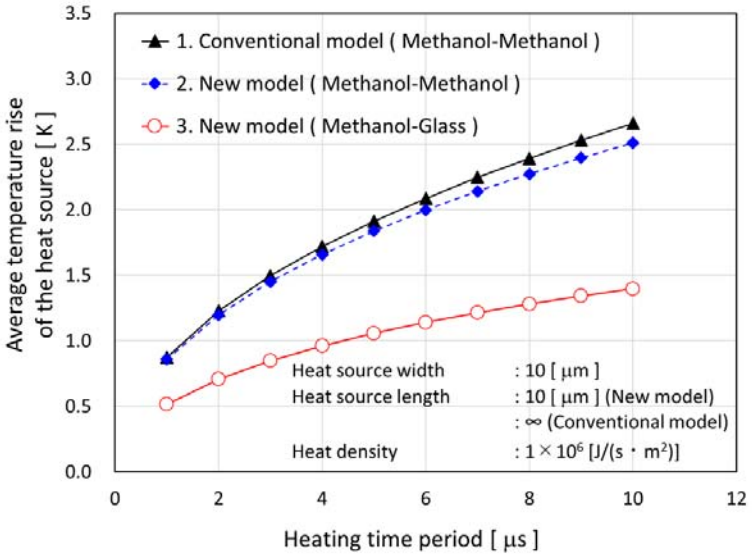


Fig. 3-4　Average temperature rise on the rectangular heat source placed on the interface of glass substrate and methanol as a sample.

３．の新しいモデルでは試料が水だった場合と比較して、10[μs]後の温度上昇が約 45%増加している。これが本研究で検討するプローブ法の、試料物性の違いに対する出力の変化につながる。一方で１．の従来モデルでははるかに大きい、約 158%の増加が確認できる。このことは、従来モデルの配置の方が、物性に対する感度が高いことを意味している。これは新しいモデルでは熱源周囲のうち半分の空間だけの熱物性が変化しているのに対して、従来モデルでは熱源を覆うすべての空間の物性が変化していることに対応していると考えることができる。これだけで原理的にはおよそ半分の感度低下につながる。さらに今回の材料選定においては、基板材料の方が試料よりも熱伝導率が高く、結果的に基板側に対してより多くの熱が広がる傾向にある。これらのことが組み合わさった結果、従来モデルと比較して約 28%までの感度低下につながったものと考える。

Fig. 3-5 に、加熱時間を 10[μs]に固定し、試料が純水・メタノール・空気の三種類の場合の温度上昇について整理する。

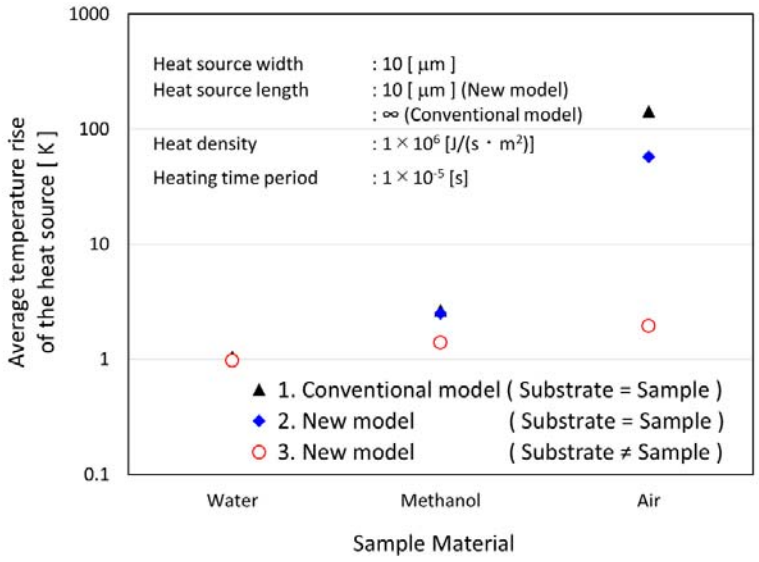


Fig. 3-5　Average temperature rise on the rectangular heat source placed on the interface induced by 10 [μs] heating.

空気は水と比較して熱伝導率で約 4%、体積当たりの比熱で約 0.03%程度しかない。従来モデルではこれに対応して大幅な温度上昇が発生するが、基板を有する新しいモデルでは水の場合と比較して 2 倍程度しか温度上昇が発生しない。大半の熱が基板側に散逸していることが理解できる。

３.３　　試料加熱終了後の熱散逸特性

一般に非定常法では、試料を加熱した時の時間－温度応答から熱物性を算出する。次章で詳細に検討するが、微小試料の測定を実現するためには、十分な信号／雑音（Ｓ／Ｎ）比を獲得するため、投入熱量の増大と加熱動作の複数回化などの対策が必要となる。一方でこれらどちらの対策も、試料温度の上昇につながる。試料温度の増加を最小限に抑制するためには、複数回の加熱の間では十分な待機時間を確保しなければならない。本研究で対象とする生体試料では、長時間にわたる高温状態の維持が試料に致命的な影響を与えることはよく知られている。これを防ぐために、測定による加熱動作終了後の待機時間確保は重要である。本節では熱源の形状別に、投入した熱の散逸時間について評価する。

任意の幾何形状をもった連続熱源が、発熱停止後に待機している間にその温度が低下していく際の温度低減率は一般に以下のように記述できる。

$$\frac{T_c}{T_h} = \frac{\int_0^{t_h} T_i(t_c - t')dt'}{\int_0^{t_h} T_i(t_h - t')dt'} \qquad (3-9)$$

T_hは任意形状熱源がt_hの時間発熱した直後の温度であり、T_cはt_hの発熱後に発熱を停止し、$t_c - t_h$の時間待機した後（すなわち、発熱開始直後からt_cの時間）の温度である。$T_i(t)$は瞬間任意形状熱源の、時刻tにおける温度である。$T_i(t)$は熱源の形状によって異なる関数であり、T_c/T_hもまた、熱源形状に依存する。点、線、面の形状を持った熱源から、距離rだけ離れた位置における、温度低減率は次式のように表現できる。

$$\left(\frac{T_c}{T_h}\right)_{point} = \frac{\mathrm{erf}\left\{\frac{1}{\sqrt{(c-1)}}V\right\} - \mathrm{erf}\left(\frac{1}{\sqrt{c}}V\right)}{1 - \mathrm{erf}(V)} \qquad (3-10)$$

$$\left(\frac{T_c}{T_h}\right)_{line} = \frac{\mathrm{Ei}\left\{-\frac{V^2}{(c-1)}\right\} - \mathrm{Ei}\left(-\frac{V^2}{c}\right)}{-\mathrm{Ei}(-V^2)} \qquad (3-11)$$

$$\left(\frac{T_c}{T_h}\right)_{plane} = \frac{-\frac{\sqrt{c-1}}{\sqrt{\pi}}\exp\left\{-\frac{V^2}{(c-1)}\right\} - V\,\mathrm{erf}\left\{\frac{V}{\sqrt{(c-1)}}\right\} + \frac{\sqrt{c}}{\sqrt{\pi}}\exp\left(-\frac{V^2}{c}\right) + V\,\mathrm{erf}\left(\frac{V}{\sqrt{c}}\right)}{\frac{1}{\sqrt{\pi}}\exp(-V^2) - V\,\mathrm{erfc}(V)} \quad (3-12)$$

ここで、$V = r/\sqrt{4\alpha t_h}$、$c = t_c/t_h$としている。式$(3-10)$から$(3-12)$を Fig. 3-6 に図示する。t_cの増加とともに、温度低減率の勾配は点・線・面に対してそれぞれ$t^{-3/2}$・ $t^{-2/2}$・ $t^{-1/2}$に向かう。これらの結果は、それぞれの瞬間熱源解からも容易に見て取ることができる[55]。物理的な視点から解釈すると、点熱源からは熱は三次元的に散逸し、線熱源からは二次元的、面熱源からは一次元的に散逸することに対応している。

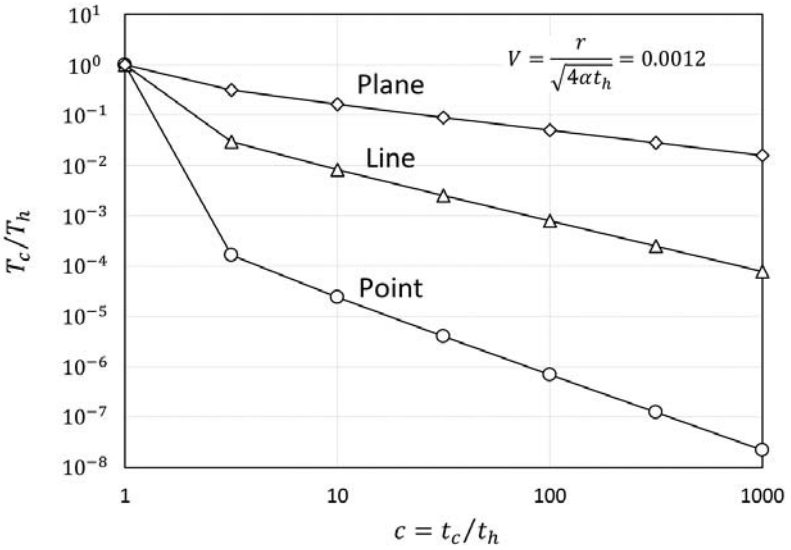


Fig. 3-6　Temperature decreasing ratio of the different heat source geometries, point, line, and plane.

発熱直後$(c \approx 1)$の温度低減率の勾配は、Vに依存する。$c = \sqrt{10}$における連続点熱源の温度低減率を Fig. 3-7 に示す。$\mathrm{V} > \sqrt{3/2}$の領域においては、温度低減率が 1 を超える。これは、熱の投入による温度上昇のピークが、まだ観察位置に到達していないことによる。Vが小さな値の場合は、温度低減率は、$t^{-3/2}$則に対応する$\left(\sqrt{10}\right)^{-3/2}$よりも小さい値を取る。これは$t$が小さい領域においては、温度低減率の非線型性が大きいことに起因してい

る。この傾向はすべての熱源形状において存在するが、点熱源の非線型性が最も大きい事から、加熱最初期の温度低下も最も大きくなる。

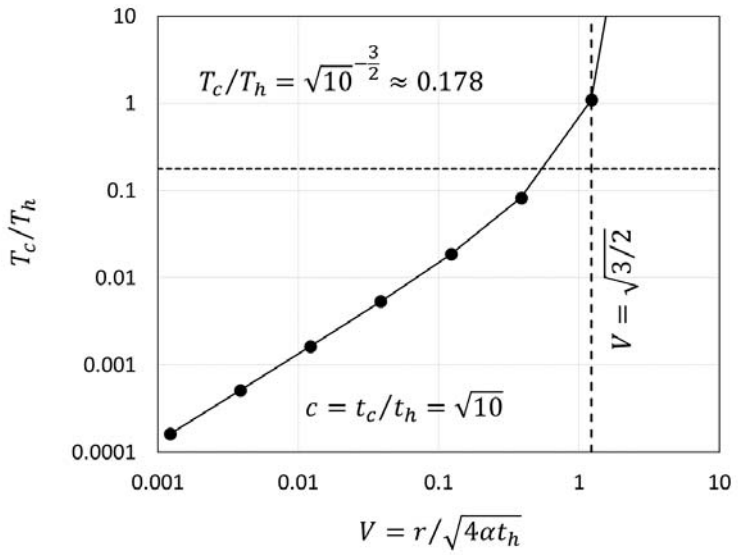


Fig. 3-7　Temperature decreasing ratio of the point heat source immediately after the end of heating.

連続帯熱源を用いた THS 法の温度低減率は以下のように表現できる。

$$\left(\frac{\overline{T_c}}{\overline{T_h}}\right)_{\text{strip}} = \left[4P\sqrt{\pi}\left\{\sqrt{c}\,\mathrm{erf}\left(\frac{2P}{\sqrt{c}}\right) - \sqrt{(c-1)}\,\mathrm{erf}\left\{\frac{2P}{\sqrt{(c-1)}}\right\}\right\} - 4P^2\left\{\mathrm{Ei}\left(-\frac{4P^2}{c}\right) - \mathrm{Ei}\left\{-\frac{4P^2}{(c-1)}\right\}\right\}\right.$$
$$\left. + \left\{c\exp\left(-\frac{4P^2}{c}\right) - (c-1)\exp\left\{-\frac{4P^2}{(c-1)}\right\}\right\} - 1\right]$$
$$\div \left[4\sqrt{\pi}P\,\mathrm{erf}(2P) - 4P^2\mathrm{Ei}(-4P^2) + \exp(-4P^2) - 1\right],$$
$$P = X/\sqrt{4\alpha t_h} \qquad (3-13)$$

$(3-13)$式では、帯上の平均温度が用いられている。$(3-13)$式を、点・線・面熱源と比較して Fig. 3-8 に図示する。Pが小さな値を取る時、これは狭い帯であることを意味するが、温度低減率の勾配は線熱源における$t^{-2/2}$に等しい。Pが大きな値を取る時、これは幅広の帯であることを意味するが、温度低減率の勾配は面熱源における$t^{-1/2}$に等しい。一方でPが小さな値となっても帯の長さは無限大なので、長さ方向の熱流は発生せず、温度低減率の勾配は$t^{-2/2}$を超えることはない。

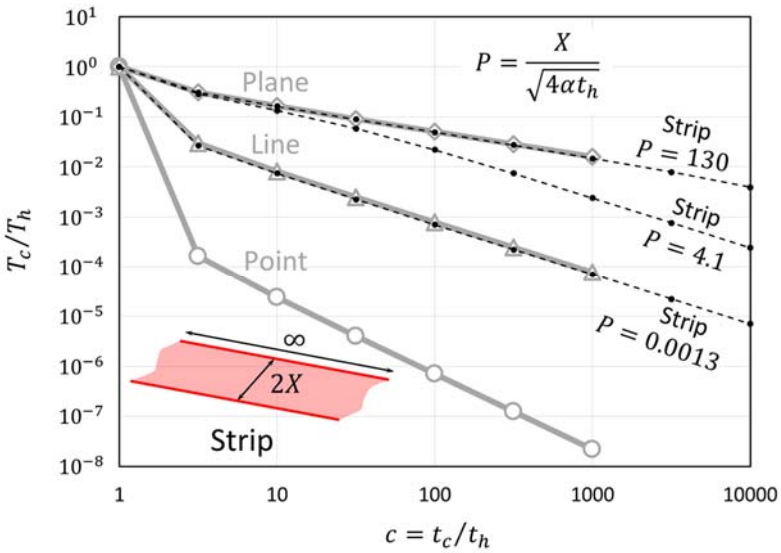


Fig. 3-8　Temperature decreasing ratio of the strip heat source.

連続矩形熱源に対する温度低減率を$(3-14)$に示す。

$$\left(\frac{\overline{T_c}}{\overline{T_h}}\right)_{\mathrm{rect}} \approx \left[\frac{2P}{\pi W}\left\{\frac{1}{\sqrt{(c-1)}}-\frac{1}{\sqrt{c}}\right\}\right]$$
$$\div\left[\frac{1}{2P}\left\{1-\frac{W}{3\sqrt{\pi}}\left(2P+\frac{3}{4P}\right)\right\}\mathrm{erf}(2P)+\frac{W}{3\sqrt{\pi}}\left\{1+\frac{1}{8\sqrt{\pi}P^3}\right\}-\frac{1}{8P^2\sqrt{\pi}}\right.$$
$$\left.-\left\{\frac{W}{3\sqrt{\pi}}\left(\frac{1}{2P\sqrt{\pi}}+\frac{1}{8\sqrt{\pi}P^3}\right)-\frac{1}{8P^2\sqrt{\pi}}\right\}\exp(-4P^2)-\frac{1}{\sqrt{4\pi}}\mathrm{Ei}(-4P^2)\right]$$
$$,P = X/\sqrt{4\alpha t_h}\ \ ,W = X/Y \qquad (3-14)$$

式$(3-14)$でも、式$(3-13)$の時と同様に矩形熱源上の平均温度が扱われている。さらに式$(3-14)$では、$\overline{T_c}$を計算するためにxとyの両方の方向に対して、大きなt_cの範囲で適用可能な近似、$F_{approx.} = \Phi/\sqrt{\pi}$が採用されている。$(3-14)$式を、点・線・面熱源と比較して Fig. 3-9 に図示する。温度減衰率の勾配は$t^{-3/2}$であり、点熱源と同等である。長さ方向にも熱が拡散できることから、温度低下は帯熱源よりも早い。熱源長さの短縮は、その早い熱散逸特性によって、高温耐性の弱い試料の測定において有利に働く。

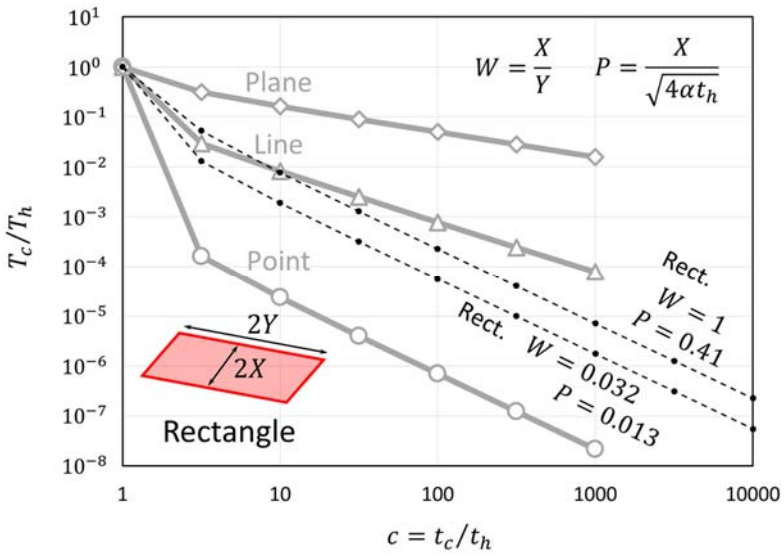


Fig. 3-9 Temperature decreasing ratio of the rectangle heat source.

３.４　　本章のまとめ

本章では、前章までにその性質を明らかにした B.M.W.解を用いて、プローブの基板と試料との間に形成された矩形形状の金属薄膜電極を熱源と見立てた伝熱モデルを構築した。隣接した半無限領域上に配置された微小な連続矩形熱源上の平均温度変化を表現した近似解を導出し、その性質について検討を行った。

３.２では、有限の長さを持った連続矩形熱源の近似解析解を導出した。B.M.W.解を、二つの空間方向にそれぞれ２回、さらに時間方向に１回積分する必要があるが、閉形式での厳密解を導出することは困難であった。そこで矩形の長さ方向の温度分布を表現した項を簡単な関数形に近似することで、積分が実行できることを示した。得られた近似解の適用可能範囲は、無限長を仮定した解と比較してその長手方向を 10^{-4} から 10^{-3} 倍小さくできるものであった。本研究が対象とする具体的な物性値などの数字を考慮すると最小の長さは$Y_{\min} \approx 3.0 \times 10^{-7}$[m]となり、これは対象とする培養細胞一つの大きさよりも十分に小さいものであった。

当該モデルを用いて、プローブの試作で実際に採用を検討している材料を想定したプローブの動作解析を行った。熱物性計測などで用いられる従来モデルを基本とした動作と比較して、熱源の片側が基板材料であることから 50%を超える大幅な感度低下があることが確認された。また熱源の長さが短縮されることも感度低下につながる。想定した条件下において水とメタノール試料との間では熱源の温度上昇差は 0.43[K]、水に対する温度上昇の45%程度にとどまることが確認された。このことは次章で検討する駆動・検出回路の計測の精密さとして 1[K]をはるかに下回る能力、例えば 0.001[K]程度の性能が求められることを意味する。

３.３では、測定のために加熱された試料の熱による劣化を最小限に抑えることを目的として、熱が熱源近傍から十分に散逸するために必要な時間に関する検討を行った。熱源の幾何形状によって決定され、散逸方向が一、二、三次元的と増えるにつれて、加熱後の待機時間に対して$t^{-1/2}, t^{-2/2}, t^{-3/2}$の勾配で温度が低減していく。矩形熱源は、評価した他の幾何形状の中で点熱源の次に三次元的に熱が散逸することから、迅速な散逸が期待できることが確認された。たとえば加熱時間の 100 倍の時間待機すれば、加熱によって生じた温度上昇は 10^{-4}～10^{-5} 倍に低減する。駆動法として、加熱と待機の時間を設計する指針となる。

本章で得られた結果は、次章で実際に実装を検討する微小試料に対応可能な高速熱応答マイクロプローブ法の基本原理となる。

第４章　　高速熱応答マイクロプローブ法の実装と性能の評価

4.1　本章の背景と目的

前章までに検討した高速熱応答マイクロプローブのモデルに基づき、本章ではその実装と基本性能について検討する。

基板上に金属薄膜によって矩形パターンを形成し、これを熱源と測温抵抗体の両方の目的で使用する。この設計は、理論モデルで記述した熱源と基板・試料の配置を実現する。熱の発生は、矩形パターンへの精密に定量された電流の導入によって実現される。時間－温度応答の測定は、金属薄膜の電気抵抗値の温度依存性（TCR）を利用することで行う。電流供給中の矩形パターンにおける電圧降下の変化を測定することにより、パターン上に発生した平均的な温度変化を知ることができる。加熱と温度測定を行っている場所の幾何形状を全く同一にできることが、当該アプローチの最大の特長である。THW 法（たとえば[56]）や周期加熱法[43]、3ω法[44]、THS 法[20]、Transient Plane Source 法[45]など、cm オーダ寸法試料の熱物性測定を実現できる計測法として実用化されている手法において幅広く採用されている、実績のあるアプローチである。

一方で金属の TCR は、その値が大きいことで知られているニッケルでも7×10^{-3}[K^{-1}]程度である[57]。本研究が対象としている試料は高温耐性が弱いことから、測定中の温度変化を$\Delta 1$[K]のオーダに抑制することが望まれる。精密な解析を実行するためには10^{-3}[K]オーダの計測分解能が求められる。これは1[ppm]オーダの電圧変化を取り扱うことに相当する。前章で検討したように水と同等の物性値の試料を想定し、10[μm]オーダの寸法の試料に対する測定を実現するためには、10[μs]で加熱・計測を完了させなければならない。本手法では、精密性と高速性の両立が求められる。

既存の 3ω法や Pulse Transient Hot Strip 法[58]などで共通して採用されている対処法は、複数回の加熱イベントを利用する手法である。一回の加熱過渡応答ではなく、複数回の応答の平均値を用いることで、精密さを向上させている。さらにこれらの手法では、測定のダイナミック・レンジの問題に対処するため、ブリッジ回路のような零位法を採用することで温度変化に関係しない電圧信号成分を除去している。

本研究では問題を「精密さ（Precision）」と「正確さ（Trueness）」とに分離して考える[59, 60]。本研究が最終的に企図しているのは、試料への熱散逸の状態変化観察を通して、試料の状態変化を高感度に検出するような、モニタリングとして利用である。モニタリングを通して状態変化が検出できれば、たとえば別途準備されたオフラインの、より精密な高次の分析に持ち込むことができる。このような応用の場合、同一の試料を連続的に繰り返し計測した際に、試料中に発生した変化を、これ以外の回路的な雑音などに起因するランダムな変動と比較してどれだけ高感度に分離することができるかが重要となる。これは測定された値の、平均値からのばらつきによって定義される「精密さ」に基づいて議論することができる。

一方「正確さ」は、簡易的には伝統的な意味における真値からの偏差と捉えることができる。実験的には測定値の平均値が真値からどれだけずれているか、で見積もることができる。

例えば細線加熱法に代表されるように、高い精密さと正確さとを兼ね備えた計測法が報告されている。精密さと正確さを兼ね備えることで、良好な計測の不確かさが実現される。一方でこのように良好な不確かさを備えた計測法では、測定できる試料条件に制限がある場合が多い。たとえば本研究が対象としている、微小で流動性が低い試料に対しては適用が困難である。このような試料の場合、試料の自由なハンドリングは難しい。良好な不確かさを実現するためには、計測法の原理モデルに忠実な試料配置を高い再現性で実現することが求められる。次章で詳細に検討するように、本研究では接着性の細胞を評価対象としている。プローブへの配置・接着は、細胞の自発的な挙動に依存せざるを得ないことから、この部分の再現性を高くすることは容易ではない。

以上の考察をもとに、本研究では以下のような立場から、高速熱応答マイクロプローブの開発を行う事とした。

1．最終的な細胞試料の観察は、長期・連続的に実施されることが望ましい。そのため、検出回路自体の安定性については数日単位の長期間の状況を評価する。
2．高速熱応答マイクロプローブが感応できている熱物性を、前章までに検討したモデルに基づいて評価・解析する際には、試料配置の再現性に関する問題が抑制でき、十分信頼できる文献値が報告されている流体試料を用いて実施する。
3．次章で検討する細胞試料に関する評価の際には、試料配置の困難が回避できない。そこで試料及び測定トライアル間で発生したばらつきを単純には平均化せず、個別の結果として取り扱いながら、全体としての傾向を議論する。

本章では具体的に、以下の項目を目的として検討を行った。

1．μs オーダの高速性と ppm オーダの安定性を兼ね備えた駆動・検出回路アーキテクチャの提案・実装と安定性の評価
2．液体試料や細胞試料が測定可能なセンサ・デバイスの作製
3．デバイス部の温度制御を実現し、外乱となる環境温度変動を抑制することができる計測システムの構築
4．高速熱応答マイクロプローブの特性評価

4.2　　駆動・検出回路

Fig. 4-1 に、駆動・検出回路アーキテクチャの概略図を示す。

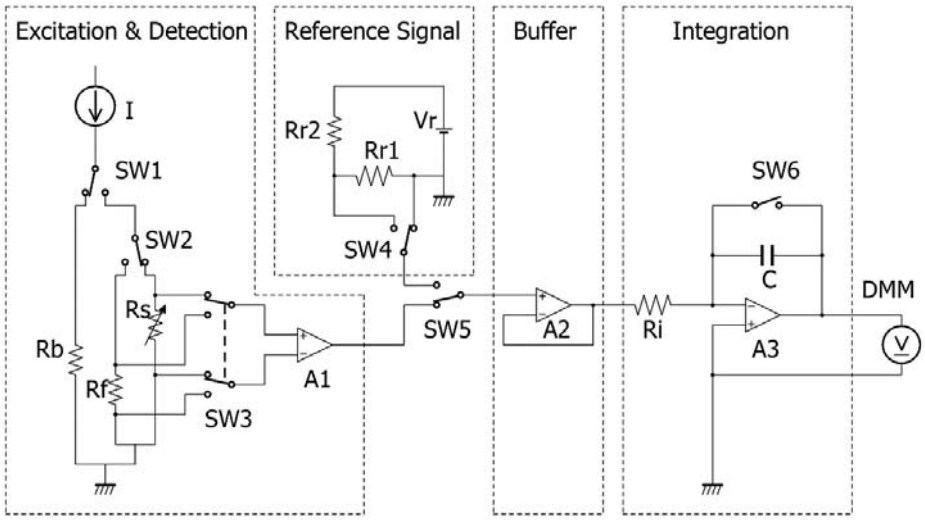


Fig. 4-1　Schematic of the drive-detection circuit diagram.

