

■S2 群 (ナノ・量子・バイオ) - 7 編 (バイオナノテクノロジー)

1 章 バイオナノテクノロジーにおける基盤・要素技術

【本章の構成】

本章では以下について解説する.

- 1-1 基板材料・要素技術
- 1-2 デバイス製造技術
- 1-3 デバイス機能化及び集積化技術
- 1-4 流体素子ユニット

■S2 群 - 7 編 - 1 章

1-1 基板材料・要素技術

1-1-1 ポリマーナノチューブ

(執筆著者：山本洋平) [2010 年 4 月 受領]

直径がナノメートルスケールで内部が中空の 1 次元構造体であるチューブ状構造体としてはカーボンナノチューブ¹⁾が有名であるが、ほかにも金属や金属酸化物からなるナノチューブ²⁾や有機分子からなるナノチューブ³⁾が多数報告されている。ナノチューブ構造体は、電荷やエネルギーなどを一方向に輸送する媒体としてばかりでなく、内部にナノ粒子や分子、イオンなどを貯蔵したり、内外表面に様々な機能を付与できる点で興味深い。有機分子や高分子からナノチューブを形成する主な方法としては、テンプレート法⁴⁾と自己組織化を利用する方法の 2 種類がある。前者は、ポーラスアルミナやポーラスシリカなどを鋳型(テンプレート)としてその壁面に分子を堆積した後、鋳型を溶かしてチューブ状構造体を取り出す方法である。一方、後者の有機分子が自発的に集合し形成する自己組織化ナノチューブは、作製方法が簡便であり、更には直径や壁内部の分子配列構造が厳密に規定されるため、近年大きな注目を集めている。本節では、自己組織化によるナノチューブ形成のための分子の特徴や形成のメカニズムについて触れ、脂質分子やディスク状分子、色素分子、タンパク質からなるナノチューブ及びそれらの機能について紹介する。

自己組織化ナノチューブを形成する分子には、両親媒性を有するものが多い。親水性の部位(例えばエチレングリコール鎖やイオン性の部位など)と疎水性の部位(例えばアルキル鎖など)を併せ持つ分子を溶媒中に溶解もしくは分散すると、溶媒との親和性が高い部位を外側に、低い部位を内側に向けて 2 分子膜を形成する。この 2 分子膜が球状に閉じると、生体膜にみられるベシあるいはリポソームと呼ばれる構造となる。一方、2 分子膜がテープ状に成長し、そのテープがねじれてらせん状に巻き上がることによりチューブ構造が形成する。実際ナノチューブが形成する過程で、中間体としてナノコイルの形成がしばしば観測される。このようにして形成したナノチューブは、単層の 2 分子膜からできているものもあれば、2 分子膜が幾重にも重なった多層構造をとるものもある。単層のものに関しては、直径がかなり均一であることが多い。これら以外に、リング状の分子あるいは分子集合体が重なり合ってチューブを形成するものもある。

次に、自己組織化ナノチューブの具体例を挙げる。まず、比較的分子構造が単純な脂質からなるナノチューブであるが、疎水性部位である長鎖炭化水素基と親水性部位であるリン酸や糖、ペプチド残基が連結した合成脂質分子を水中 100°C で還流し、ゆっくりと室温まで冷却・放置することで、ナノチューブが生成する³⁾。直径や長さ、層構造は、分子構造や作製条件によりある程度制御することができる。約 10~100 ナノメートルのチューブ内部の空孔には、金属イオンやナノ粒子を導入することができ、脂質ナノチューブを鋳型とした金属ナノワイヤーの作製が可能である。また、生体高分子を包接・放出するナノコンテナとしての働きや、ナノピペットとしての応用が検討されている。

ナノチューブそのものに光・電子機能を付与するという観点からも研究が進められている。ヘキサペリヘキサベンゾコロネン(HBC)は、ベンゼン環 13 個が縮環してできたディスク状

