

### 表面加工—マイクロ・ナノ構造形成—

#### 1 はじめに

マイクロ化学分析システム ( $\mu$ -TAS) あるいは Lab-on-a-chip と呼ばれる研究が注目されて 30 年以上が経過した<sup>1)</sup>。その間に微細加工技術も様々な進化を遂げ、流路の形成に留まらず、流路内に様々な構造体を構築することも可能となっている。マイクロ・ナノ構造形成と言えば、フォトリソグラフィやエッチングといった、いわゆる半導体微細加工技術を思い浮かべることが<sup>2)3)</sup>、それらはすでに多くの優れた総説があるので、本稿では、モノリスカラム技術や水熱合成法など、私がこれまで取り組んできた、誰もが簡単に作製できる液相プロセスを中心に紹介する。

#### 2 モノリスカラム

##### 2.1 モノリスカラム技術

Manz<sup>4)</sup>らによって  $\mu$ -TAS の概念が提唱されたのとはほぼ同時期に、分離分析の分野では、Svec<sup>5)</sup>らによって実用に供するレベルの有機ポリマー製のモノリスカラムの調製法が示された。細管内にモノマー溶液 (種溶液) を封入し、その中で重合反応を進めると、沈殿、析出してきたポリマーが骨格を形成し、溶媒部分が孔 (流路) となる、というのがおおよその流れである。このモノリスカラム技術は、これまでの粒子充填型カラムの作製工程 (充填剤の合成と分級、パッキング等) を大幅に簡略化でき、さらには、キャピラリーカラムの作製に適した技術として注目を集め、オミックス研究への応用を中心に急速に進展した。また、田中、中西、水口<sup>6)</sup>らは、スピノーダル分解による相分離現象を利用して、精緻な骨格構造を有するシリカ製のモノリスカラムの作製に成功し、製品化が加速した。なお、その間に、粒子充填型カラムにおいても技術革新が飛躍的に進み、2000 年初頭にはコアシェル構造の微粒子充填剤や超高压送液ポンプが登場し、超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) に向けた流れが一段と進展した<sup>7)</sup>。

##### 2.2 モノリス表層の化学修飾

シリカモノリスの場合は、これまでのシリカゲル充填剤の開発ノウハウが蓄積されており、各種シリル化剤を用いて様々な化学修飾を行える。一方、有機ポリマーモノリスは、メタクリル酸エステル系やスチレン系のモノマーが各種市販されており、それらを架橋剤とともに適宜重合させて調製する<sup>8)</sup>。逆相系のカラムであれば、疎水性のモノマーを架橋剤と共重合させるだけで完成する。イオン交換カラムもイオン性のモノマーを選択すればワンステップで調製できる。ただし、イオン性のモノマーからなるモノリス担体は機械的耐久性に乏しいので、エポキシ基を有するモノマー (グリシジルメタクリレート等) を用いて、まずは丈夫なモノリス担体を構築してから、開環反応を利用してイオン交換基や機能性分子を導入するのが一般的である。

##### 2.3 モノリスカラムの内部構造と流れの可視化

半導体加工技術がエッチング、すなわち溶かして除去することにより流路を構築するのに対して、モノリスカラム技術は、空間を埋めることによって流路を構築している。図 1 に、筆者らが作製した有機ポリマー製のモノリスを、マイクロフォーカス X 線 CT により撮影した三次元画像を示す。図 1 (a) は縦横高さ 125  $\mu\text{m}$  のモノリス断片の全体像であり、図 1 (b) はそれを構成する断層像の一例である。かなりばらつきがあるが、流路孔は 10  $\mu\text{m}$  程度、空隙率はおおよそ 60 % と見積もられ、流体透過性の高さが伺える。充填型カラムの断面と比べると流路孔はスカスカであるが、2.4 項で取り上げるように、5000 段/10 cm 程度の段数は十分に得られる。