本回路方式の特徴と設計意図については、3ω法を含む様々な微小信号計測において幅広く採用されているロックイン増幅回路と比較することで理解できる[61]。ロックイン方式では、ヘテロダイン技術を用いることで、特定の周波数成分の信号を高精度に検出することが可能である。バンド・パス・フィルタを導入することにより、注目している周波数成分以外の信号を除去している。これは測温抵抗体のような、周波数特性のない熱雑音を発生させる対象の測定や、外部からのノイズが多い環境での測定において極めて優れた性能を発揮する。しかしながらロックイン増幅回路実装には、フィルタ・位相検出・同期検波・基準正弦波信号源など様々な高度な設計技術が求められる。今日ではディジタル化することによりこれらの課題への対応が進められているが、市販されている製品の性能を見る限り、本研究で利用する観点からは課題もある[62]。具体的には、対応できる最高周波数は 11[MHz]と、本研究で採用する部品の限界と同等レベルにまで到達している一方で、信号源とのＤＣ接続が可能な周波数範囲は 3[MHz]に制限される。計測された電圧の精度に相当する電圧確度も≦3[MHz]の条件下で±5[%]、≦11[MHz]の場合は±14[%]にまで低下する。電圧確度の温度ドリフトは 1[kHz]の条件で±100[ppm/℃]と無視できない大きさである。これらの性能面での特徴は、ロックイン増幅回路内に含まれる複雑な回路構成の個々の変動要因が蓄

積する結果として表れているものと考えられる。さらに本研究で検討する駆動条件では、試料の温度上昇を抑制するために、３.３における議論に基づき加熱パルス間の待機時間を、加熱パルス幅の数百倍以上に設定する。ロックイン増幅器が最高の性能を発揮するのは、正弦波信号入力に対する場合であり、これは加熱パルス幅に対して設定できる待機時間（アスペクト比）が１倍であることに相当する。本研究のようなパルスのアスペクト比が大きい場合には大きな感度低下を伴う。

本研究の回路方式は、積分回路が簡易的な高周波フィルタの機能を持ってはいるが、それ以外はすべての周波数成分を扱っていることから、それぞれの手法にとっての理想状態におけるＳ／Ｎ比はロックイン方式にかなわない。ＤＣ成分やこれに近い低周波成分を通過させてしまうことから、回路中の部品の温度変動なども出力信号に含まれてしまうデメリットがあり、重要な電子部品の選定は慎重に行わなければならない。一方でパルス駆動であることから、パルス幅とパルス電圧をそれぞれ独立に生成・組み合わせることが可能であり、高精度な基準信号を作成することは容易である。また比較的簡素な回路構成は、主要な回路部品を適正に選定することにより、初段の計装アンプの持っている性能をそのまま反映しやすく、その性能を最大限に引き出すことが可能である。操作面においてもディジタルに対する親和性が高い。

具体的な実装について、ポイントとなる箇所に限定して詳解する。センサ抵抗 Rs は、バラスト抵抗 Rb と並列に接続される。定電流回路が、低抵抗・高速 SPDT アナログ・スイッチ SW1（TS5A3154；Texas Instrument、ダラス、テキサス、アメリカ）を介して抵抗に接続される。定電流回路自体にも高速応答が求められることから、精密性と高速性を兼ね備えたものが自作された。SW1 は、Fig. 4-1 には記載されていないパルス・ジェネレータによって制御される。パルス・ジェネレータは、10[MHz]の発振周波数、相対周波数誤差$\pm 15 \times 10^{-6}$、数[ps] オーダの accumulated jitter 性能を有する水晶発振器の出力をもとに、0.4～10[μs]幅のパルス信号を発生させ、ppm オーダの精密性で加熱時間を制御できる。

標準抵抗 Rf が、切り替えスイッチ SW2 を介してセンサ抵抗 Rs と並列に接続される。Rf は$100[\Omega] \pm 0.5\%$の抵抗値、$0 \pm 5[\mathrm{ppm/K}]$の安定性を持っている（FLAX100R00A；アルファ・エレクトロニクス（株）、東京、日本）。センサ抵抗 Rs と標準抵抗 Rf は、切り替えスイッチ SW2 と同期して動作する切り替えスイッチ SW3 を介して、ユニティ・ゲインに設定された計装アンプ A1（AD8421BR；Analog Devices、Norwood、Massachusetts、アメリカ）に接続され、ここでの電圧降下が差動検出される。このアンプはユニティ・ゲイン時のゲイン安定性が 0.1[ppm/K]、小信号帯域幅が 10[MHz]、セトリング・タイム（0.001%）が 1[μs]である。標準抵抗 Rf はゼロ TCR 特性であることから、これに対する測定値を常時モニタリングすることによって定電流回路の安定性を監視できる。またセンサ配線部で外部から侵入してきたノイズ成分の除去を行うための参照信号としても利用することができる。

計装アンプ A1 の出力は、切り替えスイッチ SW5 を介してバッファ・アンプ A2 に入力される（ADA4891-1；Analog Devices）。このアンプは、入力オフセット電圧温度係数が

1[μV/K]、入力換算雑音電圧密度が 0.9[nV/√(Hz)]、開ループゲインが 103[dB]、利得帯域幅積が 65[MHz]である。

バッファ・アンプ A2 には、切り替えスイッチ SW5 を介して参照信号回路の出力も入力されている。参照信号回路では、精密アンプでバッファされた基準電圧源（ADR441BZ、電圧 2.500[V]±1[mV]、温度係数 3[ppm/K]；Analog Devices）と、SW1 と同一のパルス・ジェネレータで駆動された高速スイッチ SW4、0 ± 5[ppm/K]の温度安定性を持った抵抗素子で作られた分圧回路との組み合わせにより、精密なパルス幅・電圧値を持った参照パルス信号を生成する。参照信号回路を用いることで、バッファ・アンプ A2 より後段に配置された回路の安定性評価や変動の相殺といった信号処理が可能となる。

バッファ・アンプ A2 の出力は積分回路ブロックに入力される。本計測法の原理式(3 − 7)は、パルス加熱に対する時間－温度関数を表現している。これを直接計測するためには、パルス幅よりもはるかに速いアナログ／ディジタル（A/D）変換が必要となる。我々の応用の場合、この変換に求められる仕様は 10[MHz]、20[bits]以上の分解能となり、これは既存の A/D 変換素子による実現は困難である。積分回路ブロックはこの問題への対策のために導入されている。パルス信号に対する積分は、ピーク・ホールドの役割を果たす。

積分回路ブロックの出力に対しては、比較的遅いが高い分解能を持った A/D 変換素子によって容易にディジタル化することができる。積分回路ブロックの出力はディジタル・マルチ・メータ（DMM）（AD7461A、（株）エーディーシー、埼玉、日本）に入力される。

Fig. 4-2 に、異なる 3 種類の試料に対して原理式(3 − 7)を積分することで得られる信号の推定値を示す。実際の積分回路の出力は、Fig. 4-2 に示した熱源部の温度変化に対応する成分と、（金属電極の加熱前の抵抗値と励起電流とから決定される）加熱動作とは関係のないオフセット成分とが加算されたものになる。

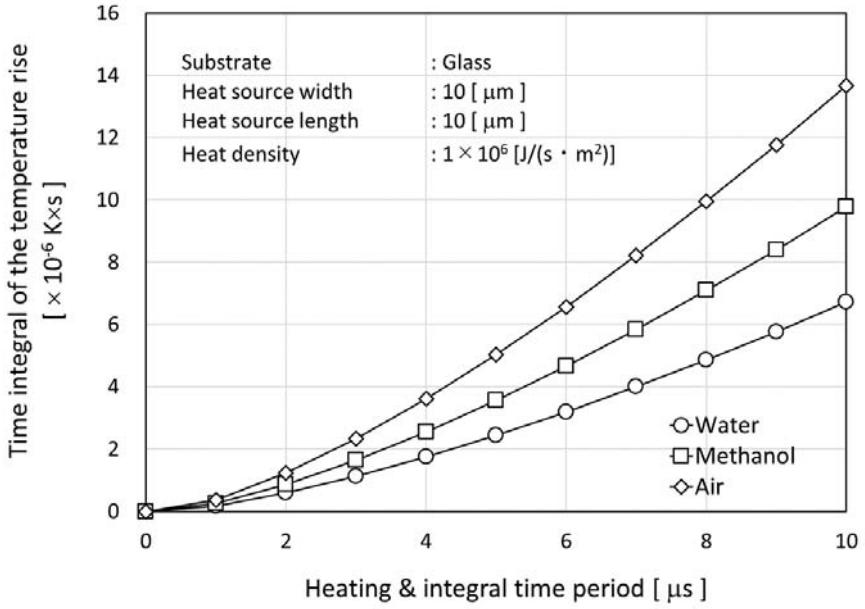


Fig. 4-2　Estimated integral output signal for different samples calculated from the rectangular heat source model.

4.2.1　データの取得と統計処理

積分回路ブロックによる積分期間は、SW1 と同様に、これと同期したパルス・ジェネレータからの信号をもとに高速スイッチ SW6 によって決定される。本研究では 1820[μs]に設計され、積分信号の立ち上がりから加熱用パルス立ち上がりまでの遅延時間は 20[μs]に設計された。本回路方式のタイミングチャートと積分出力信号の例を Fig. 4-3 に示す。

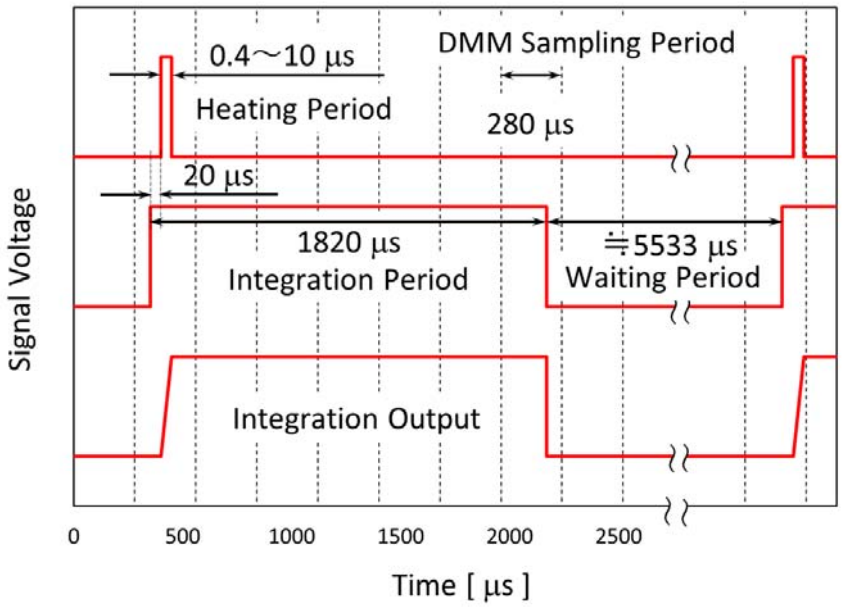


Fig. 4-3　Timing chart of the drive-detection circuit.

いったん DMM に保存されたデータは、USB 接続された PC に転送される。本実験で組み上げたシステムでは、約 0.4%程度の発生確率で通信エラーに起因すると思われる異常値が記録された。正常値と異常値とは明確に判別が可能であったことから、本論文に記載しているデータでは機械的な操作により削除してある。

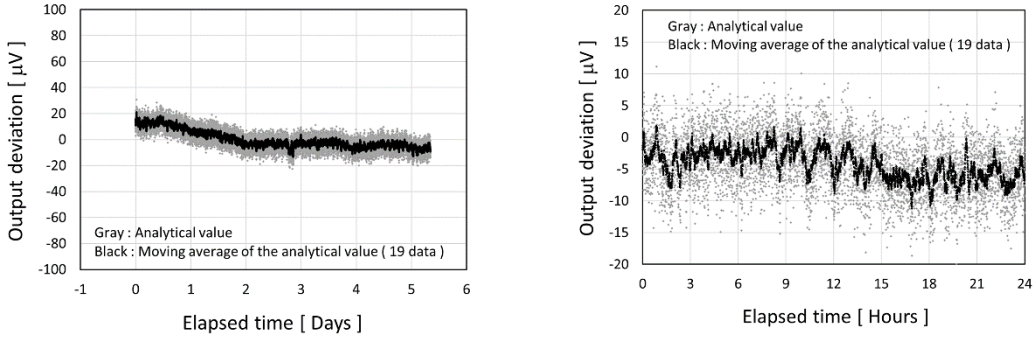
DMM による信号データ取得は 280[μs]間隔で実施され、2.8[s]間、10000 点が DMM 内臓メモリに保存される。これを電圧信号列と呼ぶ。電圧信号列は約 14[s]間隔で PC に転送され、この動作が繰り返される。加熱パルスは 136[Hz]で印加されたので、一つの電圧信号列にはおよそ 381 個の加熱パルスに対する応答が記録されている。10[μs]の加熱パルスの場合、加熱パルス幅に対して 734 倍の待機時間が確保されていることになる。Fig. 3-9 によると、加熱によって発生した温度上昇は約 10^{-5} 倍までに低減しており、実質的に投入された熱は完全に散逸しているとみなすことができる。それぞれの応答に対する電圧値は、標準的な信号処理によって抽出される。一つの電圧信号列から抽出された、すべての加熱パルス応答に対する電圧値の平均値を分析値と呼ぶ。

4.2.2　回路部の安定性評価

駆動・検出回路の安定性は、本研究が提案する高速熱応答マイクロプローブの基本性能を支配する。そこで、回路単独での性能評価を実施した。

4.2.2.1　検出回路部の安定性

参照信号回路を用いることで、参照信号回路以降 DMM を含む検出回路部の安定性を評価した。短期的でランダムなノイズ成分と、長時間の変動成分とを分離するため、分析値に移動平均をかけ、その前後の結果を Fig. 4-4 に示している。



(a) 5 days stability　　(b) 24 hours stability

Fig. 4-4　Evaluation results of the detection circuit stability.

システムは標準的な研究室環境に設置され、室温はおよそ 23±1[℃]の範囲で変動していた。バッファ・アンプの入力は参照信号回路に接続され、パルス幅は 10[μs]、ゲインを決定する積分回路のコンデンサ容量は 2.2[nF]に設定された。縦軸は、全測定期間の分析値の平均値からの偏差を示している。平均値は-1.167503[V]であった。グラフ中の灰色のプロットは、個々の分析値に対する結果を、黒色のプロットは 19 個の分析値を用いた移動平均を算出した結果を示している。移動平均のプロットには、約 7239 個の加熱パルスに対する応答が平均されていることになる。一つの分析値には約 381 個のパルスの結果が平均されているが、個々のパルスに対する測定値のばらつきは標準偏差で 46[ppm]であった。Fig. 4-4(b)から算出される分析値の標準偏差は 6.6[ppm]であり、15%に低減している。これが回路の短期安定性と判断される。個別のパルス中に含まれるノイズに周波数依存性が存在しなければ、381 点の平均化処理によって$1/\sqrt{381} = 0.05$倍、すなわち 5%程度までにばらつきが圧縮されるはずであるが、実際には圧縮効果は 1/3 程度にとどまっている。個々のパルスに対する測定値の中に、136[Hz]からそれ以下の低周波の変動が無視できない程度に含まれ

ていることを示唆している。分析値にもランダムなノイズ成分が残存しているが、約 7239 個のパルスからなる移動平均のデータにはランダムな成分は残っておらず、ドリフト的な成分になっていることが確認できる。

Fig. 4-4(b)の、24 時間の期間内における移動平均を取った後に残存した変動の標準偏差は 2.0[ppm]であった。これが回路の長期安定性と判断される。19 点の平均であることから、変動に周波数成分がないと仮定すると、分析値の標準偏差 6.6[ppm]に対して$1/\sqrt{19} = 0.23$倍にばらつきが圧縮されるはずであるが、実際には 0.30 倍であった。Fig. 4-4(b)からも確認されるように、さらに低い周波数域の変動が残存していることに対応している。移動平均後の偏差の最大値と最小値との差分は 11.1[ppm]であった。これらの結果は、後述するセンサの TCR の値、約 2900[ppm/K]を用いて換算すると、標準偏差で 0.0007[K]、最大値と最小値の差分で 0.004[K]に相当する分解能が、回路的に到達できていることを意味する。

4.2.2.2 駆動回路と検出回路とを合わせた安定性

次に、センサを励起する定電流電源や、センサから回路部までの配線などの影響を含めた、駆動回路と検出回路とを組み合わせた状態での安定性を評価した。評価には、標準抵抗 Rf を利用した。Rf には抵抗値の温度依存性がないことから、これを模擬センサとして使用して定電流パルスを印加、端子間電圧を計測することで、環境温度の変動や励起電流による抵抗加熱の影響を削除して、回路自体の安定性を評価することができる。Fig. 4-5 に評価結果を示す。

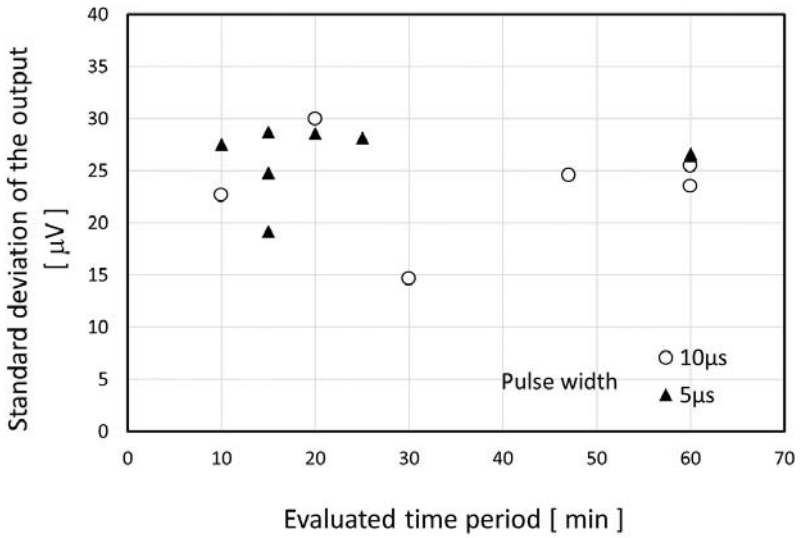


Fig. 4-5 Evaluation results of the short term stability of the drive and detection circuit.

ここでは、二つのパルス幅、5・10[μs]によって、10～60[min]の期間の分析値の変動を、出力の標準偏差によって示している。10[μs]幅のパルスは積分コンデンサ容量が 3.3[nF]、5[μs]幅のパルスの場合は 2.2[nF]のものが使用された。評価期間と変動には大きな依存性は見られない。10[μs]と 5[μs]のパルス幅の間にも有意な差は確認されなかった。一方でそれぞれの出力の平均値は-0.7407[V]と-0.5851[V]であり、S／N比に相当する相対標準偏差は 24[ppm]と 45[ppm]であった。パルス幅の短縮によるS／N比の劣化が確認できる。前述した検出回路だけの短期変動がパルス幅 10[μs]で 6.6[ppm]であったことを考えると、3倍ほど劣化している。これが定電流回路及び標準抵抗からバッファ・アンプまでの間で混入した短期変動成分だと考えることができる。

次に駆動回路と検出回路を合わせた、回路全体の長期変動について評価した結果を Fig. 4-6 に示す。ここでは Fig. 4-4 における議論と同じアプローチで、短期的な変動を連続した分析値の平均値をとることで削除し、長期的な変動成分のみを抽出することによって評価している。

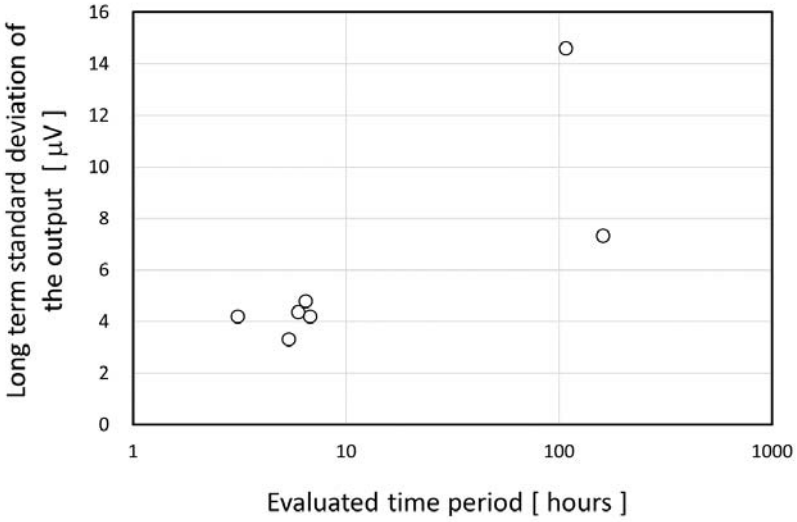


Fig. 4-6　Evaluation results of the long term stability of the drive and detection circuit.

評価時間の延長とともに、徐々に変動が増加する傾向にあることが確認できる。Fig. 4-4 でも確認される、低周波・長期変動成分の影響が、評価期間拡大とともに大きくなることを示唆している。一方で約 100 時間経過しても 14～15[μV]程度しか変動しておらず、駆動・検出回路共に十分な安定性を達成できていることが確認できた。

4.3　センサ・デバイス

本研究では、基板上にプレーナ技術によって電極パターンが形成されたものをセンサ・チップ、これに液体試料を保持できる構造や電気接続を可能とする端子部を加えたものをセンサ・デバイス、最終的に配線され駆動・検出回路と接続して用いる状態を高速熱応答マイクロプローブと呼ぶ。本節ではセンサ・デバイスの作製法について詳解する。

4.3.1　センサ・チップの作製

センサ・チップは標準的な微細加工技術によって作製された。Fig. 4-7 に作製工程の概要を示す。

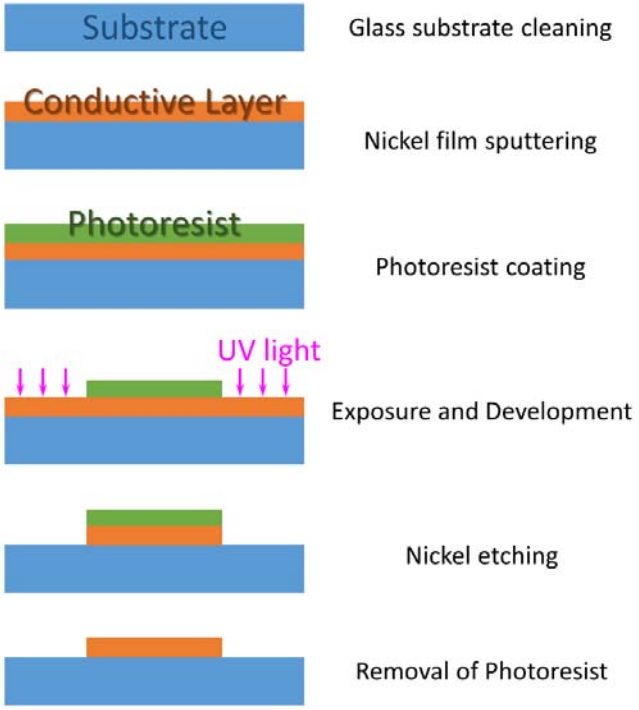


Fig. 4-7　Schematic process flow of sensor chip patterning.

ソーダライムガラス基板（S7213；76mm×26mm×0.9～1.2mm、松浪硝子工業（株）、大阪、日本）を、事前に純水（Direct-Q UV3；メルク社、ダルムシュタット、ドイツ）とメ

タノール（21915-93、JIS 試薬特級、≧99.8%(GC)；ナカライテスク（株)、京都、日本）で各 10 分間超音波洗浄した。その後 RF マグネトロンスパッタリング装置（CFS-4ES-SS；芝浦メカトロニクス（株)、神奈川、日本）を用いて、金属薄膜を成膜した。基板を装置内の回転ステージに固定し、真空排気を開始すると同時にステージの加熱を開始。160℃に到達してから約 30 分間待機、その後加熱を停止させた。実際に成膜を開始する真空度（10^{-4}[Pa]台）に到達する時点では、ステージ温度がほぼ室温に回復していることを確認した。ここで 100[W]・1[min]の条件でバック・スパッタリングを行った後、300[W]の条件で成膜を行った。膜厚は成膜時間によって制御した。金属薄膜材料としては、その高い TCR とともに、ガラス基板との高い密着性からニッケルが選択された。成膜されたニッケル薄膜とガラス基板との密着性は良好で、簡易的なピーリング試験では剥離は観察されなかった。25[nm]以上の膜厚であれば、ニッケル薄膜上への直接のはんだ付けも可能であった。

成膜されたニッケル薄膜に対して、フォトリソグラフィ工程によって電極パターンが作製された。まず初めに、ニッケル薄膜表面に 1-オクタンチオール（07134-30、鹿特級、>97.0%(GC)；関東化学（株)、東京、日本）を滴下。15[min]待機することで、疎水性の自己組織化単分子膜を形成した。これは、特にレジストパターンの幅が数μm 以下と狭くなった時に発生しやすくなるレジストの剥離を抑制するために導入された。その後メタノールでリンスし、ホットプレート（HP-2L；アズワン（株)、大阪、日本）で 95[℃]・5[min]加熱した。疎水化処理されたニッケル薄膜上に、ポジ型フォトレジスト（OFPR-800LB；東京応化工業（株)、川崎、日本）を、スピンコータ（1H-DX2；ミカサ（株)、東京、日本）を用いて塗布した。塗布条件は Slope 5[s]→500[rpm]・5[s]→Slope 10[s]→2000[rpm]・50[s]→Slope 10[s]→0[rpm]とし、およそ 2[μm]程度の塗布膜厚となることを狙った。塗布完了後、ホットプレートで 95[℃]・5[min]プリベークを行った。露光は、1[μm]の解像度を持つマスクレス露光機（Nano System Solution；(株) ナノシステムソリューションズ、沖縄、日本）によって、およそ 40[mJ/cm^2]の露光光量で行った。その後 2.5%に希釈したテトラメチルアンモニウムヒドロキシド（TMAH）水溶液（T1460；東京化成工業（株)、東京、日本）を用いて現像した。現像時間はおよそ 120[s]であり、目視で適宜判断した。エッチングは初めにニッケル薄膜最表面に形成された酸化ニッケル膜の除去を目的として、10wt%HCl 水溶液（18079-01、鹿 1 級、35.0～37.0%(T)；関東化学（株)、東京、日本）に 7[s]浸漬後、3wt%HNO_3 水溶液（28163-01、鹿 1 級、60.0～61.0%(T)；関東化学（株)、東京、日本）に浸漬した。硝酸への浸漬時間はおよそ 180[s]を標準に、膜厚などの影響を考慮して目視で適宜判断した。最後に残ったレジストを感光させ、TMAH 水溶液で除去した。

パターニングが完了した基板は所定のサイズ（10[mm]×24[mm]）に割断され、センサ・チップとして完成とした。

センサ・チップの電極パターンとして大きく二種類のものが作製された。後述するように、本研究では電流を印加する経路と電圧降下を計測する経路を分離した、いわゆる 4 端子法を採用している。センサ・チップ上のパターンとして、端子を共通化して 2 端子化したものと、矩形パターンの直前までを 4 端子化したものを作製して評価した。Fig. 4-8 にパターンの概形図を示す。

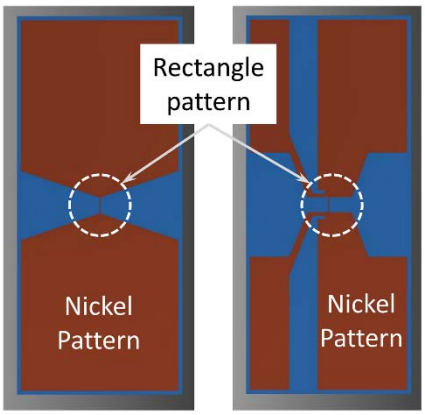
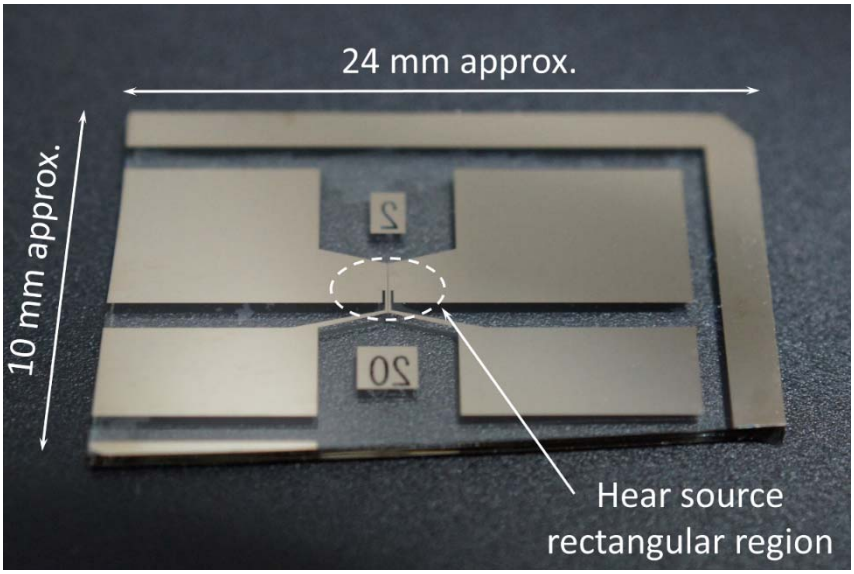
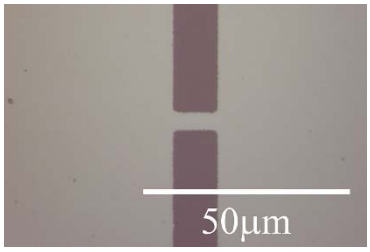


Fig. 4-8　Overview of the sensor chip patterns;
2-terminal-type (left) and 4-terminal-type (right).