パイ共役分子であり、電荷注入により半導体特性を示すことから、有機エレクトロニクスの電子活性層としてしばしば用いられる。この HBC コアに対し、2 本の疎水性側鎖と 2 本の親水性側鎖を付与した誘導体は、極性溶媒中で自己組織化してナノチューブを形成する⁵⁾。壁内部を HBC 部位が規則正しく積層していることから、化学酸化や電界効果によりホールを注入すると、このナノチューブは導電性を示す。また、親水側鎖末端に電子受容体 (A) であるトリニトロフルオレン (TNF) を付与した HBC 誘導体から自己組織化を行うと、TNF 分子層が電子供与体 (D) である HBC 分子層をラミネートした同軸型ナノチューブが形成する⁶⁾。広い接触面積で D 及び A 分子層がヘテロ接合しているこのナノチューブは、高効率な光誘起電荷分離を介して顕著な光電導特性を示す。更に、A として C60 を付与した HBC 誘導体から形成した同軸ナノチューブは、ホールと電子を同時に流す性質を有し、結果として明確な光起電力特性を示す⁷⁾。

シアン色素に対し、疎水性のアルキル鎖と親水性のスルホン酸基を付与した両親媒性分子も、水溶液中でナノチューブを自己形成する⁸⁾。近接場光顕微鏡観察から、このナノチューブは基板上に固定化しても溶液中と同様の蛍光特性を示す。したがって、固体状態においても集積構造に全く変化がなく、ナノチューブ内において高いエネルギー輸送特性を保持している。

生体分子でも、例えばタバコモザイクウィルスやチューブリンのように、ナノチューブ構造体を形成するものが知られている。生体分子を用いて人工的に作製したナノチューブとしては、7つのサブユニットからなるリングが 2 段重なった筒状タンパク質、シャペロニン GroEL を連結することによるナノチューブの構築が報告されている⁹⁾。GroEL は、中空部分にタンパク質分子のみならず半導体ナノ粒子をも取り込んで安定化し、更にはアデノシン 3 リン酸 (ATP) の働きによりナノ粒子を放出するという驚くべき性質を有する¹⁰⁾。このような特性を利用し、ナノチューブ内部にゲスト分子を包括したり、あるいは放出することが可能である。

以上に示したように、分子が自発的に集合化することにより形成する様々な自己組織化ナノチューブ、及びその特長を活かした応用研究が盛んに行われている。

■参考文献

- 1) M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, and Ph. Avouris : "Carbon Nanotubes-Synthesis, Structure, Properties, and Applications," Topics in Applied Physics, vol.80, Springer, 2001.
- 2) G.R. Patzke, F. Krumeich, and R. Nesper : "Oxidic Nanotubes and Nanorods-Anisotropic Modules for a Future Nanotechnology," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol.41, pp.2446-2461, 2002.
- 3) T. Shimizu, M. Matsuda, and H. Minamikawa : "Supramolecular Nanotube Architectures Based on Amphiphilic Molecules," *Chem. Rev.*, vol.105, pp.1401-1443, 2005.
- 4) M. Steinhart, R.B. Wehrspohn, U. Gösele, and J.H. Wendorff : "Nanotubes by Templete Wetting: A Modular Assembly System," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol.43, pp.1334-1440, 2004.
- 5) J.P. Hill, W. Jin, A. Kosaka, T. Fukushima, H. Ichihara, T. Shimomura, K. Ito, T. Hashizume, N. Ishii, and T. Aida : "Self-Assembled Hexa-peri-hexabenzocoronene Graphitic Nanotube," *Science*, vol.304, pp.1481-1483, 2004.
- 6) Y. Yamamoto, T. Fukushima, Y. Suna, N. Ishii, A. Saeki, S. Seki, S. Tagawa, M. Taniguchi, T. Kawai, and T. Aida : "Photoconductive Coaxial Nanotubes of Molecularly Connected Electron Donor and Acceptor Layers," *Science*, vol.314, pp.1761-1764, 2006.
- 7) Y. Yamamoto, G. Zhang, W. Jin, T. Fukushima, N. Ishii, A. Saeki, S. Seki, S. Tagawa, T. Minari, K. Tsukagoshi, and T. Aida : "Ambipolar-Transporting Coaxial Nanotubes with a Tailored Molecular Graphene-Fullerene Heterojunction," *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, vol.106, vol.21051-21056, 2009.
- 8) D.M. Eisele, J. Knoester, S. Kirstein, J.P. Rabe, and D.A. Vanden Bout : "Uniform Exciton Fluorescence from

- Individual Molecular Nanotubes Immobilized on Solid Substrates,” Nature Nanotech., vol.4, pp.658-663, 2009.
- 9) S. Biswas, K. Kinbara, N. Oya, N. Ishii, H. Yaguchi, and T. Aida : “A Tubular Bicontainer: Metal Ion-Induced 1D Assembly of a Molecularly Engineered Chaperonin,” J. Am. Chem. Soc., vol.131, pp.7556-7557, 2009.
- 10) D. Ishii, K. Kinbara, Y. Ishida, N. Ishii, M. Okochi, M. Yohda, and T. Aida : “Chaperonin-mediated Stabilization and ATP-Triggered Release of Semiconductor Nanoparticles,” Nature, vol.423, pp.628-632, 2003.