ここではモノリス流路内での溶媒の流れについて、もう少し掘り下げていく。図 1 の画像データを元にして格子ボルツマン法を適用すると、モノリス内部の液体の流れをシミュレーションすることができる<sup>9)</sup>。図 2 に一例として、ある断層における流れの様子を示す。このシミュレーションでは、モノリス断片 (計算負荷を軽減するため縦横高さ 50  $\mu\text{m}$  で実施) に左から右に向けて線流速 1 mm/s で、仮想の水分子集合体を送液し、障害物 (モノリス骨格) に衝突して向きや速度が変わっていく様子を追跡していると考えていただくとうい、モノリスの存在によって、流れやすい部分と流れにくい部分が生じていることが一目で分かる。HPLC で分析を行う際、流速をセットすれば、その流速で一樣に流れているものと思いがちだが、局所的には 10 倍ほどの大きな速度差が生じているということに気付かされる。

##### 2.4 分離場としてのモノリス

モノリスの魅力のひとつは、流体透過性の高さを利用した高速送液による高速分離であるが、現在、コアシェル型の微粒子充填カラムを用いた UHPLC が高速分離の主流である。一方、メートル長の長いカラムを用いた高性能分離は、モノリスの特性をもっとも活かせる領域と言えよう。図 3 に、疎水性のメタクリル酸ラウリルからなる 3 m 長の逆相モノリスカラムを用いて、重水素化ベンゼンを分離した例を示す。移動相は水-アセトニトリル (50 : 50, v/v) で、一般的な線流速の 1 mm/s で送液した結果である。このときの圧力損失は 15 MPa 程度であり、専用の超高压ポンプは不要で、通常の

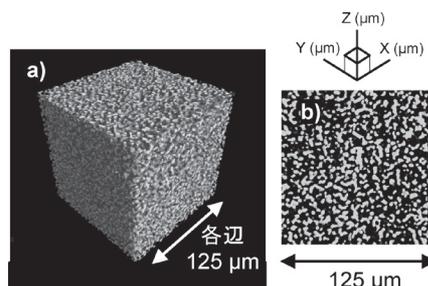


図 1 有機ポリマーモノリスの 3 次元画像

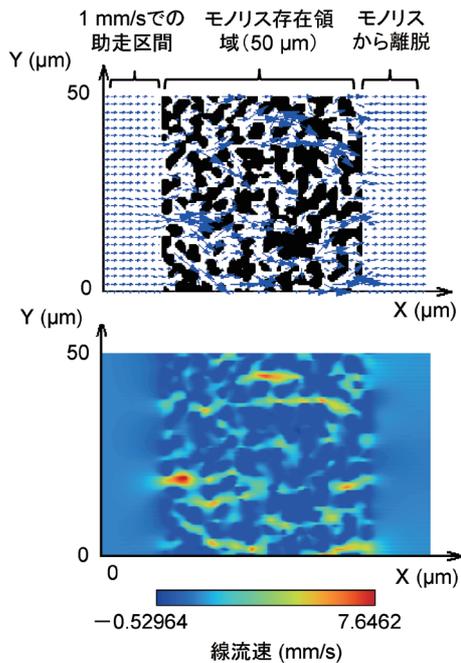


図2 あるZ座標(25 μm)の位置での流れの向きと速さ

HPLC装置でも実験を行える。また、メートル長のカラムが実用的に活用された例としては、石濱<sup>10)</sup>らが内径100 μm、長さ3.5 mのC18シリカモノリスカラムを用いて、大腸菌の発現プロテオームの一斉解析を達成したことなどが挙げられる。

### 2.5 固相抽出や化学反応場としてのモノリス

2.3のシミュレーションによって、モノリス内ではランダムな流れが生じていることが分かった。この流れの起伏は分離能の向上という観点からは望ましいものではない。一方で、化学反応場としては、ランダムで歪な流路構造が攪拌的な混合を促進すると期待できる。すなわち、モノリスカラムは触媒担体として魅力的な特性を有する。

実際に、トリプシンやリボヌクレアーゼA等の酵素をモノリス表層に高密度に固定化したモノリス型マイクロリアクターでは、通液した時間内で酵素消化反応がほぼ完結する。この他にも筆者らは、パラジウムを固定化したマイクロリアクターを作製して、鈴木宮浦クロスカップリング反応の効率を調査し<sup>11)</sup>、所望の化合物を極めて高収率で得られることや、通常のバルク反応と比較して、少なくとも10倍以上の時間短縮を実現できることを確認している。なお、カラム方式だけでなく、ピペットチップ型やスピナカラム型でも同様の時短効果が得られるので、前処理用の固相抽出・精製デバイスとしてモノリスの利用は拡大している。