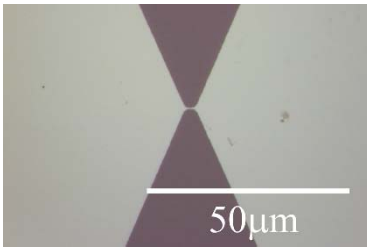
膜厚は 10・25・75・150・375[nm]の 5 条件が、矩形パターンとしては幅が 1～300[μm]、長さが 2～4750[μm]の範囲で様々な寸法のものが作製・評価された。Fig. 4-9 にセンサチップの外観と電極パターン例の写真を示す。



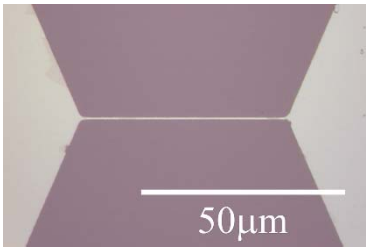
(a) Sensor chip



(b) Thickness:10[nm],
Width:5[μm],
Length:10[μm]



(c) Thickness:25[nm],
Width:1[μm],
Length:2[μm]



(d) Thickness:75[nm],
Width:1[μm],
Length:50[μm]

Fig. 4-9　Photographs of the sensor chip and its patterns.

4.3.2　　センサ・デバイスの作製

センサ・チップとしての加工が終了したのち、センサ・デバイスとしての組み立てを行った。Pyrex™製のガラス管（内径 8[mm]、外径 10[mm]、長さ約 20[mm]；OOKABE GLASS HD（株）、福井、日本）が、矩形パターン部を中心にしてセンサ・チップに接着された。接着は、接液する可能性のあるガラス管端面に対して、耐薬品性が良好で生体試料を扱う応用においても幅広く採用実績のあるポリジメチルシロキサン（PDMS）（SILPOT 184；東レ・ダウコーニング（株）、東京、日本）を塗布し、センサ・チップと仮接着した。その後十分な強度を確保する目的で、ガラス管とセンサ・チップ接着部の接液しない外側からエポキシ

樹脂系接着剤（アラルダイト・スタンダード；Huntsman、テキサス、アメリカ）を塗布・硬化させた。接着の品質は良好で、3 週間以上の純水試料の連続測定や、1 日以上のメタノール試料の連続測定に対しても、視認できる劣化は認められなかった。

ガラス管が接着されたセンサ・チップの電極部に対して、電気配線のための接続端子形成が行われた。Fig. 4-10 に、ガラス管接着部と端子部の断面概略図を示す。接続部となるニッケルパターン上に導電性接着剤（CW2400；Chemtronics、ジョージア、アメリカ）を塗布し、18[μm]厚の銅箔を接着した。銅箔の上から被覆線をはんだ付けにより固定、接続端子とした。回路との接続は、接続端子の開放端と、回路からの配線とをはんだ付けすることで実施した。このような構造を取る事により、同一センサ・デバイスの、システムへの安定した搭載／離脱／再搭載を可能とした。また、極めて薄いニッケル薄膜の、経路上の抵抗値による影響を低減する効果も期待できる。

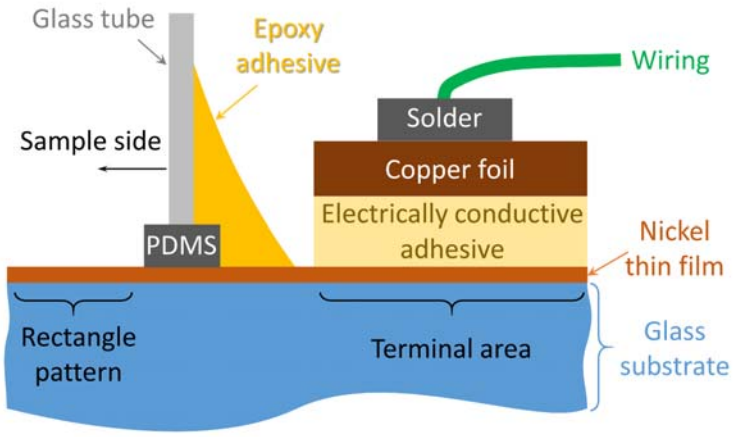
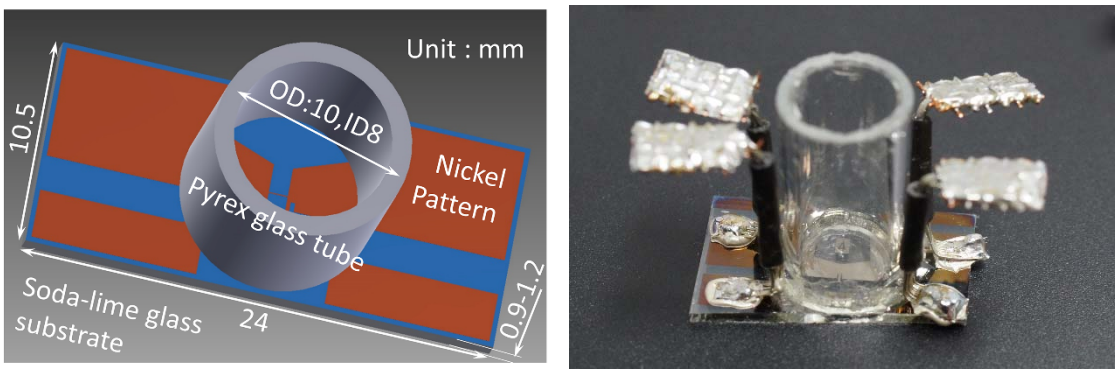


Fig. 4-10　Cross-sectional view of the glass tube and electrical contact area on the sensor device.

Fig. 4-11 に、ガラス管を接着したセンサ・チップの概形と、完成したセンサ・デバイスの写真を示す。



(a) Sensor chip with glass tube　　(b) Sensor device

Fig. 4-11　Schematic of sensor chip with glass tube and photograph of sensor device.

4.4　計測システム

センサ・デバイスは、温度調整器（E5CN-H；オムロン（株）、京都、日本）によって制御された循環恒温槽につながれた銅ブロック（P-100S、60×60×10mm；高木製作所（株）、京都、日本）上に設置された。同じ銅ブロック上には、三線方式で接続された Pt100 センサ（FK222-100-A、Class A；Heraus、 Hanau、ドイツ）が設置され、0.01[K]の分解能で温度計測された。温度を保持している期間の銅ブロック温度の表示値の変動は、およそ±0.02[K]に収まっていた。センサ・デバイスと銅ブロックの配置について、概略図を Fig. 4-12 に示す。Fig. 4-12 には示されていないが、センサ・デバイスと同等の配線を用いて、標準抵抗 Rf も同じ断熱容器内に配置された。

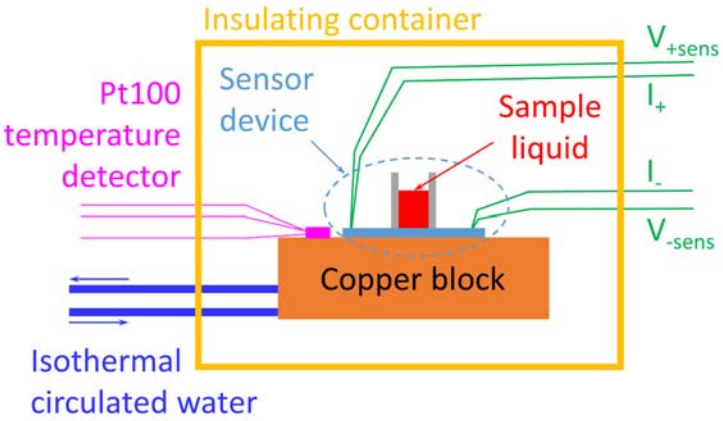


Fig. 4-12　Schematic of the setup of the sensor device.

4.5　センサによる計測性能評価

前節までに構築した計測システムを用いて、センサの計測性能について評価を行った。

4.5.1　センサ・デバイスの静特性評価

本研究のセンサ・デバイスは、構造だけで見るといわゆる測温抵抗体と同等とみなすことができる。高速パルスによる加熱・温度測定の同時実施といった駆動方式と切り離して考えると、電気抵抗値、抵抗率、TCR が基本特性となる。これら基本特性の評価を行うことで、デバイスの加工ばらつきなどに関する知見を得ることも期待できる。

一方で前節において駆動・検出回路自体の基本性能を決定する安定性の評価を実施したが、回路にセンサ・デバイスを搭載した、高速熱応答マイクロプローブとしての総合的な動作性能についても評価することが必要である。本項における検討を通して、回路から出力されたデータをどのように扱えば高い信頼性を持った解析が行えるかを評価することも期待できる。

そこで本項では、さまざまな矩形パターン寸法のセンサ・デバイスを試作し、構築した駆動・検出回路を用いて測温抵抗素子としての静特性を評価することを通して、デバイスの試作ばらつきや品質を確認するとともに、高速熱応答マイクロプローブの基本的な動作を検証することを目的とした。

4.5.1.1　矩形パターンの電気抵抗値と抵抗率

矩形パターン部の電気抵抗値と、金属薄膜の抵抗率の評価は以下のように実施した。センサ・デバイスには 400[μL]の純水を測定試料として設定した。この試料容量は本測定法の最小試料容量ではない。100～500[μL]の試料容量で、測定値に有意な差は認められなかった。試料の揮発を防止するため、センサ・デバイスのガラス管の開放端は、パラフィン・フィルム（Parafilm M；Bermis Company Inc.、 Minneapolis、Minnesota、アメリカ）によって封止した。以降の実験においては、特記されない限り同様の試料容量・封止方法を採用している。銅ブロックの温度を 27.5[℃]に設定し、温度が平衡状態になるように十分な待機時間を取った。温度平衡に到達した後の約 10～60 分間に、約 13～238 個の分析値を取得、これらの平均値を採択値と呼び、以下の計算に用いた。以下明記しない限り複数の分析値の平均を取った採択値のことを出力と称することがある。加熱パルスは、センサの抵抗値に応じて 5 あるいは 10[μs]のパルス幅、ゲインを決定する積分回路のコンデンサ容量には 2.2 あるいは 3.3[nF]を測定レンジ内に収まるように選択した。加熱電流は、本論文全体を通して 5[mA]が採用された。同一期間内に、同一条件で標準抵抗 Rf に対しても測定を行った。Rf

は抵抗値が既知であることから、Rf とセンサ・デバイスに対する採択値の比から、センサ・デバイスの抵抗値 Rs を算出することができる。以上のサイクルを複数回繰り返し、その平均値を結果とした。

計測中は矩形パターンがパルス電流によって加熱され、センサ・デバイスの基板材料や試料の熱物性に応じて温度上昇が発生していることから、厳密には外部で設定された 27.5[℃]の条件で測定されているわけではない。しかしながら後述するようにセンサ・デバイスの TCR がおよそ 2900[ppm/K]程度であったことから、ここで評価された抵抗値への影響は 1%未満と見積もられる。光学顕微鏡（VK-9510；(株) キーエンス、大阪、日本）により矩形部の形状を測定、得られた寸法と膜厚の設計値とから、ニッケル薄膜の抵抗率を計算した。センサ・チップの設計情報と合わせて Table 4-1 に結果を示す。

Table 4-1　List of the sensor design parameters and properties.

Sensor ID Number	Supttering batch number	Thikness of the Ni thin film	Rectangular pattern			Electrical Resistance	Electrical Resistivity	Temperature coefficient of resistance
			Terminal type	Width	Length			
				Design (Measured)	Design			
		[nm]		[μm]		[Ω]	[$\times 10^{-7}$ Ω×m]	[ppm/K]
#1	1	75	2	10(9.1)	1400	278	1.4	2910
#2	2	25		1(0.5)	2	49	3.2	2790
#3	3	75		2(1.5)	50	78	1.7	2840
#4	4			100(100.1)	5000	93	1.4	2830
#5	5	25	4	9(8.0)	143	80	1.1	2880
#6				30(29.4)	475	67	1.0	3020
#7				90(89.2)	1425	76	1.2	2930
#8				300(298.9)	4750	74	1.2	2870
#9	6			2(1.4)	31	124	1.4	3100

バルクのニッケルの抵抗率はおよそ0.7×10^{-7}[Ω・m]である[57]。算出された値は、この値よりも総じて高く、特に#2 のセンサは 4.6 倍高くなっている。パターニングを実施する前の予備的な膜抵抗の評価では、該当する成膜基板に特筆すべき異常は確認されなかった。Fig. 4-13 に矩形パターンの幅と抵抗率の関係を示す。成膜バッチや膜厚と抵抗率との間には明確な相関関係は確認されないが、矩形パターンの幅が 2[μm]を下回る領域から、幅の縮小とともに抵抗率が上がっている傾向が確認される。また 4 端子パターンと比較して、２端子パターンの方が同じ矩形パターン幅であっても抵抗率が高めに評価されている。これらの結果から、2 端子パターンでは、矩形パターン部以外のニッケルパターン引き回し部の抵抗影響が無視できないと考えられる。特に矩形幅が数μm 以下の領域においては、電

流が矩形パターンに到達する直前と、矩形パターンから出力される直後とで電流の集中が発生することから、その影響が大きくなると推定される。#2 のセンサ・デバイスでは、抵抗値として評価された値のうち 60%以上が、引き回し部の抵抗であると推定される。

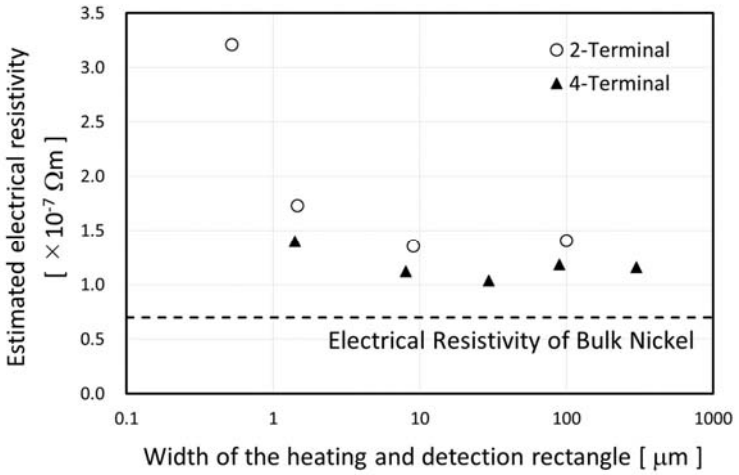


Fig. 4-13　Estimated electrical resistivity as functions of the width of the rectangle pattern.

Fig. 4-13 の評価における分析値の短期ばらつきは極めて小さく、誤差棒として表記するには適さなかったので、別途ばらつきについて Fig. 4-14 に整理した。

Fig. 4-14 では抵抗率評価時の、分析値の短期的なばらつきを整理している。ここでは約 10～60[min]間の間に、約 13～238 個の分析値を取得している。この評価中は、測定条件が変更されることなく、連続的に測定を続けている。この期間の分析値の標準偏差を短期的なばらつきとして定義した。回路の安定性とほぼ同等の短期安定があることが確認できた。出力値は 10[μs]パルス励起のもので平均-0.8844[V]、5[μs]パルス励起のもので-0.7229[V]であった。以下で検討する、センサ・デバイスの抵抗値の温度依存性をもとに短期変動を温度換算すると、それぞれ 0.011[K]、0.025[K]に相当する。

センサ・デバイス出力の短期安定性が回路単独と同等レベルであったことは、センサ・デバイスが環境温度変化に対して安定な温度を維持していたことを意味している。４.４で述べたように、センサ・デバイスを搭載した銅ブロックの温度を測定していた白金測温体は±0.02[K]程度の温度のふらつきを示しており、これは約 10[μV]程度の追加の変動要因になりうる。実際には銅ブロックの温度を測定していた測温体と比較して銅ブロック自体の熱容量の方がはるかに大きいため、実際の銅ブロックの温度変動は測温体による温度変動よりもはるかにゆっくりとしたものであったと考えられる。

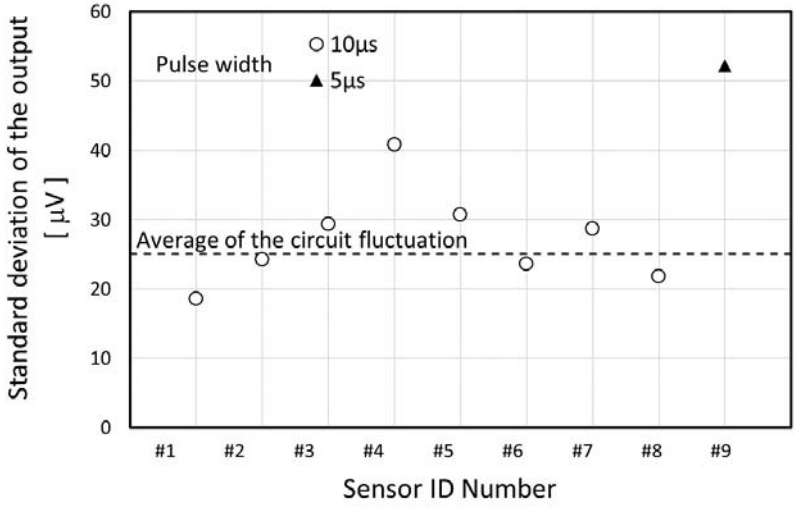


Fig. 4-14　Evaluation results of the short term stability of the analytical value from sensor devices.

Fig. 4-15 の評価では短期的な連続測定に対して、数時間以上の期間をあけて繰り返し測定を実施した際の変動を示している。時間をあけている間、試料の純水は交換することなく、センサ・デバイスを搭載している銅ブロックの温度制御を調整して 27.5℃から 37.5℃の間をステップ的に変動させる温度サイクルを実施していた。温度サイクルの繰り返し時間は評価したデバイスによって異なるが、3～162 時間の間であった。当該評価期間の相対標準偏差を長期変動と定義した。

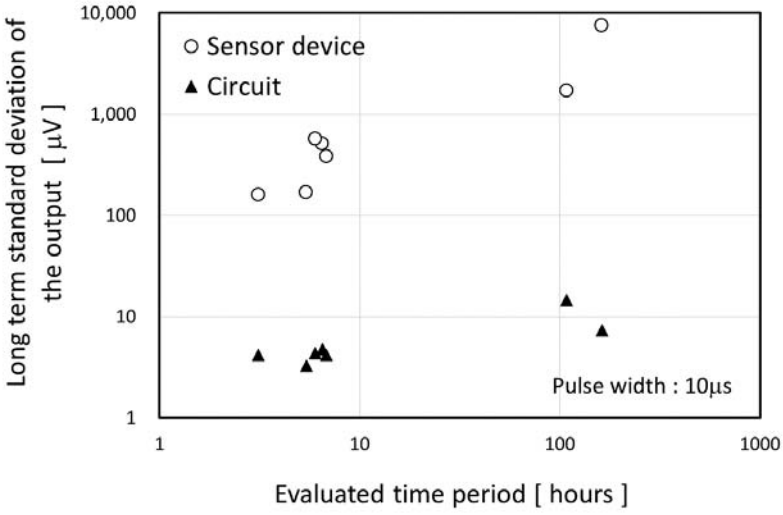


Fig. 4-15　Long term fluctuation of the analytical value from sensor devices.

評価期間が延びるとともに変動が増加し、最大で 7500[μV]程度になっている。それでもなお Fig. 4-13 の縦軸スケールでは変動が視認できない程度の大きさである。一方で Fig. 4-14 で議論した短期的ばらつきと比較すると、長期変動は大きい。Fig. 4-15 には Fig. 4-6 で評価した回路の長期変動についてのデータを再掲している。

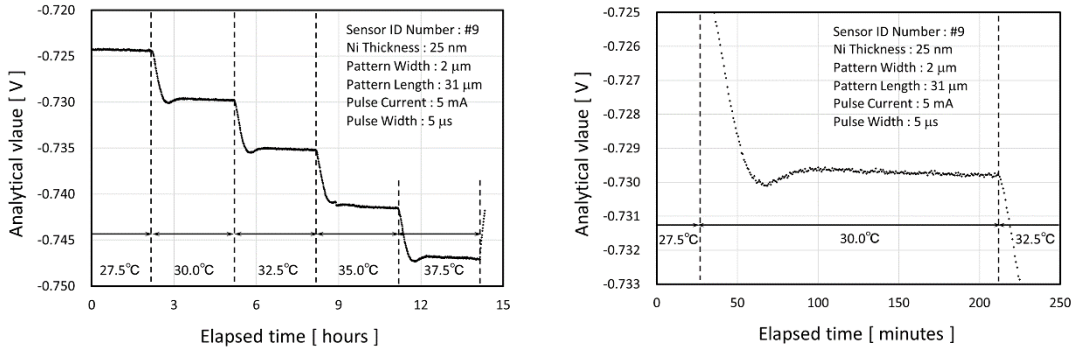
これらの比較から、センサ・デバイス出力における長期変動は、センサ・デバイス感応部における何らかの状態変化を検出した結果であると考えられる。長時間経過したデータ同士の比較には十分にこの影響に配慮することが求められる。以下の評価では、可能な限り短い時間のデータ、具体的には 1～2 時間以内をめどに評価することで、Fig. 4-15 に見られる影響を抑制した。

以上の分析結果から、Fig. 4-13 で確認された変化は、高い精密さで評価できているものと判断する。一方で Fig. 4-14 および Fig. 4-15 で議論された高い精密さは、抵抗率評価値の正確さ、ないしは絶対的な精度を示すものではないことには注意が必要である。抵抗値の評価に用いた参照抵抗の抵抗値の精度は100[Ω] ± 0.5%程度である。また矩形形状の評価に用いた光学顕微鏡による測長精度は、矩形形状が大きい場合には数%程度は期待できるが、最小のものではたかだか10~20%程度である。また膜厚計を用いたニッケル膜厚の評価結果は、設計値に対して 2～10%の誤差があったことを示している。これらのことから Fig. 4-13 の抵抗率に対する総合的な精度はたかだか30%程度と見積もられ、主に矩形形状の評価結果に起因するものと考えられる。この精度見積もりから考察する限り、Fig. 4-13 で確認された、抵抗率が全体的にバルクのニッケルの文献値に対して高めにシフトしていること、矩形

パターンの幅が狭くなるにつれて抵抗率が上昇する傾向、#2 のセンサ・デバイスの異常性のそれぞれには、有意性があるものと判断できる。

4.5.1.2　センサ・デバイスの抵抗値の温度係数

センサ・デバイスの TCR を以下の手順で評価した。抵抗値の評価と同様に、試料として純水を使用した。銅ブロックの温度を 27.5～37.5[℃]の間で 2.5[℃]刻みで変更し、それぞれ 3[h]の待機時間を設定した。実際に測定した際の分析値の時間変化の例を Fig. 4-16 に示す。



(a) 1 cycle period　　(b) 30℃ setting period

Fig. 4-16　Example of the analytical value during the TCR evaluation.

グラフ中で確認されるアンダ・シュートは、主に循環恒温槽の応答時間である。後に見るように、銅ブロックが温度平衡に到達している状態で 3～4[℃]温度が異なる試料を入れた時、試料温度が平衡に達するまでの時間応答ははるかに速い。温度平衡に達した後、15 分以上の期間から 20 個以上の分析値を取得、採択値を算出した。27.5～37.5[℃]の温度範囲で五つの採択値を取得し、これらの結果を直線近似して勾配を算出、この値を 32.5[℃]の採択値で正規化することによって TCR の値を算出した。採択値と温度との間の直線性は良好であり、決定係数はすべて$R^2 = 0.999$以上であった。評価された TCR の値を Table 4-1 に示している。

抵抗率の評価の場合とは異なり、TCR の値は電極パターンの影響をほとんど受けていない。たとえ抵抗値として算出された値の中に引き回しパターン部の抵抗成分が含まれていても、TCR を算出する際にはそれらを含めて正しく算出されることによると解釈できる。

評価された TCR の値はバルクのニッケルの TCR の値と比べて半分以下の低い値となった。バルクと薄膜材料の電気的特性の違いについては、これまでにも多くの研究がおこなわ

れている[63]。一般に金属薄膜においては、膜厚が一定の数字を下回ると、膜厚の減少とともに抵抗率が上昇し、TCR の値は減少するとされている。電気特性に影響を与え始める膜厚は材料や膜中の結晶形状などによって異なるが、自由電子の平均自由工程が一つの目安になる。ニッケル中の自由電子の平均自由工程はおよそ 20[nm]程度と評価されている。我々のセンサ・デバイスの設計条件ではちょうど膜厚減少による影響を受け始める領域であることを意味している。

膜厚の影響をより詳細に確認するために、矩形パターンの幅を 4[μm]に固定して、広い範囲で膜厚を変化させたときの抵抗率と TCR の値を評価した結果を Fig. 4-17 に示す。センサ・デバイスの抵抗値を一定に保つため、矩形パターンの長さは適宜調整されている。抵抗率に関しては Fig. 4-13 と同等の手続きで評価した。TCR に関しては、27.5～37.5[℃]の区間でΔ2.5[℃]ごとに温度をステップ的に変化させ、温度制御に用いている銅ブロックが温度平衡に到達したと判断できる期間から連続した 1 時間、約 38 個の分析値を抽出した。区間ごとに TCR を算出しその平均を黒丸のプロットで、標準偏差を誤差棒で表記している。

Fig. 4-13 の結果と同様に、抵抗率の評価値はニッケルのバルクの値よりも全体的に高いものとなった。特に 10[nm]のものでは極端に高い値となった。前述した内容と同様に、膜質・膜厚の影響が表れているものと考えられる。ここでも Fig. 4-13 と同様に、分析値自体の変動に起因する評価値のばらつきは、誤差棒として表記すると視認できないほどに小さかった。見積もられる抵抗率評価値の精度はおおよそ 4.5.1.1 で議論した内容と同等であるが、膜厚の精度は 10～45%の範囲であった。抵抗率評価値が全体的にニッケルのバルクよりも高い点、10[nm]のものが極端に高い点ともに有意性があると判断できる。

膜厚の低下とともに TCR の値が低下していることが確認できる。TCR の評価においても、分析値自体の変動はおおよそ 100[ppm]程度と極めて小さかった。抵抗率の評価において精度を支配していた矩形寸法や参照抵抗の抵抗値による影響などが計算の途中で相殺されてしまうことから、異なるセンサ・デバイス間に存在する精密さ・正確さを阻害する要因は大幅に低減される。Fig. 4-17 において、抵抗率と比較して TCR の方がより明確に膜厚依存性が現れている一つの理由と考える。一方で抵抗率の評価では含まれていなかったあらたな誤差要因としては、銅ブロックの温度を変更した時の温度計測誤差、温度サイクルを実施するために長時間の測定が必要となるため Fig. 4-15 で議論した長期変動が平均化されずに残存してしまう点などが挙げられる。ブロックの温度制御に用いている温度計の精度は 4.4 で示したように Pt100 センサ（Class A、±0.002×(T)+0.15[℃]、ただし T は測定する温度。32.5[℃]の場合は、±0.215[℃]）と温度調整器（E5CN-H；指示値の±0.1%または±0.5℃の大きい方）とから、たかだか±0.725[℃]程度と見積もられる。さらにこれ以外に、銅ブロックの温度測定を実施している個所と、センサ・デバイスの感応部の場所の違いによる誤差も加算される。しかしながらこれらの誤差も、TCR の算出時に各温度の差分を計算していることから、大半は相殺されてしまう。TCR を評価した温度の絶対値には誤差がそのまま表れるが、バルクニッケルの TCR の温度依存性を参照するとΔ147.5～150[℃]で

41.5～48.8%程度なので、今回のΔ10[℃]ではたかだか 4%未満と見積もることができる。逆に、TCR 算出の過程において異なる温度における分析値の差分を計算することから、分析値に存在し、平均化して採択値を算出した段階で残存する変動がそのまま結果に反映される。分析値の変動が 100[ppm]程度であったことに対して、Fig. 4-17 の誤差棒が大よそその程度のオーダであることに対応していると考えられる。評価された TCR の値や傾向が、これまでに報告されたもの[64-67]と比較して整合性があることなどから、推定したメカニズム、また今回実施した TCR 評価法には妥当性があると判断できる。

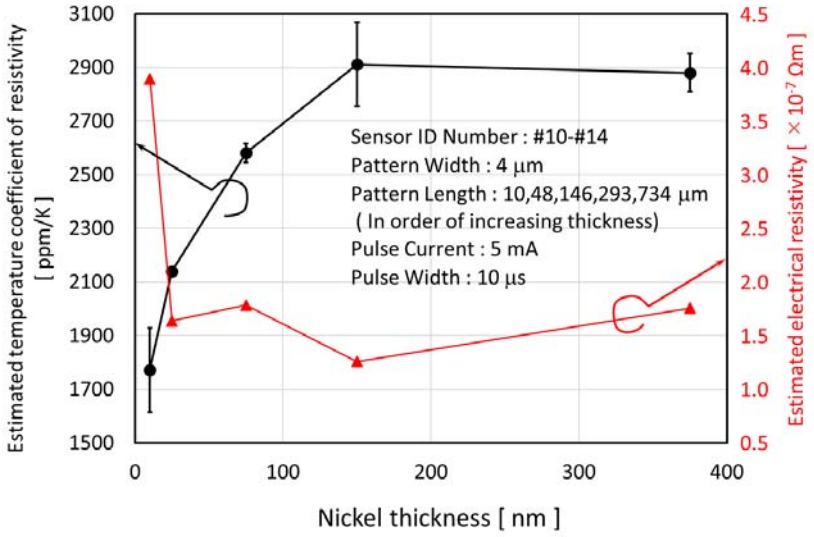


Fig. 4-17　Dependence of the nickel film thickness on the evaluated TCR value.