1-1-2 量子ドット

1-1-3 一分子計測

1-1-4 マイクロ/ナノマニピュレーション

1-1-5 ナノフュジクス

1-1-6 マイクロリアクタ

(執筆者：久本秀明) [2010年5月 受領]

「マイクロリアクタ」という言葉は一般に「小さな反応容器」を指すため、内径数百マイクロン程度のチューブやキャピラリー内で行う反応を指す場合もあるが、ここではマイクロファブリケーション技術で作製したデバイスを用い、かつ、物質合成・生産を目指すマイクロリアクタについて、一般的事項を述べる。

マイクロリアクタが通常の化学実験で用いるフラスコやビーカーと比較して大きく異なる点は、「反応空間が小さいこと」及び「微小流体中でのフロー系反応であること」の2点であろう。前者では「反応スケールが化学反応に与える特徴」を理解して積極的に活用すれば、マクロなスケールでは非効率であった化学反応を効率的に進めることができ、後者では、「フロー系反応の特徴」を利用することで、容易な化学反応の制御が可能となる。この2点はマイクロリアクタにおける化学反応設計を考える際、極めて重要な知識となる。

(1) 反応スケールが化学反応に与える特徴

(a) 分子拡散距離

マイクロリアクタでは、一般に数十から数百マイクロン程度の流路（マイクロチャンネル）内で反応を行うが、通常のフラスコのスケール（cm スケール）と比較して分子の拡散距離が極端に短くなる。これは機械的な攪拌操作なしで、迅速な混合・反応や分離操作ができることを示している。例えば、1センチメートルのスケールが100マイクロンになる、といった百分の1のスケールダウンを行った場合、空間内での分子拡散に要する時間は1万分の1になるため、拡散律速反応の場合に1時間かかる反応があるとすると、それは0.36秒で終了することになる。迅速な分子拡散に基づく混合・反応容器として代表的なデバイスとしては、ドイツ IMM 社製のマイクロミキサがよく知られている¹⁾。

(b) 比界面積

マイクロリアクタでは、反応体積に対する容器壁面の面積あるいは2液混合時にはその相対的な接触面積が極めて大きくなるため、固液あるいは液液界面が関わる物質移動・反応が高效率に進行する。前者はチャンネル内壁修飾、あるいは微粒子導入に基づく触媒反応に有効と考えられる²⁾。また、後者は1本のチャンネルに水相と有機相を導入した場合に形成される、チャネ

ルに沿った液液界面あるいは液滴の比界面積が、マクロスケールの高速攪拌に相当する大きさとなることから、分子拡散に依存した高速な物質移動を達成でき、相間物質移動が関わる反応などに有効となる^{3),4)}。

(c) 熱容量

これは上記の溶液体積に対する大きな内壁表面積からくる特徴であるが、マイクロリアクタは熱容量が極めて小さな反応場を提供するために、外部からの加温・冷却に対する応答が速く、高速な温度制御が期待できる。また、大きな反応容器では防ぐことが困難な“ホットスポットの発生”を相対的に抑制できるために、特に発熱・爆発を伴う化学反応を安全な反応条件で実施できる⁵⁾。したがって、効率的な反応熱除去などが可能となり、空間選択的反応の実現や副反応抑制に期待が持てる。

(2) フロー系反応の特徴

(a) チャネル内滞在時間

マイクロリアクタを用いる化学反応では通常、ポンプなどを用いて原料溶液を一定流量で導入し、チャネル内で混合・反応を行った後の液体に含まれる生成物を分析あるいは分取する。したがって、原料溶液の流量を制御することによってチャネル内滞在時間、つまり反応時間を厳密に制御することが可能である。

