

分析に必要な要素技術である、混合、反応、抽出、分離、検出などをマイクロ・ナノ空間で行うことで、分析装置やシステムの小型化や集積化が達成します。その結果、試料量の削減、多検体の同時分析、オンサイト分析などが実現するため、分析法の利用が大幅に広がります。また、空間の大きさを小さくすることで、存在する分子の数が少なくなるため、分子自身の性質や界面の影響が顕在化し、個々の分子のふるまいの解析につながると期待されます。今回のミニファイルでは、基礎研究から応用研究、さらには商品化などまで、様々な分野での利用や理解の進む、マイクロ・ナノ空間を利用した分析手法に関して、その作製法や要素技術、応用研究などを取り上げていきます。

〔「ぶんせき」編集委員会〕

## 概論・基礎

### 1 はじめに

精密機械加工や半導体製造技術などをもとに発展した先端マイクロ・ナノ加工技術を化学分析に利用するという概念は比較的古くからある<sup>1)</sup>。光リソグラフィなどの先端加工技術を利用したデバイスの例は、1979年発表されたシリコンウェハ上のガスクロマトグラフィーデバイスである。また、ヒトゲノム計画や個別診断に向けた技術指向を時代背景として1990年代前半に発表された電気泳動マイクロデバイスにより、マイクロ・ナノ分析化学の可能性が分析化学分野を含む多くの分野で認知されることとなった。混合・抽出・反応といった分析化学にかかわる操作の集積化も急速に発展した。分析化学操作に利用可能なレベルでのマイクロ・ナノ流体挙動・輸送現象・化学反応の理解が進むことにより、目的に合わせたマイクロ・ナノ分析デバイス開発が進んだ。

本稿では、マイクロ・ナノ流体に注目し、その基礎的特性と応用分野の概要をまとめる。

### 2 マイクロ・ナノデバイスの材料

マイクロ・ナノ分析に用いるデバイスの材料は、まず加工法との適合性が重要である<sup>2)</sup>。マイクロ・ナノサイズの流路加工などの“デバイス材料に直接加工を施す”場合、パターン転写には光リソグラフィや電子線リソグラフィを用いることが多く、加工基板には、ガラスやシリコンを用いる。シリコンや厚膜レジスト鋳型を加工した後に、その3次元パターンを転写する手法では、ポリジメチルシロキサン (PDMS) やポリメチルメタクリレート (PMMA) やシクロオレフィンポリマー (COP) などの高分子材料が用いられる。最近では、紙やポリマーフィルムなどの廉価な材料、インクジェットプリント加工やスクリーンプリント加工などの Do-it-yourself 的な簡易加工法、Open Source とされた加工法・分析法に関する報告も多い<sup>3)</sup>。

加工法との適合性ととともに、使用条件との適合性も重

要である。例えば、有機溶媒などを用いる場合は、シリコン・ガラスなど耐溶媒性の高い材料を用いる必要がある。また、表面への試料の吸着の影響がない分析を実現するためには、材料そのものに吸着防止性能のあるものを選ぶか、表面ブロッキング剤との相性の良いものを選ぶ必要がある。光検出を想定する場合には、材料の透明性だけでなく、光通過部表面が平坦に加工できる材料が分析精度の観点から好ましい。

### 3 マイクロ・ナノ流体の特徴

#### 3-1 マイクロ流体の駆動法

マイクロ流体の駆動法にはシリンジポンプや空圧ポンプを利用した圧力駆動が多く用いられる<sup>1)</sup>。分析に用いる流路内での直接的な電気浸透流も利用可能であるが、電気浸透流は溶液成分に影響を受けやすいため、比較的制御が難しい。電気浸透流により駆動した流体により、ダイアフラムを通じて試料溶液を間接的に圧力駆動する電気浸透流ポンプは小型の送液用ポンプとして用いられる。毛管現象を利用して自発的に流体が前進する毛管流は、紙デバイスをはじめとした簡易的なデバイスで頻繁に用いられる。

#### 3-2 拡散距離と比表面積

サイズの小さな流路では、二液混合時の拡散混合の時間を短くできる。また、試料中溶質の壁面への衝突頻度も高めることができる。表面にセンシング分子を配置するような状況では、小さなサイズの流路ほどセンシング分子の比率を高くすることができ、分析上大きな利点となりうる。

デバイス基材に比べて流路の体積は小さいため、基板の温度と導入溶液の温度が異なる場合、溶液の温度は短時間のうちに基板温度に一致した温度となる。

#### 3-3 流体としての特徴

マイクロ・ナノ流路の中の流体は、水道管のような実験室サイズの管内流れとは異なる特徴をもつ<sup>4)</sup>。粘性力に対する慣性力の比である Reynolds 数 (Re) は、密度  $\rho$ 、平均線速度  $v$ 、水力学直径  $D_H$ 、粘度  $\mu$  を用いて

$$Re = \frac{\rho v D_H}{\mu}$$

と表され、おおむね 2000 以上で乱流、それ以下で層流を形成する。通常マイクロ・ナノ分析に用いられる条件では Re は 1 以下の値をとり、粘性支配の層流領域の流れである。特に障害物のないきれいな断面をもつ流路では、二液の混合の場合も拡散のみによる混合となる。積極的に二液を混合したいような状況でも乱流条件を達成するのは困難であり、底面に staggered herringbone 型の溝を形成するなどして、流路断面内で分割・回転するような流れ (二次流れ) を誘起し、層流条件下において拡