4.5.1.3　静特性評価と熱拡散検出プローブの基本動作検証結果のまとめ

本項の評価を通して得られた結果を以下にまとめる。

・試作したセンサ・デバイスは、60[min]以内の短期的な連続測定における安定性や温度と出力の線型性（$R^2 = 0.999$以上）という観点から評価すると、良好な測温抵抗素子として機能していることが確認できた。測定の安定性は標準偏差で 0.011[K]と見積もられた。前節の評価において検出回路の短期変動として 0.002[K]、駆動回路と検出回路を合わせて 0.008[K]と見積もられていたことと比較すると変動が大きくなっている。センサ・デバイスを温度制御しているばらつきなどが要因として想定される。しかしながら、温度制御器が示していた±0.02[K]の温度変動から見るとセンサ自体はかなり安定で、センサ周

辺の温度変動は極めて緩慢なものであると考えられる。

・矩形パターンの加工寸法精度や抵抗率の膜厚依存性・ばらつきなどによって、センサ抵抗値の試作再現性は数十%程度にとどまる。センサ抵抗値はそのままセンサ出力に影響することから、特に異なるセンサ・デバイス間の結果を比較する際に影響が大きくなる。これについては、各センサの出力値によって正規化することで影響を相殺して評価することができる。

・ニッケル薄膜の電気特性はバルクのそれと比較して、抵抗率は高め、TCR は低めとなり、これは報告事例とも一致する。特に 10[nm]まで膜厚を低減すると影響が大きくなる。TCR の低下は、熱拡散検出プローブとしての感度低下に直結する。一方で測温抵抗素子として、感度低下以外の致命的な問題は確認されなかった。

・60[min]程度の期間の短期的なばらつきが十分小さいことに対して、3～162 時間の長期間に温度サイクルをかけた際の変動は、時間とともに増加する傾向にあった。最大のもので 162 時間の間に標準偏差で約 6900[ppm]であった。原因は回路側ではなく、センサ・デバイスが何らかの状態変化を検出した結果であると考えられる。本手法を用いて高感度に試料の状態変化を検出したい場合には、出来るだけ短い期間で比較することが好ましい。

4.5.2　高速熱応答マイクロプローブの動作特性評価

前章までに構築したモデルから高速熱応答マイクロプローブのセンサ出力は、センサ構造や駆動条件を固定すると、試料の熱物性、具体的には熱伝導率と比熱とによって決定される。逆に考えれば、試料に発生した変化を、高速熱応答マイクロプローブがどの程度の感度で検出することができるかを、異なる熱物性を持った試料に対するセンサ出力の変化を確認することで評価することができる。そこで本項では、密度・比熱・熱伝導率の信頼できる値が報告されている流体試料を利用して、高速熱応答マイクロプローブの試料物性差異の検出性能を評価した。

銅ブロックの温度は 27.5[℃]に設定され、温度平衡に達するまで充分に待機した。平衡に達したのち、10 分以内の期間に約 13 個の分析値が取得され、ここから採択値を算出した。加熱パルスは、センサの抵抗値に応じて 5 あるいは 10[μs]のパルス幅、ゲインを決定する積分回路のコンデンサ容量には 2.2 ないし 3.3[nF]を測定レンジ内に収まるように選択した。

4.5.2.1　　試料物性差異検出性能の簡易評価

初めに、純水・メタノール（010-48665、１級、99.5%；キシダ化学（株）、大阪、日本）・空気の３つの流体試料を用いて、簡易的に検出性能の評価を行った。Fig. 4-18 に、性能評価を行っている期間に取得された分析値の時間経過について例示する。27.5[℃]で平衡状態にあるセンサ・デバイスの試料を、室温約 23[℃]で平衡状態にある試料に置換すると、2～3 分程度で再度 27.5[℃]の平衡状態に復帰していることが確認できる。メタノールから空気への置換の場合には、置換による過渡応答はほとんど観察されていない。空気の比熱の小ささによるものと推定される。純水とメタノールとの間の分析値の差が、メタノールと空気との差と同等にとどまっている点は、解析モデルによる Fig. 4-2 による結果と整合している。

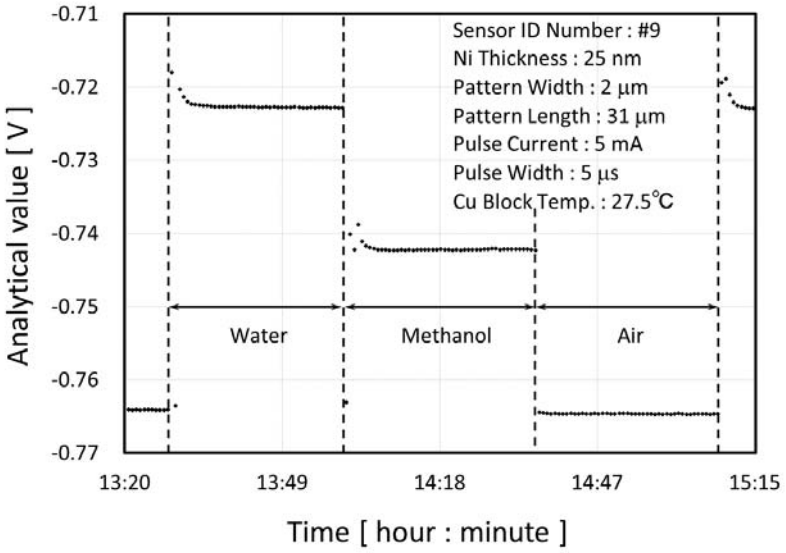


Fig. 4-18　Example of the analytical value during the detection performance evaluation.

試料物性検出性能の評価指標を、以下の式で定義した。

$$\text{Detection index} = \frac{\left(\text{A.V.}_{\text{water}} - \text{A.V.}_{\text{sample}}\right)}{\text{A.V.}_{\text{water}}} \qquad (4-1)$$

ここで$\text{A.V.}_{\text{water}}$は純水に対する採択値、$\text{A.V.}_{\text{sample}}$はメタノール、あるいは空気に対する採択値である。純水に対するセンサ出力を基準におき、これと試料に対するセンサ出力との

差分を、純水に対する出力で正規化している。このような指標を設定することによって、異なる矩形パターン設計条件、センサ抵抗値をもった複数のセンサ・デバイスの検出性能を比較評価できる。#1 から#9 のセンサ・デバイスに対する検出指標を、矩形パターンの面積によって整理したグラフを Fig. 4-19 に示す。

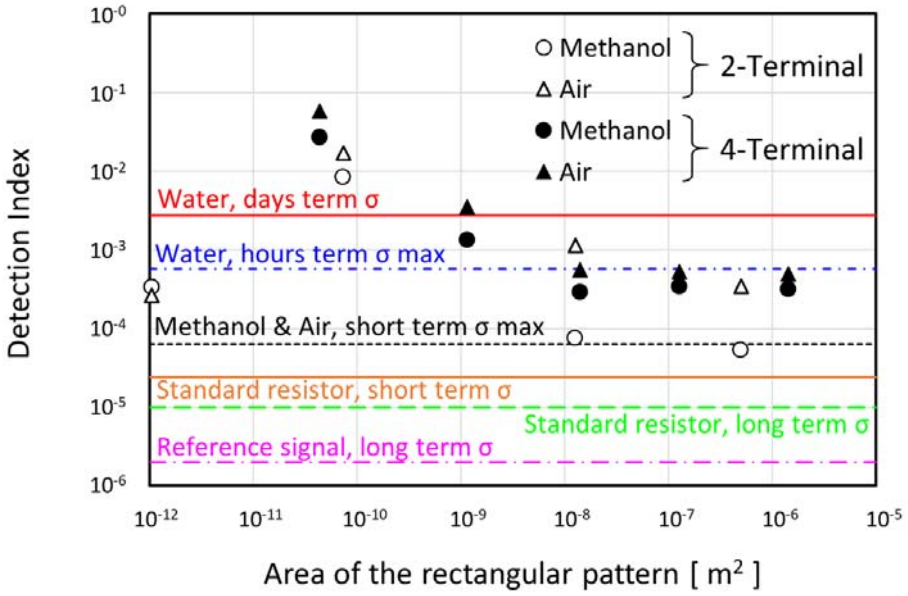


Fig. 4-19　Comparison of the detection index for different rectangular areas.

TCR が矩形パターンの形状による影響を受けなかったのに対して、検出指標は矩形パターンの面積が低下するとともに増加する傾向を示している。これらの評価では、加熱パルスの幅(5, 10[μs])・電流値(5[mA])・矩形パターンの抵抗値(49~278[Ω])が一定ないし狭い範囲での変化に保たれていることから、測定時の投入熱量(1.2~3.5[$\times 10^{-8}$J])はほぼ一定に保たれている。それに対して矩形パターンの面積を大幅に変更している(1.0×10^{-12}~5.0×10^{-7}[m^2])ことから、投入熱量の面積密度は大幅に変化している(1.3×10^{-2}~1.2×10^{4}[J/m^2])。これは測定時の温度上昇が、矩形パターンの面積によって大きく変化していることを意味する。TCR 評価の際は、この影響が相殺されるために、形状との相関が現れなかったと考えられる。一方検出指標の場合は、純水とそれ以外の試料に対する採択値の差分を取ることから、投入熱量の面積密度による相殺が行われない。(3 – 7)式からも明らかなように、パルス加熱による温度上昇は投入熱量の面積密度に比例する。Fig. 4-19 において確認される検出指標の面積依存は、投入熱量の面積密度の変化によってパルス加熱による温度上昇が変化し、試料物性の検出感度に反映された結果であると考えられる。

矩形パターン面積が1×10^{-8}[m^2]を上回る領域では、検出指標の面積依存性が消失している。これはパルス加熱による温度上昇の検出下限によるものと考えられる。前項での議論と同様に、水・メタノール・空気を測定している間の分析値の短期ばらつきは、Fig. 4-19 では誤差棒で表記すると視認できないほどに小さい。そこで Fig. 4-19 では、検出指標と比較することが可能な、様々な段階でのばらつきの要因を線分で表している。

一番下のマゼンダで表記された一点鎖線は、参照信号回路を用いて評価した、検出回路の長期安定性を相対標準偏差で示した、2[ppm]を示している。

下から二番目の緑色で表記された破線は、標準抵抗を用いて評価した、配線からのノイズ混入や定電流回路の変動を含めた長期安定性を相対標準偏差で示した、10[ppm]を示している。Fig. 4-19 で示されている検出指標は、これら回路要因の変動よりもはるかに大きいことが確認できる。

下から三番目の橙色で表記された実線は、Fig. 4-5 で評価した、標準抵抗に対する短期ばらつきを相対標準偏差で示したもので、その大きさは 24[ppm]であった。これは配線からのノイズや定電流回路の短期変動が含まれたものである。

下から四番目の黒色で表記された点線は、Fig. 4-14 で評価したすべてのデバイスの、メタノール及び空気に対する短期ばらつきについて、最も大きかったものを相対標準偏差で示しており、その大きさは 64[ppm]であった。検出指標の最も小さいものはおおよそこのラインの近傍にあり、ばらつきによって下限が決定されていることが伺える。

下から五番目の青色で表記された一点鎖線は、検出指標の基準に用いた水に対する採択値の、2～6.5 時間の全評価期間の間にそれぞれのセンサ・デバイスで確認された変動を相対標準偏差で示したものの最大値である。その大きさは 580[ppm]であった。評価中はセンサ・デバイスを搭載している銅ブロックの温度を一定に固定し、試料の交換作業だけを行っている。Fig. 4-15 で評価した、センサ・デバイスのみで見られた長期変動と同程度の変動が発生していることが分かる。また Fig. 4-19 において、矩形パターンの面積を増加させていったときに、理論的には低下し続けるはずの検出指標が、このラインを境に低下が停滞している。数時間単位の測定中に発生する変動の影響が支配していたことを示唆している。

最後に下から六番目、一番上の赤色で表記された実線は、#2 のデバイスにおいて、148 時間の間温度サイクルなどの評価を実施した前後での水の採択値の変動を相対標準偏差で示したもので、その大きさは約 2800[ppm]であった。矩形パターン面積が 10^{-10}[m^2]を下回るセンサ・デバイスでは、#2 のセンサ・デバイスを除いてこの赤色の線を上回っている。試料物性差異の検出がかなり高い信頼性で実現できていることが分かる。もっとも検出感度の高いセンサ・デバイス#9 のメタノールに対する検出指標は 27000[ppm]であった。試料に対する短期ばらつきの値 64[ppm]と、純水およびメタノールの熱伝導率から計算すると、システムの検出分解能は熱伝導率換算で$\Delta 0.0010$ W/(m・K)と見積もられる。

センサ・デバイス#2 に対する結果は、これ以外のセンサと比較して異なる傾向を示している。これについては二つの理由が考えられる。一つ目の理由は、4.5.1.1 で議論した引

き回しパターン部における抵抗値の影響である。Fig. 4-19 の議論では、すべての熱量が矩形パターンに投入されていることを前提としている。センサ・デバイス#2 では、評価された抵抗値の 60%以上が引き回し部に起因すると推定されたことから、半分以上の熱は矩形パターン以外の場所に投入されたことになる。二つ目の理由は、センサ・デバイス#2 の寸法自体にあると考えられる。他のセンサ・デバイスと比較して、無視できない割合の熱量が、矩形パターンの外部に散逸していると推定される。３.２で議論したように、本法では次式で表現される無次元パラメータが計測に影響を与える。

$$C = \frac{r}{\sqrt{4\alpha t}} \qquad (4-2)$$

ここでrは注目している位置の熱源からの距離、tは加熱時間、αは媒質の熱拡散率である。無限均一媒質に対する任意形状を有する熱源による熱伝導方程式の解は、内部に$-C^2$を持つ指数関数の、時空間方向の積分によって表現される。２.２で議論したように、隣接する半無限固体に対する解も、概略としてこれと同等とみなす事が出来る。いま、$C = 1$の状況を、$\alpha \approx 5 \times 10^{-7}[\mathrm{m^2/s}]$（ソーダライムガラス）、$\mathrm{t} = 10 \times 10^{-6}[\mathrm{s}]$の条件で考えると$r = 4 \times 10^{-6}[\mathrm{m}]$となる。センサ・デバイス#2 は唯一、矩形パターンの幅も長さも、この値を下回る構造を取っている。言い換えれば、#2 では式$(3-7)$のf_rは、他のセンサ・デバイスと比較して小さな値を取っていると考えられる。加熱と同時に拡散をはじめた熱の多くの割合は、#2 のデバイスにおいては矩形領域から離れていることを意味している。

Fig. 4-19 では、メタノールと空気に対する検出指標に差が見られる。メタノールに対する空気との比はおよそ 0.5 であった。これは試料がメタノールの時と空気の時とで、熱の拡散にどの程度の違いが出たかを表している。メタノールと空気とでは熱伝導率がおよそ 10 倍異なることから、熱源がすべて試料でおおわれる THS 法のモデルではこの値は 0.04 程度になると見込まれる。本法では熱源周囲の半分が基板のガラスであることから、試料側の熱物性が大きく変化しても、その影響は半分程度に抑えられる。Fig. 4-19 におけるメタノールと空気との比がおよそ 0.5 となっていることは、まさにこのことに対応していると考えられる。

４.５.２.２　高速熱応答マイクロプローブの詳細動作特性解析

次に、高速熱応答マイクロプローブのより詳細な動作特性評価を行った。測定する試料として、以下の 8 種類の液体を用いた。用いた液体試料とそれぞれの熱物性については付録の Table 7-2 に整理している。

矩形パターンの幅を 4[μm]に固定し、長さを変更して試作した５つのセンサ・デバイス

#10～14 の出力について評価した結果を Fig. 4-20 に示す。ニッケル膜厚は、センサ・デバイスの抵抗値を一定にとどめるために調整されている。ここでプローブ出力とは、エタノール 20wt%水溶液に対する採択値と純水に対する採択値の差で示している。グラフ中には原理式(3 – 7)から推定される、センサ出力の矩形幅依存性についても同時に示している。

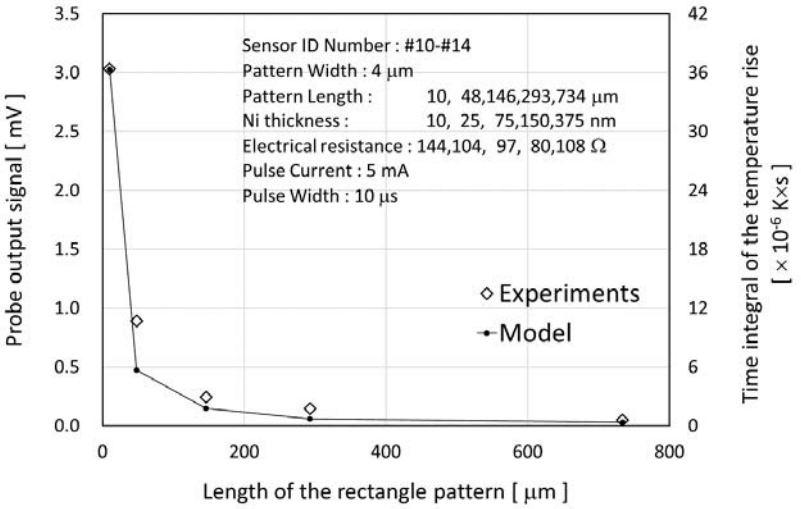
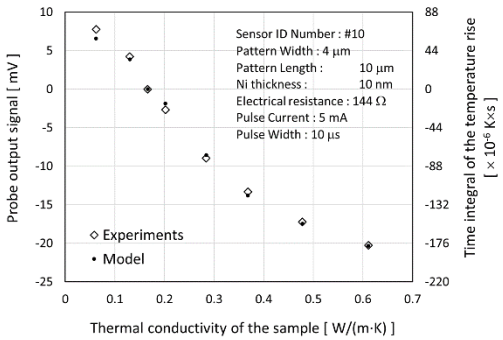


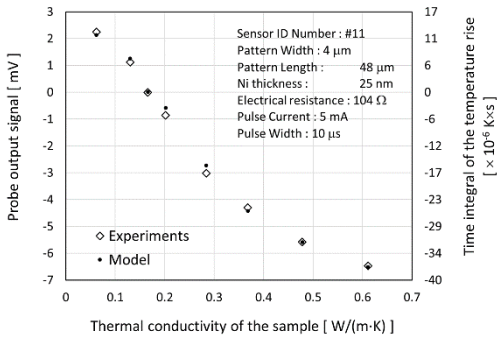
Fig. 4-20　Dependence of the heat source length on the sensor sensitivity.

Fig. 4-20 からは、矩形パターンの長さに対する明解な逆比例の傾向が確認できる。Fig. 4-19 で指摘した、発熱量の面積密度による感度への影響と考えられる。

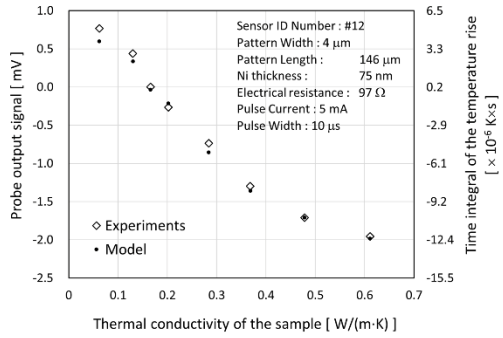
次にセンサ・デバイス#10~14 の、各種液体試料に対するプローブ出力を Fig. 4-21 に示す。プローブ出力は、純粋なエタノールに対する出力からの偏差で示している。グラフ中には、原理式(3 – 7)から予測される、プローブ出力についても同時に示している。



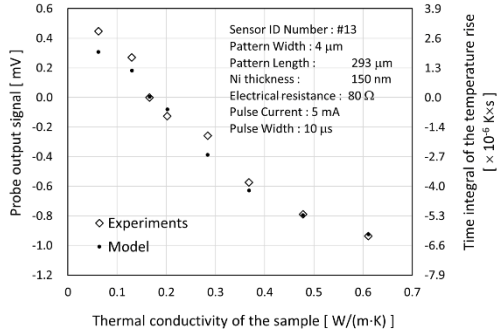
(a) Length = 10 μm



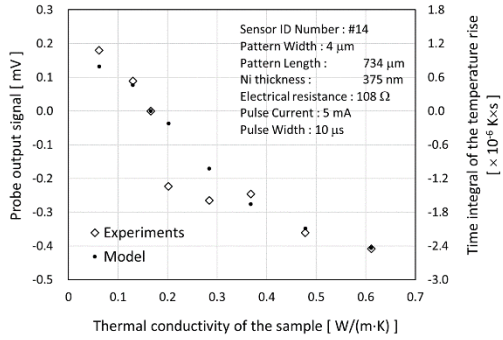
(b) Length = 48 μm



(c) Length = 146 μm



(d) Length = 293 μm



(e) Length 734 μm

Fig. 4-21　Outputs of the Sensors for various liquid samples.

幅広い熱伝導率にわたって感度を有しているとともに、モデルと比較しても良い一致が得られていることが確認できる。矩形パターンの長さが 293[μm]以上の領域でモデルからの乖離が目立ち始めている。乖離の傾向に一貫性がないことから、モデルの破綻というよりは、発熱密度低減によるプローブ出力低下に起因した、S／N比の低下が原因と推定される。

4.5.3　理想的なモデルからの乖離に関する考察

4.5.3.1　界面熱抵抗の影響

理論モデルでは　二つの領域は完全な熱的接触が実現していることを仮定していた。これは物理的に実現困難であり、熱抵抗の存在による影響の評価が求められる。本章で我々が実際に採用した具体的な実装では、ガラス基板上に RF マグネトロンスパッタリングによりニッケル薄膜を成膜、これのジュール発熱を利用して熱源とした。スパッタリング薄膜と基板との密着性は良好で、熱抵抗値は比較的小さい値であることが想定された。これがモデルの議論において、熱抵抗の影響を無視できると仮定した背景にある。

SiO_2 とスパッタリングによって成膜されたニッケル薄膜との間の熱抵抗として、10^{-9}~10^{-8}[(m^{2}K)/W]といった値が報告されている[47]。この値から5×10^{-8}[(m^{2}K)/W]と仮定し、センサ・デバイス#3、#5、#9 の設計条件をもとにその影響を算出したところ、全体の温度上昇に対して 4～8%の温度飛躍が界面で発生すると見積もられた。

プローブの寸法を縮小し、計測の時間を短縮する方向を推し進めると、ここで見積もられた以上に領域の界面で発生する熱抵抗の影響が大きくなることが予想される。本モデルを用いて精密な物性計測を行う際には、今後この影響を実験的に評価・対処する必要がある。

4.5.3.2　対流の影響

本法のように液体を加熱する場合、測定中に試料の対流が発生する恐れがある。ここではレイリー数によるおおよその見積もりを行うとともに、実験的なアプローチで簡易的な評価を行う。

試料を 20[℃]の純水として熱源が 1[℃]温度上昇、試料側への熱の広がりがおよそ 1[μm]であったと仮定する。この場合レイリー数は 1.4×10^{-8} と見積もられる。一般に臨界レイリー数 1708 を超える領域から対流が発生するとされていることと比較すると、大きくかけ離れた条件で実験をしているとことになる。

次に簡易的な実験的検証を行った。一般に対流の影響が疑われる場合は、その影響の有無をセンサの配置を重力の方向に対して変化させることで測定値に影響が現れるかどうかによって確認できる。本研究のような構造のセンサの場合、上下を反転させるのが最も分かり

やすい方法であるが、温度制御ステージなどの影響により実施は困難であった。そこでセンサ・デバイスの角度を水平から 7°・22° と傾け、再度元の水平位置に戻す実験を実施した。傾ける方向は、影響が最も顕著に表れると予想される、矩形の長軸を中心軸とした回転とした。この場合、対流による流れの成分が矩形の短辺方向に発生することとなり、影響があった場合に感度良く検出できる。Fig. 4-22 に評価結果を示す。

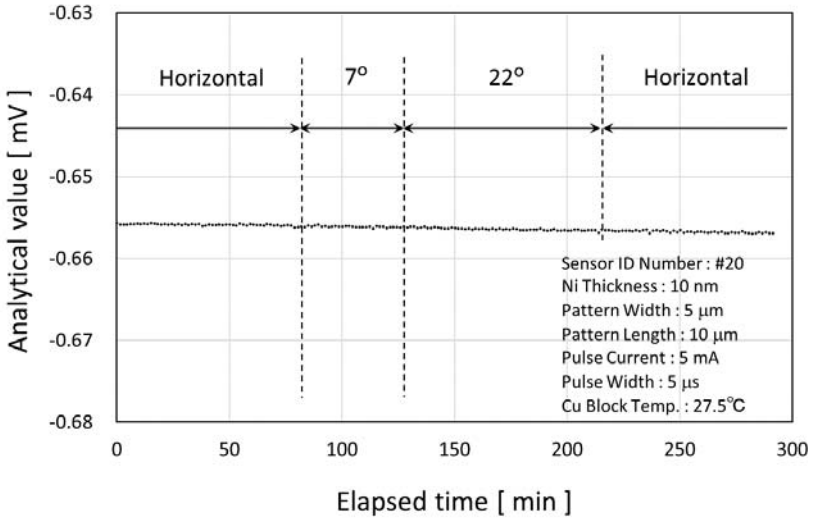


Fig. 4-22　Evaluation result of the influence of the tilt of the sensor device on the long axis of the rectangular pattern.