(b) 反応空間の規定

この特徴は上記(a)の滞在時間とも関連が深いですが、マイクロリアクタ内反応では、特定の反応が起こる場所を空間的に仕切ることができる。例えば、最初のチャネルで2種の試薬溶液を合流させた際の生成化学種を、更に下流のチャネルで異なる試薬と合流させ、次の反応に利用することができる。しかもこの場合、生成化学種のチャネル内滞在時間は流量によって厳密に制御することが可能であるため、比較的不安定な反応試薬をチャネル内で生成させ、分解される前に次の試薬と反応させることが可能となる⁶⁾。また、マイクロリアクタでは合成反応触媒を特定の空間に担持することによって、反応空間を規定することもできる。この場合、反応基質が触媒担持空間を通過したときのみ反応が進行するため、反応はチャネル長で制御可能である。

以上のように、マイクロリアクタでは、微小空間の特徴やフロー系反応の特徴を活用することで、マクロな反応では不可能であった多彩な化学反応が実現可能となる。今後、マイクロリアクタを用いた多くの有用な反応例が提示されてくれば、大学などでの研究のみならず、メーカなどにも幅広く普及することが期待される。

■参考文献

- 1) W. Ehrfeld, K. Golbig, V. Hessel, H. Lowe, and T. Richter : “Characterization of mixing in micromixers by a test reaction: single mixing units and mixer arrays,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol.38, no.3, pp.1075-1082, 1999.
- 2) N. G. Wilson and T. McCreedy : “On-chip catalysis using a lithographically fabricated glass microreactor-the dehydration of alcohols using sulfated zirconia,” *Chem. Commun.*, no.9, pp.733-734, 2000.
- 3) H. Hisamoto, T. Saito, M. Tokeshi, A. Hibara, and T. Kitamori : “Fast and high conversion phase-transfer synthesis exploiting the liquid-liquid interface formed in a microchannel chip,” *Chem. Commun.*, no.24, pp.2662-2663, 2001.
- 4) M. Ueno, H. Hisamoto, T. Kitamori, and S. Kobayashi : “Phase-transfer alkylation reactions using microreactors,”

Chem. Commun., no.8, pp.936-937, 2003.

- 5) K. Jahnisch, M. Baerns, V. Hessel, W. Ehrfeld, V. Haverkamp, H. Lowe, Ch. Wille, and A. Guber : "Direct fluorination of toluene using elemental fluorine in gas/liquid microreactors," J. Fluorine. Chem., vol.105, no.1, pp.117-128, 2000.
- 6) J.-I. Yoshida and S. Suga : "Basic concepts of "cation pool" and "cation flow" methods and their applications in conventional and combinatorial organic synthesis," Chem. Eur. J., vol.8, no.12, pp.2650-2658, 2002.

1-1-7 誘電泳動/エレクトロポレーション

(執筆著者：鷲津正夫) [2010年3月 受領]

誘電泳動 (Dielectrophoresis : DEP) とは、不平等電界下に置かれた中性粒子に誘導される電荷と印加した電界との相互作用により、粒子が電界の強い方へ (あるいは弱い方へ) と駆動される現象である。

例えば、図 1・7・1 に示すように、棒-平板電極中に電気的に中性の誘電体粒子が置かれると、誘電分極により粒子両端に等量の正負の電荷 $\pm q$ が現れ、それぞれの電荷には電気力 qE が働くが、棒電極に近い位置での電界の方が平板電極に近い位置での電界より大きいため、結果として、粒子は、電界の強い棒電極の先端へと駆動される。一般に、ピーク値 E の交流交番電界下で、誘電率 ϵ_m 導電率 σ_m の媒質中に置かれた誘電率 ϵ_p 導電率 σ_p を持つ半径 a の球形粒子に誘導される誘電泳動力 F_{dep} は、

$$F_{\text{dep}} = \pi a^3 \epsilon_m \text{Re}[K^*(\omega) \nabla(E^2)] \quad (1\cdot7\cdot1)$$

ただし、 ω は印加電界の角周波数、 j は虚数単位

$$K^*(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + \epsilon_m^*}, \quad \epsilon_p^* = \epsilon_p - j \frac{\sigma_p}{\omega}, \quad \epsilon_m^* = \epsilon_m - j \frac{\sigma_m}{\omega}$$

で与えられる。式(1・7・1)は、誘電泳動力が粒子の体積に比例する力で、 $\text{Re}[K^*(\omega)] > 0$ 、すなわち粒子が媒質より分極しやすい場合には、粒子を電界が強い方へと引き付ける力が働き (正の誘電泳動, Positive DEP)、一方、 $\text{Re}[K^*(\omega)] < 0$ 、すなわち媒質の方が分極しやすい場合には、粒子を電界が弱い方へと押しやる力が働く (負の誘電泳動, Negative DEP) ことを示している。誘電泳動は、相対的に分極しやすい物体が電界の強い方へと引き寄せられるというより一般的な現象の一形態であるが、水溶液中の細胞などのハンドリングへの応用に対して特にこの呼び名が用いられることが多い。