散距離を短縮することができる。

表面張力に対する粘性力を表す Capillary 数 (Ca) は、表面張力  $\gamma$  を用いて

$$Ca = \frac{\mu v}{\gamma}$$

と表される。マイクロ・ナノデバイスで通常用いられる条件では線速度は十分小さく表面張力が流体挙動を支配することが多い。有機相と水相のような互いに混ざり合わない溶媒同士を合流させて液滴を形成させるような場合、ガラス管のようなサイズの大きな実験（粘性支配領域）では、一方の相の形状が変形した場合、空間的に非常に複雑な速度分布（粘性損失の分布）をとり、結果的に形成される液滴系に大きなバラツキがでることが多い。これに対してマイクロ・ナノ流体の二相実験では、表面張力支配であるため多少複雑な速度分布があっても、液滴形成過程全体では表面張力が支配的となり、単分散の液滴が形成される。

## 4 マイクロ・ナノ分析操作

### 4.1 混合

混合に関する近年の大きなトピックスの一つは脂質ナノ粒子形成である<sup>5)</sup>。新型コロナウイルス対策として用いられた RNA 型ワクチンのキャリアとして脂質ナノ粒子は、エタノールなどの有機溶媒に分散させた脂質に、水溶液を接触・急速混合することで得られる。多くの場合、前述の staggered herringbone 型溝付流路を用いて混合を促進することにより均一なナノ粒子を得ている。

### 4.2 二相操作

水相と有機相のような互いに混ざり合わない二溶媒を用いた操作はマイクロ・ナノ流体でも用いられる。水相と有機相が並行して流路内を流れる中での抽出操作は、上述の高い比界面積・短い拡散距離の特性を利用して高速に行われる。

マイクロ・ナノ流路を用いると均一径の液滴を高速に多数生成することができる。この特性を活かした分析法に digital droplet PCR (ddPCR) がある<sup>6)</sup>。核酸が各液滴に 1 分子入るか、入らない（空液滴）条件にしておくと、増幅が起こって蛍光強度が高まった液滴数を数えることで試料中の核酸分子数を数えることができる。ddPCR の例のような多数並列の分析操作、あるいは 1 分子を対象とする分析操作は、マイクロ・ナノ分析での大きなトレンドとなっている。

### 4.3 反応

マイクロ・ナノ流路の特徴を活かした反応として、フロー中の PCR がある<sup>6)</sup>。試料溶液の温度は、基板温度によく追従する。基板に三つの温度領域をつくり、各温度領域を定められた順序で繰り返し通過することで PCR を実現できる。逆に発熱反応や吸熱反応を安定した温度管理下で進行させることもできる。

### 4.4 分離

マイクロ・ナノ分析が多くの研究者から注目される大きな切っ掛けとなった電気泳動分析では、電位印加ス

イッチにより、高速に電気浸透流を切り替えることで数十ミクロン幅の試料インジェクションを実現した<sup>7)</sup>。この基本的なフォーマットから派生した様々な電気泳動分離法が依然研究されている。

ガス・クロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーの集積化も多く研究がある。主にカラム部分の高度化・高再現性のためにマイクロ・ナノ加工技術が用いられる。

粒子分子・細胞分離はマイクロ・ナノ流路の特徴を活用して大きく発展した<sup>8)</sup>。粒子の大きさと、流路幅を適切に設計すると、粒子が壁面に接近して離れると、粒子の大きさによって層流中の異なる流線に乗ることになる。この原理によって粒子が空間的に分離される Pinched Flow Fractionation 法や Deterministic Lateral Displacement 法が有名である。

## 4.5 細胞

多くの研究者が細胞を培養・分離するマイクロ・ナノデバイスを研究している<sup>9)</sup>。一つの大きな流れは、体内組織に近い形での細胞培養であり、Organ on Chip などと呼ばれている。体内の 3 次元構造を模倣したフォーマットで細胞を培養するデバイスが数多く研究されている。また、3 次元的な細胞塊を培養することで、単一細胞よりも体内に近い条件で薬剤アッセイを行う研究も盛んである。もう一つの大きな潮流は細胞分離である。超音波を用いて流路の中心線に細胞が流れるようにして、高度な分光法やイメージングに基づき高速に細胞を診断・分離することが可能になっている。

## 4.6 ナノ流路

電子線リソグラフィなど高度加工技術を用いたナノサイズ流路の研究も進んでいる<sup>10)</sup>。ナノ流路表面の電荷を利用したイオン濃縮や、ナノサイズクロマトグラフィー、光触媒反応などの応用に発展している。

## 文 献

- 1) D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, A. Manz : *Anal. Chem.*, **74**, 2623 (2002).
- 2) P. N. Nge, C. I. Rogers, A. T. Woolley : *Chem. Rev.*, **113**, 2550 (2013).
- 3) J. H. Shin, S. Choi : *Sensors Actuators B Chem.*, **347**, 130624 (2021).
- 4) T. M. Squires, S. R. Quake : *Rev. Mod. Phys.*, **77**, 977 (2005).
- 5) M. Maeki, N. Kimura, Y. Sato, H. Harashima, M. Tokeshi : *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **128**, 84 (2018).
- 6) C. D. Ahrberg, A. Manz, B. G. Chung : *Lab Chip*, **16**, 3866 (2016).
- 7) K. I. Ohno, K. Tachikawa, A. Manz : *Electrophoresis*, **29**, 4443 (2008).
- 8) A. van den Berg, H. Craighead, P. Yang, A. Lenshof, T. Laurell : *Chem. Soc. Rev.*, **39**, 1203 (2010).
- 9) S. N. Bhatia, D. E. Ingber : *Nat. Biotechnol.*, **32**, 760 (2014).
- 10) K. Mawatari, Y. Kazoe, H. Shimizu, Y. Pihosh, T. Kitamori : *Anal. Chem.*, **86**, 4068 (2014).

[東北大学多元物質科学研究所 火原 彰秀]