Fig. 4-22 からも確認できるように、センサ・デバイスを傾けたことによる有意な変化を確認することはできなかった。本プローブ法の設計範囲において、対流の影響は無視できる程度であると考えることができる。

4.5.3.3　電流の表皮効果

電流が導体中を交流的に流れる場合、周波数が上昇するにつれて電流が表面へ集中する、表皮効果が発生することが知られている。

本研究におけるパルス幅 10[μs]を周波数に置き換えると f=100[kHz]であり、ニッケルの電気抵抗率がおよそ $\rho=6.2\times10^{-8}$[Ω・m]、透磁率が $\mu=1.26\times10^{-4}$[H/m]であることから、表皮深さ d は次式のように見積もられる。

$$d = \sqrt{\frac{2\rho}{2\pi f \mu}} \approx 4.0 \times 10^{-5} \ \ [\mathrm{m}] \qquad (4-3)$$

今回採用するニッケルの膜厚は 10[nm]のオーダなので、薄膜全体が十分に導体として機能しうる条件であると判断できる。

４.６　　本章のまとめ

本章では、前章までに検討した隣接した半無限領域の界面上に配置された連続矩形熱源モデルを基にして、熱源から散逸した熱が、熱源から数[μm]の距離の範囲内にとどまっている時間範囲で、矩形熱源上の平均的な温度の変化が検出できる、高速・高精度な駆動・検出回路アーキテクチャを考案・実装した。実現できた回路の性能は、センサ・デバイスのTCR 値をもとにすると、10[μs]の電流パルス幅の加熱に起因する温度上昇が、標準偏差で0.0007[K]の分解能で検出できることに相当する。またＭＥＭＳ技術を応用して、μm オーダの寸法を持った熱源となる矩形パターンを具えたセンサ・デバイスを試作した。センサによる検出に対して外乱となる、周囲温度の変動を抑制する温度制御機構を作成し、十分な安定性があることが確認できた。

４.５ではこれらを組み合わせたシステムによる計測性能について、流体試料を用いて評価を行った。センサ・デバイスの静特性ともいえる抵抗値と TCR の値は、電極材料として採用したニッケルのバルクの値から想定されるものから解離したものであった。これらの結果はニッケル薄膜における電気特性に関する既存の報告と一致しており、採用した膜厚がニッケル中の自由電子の平均自由工程を下回っていることに起因するものであると考えられた。センサ出力から試料の物性値の違いを検出することに成功し、矩形幅 2[μm]、矩形長さ 31[μm]、発熱量 3×10^{-8}[J]、発熱時間 10[μs]の条件におけるセンサでは、試料の熱伝導率換算で約Δ0.001 [W/(m･K)]の分解能を備えていることが確認された。なおこの発熱量は、単一細胞の発熱量の事例として褐色脂肪細胞に対して報告されている 5.6×10^{-10}[J]、の約 50 倍、面積密度では約 25 倍程度に相当する。センサ出力は、液体試料の熱伝導率に対して高い相関性を持つことが確認できた。

本章で得られた結論は、次章で検討する培養細胞に対する測定で得られた計測値の解釈を行うための基礎的情報となる。

第５章　　高速熱応答マイクロプローブ法による培養細胞の計測

5.1　はじめに

本章では、前章までに確立した高速熱応答マイクロプローブ法を、培養細胞の観察に適用する方法について検討する。培養細胞は、内部にダイナミクスを持った微小でソフトな試料を代表するものである。

このようなタイプの試料は、分子オーダの複雑な構造や機構を内包していることが原因となって、外界からの刺激に対して敏感に影響を受ける傾向にある。生体試料の取り扱いにおいて、生体適合性や細胞毒性などと総称される因子がこれに相当する。このような試料を安定に保持・観察するためには、センサの表面を、試料の安定した存続にとって都合のよい状態に設計できることが好ましい。これは、センサ表面のコーティングや表面修飾によって実行される。本研究で提案する計測法の性能が、このような表面処理によってどのような影響を受けるかについて評価する。

次にセンサ・デバイス上で細胞培養を行い、細胞が矩形パターン上に存在することをプローブ法が検出できることを確認する。最後に、矩形パターン上に存在する細胞に意図的な環境変化を与え、これに誘起された細胞の状態変化が観測できるかについて検証する。

5.2　センサ・デバイス感応部表面の被覆による測定感度への影響評価

センサ・デバイスの表面に、poly(p-xylylene)（商品名 Parylene™ C）の薄膜を、CVD 法により成膜した（PDS 2010；Specialty Coating Systems Inc.、Indianapolis、アメリカ）。poly(p-xylylene)は、高い電気絶縁性と良好な生体適合性とを兼ね備えていることが知られている。Fig. 5-1 に、poly(p-xylylene)の膜厚とセンサ・デバイスの検出感度との関係を示す。

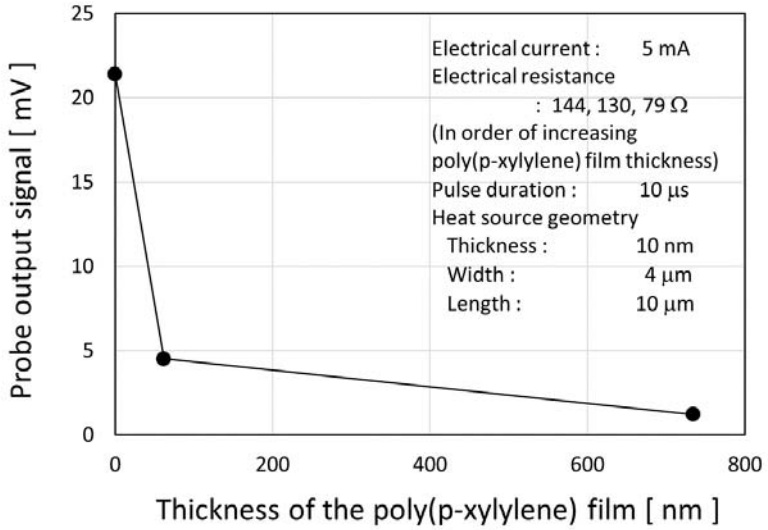


Fig. 5-1　Influence of the poly(p-xylylene) film thickness on the sensor sensitivity.

Fig. 5-1 における感度は、エタノールに対する出力を基準として、純水に対する出力との偏差によって評価した。nm オーダ膜厚の poly(p-xylylene)を成膜することにより感度が低下し、膜厚を増加させることでさらに感度低下が進行することが確認された。一方で約 700[nm]膜厚の poly(p-xylylene)が成膜された後でも、センサ自体は液体試料の物性値に対する感度を保持していた。

Fig. 5-2 に、ガラス基板と無限大膜厚の poly(p-xylylene)との間の界面に配置された連続点熱源によって形成される温度分布の、10[μs]後の状態を示す。B.M.W.解を利用して算出している。

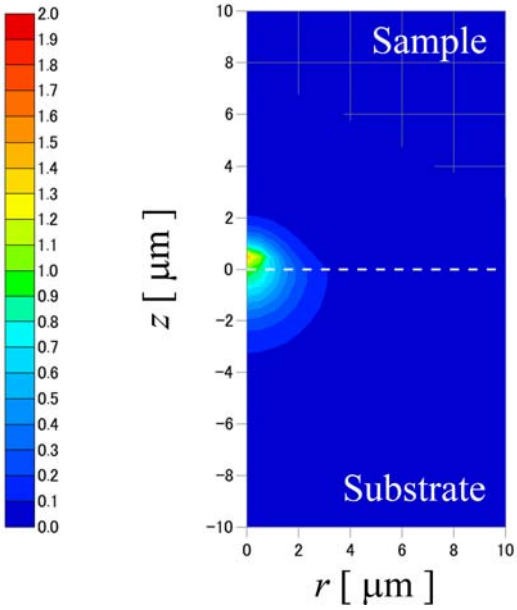


Fig. 5-2 Temperature distribution induced by the 10 [μs] continuous point heat source on the interface between glass substrate and poly(p-xylylene) as a sample calculated by using B.M.W. solution.

Fig. 5-2 における温度は、熱源位置の温度によって正規化して記載されている。ここから確認できるように、poly(p-xylylene)側の熱の大半は、界面から 1[μm]以内の領域に集中している。一方で温度が 10%減衰する位置は z=2[μm]近傍にあることは、700[nm]の poly(p-xylylene)膜を成膜した後にも試料に対する感度が残存していた実験結果と整合している。

感度を高くすることができる低膜厚側についても作製を検討したが、Fig. 5-1 に示した約 60[nm]より薄い膜厚領域では安定に成膜する事ができなかった。触針計による確認ではアイランド上の凹凸が確認されるにとどまった。成膜開始直後の核生成が十分に進展していないことが疑われる。

以降の評価では、Fig. 5-1 におけるもっとも薄い膜厚である約 60[nm]の条件を採用して評価を行った。

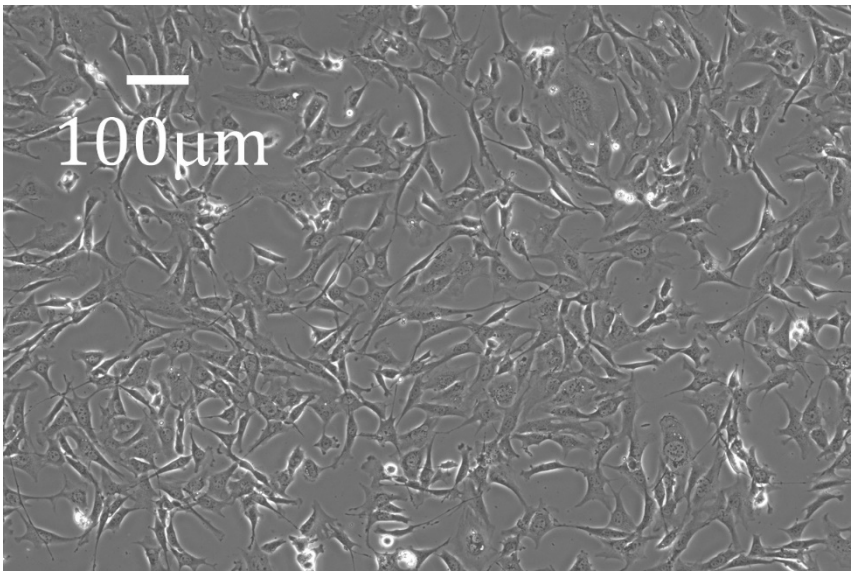
5.3　評価対象としたNIH/3T3細胞の性状

本法による培養細胞の評価対象として、マウス胎児の皮膚に由来する培養細胞株のNIH/3T3細胞を選択した[68]。用いたNIH/3T3株は、国立研究開発法人　理化学研究所バイオリソース研究センターより入手した。NIH/3T3は接着性の細胞で、培養中にディッシュなどの培養容器の底面に接着タンパクを介して接着・進展する性質がある。正常細胞の性質と、癌細胞のように無限に分裂する性質とを兼ね備えている。1969年に樹立されて以降、細胞生物学の分野において癌遺伝子の調査など、様々な分野で幅広く利用されている細胞株である。代表的な接着性細胞であり、これまでに様々な生物学的知見が蓄積されている。本法の培養細胞への適用可能性を評価するための標準試料として最もふさわしいものと考え、選定した。

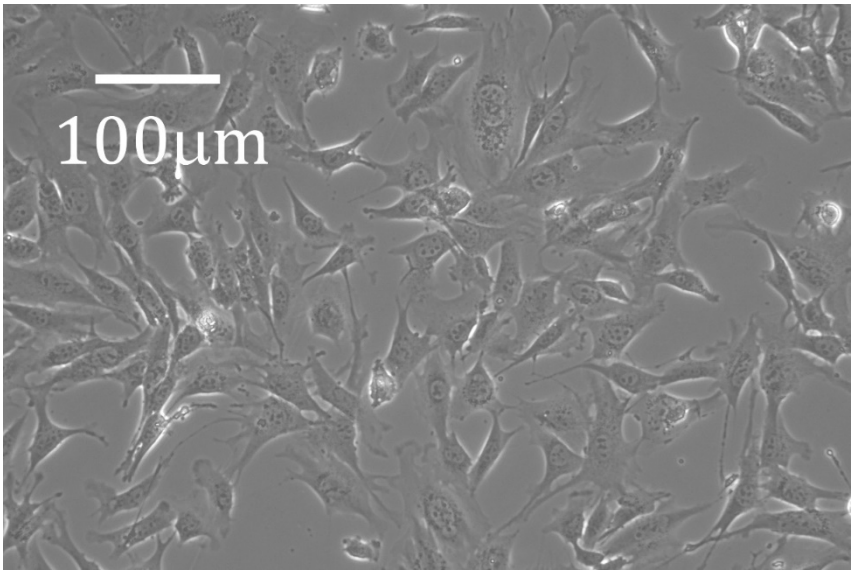
本研究にとって特記すべきNIH/3T3細胞が備えている代表的な特徴は以下の点である。

- 培養温度：37[℃]、CO_2濃度：5[%]。
- 倍加時間は約20時間で、活発に増殖。
- 飽和密度に達すると接触障害を示す。
- 増殖期には紡錘型の線維芽細胞様、飽和密度になると敷石状。
- 飽和密度での継代ではトランスフォーメーションを招くことから、亜飽和密度以上にはしない。

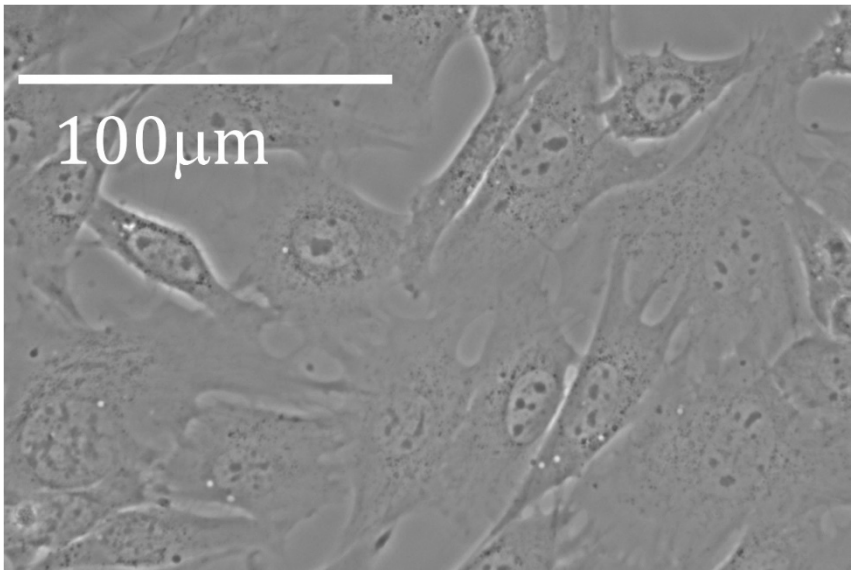
Fig. 5-3 に、標準的な培養用ディッシュで培養を行った時の NIH/3T3 細胞の位相差顕微鏡写真を示す。



(a) ×10



(b) ×20

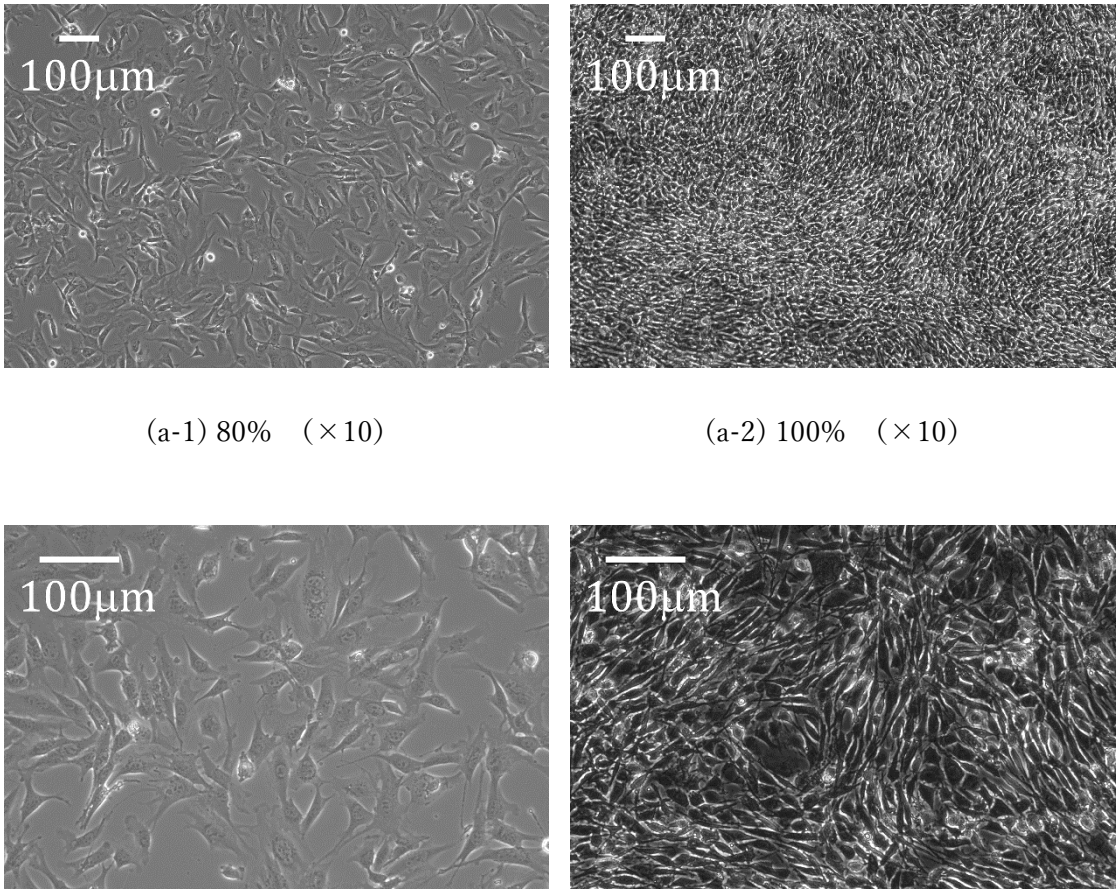


(c) ×60

Fig. 5-3　Photographs of the NIH/3T3 cells cultured in an ordinary dish using phase-contrast microscope.

細胞の大きさは、密度が 80%の時、長軸方向が平均 61[μm]、標準偏差 31[μm]、短軸方向が 22[μm]、標準偏差 8[μm]であった。

Fig. 5-4 に、細胞の密度が 80%の時と 100%の時の形態変化を示す。



(a-1) 80%　(×10)　　(a-2) 100%　(×10)

(b-1) 80%　(×20)　　(b-2) 100%　(×20)

Fig. 5-4　Influence of the cell density for cultivation.

密度が 100%の時は、長軸方向が平均 51[μm]、標準偏差 7[μm]、短軸方向が 22[μm]、標準偏差 8[μm]であった。密度上昇にともない細胞の寸法が縮小していることが確認できる。

5.4　センサ・デバイス上での NIH/3T3 細胞の培養

5.4.1　ディッシュにおける NIH/3T3 細胞の継代手順

細胞の培養には標準的な手順をもちいた。以下にプロトコルを整理する。培養液には DMEM(4.5 g/l Glucose) with L-Gln and Sodium Pyruvate, liquid（08458；ナカライテスク（株)、京都、日本)、リンスなどの用途に用いる生理食塩水には D-PBS(-) without Ca and Mg, liquid(10x)（11482-15；ナカライテスク（株)、京都、日本)、細胞同士や容器に接着した細胞を単一細胞の状態に懸濁させる目的に用いるトリプシン溶液には 2.5g/l-Trypsin/1mmol/l-EDTA Solution, with Phenol Red（32777-15；ナカライテスク（株)、京都、日本)、培養ディッシュにはポリスチレン製 35mm ディッシュ（IWAKI 35mm/Tissue Culture Dish code 3000-035；AGC テクノグラス（株)、静岡、日本）を用いた。

凍結されている細胞からの培養は以下の手順に従って実施した。

1．事前に、37[℃]に温度調整されたウォーター・バスを用いて、培養液・D-PBS を温度調整する。細胞に対する過剰な温度刺激を与えない狙いで行われる。
2．液体窒素から、解凍する細胞を取り出す。
3．150[s]の時間ウォーター・バスで振とうして解凍する。
4．15[mL]の遠沈管 CENTRIFUGAL TUBE FOR 15 ML（CFT1500；(株）エル・エム・エス、東京、日本）に 3[mL]の培養液を入れる。
5．1[mL]のセルバンカーを遠沈管に流し込む。
6．1[mL]の培養液をセルバンカーに入れ、ピペッティングし、遠沈管に移した後にさらにピペッティングする。
7．1000[rpm]・5[min]の条件で遠心分離する。
8．アスピレータで遠沈管内の混合液を吸い取る。
9．凝集した細胞を振とうでほぐす。
１０．遠沈管に 1.5[mL]の培養液を入れてピペッティングする。
１１．35[mm]ディッシュに移す。
１２．ディッシュを軽く振とうし、細胞を全面にいきわたらせる。
１３．インキュベータで培養を開始する。

継代は、以下の手順に従って実施した。

1．事前に、37[℃]に温度調整されたウォーター・バスを用いて、培養液・D-PBS・トリプシン溶液を温度調整する。細胞に対する過剰な温度刺激を与えない狙いで

行われる。

2．アスピレータを用いて、培養液の上清を吸い取る。

3．D-PBS を 0.5[mL]添加し、ディッシュを軽く振とうして細胞全面にいきわたらせ、リンスする。二回繰り返す。D-PBS は最終的にアスピレータで取り去る。

4．トリプシン溶液を 0.5[mL]添加し、約 3.5 分間、インキュベータ内で静置する。トリプシンにより接着タンパクが分解され、ディッシュ底面に接着した細胞が剥離し、一つ一つがばらばらになる。顕微鏡（BZ-X710；(株）キーエンス、大阪、日本）で、細胞が球形になっていることを確認する。

5．3 [mL]の培養液を添加し細胞を懸濁、15[mL]の遠沈管 CENTRIFUGAL TUBE FOR 15 ML に移す。1000[rpm]・5[min]の条件で細胞を遠沈させる。

6．遠沈管の上清を取り除き、軽く振とうして細胞をほぐす。2 [mL]の培養液を添加してピペッティングで懸濁させる。

7．下記の計算式をもとに、20%の濃度となる条件で培養ディッシュに取り分ける。

採取ディッシュの半径 x[mm]及び濃度 y%
植付ディッシュの半径 m[mm]及び濃度 n%
採取ディッシュから遠心分離によって採取できた細胞を薄める培地の量 2ml
植付ディッシュに移す懸濁液の量 L[ml]

$$\mathrm{L} = 2 \times \frac{\pi m^2}{\pi x^2} \times \frac{n}{y}$$

8．ディッシュに目標の細胞濃度となるように培養液を添加、軽く振とうして細胞をディッシュ全面にいきわたらせる。

9．顕微鏡で、細胞の分布状態を確認する。

１０．インキュベータに戻し、培養を続ける。

5.4.2　センサ・デバイスにおける NIH/3T3 細胞培養の手順

センサ・デバイスにおける培養も、前項と同様の手順を採用した。異なる点は以下の通りである。前項の手順番号と対応させて記述する。

8．　センサ・デバイスの容量を考慮して、400[μl]の培養液を入れる。

１０．　センサ・デバイス上ガラス管の開放端は、パラフィン・フィルムで封止する。

Fig. 5-5 に、デバイス上で培養した細胞の位相差顕微鏡写真を示す。矩形パターンがNIH/3T3 細胞一つの寸法と同等かそれ以下に設計されていることが確認できる。ニッケル膜厚を 10[nm]に設計すると、ニッケル膜を透過して細胞の培養状態を観察することができる。

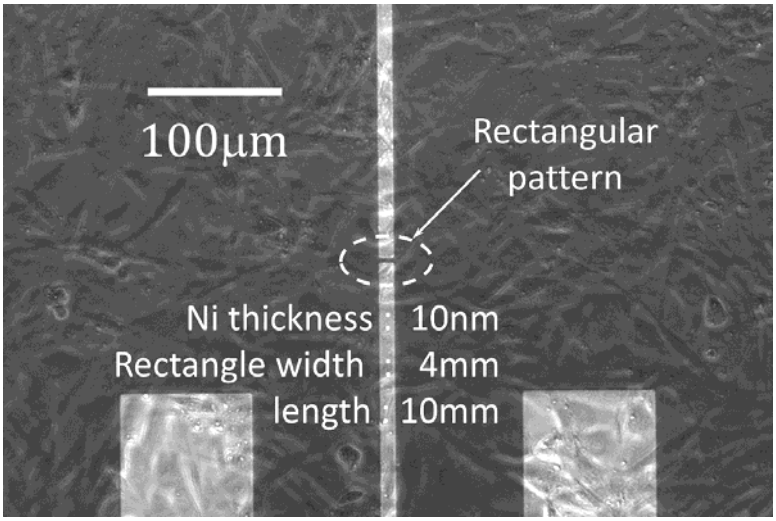


Fig. 5-5 Photograph of the NIH/3T3 cells cultured in the sensor device.

5.5　培養細胞の高速熱応答マイクロプローブ法による測定

培養細胞の測定は、以下の手順で行った。

前項で説明した手順によりセンサ・デバイス上で飽和密度まで NIH/3T3 細胞を培養した。培養したデバイスをインキュベータから取り出し、位相差顕微鏡で状態を確認したのちに測定システムに移動・搭載した。

銅ブロックの温度は、事前に培養時と同じ 37[℃]に設定された。この状態で直ちに測定を開始、約 30 分連続して測定を行った。次にセンサ・デバイスから細胞が含まれていない培養液だけを取り出し、別容器に退避させた。この状態でトリプシンにより接着タンパクを分解し、センサ・デバイス表面に接着している NIH/3T3 細胞を剥離、新規培養液によってセンサ・デバイス内をリンスした。培養液を再度除去したのち、事前に退避させていた、細胞を培養していた培養液を再度センサ・デバイスに戻し、約 30 分連続して測定を行った。ここまでの操作によって、同一の培養液を基準として細胞がある時とない時とに対するセンサ出力のデータが取得できる。一般に細胞は、培養される培養液との間で絶えず物質の交換を行っている。そのため、細胞の熱物性自体は絶対的な値そのものではなく、培養液からの偏差によって議論すべき性質のものであると考えられる。今回のような手順を踏むことにより、厳密に培養液と細胞との計測値の偏差が議論できる。

Fig. 5-6 に測定結果を示す。プローブ出力は、センサ・デバイス上に細胞がある場合を基準とした分析値の差分で示した。6 つの異なるセンサ・デバイスで別々に培養された細胞に対して測定を行った。

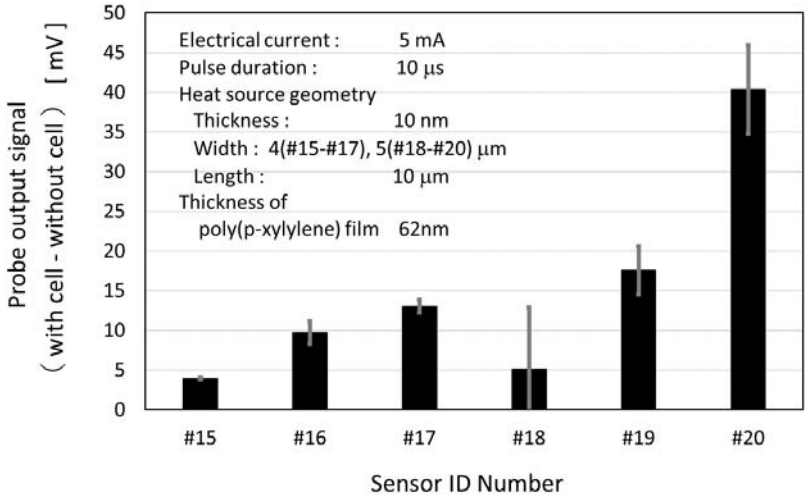


Fig. 5-6　Measurement results of the cultured cells on the sensor rectangle region.