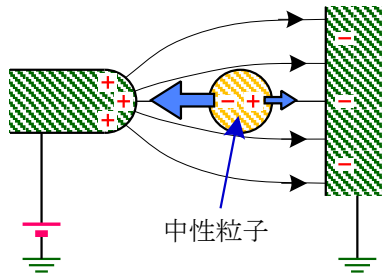


図 1・7・1 誘電泳動の原理

誘導双極子と電界の相互作用に起因する力学的効果としては、この誘電泳動以外に、細長い

物体が電界に平行に向きを揃える静電配向 (Electrostatic Orientation), 複数の粒子に誘導された双極子が引き合う結果, 粒子が電気力線の向きに数珠玉のようにつながる数珠玉形成現象 (Pearl Chain Formation), 回転電界下で粒子が回転するエレクトロローテーション (Electrorotation : ROT), 進行波電界により粒子が回転トルクを受けるとともに搬送される進行波誘電泳動 (Travelling-wave DEP) などがある。

エレクトロポレーション (Electroporation ; 電気穿孔) とは, 電界を用いて, 細胞膜に一過的な小孔 (Pore) を開ける技術のことを指す。

細胞は, 導電性の細胞質と, それを包み込む絶縁性の細胞膜 (厚さ数 nm のリン脂質 2 重層) によって電気的にモデル化される。ここにパルス電圧を印加すると, 細胞周囲の媒質及び細胞質を通して絶縁性の細胞膜の充電が生じ, 細胞膜内外に電位差, すなわち膜電圧が発生する。膜電圧が細胞膜のブレイクダウン電圧 (細胞の種類によらず 1 V 程度であることが知られている) を超えると, 絶縁破壊が生じ, 細胞膜に小孔が形成される。過大な電圧は細胞の破壊に至るが, 膜電圧が適度であれば, この小孔は, リン脂質膜の流動性により時間とともに自復する。したがって, 取り込ませたい物質 (例えば遺伝子) を含む溶液中に細胞を置き, ここに適当な大きさの電界を印加すれば, 細胞を破壊することなく小孔を通して細胞内に物質を導入することができる。これがエレクトロポレーションの原理である。

また, 電気穿孔を細胞の接触点で発生させると, 細胞膜のリコネクションが生じ, 細胞を融合させることができる。これが電気細胞融合 (Electrofusion) の原理である。電気細胞融合においては, まず, 細胞懸濁液に交流電界を印加して上記の数珠玉形成現象により細胞を電界に沿って一列に並べ, 次にパルス電圧を印加することにより細胞接触点でのブレイクダウンを起こして融合させるという手順をとる。

■参考文献

- 1) H.A. Pohl : "Dielectrophoresis," Cambridge University Press, 1978.
- 2) T.B. Jones : "Electromechanics of Particles," Cambridge University Press, 1995.
- 3) H.M. Morgan and N.G. Green : "AC Electrokinetics: colloids and nanoparticles," Research Studies Press, 2003.
- 4) M.P. Hughes : "Nanoelectromechanics in Engineering and Biology," CRC Press, 2003.
- 5) U. Zimmermann : "Electrical breakdown, electroporation and electrofusion," Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., vol.15, pp.175-345, 1986.

1-1-8 PEG による生体親和性表面

(執筆者：長崎幸夫) [2010年6月 受領]

基材表面に抗体や抗原などのタンパク質を固定し, 生体分子の特異的反応を利用するシステムは, 古くから免疫診断, 酵素免疫測定法による生体分子の検出など, 様々な研究開発が行われてきた。これは固定する生体分子の本来有する特異性が利用され, 選択的かつ高感度な検出を可能にする極めて理想的なセンシングシステムとして認知されている。最近では DNA チップ, プロテインチップや表面プラズモン共鳴 (SPR) センサなど様々なバイオセンシングが広がりつつあり, 特にこれらは網羅的解析を目指した新しい解析法として大きな期待を集めている。

しかしながら, このような特異的バイオ認識能を利用した微弱信号を検出するうえでは, 生体組織あるいは生体液とセンシング界面が直接接触するため, これら大量に存在するタンパク