### 3 今後の展望

分離の性能向上は分離カラムの均一性の向上に尽きる。昨今の微細加工技術を用いれば、基板上の流路の狙った位置に均一な柱状の構造体を形成することができる<sup>12)</sup>。シリコン製のマイクロピラーアレイカラムはそうした究極のカラム形態の一つと言えよう。

マイクロピラーアレイカラムと材質もサイズも異なるが、似たような形状ということで、最後に酸化亜鉛製のナノワイヤプレートを紹介したい。

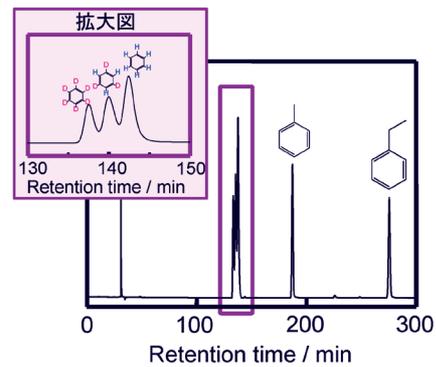


図3 3 m長のモノリスカラムによる重水素化ベンゼンの分離

酸化亜鉛はその興味深い光学特性や圧電特性によって、発光素子やセンサー等への応用が図られてきた。酸化亜鉛は六方晶系のウルツ鉱型結晶構造を有し、一方に優先的に成長する特性がある。これまで気相合成法を中心に開発が進められてきたが、常圧・低温(100℃以下)の条件下で、硝酸亜鉛を含む水溶液からナノワイヤを調製できることが示されて以降、応用研究が一段と盛んになった。この水熱合成法によって、シリコン基板やガラス基板上に、直径が100 nm程度で長さが数μm程度のナノワイヤを生やすことができ、また、その間隙はsub-μmのものから10 μmを超えるものまで調製可能である。安井<sup>13)</sup>らはこのナノワイヤの“森”を、微生物や細胞外小胞体の捕捉に利用し、さらには尿サンプルを用いたがん検知の研究へと発展させている。

今や細胞やウイルス、また、分子の分離に適したマイクロ・ナノの空間を、液相プロセスによって誰にでも簡単に作れる時代になりつつある。この分野の今後の発展が大いに期待される。

### 文 献

- 1) 北森武彦, 菊谷善国: 表面技術, **56**, 126 (2005).
- 2) 渡慶次学, 菊谷善国: 表面技術, **56**, 132 (2005).
- 3) 森岡和太, 中嶋 秀: ぶんせき (*Bunseki*), **2021**, 208.
- 4) A. Manz, N. Graber, H.M. Widmer: *Sens. Actuators B*, **1**, 244 (1990).
- 5) F. Svec, J.M.J. Fréchet: *Anal. Chem.*, **64**, 820 (1992).
- 6) H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, N. Ishizuka, N. Tanaka: *Anal. Chem.*, **68**, 3498 (1996).
- 7) J. J. Kirkland, F. A. Truszkowski, C. H. Dilks, G. S. Engel: *J. Chromatogr. A*, **890**, 3 (2000).
- 8) 梅村知也, 小島徳久, 植木悠二: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **57**, 517 (2008).
- 9) K. Yamamoto, R. Komiyama, T. Umemura: *Int. J. Mod. Phys. C*, **24**, 1340003 (2013).
- 10) M. Iwasaki, S. Miwa, T. Ikegami, M. Tomita, N. Tanaka, Y. Ishihama: *Anal. Chem.*, **82**, 2616 (2010).
- 11) A. Sabarudin, S. Shu, K. Yamamoto, T. Umemura: *Molecules*, **26**, 7346 (2021).
- 12) 角田 誠: 薬学雑誌, **135**, 955 (2015).
- 13) T. Yasui, T. Yanagida, S. Ito, Y. Konakade, D. Takeshita, T. Naganawa, K. Nagashima, T. Shimada, N. Kaji, Y. Nakamura, I. A. Thiodorus, Y. He, S. Rahong, M. Kanai, H. Yukawa, T. Ochiya, T. Kawai, Y. Baba: *Science Advances*, **3**, e1701133 (2017).

[東京薬科大学生命科学部 梅村 知也]