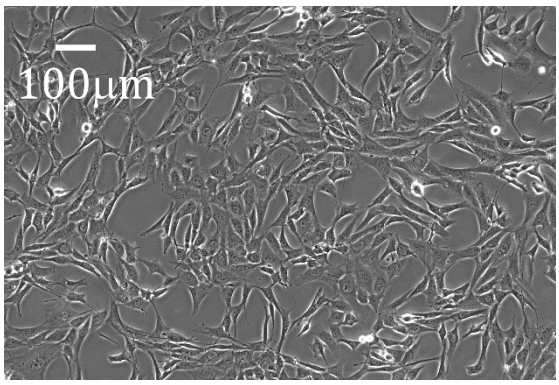
すべてのデバイスにおいて、細胞がデバイス表面に存在する方が、センサ出力の絶対値が増加する結果となった。この結果は、細胞がある方が矩形パターン上の温度が上昇していたことを意味する。すべてを熱物性の違いであると見なして考えると、細胞の方が培養液より熱伝導率が低いか、体積当たりの比熱が低いことに相当する。

単一細胞の熱伝導率を計測した唯一の先行研究では、0.579 [W/(m・K)]という値が報告されている[69]。これは水よりも低い値である。一般に細胞は質量比で 70%が水、26%がタンパク質や核酸などの有機巨大分子とされている[70]。水が、その強い水素結合によって熱伝導率や比熱において特異的に高い値を取る事はよく知られている[71]。細胞の熱伝導率や比熱が、培養液よりも低い値である可能性を示唆する今回の結果は、これらの点から考えても妥当なものであると考える。

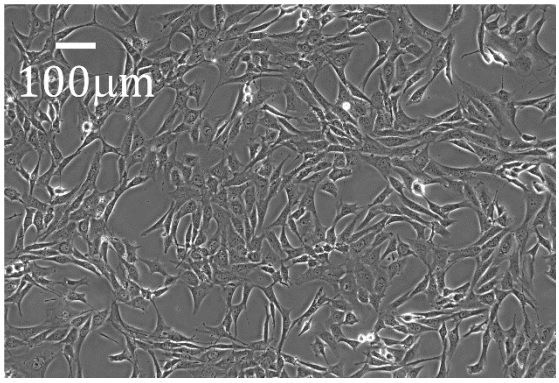
5.6　高速熱応答マイクロプローブ法による細胞の状態変化観察の検討

最後に、細胞の状態変化の観察について検討した。人為的に発生させる細胞の状態変化として、細胞生物学では初歩的な実験である、培養液の濃度変更を試みた。

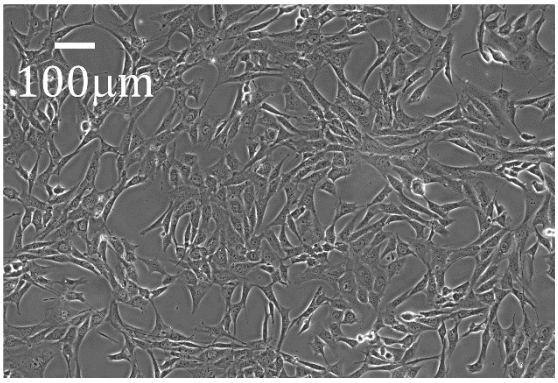
はじめに、通常のディッシュ上で濃度変更の実験を行い、その時の細胞の形態変化を位相差顕微鏡を用いて確認した。結果を Fig. 5-7 に示す。



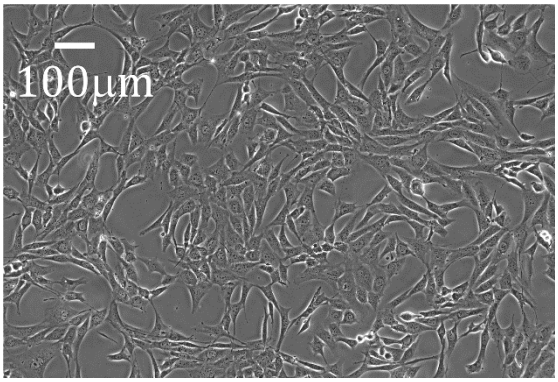
(a) Initial state



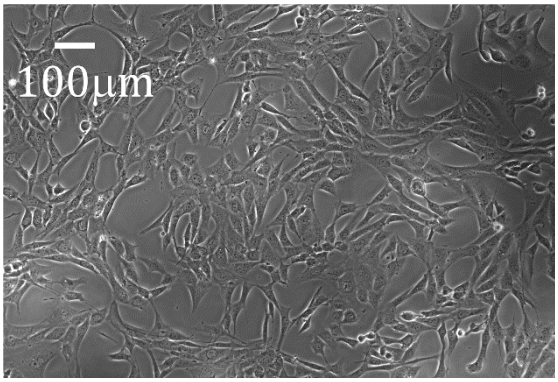
(b-1) Immediately after concentration change to 50[vol.%]



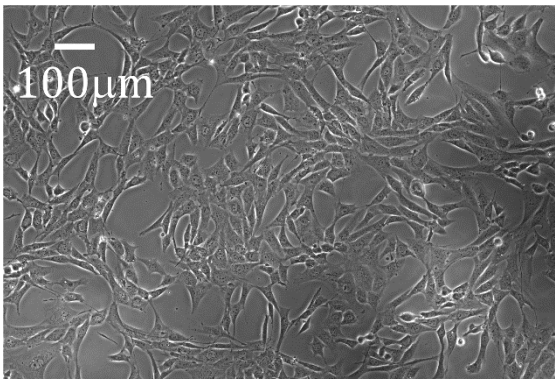
(b-2) 5min after concentration change to 50[vol.%]



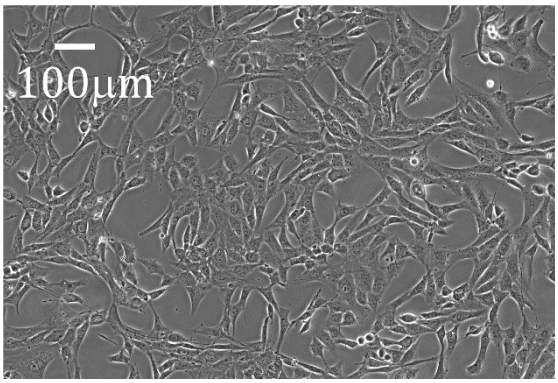
(c-1) Immediately after concentration change to 40[vol.%]



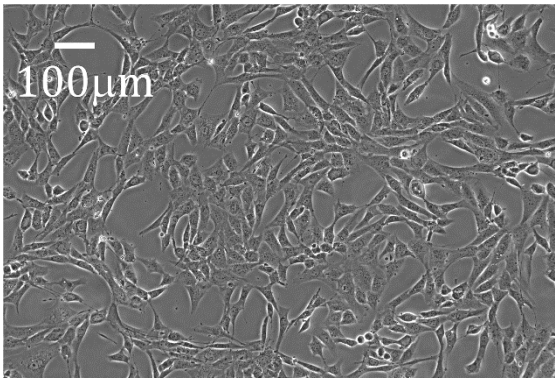
(c-2) 5min after concentration change to 40[vol.%]



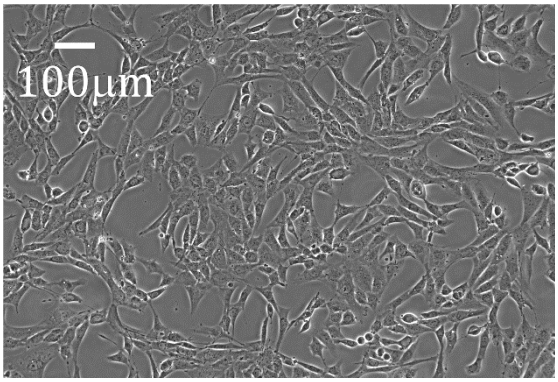
(d-1) Immediately after concentration change to 33 [vol.%]



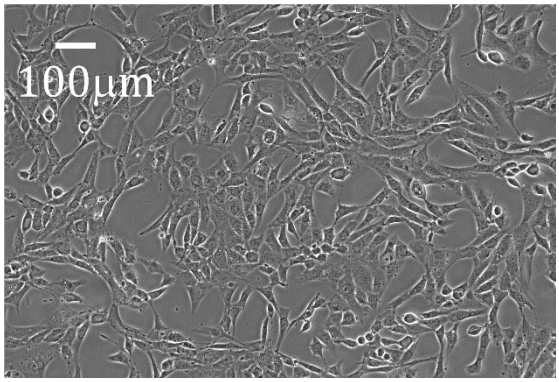
(d-2) 5min after concentration change to 33 [vol.%]



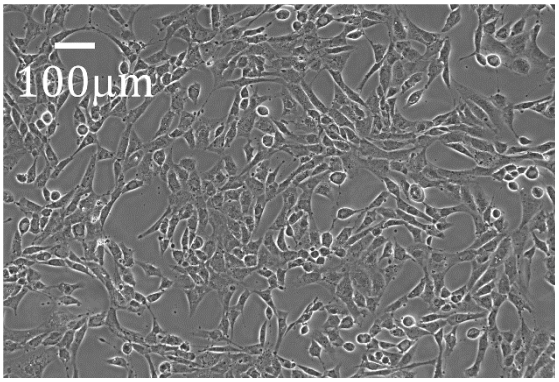
(e-1) Immediately after concentration change to 27[vol.%]



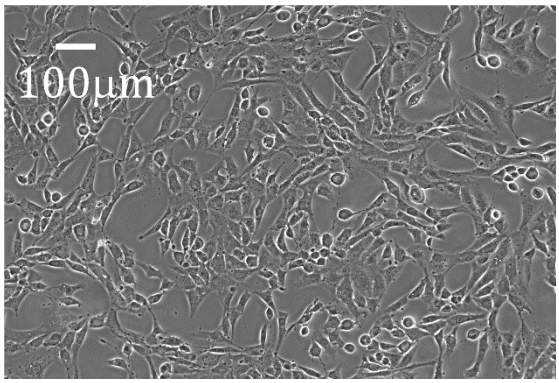
(e-2) 5min after concentration change to 27[vol.%]



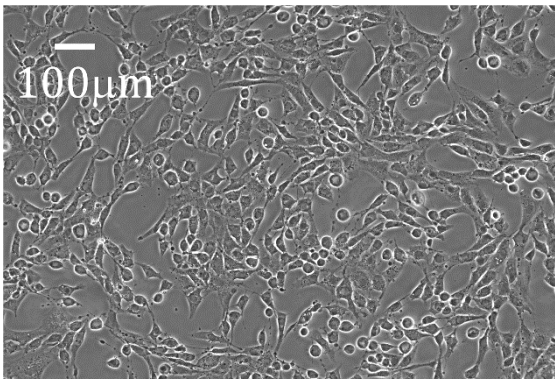
(f-1) Immediately after concentration change to 21 [vol.%]



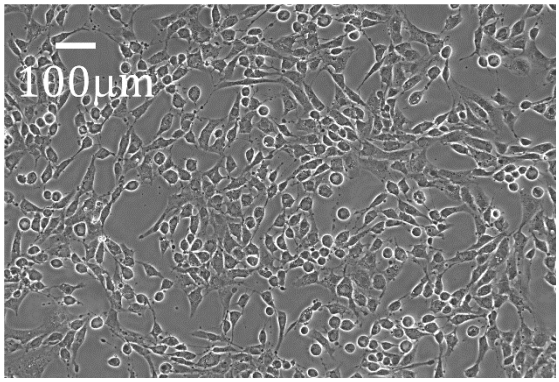
(f-2) 5min after concentration change to 21 [vol.%]



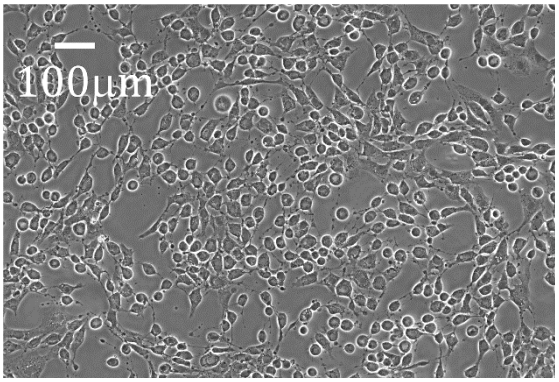
(g-1) Immediately after concentration change to 17[vol.%]



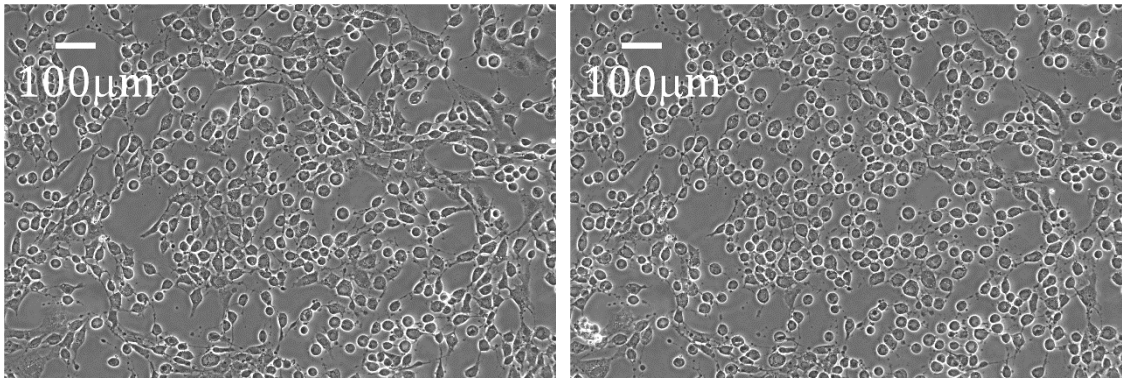
(g-2) 5min after concentration change to 17[vol.%]



(h-1) Immediately after concentration change to 14[vol.%]



(h-2) 5min after concentration change to 14[vol.%]



(i-1) Immediately after concentration change to 11[vol.%]

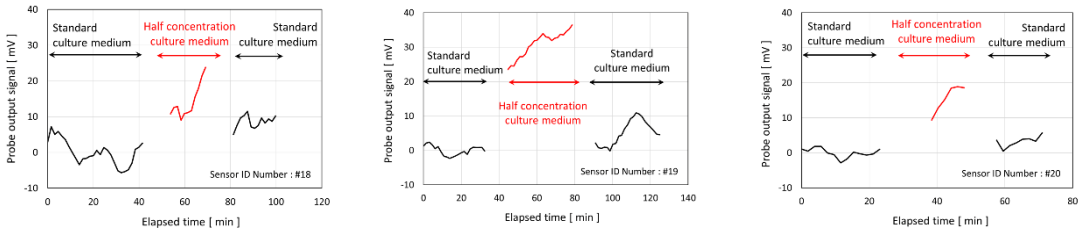
(i-2) 5min after concentration change to 11[vol.%]

Fig. 5-7　Morphology changes of NIH/3T3 cells by dilution of the culture medium cultured in the ordinary dish.

観察は以下の手順で行った。細胞を標準的な手順に従いディッシュ上で培養し、約 80%の細胞密度とした。位相差顕微鏡に搭載後、タイムラプス観察を開始した。はじめに培養液を 50[vol.%]まで希釈し、その状態で 5[min]観察した。続けてさらに希釈を 40・33・27・21・17・14・11[vol.%]と進めた。培養液がディッシュ容量を超える場合は、培養液を除去したのちに希釈を続けた。

Fig. 5-7 から確認できるように、33[vol.%]までの希釈では、目視で明確に判断できる形態変化は認められなかった。27[vol.%]から、球状に変形した細胞が増加し始めている。これは細胞と周囲の培養液との間の濃度の違いから、浸透圧により細胞内に水分が移動。細胞内の圧力が上昇した結果細胞が膨張し、ディッシュ底面との接着が剥離して拘束が外れ、球状に変形したものと考えられる。14[vol.%]において大半の細胞が球状に変形した。形態変化は、培養液の希釈直後に発生・完了するものではなく、時間をかけて安定な状態まで膨張しているように観察された。

以上の知見をもとに、センサ・デバイス上で培養した NIH/3T3 細胞の、培養液濃度変化による状態変化観察を検討した。Fig. 5-8 にその結果を示す。



(a) (b) (c)

Fig. 5-8 Measurement result of the influence of the culture medium concentration change on NIH/3T3 cells.

測定は以下の手順で行った。前述した方法と同じ手順で、センサ・デバイス上で細胞密度が 100%になるまで培養を行った。ステージの温度は事前に培養時と同じ 37[℃]に設定され、培養が完了したセンサ・デバイスは顕微鏡によりセンサ感応部に細胞が培養されていることを確認したのちステージに搭載、直ちに測定を開始した。約 30 分連続して測定を行った後培養液だけを取り出し、別容器に退避させた。次にこの培養液を一部センサ・デバイスに戻し、同体積の純水を追加することで 50[vol.%]に希釈した。この状態で約 30 分連続して測定を行った。終了後、希釈された培養液のみを取り去り、残していた標準濃度の培養液をセンサ・デバイスに戻し、さらに約 30 分連続して測定を行った。Fig. 5-8 の縦軸は、最初にセンサ・デバイスをステージ上に搭載した状態の出力平均値を基準に、ここからの偏差で示している。

センサ・デバイスをステージに搭載した直後の状態のプローブ出力の標準偏差はそれぞれ、3.4、1.4、1.3[mV]であった。Fig. 5-8 において赤実線で示した培養液を希釈している期間は、センサ出力が増加する方向にドリフトしている。増加幅はそれぞれ、13.0、12.9、9.2[mV]であった。培養液の濃度を元に戻したときのプローブ出力の平均値はそれぞれ、8.6、5.2、3.2[mV]であり、その期間の標準偏差は 1.7、3.5、1.4[mV]であった。すべての試行において、培養液の希釈中のセンサ出力の上昇トレンド、培養液濃度回復後のセンサ出力の増加の残存が確認された。

培養細胞の測定を試みた Fig. 5-6 及び Fig. 5-8 において共通している特徴は、試料状態を意図的に変更していない期間におけるプローブ出力の変動が大きい点である。第 4 章における有機溶媒や水溶液を用いた評価において確認された変動、具体的には Fig. 4-14、Fig. 4-15 の結果と比較しても有意に変動が大きくなっている。

Fig. 5-6、Fig. 5-8 の実験において行った培養液交換などの手技に関わる点は、おおよそ第 4 章で行った操作と同等とみなせるものであったことを踏まえると、培養細胞測定の際に変動が増加した要因についても、センサ感応部におけるなんらかの状態変化をとらえた結果と考えられる。

接着性の培養細胞と基板との間や、細胞内部の基板近傍付近には複雑な構造が存在することが知られている。付録７．４に、本章で評価に用いたセンサ・デバイスとその上に接着した細胞の、一般的に考えられる微細構造について整理する。ここからわかるように、センサ・デバイス表面直上の約 100[nm]の領域には、細胞が基板に接着するために必要な複雑な構造が存在している。これには細胞のみならず培養液に起因する要素も存在する。本研究で検討したプローブ法では、投入した熱は熱源から[μm]オーダの深さまで浸透・検出していることがモデルより想定されている。一方で Fig. 5-1 の結果からも明らかなように熱が到達している深さまですべて均一な感度を持っているわけではなく、表面に近い現象ほど感度が上昇する特性を持っている。今回培養細胞を測定したデータに存在する変動については本報告内では単なるばらつきとみなして処理しているが、実際には表面近傍で発生している状態変化を検出していた可能性がある。本件については今後さらに詳細な分析が求められる。

Fig. 5-7 から確認できるように 50[vol.%]への培養液の希釈の影響は、位相差顕微鏡では明確に確認することは容易ではない。本法が細胞の状態観察において、光学的な観察法を補完できる可能性のある、モニタリング法であることが確認できた。

5.7　本章のまとめ

本章では、前章までに確立した高速熱応答マイクロプローブ法の培養細胞観察への適用について検討した。

5.2では、センサ表面を培養細胞に対して親和性の高いものにできる方法として、細胞毒性の低い材料であるpoly(p-xylylene)のCVD法によるセンサ･デバイス表面への被覆と、これによる検出感度への影響を評価した。被覆膜厚の増加とともに測定感度は低下するが、約 700[nm]までの被覆を行っても、感度は残存していることが確認された。矩形パターンから散逸した熱が、poly(p-xylylene)の膜を通過して試料側にも到達。熱源位置における温度分布が、試料の熱物性による影響を受けていると考えられる。poly(p-xylylene)の物性値から推定される、温度分布の大きさから考えても妥当な結果であった。

5.3、5.4では、センサ・デバイス上での NIH/3T3 細胞の培養を検討し、安定な培養を実現した。

5.5では、センサ・デバイスの矩形パターン上に細胞が接着していることによる、センサ出力への影響を評価した。n = 6の実験に対してすべての結果が、細胞が接着している方が矩形パターン上の温度が上昇する結果となった。単純に試料側の熱物性だけで考えると、培養液と比較して細胞の熱伝導率の方が低い、あるいは体積当たりの比熱が低い状態であると考えられる。これらの結果は従来研究の報告例や、細胞に含まれる物質の構成から推定される結果に対して妥当なものである。

最後に、本法を用いた細胞の状態変化観察を検討した。観察する現象として、最も初歩的な人為的外乱のひとつである、培養液濃度変更を選んだ。通常のディッシュ上での培養を位相差顕微鏡で観察しながら培養液濃度を低減していくと、33[vol.%]、15[min]までの希釈では目立った形態変化は観察されず、さらに濃度を低減させることで、細胞がディッシュ底面から剥離し、球形に変形することが確認された。センサ・デバイス上で計測したところ、50[vol.%]の希釈中にセンサ出力が一定方向にドリフトし、濃度をもとに戻しても計測値にはドリフト分の一部が残存することが確認された。 n = 3のすべての実験に対して同一の傾向が確認された。細胞外部の環境変化によって細胞の内部状況が変化する状態を、センサ出力の形で観察できたものと考える。

第 6 章　　結言

６.１　　はじめに

本研究では細胞を代表とした、微小でソフト、内部に緻密な構造とダイナミクスを具えている試料と、人工的に作られた硬く静的な機械部品との界面において、試料内部の状態観察を行うという、将来重要性が高まることが見込まれるモニタリングの実現を目指して取り組んだ。熱の拡散という普遍的に進行する現象をプローブとして利用し、試料内部で発生しているダイナミクスを低侵襲でモニタリングできる手法の原理確立と、実際の培養細胞への適用についての検討を実施した。

６.２　　本研究で得られた結果のまとめ

第１章「緒言」では、２１世紀に入って急速に発展してきている、生命と機械が融合した新しいシステムを構築する方法論における、生物－無生物界面の観察の重要性を指摘。これを実現できるアプローチとして、熱をプローブとして用いた方法を提唱した。

第２章「古典的熱伝導方程式に基づいたプローブ駆動法に関する設計指針検討」では、二つの隣接した領域界面近傍における、伝熱的な熱拡散に関する情報を表現した基本解について分析を行った。既存研究によって得られていた解を、項別にその物理的な役割を明確にした形に再配置することに成功した。解に含まれていたが物理的な役割が不鮮明だった無次元パラメータuとその積分が果たしている役割を、明示的に表現できる数式表現を提案した。界面に垂直な方向の分布を表現している項の中に和の形で含まれる二つの項が、二つの領域それぞれからの影響を分担して表現していることを、数値計算による関数形の描画によって明らかにした。以上の分析から、当該基本解に臨界時間が存在し、解の時間発展が大きく三つのステージに分類できることを示した。ステージ I と III においては、解は自己相似性を獲得することから、スケール変換を実施することによって温度分布が時間非依存の二次元幾何形状に集約できることを示した。

第３章「高速熱応答マイクロプローブ法の伝熱モデル構築」では、界面上に置かれた微小な連続矩形熱源が作る温度分布を表現した解を導出した。空間変数x, y二つの方向に関する温度分布を表現した項の積に対する時間変数tによる積分は閉形式が得られないことから、長辺方向の分布を表現した項に対して近似関数を導入することによって積分を実行できる形とした。既存の無限領域中に配置された無限長帯に対する解と比較して10^{-4}~10^{-3}倍小さな熱源にも対応できることを確認した。既存の様々な幾何形状を取った熱源に対する解と比較することで、矩形熱源解の特徴を議論した。特に加熱終了後の熱の散逸に特徴があり、３次元的に散逸が進行することから、線熱源や帯熱源と比較して早期に熱源の温度が低減することを確認した。これは対象としている試料が、長時間の高温保持に対して脆弱であることが多いという点から考えると好ましい性質である。

第４章「高速熱応答マイクロプローブ法の実装と性能の評価」では、導出したモデルを実現できる駆動・検出回路、センサ・デバイスを実装し、その計測性能について流体試料を用いて評価を行った。回路としては 0.4～10[μs]のパルス幅条件において標準偏差で0.0007[K]に相当する分解能が実現できていることを確認した。センサ・デバイスを用いた試料の物性検出性能として、熱伝導率換算で約Δ0.001 [W/(m・K)]の分解能を備えていることが確認された。センサの出力は試料の熱伝導率及び体積当たりの比熱とに高い相関性を持つことが、前章のモデルにより示されている。モデルと実験値とは良好な整合性を示した。

第５章「高速熱応答マイクロプローブ法による培養細胞の計測」では、微小でソフト・内部に緻密な構造とダイナミクスを包含している試料の代表的なものである培養細胞を対象として、その計測を検討した。まず、センサ・デバイス上で安定な細胞培養を可能とするた

めに、生体適合性と電気絶縁性の良好な材料 poly(p-xylylene)をデバイス表面に成膜し、これによる感度への影響を評価した。700[nm]の膜厚まで被覆しても、試料の熱物性に対する感度が残存していることが確認された。poly(p-xylylene)が被覆されたセンサ・デバイスにおける NIH/3T3 細胞の培養に成功し、同一の培養液で細胞が矩形パターン上にある場合とない場合とで明確なセンサ出力の差が得られることが確認された。得られた結果は、既存の報告や細胞に含まれる材料などから想定される結果と整合している。さらに細胞の状態変化を観察する目的で、培養液の濃度を変更した際の影響について評価を行った。位相差顕微鏡では十分には判別できない条件でも、測定値には明解なトレンドが現れることが確認された。細胞における変化は時間をかけながら徐々に進行しており、さらに環境が回復しても影響にはヒステリシスが残っていることが確認された。

以上の結果により当初の目的としていた、微小でソフト・内部に緻密な構造とダイナミクスを包含している試料と、従来的な硬く静的な機械部品との界面において、試料内部の状態観察が可能な、熱の散逸現象を利用した新しい手法が提案できたものと考える。

6.3　今後の展望

本研究で得られた結論を起点にして、今後考えられる研究の展望について概観する。

第1章で述べたように、生命現象の解明と物理・化学分野の発展は常に歩みをともにして進んできた。２０世紀中ごろの Ilya Romanovich Prigogine の成果[72]に代表される非平衡熱力学の分野では、散逸構造や自己組織化[73]といった現象を取り扱っており、今日でも活発に研究されている。徐々に実用を旨とする工学の分野にまで広がりつつあるように見える。現時点から、これらの現象がどのような形で実際に工学的に応用されるかを予想することは困難であるが、本研究が対象とした、「微小でソフト・内部に緻密な構造とダイナミクスを包含している試料と、従来的な硬く静的な機械部品との界面」の重要性が高まっていくことには疑いがない。その頂点でもある生きた細胞では、まさに分子レベルでの緻密なメカニズムが発現しており、その全貌を完全にモニタリングするような発想には現実味がない。むしろ大局的に状態を把握し、できるだけ早く問題を検出してさらに詳細な検査の必要性を警告できるような計測法の採用が現実的であろう。人間が、当時の最も精緻な機械として構築した蒸気機関車の検査に、日常的な打診検査を採用していた発想から学びたい。

第2章では、線形現象に限定した条件下において、界面における熱の拡散が持っている性質について、瞬間点熱源の解析解を中心に議論を行った。当然今後は、非線形現象を考慮した検討が望まれる。線形熱伝導方程式の解にもとづくと、温度情報が無限大の速度で無限遠方まで到達する。これは線形熱伝導方程式の背景に、完全な確率現象であるという仮説が組み込まれていることに起因する。確率的には極めて小さい数字ながらも、遠方に情報が伝わり得る、という意味に解釈できる。一方で Andrey Nikolaevich Kolmogorov によって公理化された確率論にもとづく現実世界との関連づけにおいては、「事象 A の確率 $P(A)$が非常に小さい場合には、試行が1回だけ実現した時には事象Aは起こらないと事実上確信できる」とされている[74]。すなわち、現代の確率論では起こらないとみなされる領域の現象を扱っていることになり、物理的に意味をなさない。分子動力学シミュレーションなどの手法が、具体的にこれらの難点に対するアプローチを提供しており、原子・分子の時空間オーダでは線形熱伝導方程式からかい離した現象が発生していることを示している。本章で数値的に解析した条件は、水分子に換算して数個レベルの空間から開始している。これは Hoover による、分子動力学シミュレーションから見た最も保守的な見解の一つである、「少数以下 4 桁のごくわずかな初期位置の散らばりが、数回の散乱によってほとんどランダムな空間分布を導く」[75]というコメントをもとにしているが、本論文が示した当該時空間領域に対する結果は、当然批判的に議論されなければならない。一方でシミュレーションではなく、解析的にこれらの現象を取り扱うには、非線形偏微分方程式を解く必要があり、数学的な方法論が提供されるのを待たなければならない。一つの可能性は近似解法であり、Hristov により集中的に取り組まれている、熱平衡積分法とこれの一般化[76]が光明を与えるかもしれない。留意したい点は、本論文で取り扱った B.M.V.解においても、解自体は比較的早期に導

出できていたことである。それにも関わらずその代数表現から物理的意味を読み解くことは容易ではなく、そのことがこの解の利用を阻害していた。今後提供されるかもしれない非線形現象に対する解を応用するには、可読性を高める新たな数学的表現方法が必要になると思われる。

第 3 章には、いくつかの宿題が残されている。一つは、導出された連続矩形熱源解の性質をわかりやすく理解できる方法の提供である。単なる数値計算プログラムの提供ではなく、何らかの簡易的な作図方法、Shendeleva による Wave Diagram のようなものの存在が望ましかろう。さらには、本研究では積分順序の入れ替えが容易な矩形領域で議論を行ったが、当然任意形状への拡大展開が望ましい。これについても解の導出や数値計算で、という意味ではなく、何らかの直感的理解を与えてくれる手段が提供されることが望ましい。