質、脂質などの夾雑物が非特異的に作用し、バイオ計測を高感度化するための信号変換部や増幅部の高性能化を図っても、バックグラウンドも同時に増加し、結果として SN 比が期待するほど向上しないことが極めて重大な問題となってくる。このような観点を鑑みて高性能なバイオインタフェースに要求されるポイントとしては、①基材に固定した生体分子が活性を低下させることなく機能し、高い選択性と感度を示すことのみならず、②夾雑するタンパク質や脂質の非特異吸着を抑制し、バックグラウンドを極限まで低下させることが要求されている。

基材表面に固定するバイオ分子の機能を失活させることなく適正に配向させることは広く検討されており、例えばオリゴヒスチジンを導入したタンパク質をニッケル錯体と複合化することによる His-Tag 法¹⁾や抗体をフラグメント化することによってむき出しになる SH 基を利用した金表面固定化法²⁾など、様々な角度から提案されている。しかしながら、His-Tag 法を利用した固定化法ではタンパク質の固定量や配向は確かに上がるものの、同時にバックグラウンドとしての非特異吸着が増加するため、必ずしも特異的な認識能を検出するには向いていない。ビオチン-アビジン系を利用した固定化法についても複数のタンパク質で固定するため、それらによる非特異吸着が増加することが避けられないのが現状である。

バックグラウンドを低下させるためには固定した抗体や DNA などの生体分子の周りの表面を、通常ブロッキング剤と言われる物質で覆うことによって夾雑物の非特異吸着を抑えることが行われる。このブロッキング剤には牛血清アルブミン (BSA) や牛乳タンパクとして知られるカゼインなどの動物性タンパク質が広く利用されている。しかしながら、このような動物由来物質を大量にブロッキング剤として利用する現状は、①非特異吸着抑制効果が十分でなく、かつ生体分子の特異的認識能も低下させ、期待する機能が十分に達成されないばかりでなく、②動物由来物質を材料にするため BSE などの供給源からの感染という危険性をはらみ、更には③倫理的な問題も避けられないという点で大きな問題を含んでいる。また、ロット間による材料の性能のばらつきや保存安定性など、問題点を挙げればきりが無いのが現状である。

このようななかで人工物質を利用したバイオ表面設計が急務であり、更には高感度化のためにタンパク質、DNA や細胞といった特異的認識物質を、その機能を損なうことなく人工材料と融合させる方法論を構築し、生体由来物質の高度集積化と効率的な分子増幅を通じて、「必要なときに、必要な場所で、必要な検出」を高感度かつ高特異的に行うことが重要である。

ポリエチレングリコール (PEG) は生体毒性や抗原性が低く、高い運動性を有する材料であり、特に生体機材やナノ粒子表面に固定して生体適合性を向上させる処理剤として利用されている。特に片末端を固定したブラシ状 PEG はそのエントロピー弾性によるタンパク質非特異抑制効果が働き、生体液中で清浄な表面を与えることが知られている。この性能を最適化するためには、①PEG ブラシ密度を向上させるとともに、②エントロピー弾性を向上させるために PEG 鎖長を増加させることが望ましい。しかしながら、長鎖 PEG はその排除体積効果により PEG ブラシ密度が低下する。我々は長鎖 PEG ブラシ固定後に短鎖 PEG を固定した mixPEG ブラシを構築することにより長いブラシ鎖と高密度化を同時に達成することを可能とした³⁾。これらの内容を簡単にまとめる。