第 4 章の議論を通して、今後取り組むべき技術的な課題が見えている。一つ目は、どのような回路アーキテクチャが最適か、という論点である。精密計測では一般に、ヘテロダイン検波を背景にした、ロックイン増幅回路を用いた方式が優れているとされる。その原理的背景には、繰り返し計測と帯域制限による効果があると考えるが、その結果回路構成が複雑になると、特に高周波数域において様々なデメリットが現れる。本研究のようなパルス応答の検出は、ラプラス変換の観点から考えても重要性が高い。現在は初段の計装アンプの性能によって限界が決まっていることからあまり議論されることはないが、最適な設計思想が議論されるべきだろう。

二つ目はセンサ・デバイスのキャリブレーションの問題である。本法のように熱伝導率と比熱との二つの物性値に対して感度を持つ場合、その両方を自由に変更して測定することができれば、容易に校正が実現できる。しかし実際にはよく知られているように、熱伝導率に比べて比熱は凝縮系においては大きく変化することはない。試料寸法が cm オーダであれば、気体を含んだ固体試料を用いることで比熱の変化範囲を広げる事が出来るが、μm オーダでは容易ではない。界面熱抵抗の事を考えると流体試料が好ましく、既存の材料ではほとんど調整の幅がない。「流動性のあるメタマテリアル」のようなものが提案されることが望ましい。界面熱抵抗問題の重要性は、今後さらに大きくなってくるだろう。本研究では一般的な基板材料と熱源形成方法を採用したが、その結果界面熱抵抗は無視できない割合に到達しつつあることが推測された。従来のような、コストや加工性を重視したプロセス設計から逸脱して、界面熱抵抗が最小になるような材料の組み合わせやプロセスを探索・採用していくべきであろう。

第 5 章は、生物学的視点から様々な展開が考えられる。どの程度緻密な現象までが観察できるのであろうか。本研究の検討範囲では細胞を比較的静的なものとみなして扱ったが、実際にはタイムラプス観察などをすると「動き」が視認できる程度に動的な挙動を示している。センサ出力に含まれていて、今回はノイズとみなした変動のなかに、このような挙動による影響がどの程度含まれているのかは興味深い点である。また、細胞内で物質が生合成される様子の観察は可能であろうか。細胞は環境に応じて様々なたんぱく質を生合成することが

知られている(たとえば[77])。このような合成は比熱に大きな変化を及ぼす可能性があり、本法での検出が期待される。細胞質流動などは、物質の特定方向への輸送であることから、これに担持された熱の移動を検出できる可能性がある。別の観点から見ると、細胞がどの程度の瞬間的な熱刺激に耐えうるかという疑問がある。異なる種にまたがって、細胞に広く保存されている機能として、ヒート・ショック・プロテインによる温度変化に起因するタンパク質のミス・フォールディングの修正がある。細胞の耐熱性にヒステリシスを生じさせる（一度高温を体験した細胞は、その後しばらくの間高温に対する耐性が向上する）基本メカニズムであるが[77]、このメカニズムがどの程度高速に発現するのか、興味深い疑問である。

第 7 章　　付録

7.1　界面近傍に配置された瞬間点熱源のモデルと解（B.M.W.解）

Fig. 7-1 に、Bellman らによって検討された問題のモデルを示す[26]。二つの半無限領域が、$z = 0$において熱抵抗なしに平面を介して接触している。q[J]のエネルギを持った瞬間点熱源が、$(x, y, z) = (0,0,z')$、$(z' > 0)$の地点に配置される。二つの領域は異なる熱物性を持っているが、等方・均一・一定であると仮定する。物質移動や熱輻射による熱輸送は無視できるものとする。

このモデルは、熱伝導方程式系の初期・境界値問題として以下のように記述できる。

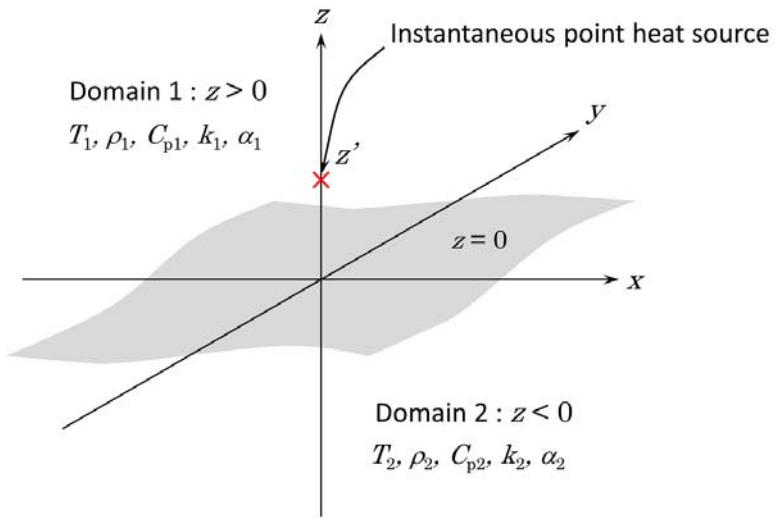


Fig. 7-1　Model for the heat conduction problem which has an instantaneous point heat source near the interface of two semi-infinite domains bordering on $z = 0$ in perfect thermal contact.

T: Temperature [K], ρ: Density [kg/m^2], C_p: Specific heat capacity [J/(kg·K)],
k: Thermal conductivity [W/(m·K)], α: Thermal diffusivity [m^2/s],
$z' > 0$: Position of the instantaneous point heat source. The subscript designates its domain.

$$
\left.
\begin{aligned}
&\rho_1 C_{p1}\frac{\partial T_1}{\partial t} = k_1\left(\frac{\partial^2 T_1}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 T_1}{\partial y^2}+\frac{\partial^2 T_1}{\partial z^2}\right)\ , \qquad \mathrm{z} > 0 \\
&\rho_2 C_{p1}\frac{\partial T_2}{\partial t} = k_2\left(\frac{\partial^2 T_2}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 T_2}{\partial y^2}+\frac{\partial^2 T_2}{\partial z^2}\right)\ , \qquad z < 0 \\
&\lim_{t\searrow 0} T_1 = \frac{q}{\rho_1 C_{p1}}\delta(x)\delta(y)\delta(z-z')\ , \qquad \lim_{t\searrow 0} T_2 = 0 \\
&\lim_{z\searrow 0} T_1 = \lim_{z\nearrow 0} T_2\ , \qquad \lim_{z\searrow 0} k_1\frac{\partial T_1}{\partial z} = \lim_{z\nearrow 0} k_2\frac{\partial T_2}{\partial z}
\end{aligned}
\right\} \quad (7-1)
$$

それぞれの領域に対する解は、以下のように記述される[26, 27]。

$$
\begin{aligned}
T_1(x,y,z,z',t) = {} & \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \times \frac{1}{(4\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}}\left\{\exp\left(-\frac{{r_-}^2}{4\alpha_1 t}\right) - \exp\left(-\frac{{r_+}^2}{4\alpha_1 t}\right)\right\} \\
& + \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \times \frac{\beta^2}{8\pi^2(\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}}\int_0^1 \frac{\exp\left\{-\frac{\beta^2 R^2}{4(\beta^2 u+1-u)}\right\}}{(\beta^2 u+1-u)\sqrt{u(1-u)}} f_1(Z,Z',\sigma,u)du
\end{aligned} \qquad (7-2)
$$

$$
\begin{aligned}
f_1(Z,Z',\sigma,u) = {} & \frac{\sigma^3 u(Z'-Z)}{(\sigma^2 u+1-u)^2}\exp\left\{-\frac{(Z'-Z)^2}{4u}\right\} \\
& + \frac{\sigma\sqrt{\pi u(1-u)}}{(\sigma^2 u+1-u)^{\frac{3}{2}}}\left\{1-\frac{(Z'-Z)^2\sigma^2}{2(\sigma^2 u+1-u)}\right\}\exp\left\{-\frac{(Z'-Z)^2\sigma^2}{4(\sigma^2 u+1-u)}\right\}\mathrm{erfc}\left\{\frac{(Z'-Z)(1-u)}{2\sqrt{u(1-u)(\sigma^2 u+1-u)}}\right\}
\end{aligned} \qquad (7-3)
$$

$$
T_2(x,y,z,z',t) = \frac{q}{\rho_1 C_{p1}} \times \frac{\beta^2}{8\pi^2(\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}}\int_0^1 \frac{\exp\left\{-\frac{\beta^2 R^2}{4(\beta^2 u+1-u)}\right\}}{(\beta^2 u+1-u)\sqrt{u(1-u)}} f_2(Z,Z',\sigma,u)du \qquad (7-4)
$$

$$
\begin{aligned}
f_2(Z,Z',\sigma,u) = {} & \frac{\beta Z(1-u)+\sigma^3 uZ'}{(\sigma^2 u+1-u)^2}\exp\left\{-\frac{Z'^2(1-u)+\beta^2 Z^2 u}{4u(1-u)}\right\} \\
& + \frac{\sigma\sqrt{\pi u(1-u)}}{(\sigma^2 u+1-u)^{\frac{3}{2}}}\left\{1-\frac{(\beta Z-\sigma Z')^2}{2(\sigma^2 u+1-u)}\right\}\exp\left\{-\frac{(\beta Z-\sigma Z')^2}{4(\sigma^2 u+1-u)}\right\}\mathrm{erfc}\left\{\frac{(1-u)Z'+\sigma\beta Zu}{2\sqrt{u(1-u)(\sigma^2 u+1-u)}}\right\}
\end{aligned} \qquad (7-5)
$$

ここで変数は、以下のように簡略化して表記されている。

$$\left.\begin{array}{l} r^2 = x^2 + y^2 \quad r_-{}^2 = r^2 + (z - z')^2 \quad r_+{}^2 = r^2 + (z + z')^2 \\ R = \dfrac{r}{\sqrt{\alpha_1 t}} \quad Z = -\dfrac{z}{\sqrt{\alpha_1 t}} \quad Z' = \dfrac{z'}{\sqrt{\alpha_1 t}} \quad \beta = \dfrac{\sqrt{\alpha_1}}{\sqrt{\alpha_2}} \quad \sigma = \dfrac{k_2\sqrt{\alpha_1}}{k_1\sqrt{\alpha_2}} \end{array}\right\} \quad (7-6)$$

本論文ではこの解と恒等なものすべてを、B.M.W.解と呼んでいる。式$(7-2)$～$(7-6)$は、原形となる Bellman らの報告をもとに整理された、Carslaw と Jaeger とによる表記法をもとに若干の変数名を変更したもので、本論文ではこの表現式を C.J.表現と呼んでいる。

7.1.1　領域 1 の物性値のみで表現される項：$F_{\pm 1}$

C.J.表現$(7-2)$式初めの二つの exp の項、それらをくくる中括弧外部の熱拡散率α_1、時間tからなる項と、本論文が提案する表現式$(2-1)$における$F_{\pm 1}$とは恒等であり、この項はT_1のみに含まれている。

$$F_{\pm 1}(r_-, r_+, t) = G_{-1} + G_{+1} \tag{7-7}$$

$$G_{-1}(r_-, t) = \frac{1}{(4\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-\frac{r_-{}^2}{4\alpha_1 t}\right) = \frac{1}{(4\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}} \exp\left\{-\frac{x^2 + y^2 + (z - z')^2}{4\alpha_1 t}\right\} \tag{7-8}$$

$$G_{+1}(r_+, t) = -\frac{1}{(4\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}} \exp\left(-\frac{r_+{}^2}{4\alpha_1 t}\right) = -\frac{1}{(4\pi\alpha_1 t)^{\frac{3}{2}}} \exp\left\{-\frac{x^2 + y^2 + (z + z')^2}{4\alpha_1 t}\right\} \tag{7-9}$$

Sommerfeld による解法では発見的手法により、熱源位置における特異性を表現する項と、界面の存在による影響を表現する項との二つの項が解に存在することを仮定している[78]。Bellman らのアプローチも、この仮説を踏襲している。源泉項G_{-1}は、初期温度がゼロの均一無限媒質中の、位置$(0,0,z')$に配置された瞬間点熱源の解である。これは、Sommerfeld による仮説の第一項に対応する。界面の存在による影響を表現する項は、$(2-1)$では$(G_{+1} + I_1)$である。G_{+1}は、源泉項G_{-1}の $z = 0$ に対する鏡像となっている。

$F_{\pm 1}$は界面 $z = 0$ のすべての場所、すべての時間においてゼロとなる関数である。$F_{\pm 1}$は領域 2 の物性値を含んでいない。$F_{\pm 1}$は、領域 1 の物性値だけで決定される温度分布の要素を表していると解釈することができる。

7.2　主要な特定幾何形状を有する無限領域中の連続熱源解

無限領域中に配置された様々な幾何形状を有する連続熱源解は、無限領域中の位置(x', y', z')に配置された瞬間点熱源の解$(7-10)$をもとに導出できる[79]。

$$T_{point\ ,inst.}(x, x', y, y', z, z', t) = \frac{q_{(0,0)}}{\rho C_p} \times (4\pi\alpha t)^{-\frac{3}{2}} \times \exp\left\{-\frac{(x-x')^2 + (y-y')^2 + (z-z')^2}{4\alpha t}\right\} \quad (7-10)$$

ただしここで$q_{(0,0)}$は瞬間点熱源の熱量であり、単位は[J]である。下付き括弧内の数字はそれぞれ空間方向・時間方向の積分回数を表現している。

指数関数の内部に注目すると、物性値は熱拡散率αの一種類だけが含まれている。一方で指数関数の外部には、密度ρ、比熱C_p、熱拡散率αの三種類があるが、これらは掛け合わされており、まとめて以下の次元を持っている。

$$\frac{1}{\rho C_p \times \alpha^{\frac{3}{2}}} = \frac{\sqrt{\rho C_p}}{k^{\frac{3}{2}}} \left[\frac{\mathrm{s}^{\frac{3}{2}}}{\mathrm{J \cdot K}}\right] \quad (7-11)$$

$(7-10)(7-11)$より理論的には、連続点熱源によって形成される温度分布について、ある特定の位置で異なる二つの時刻における温度を計測することができれば、無限領域の物性値を得ることができる。このとき熱拡散率αと体積当たりの比熱ρC_pとを独立に算出することが可能であり、ここから熱伝導率$k = \alpha\rho C_p$も計算できる。この実験値から、ρとC_pとを独立に算出することはできない。

瞬間点熱源解を利用して構築された熱物性計測法の性質は、このモデルに対応した配置が実現可能であるかどうか、物性値を分離して算出するに足るだけの精度で加熱過渡応答が計測できるかどうか、などから判断される。具体的には「瞬間」と「点」という数学的概念を、近似として実験的に実現する際に発生する誤差が許容できるかどうかがポイントとなる。

7.2.1　連続点熱源解

連続点熱源解は、瞬間点熱源解$T_{point\ ,inst.}$を時間方向に 0 から加熱時間までの範囲で積分することにより得られる[80]。

$$T_{point\ ,cont.}(x,x',y,y',z,z',t) = \int_0^t T_{point\ ,inst.}(x,x',y,y',z,z',t-\tau)d\tau$$

$$= \frac{q_{(0,1)}}{\rho C_p} \times \left(4\pi\alpha r_{xyz}\right)^{-1} \times \mathrm{erfc}\left(\frac{{r_{xyz}}^2}{\sqrt{4\alpha t}}\right),$$

$$r_{xyz} = \sqrt{(x-x')^2 + (y-y')^2 + (z-z')^2} \qquad (7-12)$$

ここで$q_{(0,1)}$は連続点熱源の単位時間当たりの熱量であり、単位は[J/s]である。相補誤差関数の内部に含まれる物性値は熱拡散率αの一種類、外部の物性値は$\rho C_p \alpha = k$ [W/(m・K)]の次元となっている。

7.2.2　連続線熱源解

連続線熱源解は、瞬間点熱源解$T_{point\ ,inst.}$を時間方向に 0 から加熱時間までの範囲で、空間のひとつの軸方向に－∞から＋∞までの範囲で積分することにより得られる[80]。

$$T_{line\ ,cont.}(r_{xz},t) = \int_{-\infty}^{\infty} dy' \int_0^t T_{point\ ,inst.}(x,x',y,y',z,z',t-\tau)d\tau$$

$$= -\frac{q_{(1,1)}}{\rho C_p} \times (4\pi\alpha)^{-1} \times \mathrm{Ei}\left(-\frac{{r_{xz}}^2}{4\alpha t}\right),$$

$$r_{xz} = \sqrt{(x-x')^2 + (z-z')^2} \qquad (7-13)$$

ここで$q_{(1,1)}$は連続線熱源の単位時間・単位長さ当たりの熱量であり、単位は[J/(m・s)]である。指数積分関数の内部に含まれる物性値は熱拡散率αの一種類、外部の物性値は$\rho C_p \alpha = k$ [W/(m・K)]の次元となっている。

連続線熱源解は、熱物性計測法として幅広く利用されている非定常細線加熱法（Transient Hot-Wire、THW 法）で利用されている[40]。細線加熱による温度上昇が、底がネイピア数の対数関数に沿っているという実験的発見[81]に対して、理論的な裏付けを提供している[46]。指数積分は(7－14)式のように級数展開できる[82]。ここで$\gamma = 0.57721\cdots$は、オイラー定数である。

$$\mathrm{Ei}(x) = \ln(|x|) + \gamma + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{x^j}{j!\,j} \qquad (7-14)$$

指数積分関数内部が十分小さい場合、$(7-14)$の最右辺の項はゼロに収束することから、底がネイピア数の対数関数が現れる。THW 法では一般にこの対数関数を用いている。$(7-13)(7-14)$式より、r_{xz}が十分に小さく、tが十分に大きい場合に成立する近似であることが分かる。

THW 法ではさらに対数関数の性質を利用して、二つの時刻の温度の差を取る事で対数関数内にある熱拡散率αの項を相殺し、熱伝導率kだけを抽出している。

7.2.3 連続面熱源解

連続面熱源解は、瞬間点熱源解$T_{point\ ,inst.}$を時間方向に 0 から加熱時間までの範囲で、空間のふたつの軸方向に－∞から＋∞までの範囲で積分することにより得られる[83]。

$$\begin{aligned} T_{plane\ ,cont.}(z,t) &= \int_{-\infty}^{\infty} dx' \int_{-\infty}^{\infty} dy' \int_0^t T_{point\ ,inst.}(x,x',y,y',z,z',t-\tau)d\tau \\ &= \frac{q_{(2,1)}}{\rho C_p} \times \left[\sqrt{\frac{t}{\pi\alpha}} \exp\left\{ -\frac{(z-z')^2}{4\alpha t} \right\} - \frac{(z-z')}{2\alpha} \mathrm{erfc}\left(\frac{z-z'}{\sqrt{4\alpha t}} \right) \right] \\ &= \frac{q_{(2,1)}}{\rho C_p} \times \left(\frac{t}{\alpha} \right)^{\frac{1}{2}} \times \mathrm{i}^1\mathrm{erfc}\left(\frac{z}{\sqrt{4\alpha t}} \right) \end{aligned} \qquad (7-15)$$

ここで$q_{(2,1)}$は連続線熱源の単位時間・単位長さ当たりの熱量であり、単位は$[\mathrm{J/(m^2 \cdot s)}]$である。一重積分相補誤差関数の内部に含まれる物性値は熱拡散率αの一種類、外部の物性値は$\rho C_p \sqrt{\alpha} = [\mathrm{J/(m \cdot K\sqrt{s})}]$の次元となっている。

7.2.4　　連続帯熱源解

連続帯熱源とは、有限の幅・無限大の長さ・無限小の厚さをもつ熱源形状で、時間的に一定の熱を発する熱源のことである。

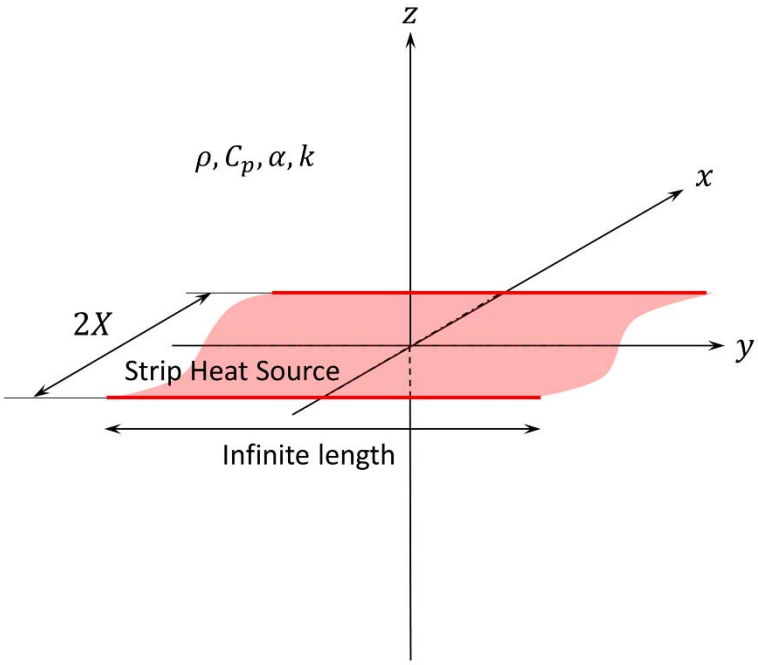


Fig. 7-2　Model for the strip heat source.

連続帯熱源解は、瞬間点熱源解$T_{point\ ,inst.}$を時間方向に 0 から加熱時間までの範囲で、空間のひとつの軸方向に－∞から＋∞までの範囲で、もう一つの軸方向について有限範囲で積分することにより得られる[42]。

$$T_{strip\ ,cont.} = \int_{-X}^{X} dx' \int_{-\infty}^{\infty} dy' \int_{0}^{t} T_{point\ ,inst.}(x, x', y, y', z, z', t-\tau) d\tau \qquad (7-16)$$

しかしながら$(7-16)$式の積分から閉形式表現は得られない。y'の積分範囲が無限大になっていることからyに関する項は消滅するが、x'の積分は有限のため、xに関する項は残る。さらに積分はされないがzに関する項が存在するため、最後のtに関する積分が実行できなくなる。Gustafsson は[20]において、帯熱源上の温度のみに注目し、さらに帯熱源が十分薄い場合はzに関する項を 1 に近似できることを利用して$(7-17)$式の表現を得た。

$$T_{on-strip\ ,cont.}(x,t) = \int_{-X}^{X} dx' \int_{-\infty}^{\infty} dy' \int_{0}^{t} T_{point\ ,inst.}(x,x',y,y',z,z',t-\tau)d\tau$$

$$= \frac{q_{(2,1)}}{\rho C_p} \times \frac{1}{4\alpha\sqrt{\pi}} \left[\sqrt{4\alpha t} \times \mathrm{erf}\left(\frac{x+X}{\sqrt{4\alpha t}}\right) - \frac{(x+X)}{\sqrt{\pi}} \mathrm{Ei}\left\{-\frac{(x+X)^2}{4\alpha t}\right\} \right.$$

$$\left. -\sqrt{4\alpha t} \times \mathrm{erf}\left(\frac{x-X}{\sqrt{4\alpha t}}\right) + \frac{(x-X)}{\sqrt{\pi}} \mathrm{Ei}\left\{-\frac{(x-X)^2}{4\alpha t}\right\} \right] \qquad (7-17)$$

また本項以前までの解では熱源位置における温度はすべて一定であったが、連続帯熱源では熱源上にも温度分布が存在する。測温抵抗体を用いる方法では熱源温度の平均値に相当する値が計測されることから、連続帯熱源上の平均温度に対する表現が求められる。これは連続帯熱源解を幅方向に積分して、幅で割ることによって得られる[20]。

$$\overline{T_s}(t) = \frac{1}{2X} \int_{-X}^{X} dx\, T_{on-strip\ ,cont.}(x,t)$$

$$= \frac{q_{(2,1)}}{\rho C_p} \times \frac{X}{\alpha\sqrt{\pi}} \times f = \frac{q_{(2,1)} X}{k\sqrt{\pi}} \times f_s\ ,$$

$$f_s = \frac{\sqrt{\alpha t}}{X} \mathrm{erf}\left(\frac{X}{\sqrt{\alpha t}}\right) - \frac{\alpha t}{\sqrt{4\pi} X^2} \left\{1 - \exp\left(-\frac{X^2}{\alpha t}\right)\right\} - \frac{1}{\sqrt{4\pi}} \mathrm{Ei}\left(-\frac{X^2}{\alpha t}\right) \qquad (7-18)$$

f_sは無次元関数であり、すべての時間変数はここに格納されている。時間－温度曲線の形状は、f_sによって決定される。f_sには物性値として熱拡散率αの一種類だけが含まれている。一方でf_sの外部にある熱拡散率αは、体積当たりの比熱ρC_pと相殺され、外部の熱物性値は熱伝導率kのみとなる。非定常帯加熱法（Transient Hot-Strip、THS 法）は、THW 法と同様に温度過渡応答を利用して試料の熱物性値を計測する方法である。THS 法では上記の性質を利用して、熱伝導率と熱拡散率の同時計測を実現している。

7.3　理論的検討及び実験に用いた材料の熱物性値

本論文を通して用いた材料の物性値は、文献値をもとに実験・検討を行った温度条件下での物性値の推定値を採用している。以下にこれらの値を整理する。

第2章から第3章における理論的検討には、Table 7-1 の値を採用している。

Table 7-1　The thermal properties of the materials used in the theoretical discussion calculated from the literature values.[84-86]

Properties Material	Density	Constant pressure specific heat capacity	Thermal conductivity	Thermal diffusivity
	[kg/m^2]	[kJ/(kg・K)]	[W/(m・K)]	[$\times 10^{-7}$ m^2/s]
Water	996	4.18	0.611	1.47
Methanol	784	2.54	0.202	1.01
Air	1.16	1.01	0.026	220
Nickel	8900	0.45	90	230
Soda-lime glass	2500	0.8	1.0	5.0

ここで、純水・メタノール・ニッケルの物性値については、文献値をもとに 27.5[℃]における値を三次の近似式により算出・整理している。文献値はほとんどのものが有効数字 4 桁で、複数の温度条件において計測されている。メタノールの熱伝導率、ニッケルの比熱と熱伝導率は有効数字 3 桁である。またソーダライムガラスについては、メーカ・カタログ値を参照しており、ふたつのメーカの掲載値の平均を採用している。計測された温度や有効数字については不明である。すべての材料について、熱拡散率はそれ以外の物性値から算出されている。

第 4 章における実験によるプローブ動作の詳細解析には、Table 7-2 の値を採用している。

Table 7-2　The thermal properties of the materials used in the experiments at 27.5 ℃ calculated from the literature values.[84, 87-90]

Properties Material	Density	Constant pressure specific heat capacity	Volumetric specific heat capacity	Thermal conductivity	Thermal diffusivity
	[kg/m^2]	[kJ/(kg・K)]	[kJ/(m^3・K)]	[W/(m・K)]	[×10^{-7} m^2/s]
Water	996	4.18	4160	0.611	1.47
Ethanol 20wt%aq.	965	4.32	4170	0.478	1.15
Ethanol 40wt%aq.	930	4.14	3850	0.368	0.96
Glycerol	1260	2.39	3010	0.284	0.94
Methanol	784	2.54	1990	0.202	1.01
Ethanol	783	2.46	1930	0.166	0.86
Toluene	860	1.71	1470	0.130	0.88
Novec™7300	1660	1.14	1890	0.062	0.33

Table 7-2 では、Novec™ を除いて、Table 7-1 と同様に文献値に記載されている物性値をもとに、三次近似式を用いて 27.5[℃]の物性値として整理している。多くの文献値は有効数字 4 桁以上で計測されている。メタノール・エタノールの熱伝導率、エタノール水溶液・グリセリンの熱伝導率と比熱、トルエンの比熱については有効数字 3 桁、Novec™ の熱伝導率は有効数字 2 桁である。Novec™ のみ、25[℃]の代表値である。使用した試料は以下のとおりである。

エタノール（14033-00、特級、>99.5%(GC)；関東化学（株)、東京、日本）
グリセリン（17029-00、特級、>99.5%(GC)；関東化学（株)、東京、日本）
メタノール（010-48665、１級、99.5%；キシダ化学（株)、大阪、日本）
トルエン　（40180-00、特級、>99.5%(GC)；関東化学（株)、東京、日本）
Novec™　（7300；スリーエム　ジャパン（株)、東京、日本）
エタノール水溶液は、純水との混合溶液を調整して用いた。

7.4　細胞とセンサ・デバイス表面との接着部に想定される微細構造

本研究で測定を検討した接着性の培養細胞については、培養する基板と細胞の表面との間に複雑な微細構造が存在することが知られている。本節では一般に知られている細胞の接着底面の微細構造について概略を図示する[91-95]。

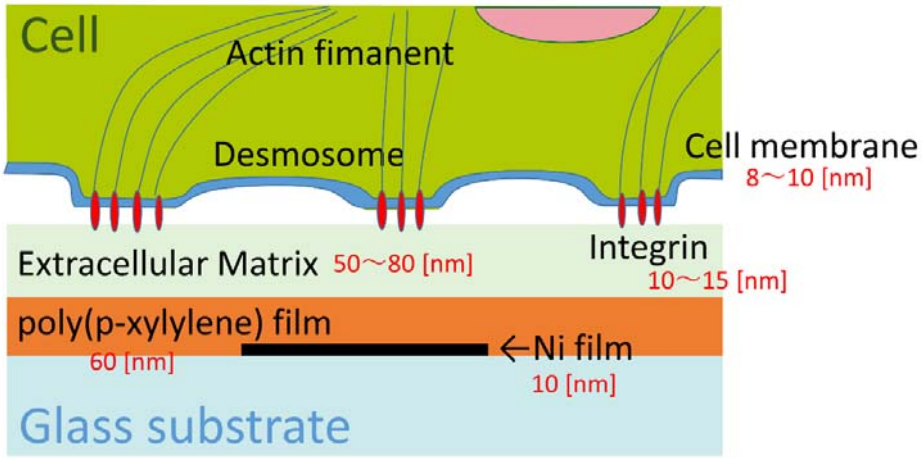


Fig. 7-3　Model of the interface between cells and sensor device.