本研究では、まず図 1・8・1 に示すように PEG を機材表面にブラシ状に構築し、その構造と機能に関する相関を詳細に追究した。まず、PEG 鎖

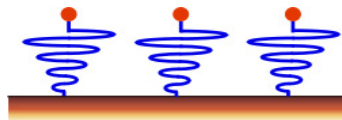


図 1・8・1 スキーム 1

密度とタンパク質非特異吸着抑制効果に関する検討を行い、PEG 鎖が 0.4 本/nm² 程度から急激に非特異吸着を抑制することを確認した⁴⁾。次に、PEG 鎖長の効果を検討し、牛血清アルブミンに対する非特異吸着は鎖長が増すごとに減少するものの、PEG 鎖長が 5 K を超えると逆に非特異吸着が増すことを確認した。これは上述したように、鎖長が長すぎるとポリマーブラシの排除体積効果によりブラシ密度が減少するためと考えられる。ブラシ先端に電子スピン共鳴 (ESR) のプローブとして 2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル (TEMPO) を導入し、ブラシ末端の運動性を調査したところ、鎖長の増大とともに増加し、鎖長が 10 K 程度で水中に溶解した TEMPO 分子と同程度の運動性を有することが確認された。また、ブラシ先端にラクトースを導入し、レクチンとのアフィニティーを調べたところ、鎖長依存的にアフィニティーが増すことが確認された。これらの結果から、PEG ブラシは鎖長が増すごとにエントロピー反発効果が上がり、タンパク質の非特異吸着を抑制するだけでなく、自由末端の運動性が向上し、生体認識能が向上することが明らかとなった。しかしながら一方で、PEG 鎖長を伸ばしすぎると密度の低下が起り、非特異吸着を完全には抑制されないことも確認された。

このような PEG ブラシトレードオフの関係を解決するため、本研究では長い鎖長の PEG と短い鎖長の PEG を組み合わせた mixPEG の構築を行い、その性能評価を表面プラズモン共鳴センサ (SPR) を用いて行った。

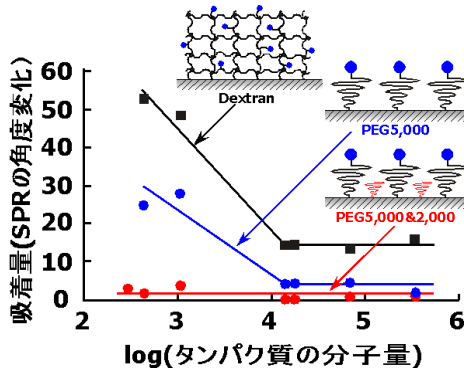


図 1-8-2 混合ブラシ表面はほぼすべてのサイズのタンパク質の非特異吸着を完全に抑制する高性能表面である

図 1-8-2 に示すように、市販のデキストランゲルを 100 nm の厚さでコーティングした場合にはサイズの大きなタンパク質の吸着は抑えられるものの、サイズが小さくなると非特異吸着が避けられないことを確認した。PEG 5k ブラシを用いた場合には、サイズの大きなタンパク質の非特異吸着はほぼ完全に抑制され、ゲルよりも効果的である。しかしながら、サイズが小さくなるとデキストランゲルと同様の傾向が認められた。一方、PEG 5k 処理後に 2k を担持させた表面では分子量数百のペプチドの吸着もほぼ完全に抑制された。これは、鎖長増加に伴うブラシ密度の低下を短鎖 PEG ブラシで補うことにより、高密度ブラシが容易に作製され、この高密度ブラシ表面がほぼ完全な生体分子の非特異吸着抑制を達成したためである。このブラシ表面の厚さは 5 nm 程度であり、極めて高性能なナノバイオインタフェースが構築された。

■参考文献

- 1) J. Schmitt, H. Hess, and H.G. Stunnenberg : Mol. Bio. Rep., vol.18, no.3, pp.223, 1993. and references there in
- 2) H. Zhang and M.E. Meyerhoff : Ana. Chem., vol.78, pp.609, 2006.
- 3) K. Uchida, H. Otsuka, M. Kaneko, K. Kataoka, and Y. Nagasaki : Analytical Chemistry, vol.77, pp.1075-1080, 2005.
- 4) K. Uchida, Y. Hoshino, A. Tamura, K. Yoshimoto, S. Kojima, K. Yamashita, I. Yamanaka, H. Otsuka, K. Kataoka, and Y. Nagasaki : Biointerphases, vol.2, pp.126, 2007.

■S2 群 - 7 編 - 1 章

1-2 デバイス製造技術

1-2-1 シリコン微細加工

(執筆著者：式田光宏) [2010年1月 受領]

(1) シリコンのエッチング加工

本加工法では、フォトリソグラフィ工程にて入力された2次元形状をもとに、エッチングにより微細な構造体をシリコン基板上に作製する。半導体集積回路とは異なり、バイオデバイスではアスペクト比の大きい構造体が必要となるため、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 用に開発されたエッチング技術を用いてシリコン基板を加工する¹⁾²⁾。エッチングは手法によりウェットとドライとに、そして加工形状の違いから等方性と異方性とに分類され、本工程により、如何にして必要とする加工形状を創り出すかが、技術及びノウハウが問われるところである。以下にシリコン微細構造体作製用として開発されたエッチング技術について述べる。