センサ・デバイスの基板側から見ていく。ガラス基板上にニッケル薄膜のパターンが形成されている。第5章で用いるセンサ・デバイス条件では、ニッケル膜厚は10[nm]で設計されている。その上から生体親和性と電気絶縁性の付与を目的として、poly(p-xylylene)薄膜が成膜される。第5章では膜厚は60[nm]に設計されている。

一般にはシャーレのような容器の表面上には、細胞外マトリクスの層が存在すると理解されている。これは細胞が生み出すタンパク質の層であるが、培養液に含まれるウシ胎児血清（ＦＢＳ）に含まれているタンパク質も、基板表面に非特異的に吸着して同様の機能を果たしていると考えられている。本研究のような培養の場合、培養液・細胞両方からの起因による細胞外マトリクスが存在すると考えられる。この膜厚には諸説があるが、50～80[nm]程度と想定される。

細胞外マトリクスと細胞とは、インテグリンと呼ばれる細胞接着分子を介して接着している。インテグリンは細胞膜を貫通したタンパク質である。細胞外で細胞外マトリクスと結合すると同時に、細胞内部の構造とも結合し、結果的に細胞同士や細胞と基板を接着する中

心的な役割を果たしている。細胞外の寸法はおおよそ 8〜10[nm]程度とされている。

8〜10[nm]の厚さを持つ細胞膜を貫通したインテグリンを介した細胞と細胞外マトリクスとの接着は均一に行われているわけではなく、接着斑と呼ばれる微小な領域にクラスタリングされた状態になっているとされる。

インテグリンは複数のタンパク質を介してアクチン・フィラメントと結合している。アクチン・フィラメントは細胞全体の構造を決定するのに大きな役割を果たしている細胞骨格である

実際の接着部の構造は Fig. 7-3 で概略したもの以上に複雑なものとされている。表記した寸法についても文献によって差異が大きいことから、ここでは目安としてとどめるべきである。

謝辞

本研究の遂行には、多くの方々からの多大なご助力をいただきました。ここにご協力いただきました皆様に深く御礼申し上げます。

森島圭祐教授には博士後期課程に入学以来、研究を遂行したすべての期間において全面的なご指導・ご支援をいただきました。先生の支えなしには、研究に着手することすらおぼつかなかったことを考えますと、お礼を申し上げることも難しいほどです。先生が提唱されたウェット・ロボティクスの概念とこれに関する皆様との議論が、本研究を進めていく中での羅針盤となりました。

ご多忙な中にもかかわらず本論文の審査をしていただき、ご指導・心暖かいアドバイスを賜りました津島将司教授、東森充准教授に心より感謝申し上げます。また芝原正彦教授には、草稿段階における具体的な内容についても多くの丁寧なご指導をいただきました。本研究を何とか学位論文の形にまとめていくことは、先生方のご指導なしには不可能な事でした。心より御礼申し上げます。先生方からご指導いただいた内容をすべて反映させることができなかったのはわたくしの力不足によるものであり、本論文に誤謬等が残されている場合、これはすべて私個人に起因するものです。

上杉薫特任助教には、具体的な研究のみならず、研究者としての日々の過ごし方や心構えなど多面的にご指導いただきました。未知の分野に突き進んでいく先生ご自身の姿をそばで拝見することが、私にとって一番の勉強になったように思います。

秘書の松本由香さんには、驚くようなタイミングと角度から、気配りのあるご助力をいただきました。「攻めの事務」のすばらしさを理解させてくださったことも、大いに感謝しております。

高島義之さんには、特に第４章から５章にかけての実験において、多大なご尽力をいただきました。高島さんの驚嘆すべき発想と行動力に支えられて、実験を完遂することができたこと、心より感謝申し上げます。その他にも名前を挙げるときりがありませんが、森島研在籍中にご指導いただいた先生方、ご一緒させていただいた学生のみなさまからも様々なことを教わることができました。今後のわたくしの人生にとって極めて貴重な経験だったと感謝しております。

The author wishes to thank Dr. Silas Gustafsson, Dr. Mattias Gustavsson, and Dr. Henrik Otterberg for giving the fundamental motivation of this thesis. I hope this research will strengthen the future relationship between H and K.

尾上高明さんには、私が社会人になって以来２０年以上の長きにわたってわたくしのメンターとしてご指導いただきました。「人は易きに流れる」を体現したような性格のわたくしが、少しなりとも「易くない」方向に進むことができたと思えるのは、ひとえに尾上さんの比類なきご指導のたまものだと感謝しております。

株式会社ニッシンの竹内修会長は、私が本論文をまとめている最も大変な時期に、暖かい手を差し伸べてくださいました。論文執筆の最終盤は当初私自身が考えていたよりもはるかに厳しいものでした。竹内会長のご支援がなければどうなっていたことか、今から考えると恐ろしいほどです。改めて御礼申し上げます。

亀山祐司さん、辻野周さん、三好利幸さんには、約３５年というこれまでの人生の７５％を超える長きにわたってお世話になってまいりました。博士後期課程在学中にも、一般には正常とは思われない生活を過ごしていたにもかかわらず、いつもと変わらぬ交流を続けていただいたこと、深く感謝しています。私が、緊張感の中でも高い定量的思考を持続できる能力を少なからず備えることができたのは、ひとえに皆様の手厳しいご指導のおかげです。真っ白な気持ちのみから始まった交流をこれほどまでに長く続けることができました。今やそれぞれに立派な国士となられた皆様と、まだ見ぬ緑一色に染まった飛火野の地であいまみえる日が来ることを楽しみにしています。

最後になりましたが、妻の片山志織さんに心から感謝いたします。志織さんのたぐいまれな理解・分解・再構築の能力がなければ、失われていた科学への情熱を取り戻すことはできなかったと思っています。人生が素晴らしいものであると胸を張って言えるのも、志織さんのおかげです。あと５０年ぐらいは一緒に科学や音楽、その他諸々を楽しめますね。東京・京都・ロンドン・フランクフルト・ホノルル・チェジュ・ウィーン・インド（？）・・・。これからも、どのような驚くべき世界が私たちを待ってくれているか、それを貴女とともに体験できることにワクワクしています。志織さんにこの論文を捧げます。

業績リスト

本論文に含まれる研究業績

(1) 査読付き原著論文（2 編）

1. T. Katayama and K. Morishima, “Time evolution of the heat diffusion phenomenon from the point source near the interface,” *International Journal of Thermal Sciences*, Vol.133, p.170-180; doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2018.05.034 (2018).
   （第２章の内容に対応）

2. T. Katayama, K. Uesugi and K. Morishima, “Analytical Model and Experimental Evaluation of the Micro-Scale Thermal Property Sensor for Single-Sided Measurement,” *Micromachines*, 9(4), 168; doi.org/10.3390/mi9040168 (2018).
   （第３、４章の内容に対応）

(2) 国際会議講演論文リスト（3 編）

・口頭発表

1. T. Katayama, Y. Takashima, S. Katayama, K. Uesugi and K. Morishima, “Development of a novel monitoring technique for micro-living components utilizing heat diffusion and its application on cultured cells,” *International Conference on Mnipulation, Automation and Robotics at Small Scales (MARSS 2018),* Nagoya.
   （第４、５章の内容に対応）

・ポスター発表

2. T. Katayama and K. Morishima, “Multi Pulse Response method and its application for Transient Hot-Wire technique,” *The 10th Asian Thermophysical Properties Conferencehe (ATPC2013)*, Jeju, p.309 (9.2013).
   （第２章の内容に対応）

3. Y. Takashima, T. Katayama, K. Uesugi and K. Morishima, “Measuring thermal behavior of a single cell by using a micro single-sided transient hot rectangle method,” The Twenty Second International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS 2018), Kaohsiung, *accepted*.
   （第５章の内容に対応）

その他の研究業績

(3) 国際会議講演論文リスト（4 編）

・口頭発表

1. T. Katayama, T. Kobayashi, K. Kawaguchi, M. Kitaoka and T. Kitamori, "Development of the integrated optical Mach-Zhender interferometer biosensor for the application of dioxin immunoassay," *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 (PACIFICHEM2005),* 424, Honolulu (12.2005).
2. K. Fujimoto, T. Katayama and S. Nakata, "Pattern Matching of Micro-Joints by Variance Value of Gray Level," *2nd Symposium on "Microjoining and Assembly Technology in Electronics" (Mate'96)*, Yokohama, pp. 209-214 (2.1996).

・ポスター発表

3. T. Katayama, T. Kobayashi, K. Kawaguchi, M. Kitaoka and T. Kitamori, "Development of Semi-Automatic Analysis System with the Immunoassay Waveguide Sensor Chip for Dioxin(2,3,4,7,8-TCDF(F114)) Measurement," *The Ninth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS2005)*, Boston, Vol.2, pp.1446-1448 (10.2005).
4. T. Katayama, Y. Yoshida, N. Tateishi, K. Kawaguchi and T. Kitamori, "Development of the immunoassay waveguide sensor chip for dioxin measurement," *The Eighth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS2004)*, Malmö, Vol.1, pp.153-155 (9.2004).

(4) 国内学会講演論文リスト（6 編）

・口頭発表

1. 片山貴志、北岡光夫、小林義康、川口賢治、北森武彦、"マイクロ化学チップを用いた環境免疫分析の研究（ダイオキシン分析チップを用いたＦ１１４検出）"、第６６回分析化学討論会、北見、(5.2005).
2. 片山貴志、吉田佳一、川口賢治、北森武彦、"マイクロ化学チップを用いた環境免疫分析の研究①（マイクロウェーブガイドセンサ測定システムの構築）"、日本分析化学会第５２年会、宮城、(9.2003)
3. 藤本公三、片山貴志、富永浩司、仲田周次、"輝度分散値を用いたパターンマッチング－微細接合部の位置決め・検査のための視覚システム（第１報）－"、溶接学会平成６年度秋季全国大会、大阪、(10.1994)

・ポスター発表

4. 宮崎弘貴、片山貴志、秋山佳丈、森島圭祐、“磁気駆動ナノマシンによる細胞内導入及び細胞内粘度計測”、ロボティクス・メカトロニクス講演会 2013（Robomec2013）、筑波、(5.2013)
5. 片山貴志、北岡光夫、川口賢治、北森武彦、“マイクロ化学チップによるダイオキシン（F114）検出”、第１１回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、福岡、(5.2005)
6. 片山貴志、吉田佳一、川口賢治、北森武彦、“ダイオキシン分析チップの開発”、第１０回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、高松、(11.2004)

(5) 特許（11 件）

1. 並木文博、入江克哉、小坂忠義、高木一樹、椎崎貴史、平川仁、片山貴志、特許 3864204、”プラズマディスプレイパネル”、（10.2006）
2. 片山貴志、小川英人、神原孝博、倉井輝夫、特開 2000-260330、”プラズマディスプレイパネル及びその蛍光体層形成方法”
3. 島田陽二郎、平川仁、片山貴志、特許 3645103、”プラズマディスプレイパネル及びその製造方法”、（2.2005）
4. 黒木正軌、鵜飼剛啓、吉田健二、片山貴志、特許 3838311、”プラズマディスプレイパネル”、（8.2006）
5. 國井康彦、平川仁、片山貴志、特許 3918972、”プラズマディスプレイパネル”、（2.2007）
6. 片山貴志、中原裕之、大塚晃、國井康彦、黒木重人、特許 4006672、”ディスプレイパネル”、（9.2007）
7. 片山貴志、グェン・タン・ニャン、黒木正軌、中原裕之、特許 3420031、”ＡＣ型ＰＤＰの駆動方法”、（4.2003）
8. 片山貴志、グェン・タン・ニャン、黒木正軌、中原裕之、特許 3687715、”ＡＣ型プラズマディスプレイパネル”、（6.2005）
9. 黒木正軌、片山貴志、グェン・タン・ニャン、特許 3625620、”プラズマディスプレイパネル”、（12.2004）
10. 中原裕之、片山貴志、岩崎和英、石本学、岩瀬信博、日高総一郎、望月明宏、特許 3247632、”プラズマディスプレイパネル及びプラズマ表示装置”（11.2001）
11. 片山貴志、グェン・タン・ニヤン、中原裕之、特開平 10-293557、”ＰＤＰの駆動方法”

参考文献

1. 高林 武彦, *熱学史<第二版>*. 1999, 東京: 海鳴社, p.179.
2. ヘルマン・ヘルムホルツ（著）常木 実（訳）, *独和対訳叢書 33 ヘルムホルツ　一科学者の回想*. 1961, 東京: 郁文堂出版, p. 35.
3. 山本 義隆, *熱学思想の史的展開　熱とエントロピー*. 1987, 京都: 現代数学社, p.412.
4. V.P.カルツェフ（著）,早川 光雄（訳）,金田一 真澄（訳）, *マクスウェルの生涯　電気文明の扉を開いた天才*. 1976, 東京: 東京図書, p. 237.
5. デヴィッド・リンドリー（著）,松浦 俊輔（訳）, *ボルツマンの原子　理論物理学の夜明け*. 2003, 東京: 青土社, p. 292.
6. 伊藤 清（企画・監修）,渡辺 信三（編）,重川 一郎（編）, *確率論ハンドブック*. 2012, 東京: 丸善, p. 57.
7. C.ゼーリッヒ（著）,広重 徹（訳）, *科学技術選書　アインシュタインの生涯*. 東京: 商工出版社, p. 74.
8. E.シュレーディンガー（著）,岡 小天（訳）,鎮目 恭夫（訳）, *生命とは何か　－物理的にみた生細胞－*. 1951, 東京: 岩波書店, p. 129.
9. ジェームス.D.ワトソン（著）,アンドリュー・ベリー（著）,青木 薫（訳）, *DNA 上　二重らせんの発見からヒトゲノム計画まで*. 2005, 東京: 講談社. p. 69,p. 110.
10. Hemmi, H., et al., *A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA.* Nature, 2000. 408(6813): p. 740-745.
11. 臓器移植委員会（厚生労働省）, *臓器移植における現状と課題について*. 2017. Available from http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000162877.pdf.
12. Evans, M.J. and M.H. Kaufman, *Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos.* Nature, 1981. 292(5819): p. 154-156.
13. Takahashi, K. and S. Yamanaka, *Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors.* Cell, 2006. 126(4): p. 663-676.
14. Yamashita, J., et al., *Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors.* Nature, 2000. 408(6808): p. 92-96.
15. D.M.ワイア（著）,J.スチュワート（著）,大沢 利昭（訳）,小浪 悠紀子（訳）,今井 康之（訳）　*免疫学概説　第８版*. 1999, 東京: 共立出版, p. 328-347.
16. Katayama, T., et al. *Development of the integrated optical Mach-Zhender interferometer biosensor for the application of dioxin immunoassay.* in *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 (PACIFICHEM2005)*. 2005. Honolulu, p. 424.
17. Morishima, K., et al. *Bio actuated microsystem using cultured cardiomyocytes.* in *The 7th*

International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (MicroTAS). 2003. Lake Tahoe, p. 1125-1128.

18. Tsuji, M., et al., *Motility of microtubules on the inner surface of water-in-oil emulsion droplets.* Langmuir, 2017. 33(43): p. 12108-12113.
19. A. Bruce, et al., *Essential cell biology 3rd ed. 3*. 2010, New York: Garland Science, p. 3.
20. Gustafsson, S.E., E. Karawacki, and M.N. Khan, *Transient hot-strip method for simultaneously measuring thermal-conductivity and thermal-diffusivity of solids and fluids.* Journal of Physics D-Applied Physics, 1979. **12**(9): p. 1411-1421.
21. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 87-89.
22. 社団法人日本機械学会, *JSME テキストシリーズ　伝熱工学* 2005, 東京: 昭和情報プロセス, p. 42-43.
23. Hahn, D.W. and Ö.M. Necati, *Heat Conduction 3rd. ed. ,* 2012, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc p. 424-426.
24. Sommerfeld, A., *Zur analytischen theorie der wärmeleitung.* Mathematische Annalen, 1894. 45(2): p. 263-277.
25. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 363-364.
26. Bellman, R., R.E. Marshak, and G.M. Wing, *Laplace transform solution of 2-medium neutron ageing problem.* Philosophical Magazine, 1949. 40(302): p. 297-308.
27. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 375-376.
28. Shendeleva, M.L., *Instantaneous line heat source near a plane interface.* Journal of Applied Physics, 2004. 95(5): p. 2839-2845.
29. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 38-49.
30. Shendeleva, M.L., *Reflection and refraction of a transient temperature field at a plane interface using Cagniard-de Hoop approach.* Physical Review E, 2001. 64(3): p. 7.
31. Shendeleva, M.L., *Time-domain Green functions for diffuse light in two adjoining turbid half-spaces.* Applied Optics, 2007. 46(10): p. 1641-1649.
32. Oldham, K.B., J.C. Myland, and J. Spanier, *関数事典*. 2013, 東京: 朝倉書店, p. 382.
33. Oldham, K.B., J.C. Myland, and J. Spanier, *関数事典*. 2013, 東京: 朝倉書店, p. 224-384.
34. Abramowitz, M. and I.A. Stegun, *Handbook of mathematical functions with formulas, graphs, and mathematical tables*. 1972, Washington: U.S. Government Printing Office, p. 65-225, p. 295-330.
35. 俣野 博, 神保 道夫, 熱・波動と微分方程式, 岩波講座　現代数学への入門, Vol.3, 1996,

東京, 岩波書店, p.61-63.
36. 儀我 美一, 儀我 美保, *非線形偏微分方程式 - 解の漸近挙動と自己相似解 -*. 共立講座 ２１世紀の数学. Vol. 25. 1999, 東京: 共立出版株式会社, p.12-18.
37. 俣野 博, 神保 道夫, 熱・波動と微分方程式, 岩波講座　現代数学への入門, Vol.3, 1996, 東京, 岩波書店, p.73-77.
38. Mori, M., *Discovery of the double exponential transformation and its developments.* Publications of the Research Institute for Mathematical Sciences, 2005. 41(4): p. 897-935.
39. 齋藤 一弥, 森川 淳子, *熱分析*. 分析化学実技シリーズ　機器分析編. Vol. 13. 2012, 東京: 共立出版, p.47.
40. Van der held, E.F.M. and F.G. Van drunen, *A method of measuring the thermal conductivity of liquids.* Physica, 1949. 15(10): p. 865-881.
41. Parker, W.J., et al., *Flash method of determining thermal diffusivity, heat capacity, and thermal conductivity.* Journal of Applied Physics, 1961. 32(9): p. 1679
42. G Gustafsson, S.E., *A non-steady-state method of measuring thermal conductivity of transparent liquids.* Zeitschrift für Naturforschung, 1967. A 22(7): p. 1005-1011.
43. Birge, N.O., *Specific-heat spectroscopy of glycerol and propylene-glycol near the glass-transition.* Physical Review B, 1986. 34(3): p. 1631-1642.
44. Cahill, D.G. and R.O. Pohl, *Thermal-conductivity of amorphous solids above the plateau.* Physical Review B, 1987. 35(8): p. 4067-4073.
45. Gustafsson, S.E., *Transient plane source techniques for thermal-conductivity and thermal-diffusivity measurements of solid materials.* Review of Scientific Instruments, 1991. 62(3): p. 797-804.
46. Assael, M.J., K.D. Antoniadis, and W.A. Wakeham, *Historical Evolution of the Transient Hot-Wire Technique.* International Journal of Thermophysics, 2010. 31(6): p. 1051-1072.
47. Chien, H.C., D.J. Yao, and C.T. Hsu, *Measurement and evaluation of the interfacial thermal resistance between a metal and a dielectric.* Applied Physics Letters, 2008. 93(23): p. 3.
48. Saxena, N.S., et al., *Thermal conductivity of styrene butadiene rubber compounds with natural rubber prophylactics waste as filler.* European Polymer Journal, 1999. 35(9): p. 1687-1693.
49. Shabbir, G., et al., *Thermophysical properties of rock marbles as a function of temperature.* Journal of Physics D-Applied Physics, 1993. 26(10): p. 1576-1580.
50. Beigelbeck, R., et al., *A novel measurement method for the thermal properties of liquids by utilizing a bridge-based micromachined sensor.* Measurement Science and Technology, 2011. 22(10): p. 9.
51. Mahdavifar, A., et al., *Transient thermal response of micro-thermal conductivity detector*

(mu TCD) for the identification of gas mixtures: An ultra-fast and low power method. Microsystems & Nanoengineering, 2015. 1: p. 7.

52. Gustafsson, S.E. and E. Karawacki, *Transient hot-strip probe for measuring thermal-properties of insulating solids and liquids.* Review of Scientific Instruments, 1983. 54(6): p. 744-747.
53. Ai, Q., et al., *A single-sided method based on transient plane source technique for thermal conductivity measurement of liquids.* International Journal of Heat and Mass Transfer, 2017. 109: p. 1181-1190.
54. Takegoshi, E., et al., *A method of measuring the thermal-conductivity of solid materials by transient hot-wire method of comparison.* Bulletin of the Jsme-Japan Society of Mechanical Engineers, 1982. 25(201): p. 395-402.
55. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 256-259.
56. Horrocks, J.K. and E. McLaughlin, *Non-steady-state measurements of thermal conductivities of liquid polyphenyls.* Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences, 1963. 273(1352): p. 259
57. 国立天文台，*理科年表（第 81 冊）*. 2008，東京: 丸善株式会社, p. 408.
58. Gustafsson, S.E., et al., *Thermal-properties of thin insulating layers using pulse transient hot strip measurements.* Journal of Applied Physics, 1984. **55**(9): p. 3348-3353.
59. Standardization, I.O.f. *ISO 5725-1:1994(en) Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions.* Available from: https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-1:ed-1:v1:en.
60. ISO（著）,今井 秀孝（訳）, *計測における不確かさの表現のガイド：統一される信頼性表現の国際ルール：ＩＳＯ国際文章*. 1996，東京: 日本規格協会.
61. 遠坂 俊昭., *計測のためのフィルタ回路設計*. 1998，東京: CQ 出版, p. 223-291.
62. 株式会社　エヌエフ回路設計ブロック, *総合カタログ２０１７*. 2017. p. 127-133.
63. Dinh, T., et al., *Thermoresistive Effect for Advanced Thermal Sensors: Fundamentals, Design Considerations, and Applications.* Journal of Microelectromechanical Systems, 2017. 26(5): p. 966-986.
64. Belser, R.B. and W.H. Hicklin, *Temperature coefficients of resistance of metallic films in the temperature range 25-degrees-C to 600-degrees-C.* Journal of Applied Physics, 1959. 30(3): p. 313-322.
65. Ghosh, C.K. and A.K. Pal, *Electrical-resistivity and galvanomagnetic properties of evaporated nickel films.* Journal of Applied Physics, 1980. 51(4): p. 2281-2285.
66. Stary, V. and K. Sefcik, *Electrical-resistivity and structure of thin nickel films - effect of annealing.* Vacuum, 1981. 31(8-9): p. 345-349.

67. Angadi, M.A. and L.A. Udachan, *Electrical-properties of thin nickel films.* Thin Solid Films, 1981. 79(2): p. 149-153.
68. 瀬野 悍二,小山 秀機,黒木 登志夫, *研究テーマ別　動物培養細胞マニュアル*. 1993, 東京: 共立出版, p. 112-114.
69. Park, B.K., et al., *Thermal conductivity of single biological cells and relation with cell viability.* Applied Physics Letters, 2013. 102(20): p. 4.
70. A. Bruce, et al., *Essential cell biology 3rd ed.* 2010, Garland Science: New York. p. 51.
71. Mentré, P.著., et al., *細胞の中の水*. 2006, 東京: 東京大学出版.
72. イリヤ・プリゴジン（著）,ディリプ・コンデプディ（著）,妹尾 学（訳）,岩元 和敏（訳）, *現代熱力学　－熱機関から散逸構造へ－*. 2001, 東京: 朝倉書店. p. 244-301.
73. スチュアート・カウフマン（著）,米沢 富美子（監訳）, *自己組織化と進化の論理　宇宙を貫く複雑系の法則*. 2008, 東京: 筑摩書房. p. 399-509.
74. A.N.コルモゴロフ（著）,坂本 實（訳）. 坂本, *確率論の基礎概念*. 2010, 東京: 筑摩書房, p. 22.
75. William Graham Hoover（著）田中 實（訳）, *フーヴァー　分子動力学入門*. 1998, 東京: 共立出版株式会社. p. 13.
76. Hristov, J., *Multiple integral-balance method basic idea and an example with Mullin's model of thermal grooving.* Thermal Science, 2017. 21(3): p. 1555-1560.
77. Lindquist, S., *The heat-shock response.* Annual Review of Biochemistry, 1986. 55: p. 1151-1191.
78. Stratton, J.A., *Electromagnetic theory*. 1941: McGrow-Hill, p.573-577.
79. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 256.
80. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 261.
81. Stålhane, B. and S. Pyk, *Ny metod för bestämming av v ä rmeledningskoefficienter.* Teknisk Tidskrift, 1931. 61: p. 389-393.
82. Oldham, K.B., J.C. Myland, and J. Spanier, *関数事典*. 2013, 東京: 朝倉書店, p. 350.
83. Carslaw, H.S. and J.C. Jaeger, *Conduction of heat in solids 2nd. ed.* 1959, Oxford: Oxford University Press, p. 263.
84. 社団法人　日本機械学会, *伝熱工学資料　改訂第５版*. 改訂第５版 ed. 2009, 東京: 丸善.
85. AGC ガラスカンパニー, 旭., *旭硝子　板ガラス建材総合カタログ　技術資料編*. 2014. p. 2-3-1.
86. 日本板硝子株式会社, *ガラス建材総合カタログ　技術資料編*. 2015. p. 13.
87. 社団法人　日本機械学会, *技術資料　流体の熱物性値集*. 1983, 東京: 明善印刷.

88. Perry, R.H. and C.H. Chilton, *Chemical engineers' handbook 5th. ed.* 5th. ed. ed. 1973, New York: McGraw-Hill.
89. Association, G.P., *Physical properties of glycerine and its solutions*. 1963: Glycerine Producers' Association.
90. スリーエム　ジャパン株式会社, *3M™ Novec™ Engineered Fluids*. 2014.
91. 林正男, *新細胞接着分子の世界*. 2001, 東京: 羊土社, p. 50, 107.
92. 関口清俊, 鈴木信太郎, *多細胞体の構築と細胞接着システム*. 2001, 東京: 共立出版, p.102,118.
93. Rutka, J.T., et al., *The Extracellular-Matrix of the Central and Peripheral Nervous Systems - Structure and Function.* Journal of Neurosurgery, 1988. 69(2): p. 155-170.
94. Bruce, A., et al., *Molecular Biology of the Cell Sixth Edition*. 2015: Garland Science, p.1035-1074.
95. Alberts, B., et al., *Essential cell biology 3rd ed.* . 2010, Garland Science: New York. p. 690-706.