(a) 結晶異方性ウェットエッチング^{3)~6)}

単結晶シリコンの結晶方位によりエッチング速度が異なることを利用して構造体を作製する。母材となる単結晶 Si 基板の面方位及びエッチングマスク領域を適切に選択すると、梁、ダイアフラム、V 溝構造などの微細な構造体を作製できるとともに、エッチング工程を複数回繰り返すことで構造の複雑化も図れる。エッチング液には水酸化カリウム水溶液 (KOH) と水酸化テトラメチルアンモニウム水溶液 (TMAH) がよく用いられる。それぞれ一長一短があり、デバイス作製時における各種仕様を考慮して適宜使い分けしているのが実情である。例えば、KOH 水溶液の場合、加工の再現性、均一性、面粗さなどに優れているが、集積回路との相性が良くないという欠点がある。一方、TMAH は集積回路との相性が良く、バイオデバイスと CMOS との作製を同一の加工工程で作製できるという利点があるが、その一方で KOH に比べると結晶異方性が強くない、均一性が劣るなどという課題がある。

(b) 深掘りドライエッチング^{4)~6)}

フォトリソグラフィ工程で形成したエッチングマスクパターン通りに基板方向に深掘り加工を行う方法である。エッチング時におけるアンダーカットを抑えるために、基板温度を 100℃ 以下にする、エッチングで作製した構造体の側壁に保護膜を形成するといった方法が開発されている。特に、アスペクト比の大きい構造体を作製するときには、側壁保護とエッチングとを交互に行うボッシュプロセスが多く用いられるが、本手法は側壁にスキヤロッピングといった周期的な凹凸が発生するといった欠点がある。また、ローディング効果、ノッチの発生など、ドライエッチング固有の問題が生じるので、これらに対する注意が必要である。

両者いずれかの方法を採用するかは、必要となるデバイス構造、設備投資、生産性、コストなどから決定されている。一般に、ウェットエッチングは生産性及び低コスト化に優れた一面を有しているが、加工形状に結晶方位が関与することから、ドライエッチングに比べると作製できる加工形状に制限が加わる。一方、ドライエッチングは高額な設備投資が必要となる。

(2) エッチング加工の高速化⁹⁾

フォトリソグラフィとエッチングとの組合せで微細な構造体を作製するシリコン微細加工法では、エッチング加工が最も長い時間を要する工程になっている。したがって、エッチング

の高速化がそのまま生産性の向上に直結する。ウエットエッチングに関しては、高温エッチング及び新しいエッチング液による高速化が最近の話題である。ウエットにおけるエッチング反応はアレニウスプロットに従い、エッチング温度を極限まで高くすることで、エッチング速度を格段に向上できる。例えば、エッチング温度を 130 °C にすれば、1 時間で厚さ 0.5 mm の Si ウエハを貫通することが可能となる。また、新種のエッチング液を用いれば、エッチング速度を 3~4 倍にできる。ドライエッチングに関しても、その高速化は着実に図られている。ボッシュプロセスが導入された 1998 年ごろ、エッチング速度は 4 $\mu\text{m}/\text{min}$ であったが、現在ではその 6 倍の 25 $\mu\text{m}/\text{min}$ まで高速化されている。

■参考文献

- 1) 藤田博之：“センサ・マイクロマシン工学,” オーム社, 2005.
- 2) 江刺正喜, 藤田博之, 五十嵐伊勢美, 杉山 進：“マイクロマシーニングとマイクロメカトロニクス,” 培風館, 1992.
- 3) “ウエットエッチングのメカニズムと処理パラメータの最適化 (サイエンス&テクノロジー),” 2008.
- 4) M. エルベンスポーク, H.V. ヤンセン (田畑 修, 佐藤一雄 (訳))：“シリコンマイクロ加工の基礎,” シュプリンガー・フェアラーク東京, 2001.
- 5) “ドライ・ウエットエッチング技術全集,” 技術情報協会, 2009.
- 6) 式田光宏, 佐藤一雄, 田中 浩：“マイクロ・ナノデバイスのエッチング技術,” シーエムシー出版, 2009.

1-2-2 ガラス微細加工 (RIE)

(執筆者：安部 隆) [2010 年 5 月 受領]

微小電気機械システム (Micro Electro Mechanical Systems : MEMS) 分野では、ガラスはシリコンと並んで重要な材料である。特に硼硅酸ガラスの一種であるパイレックス® はシリコンと陽極接合ができることから多用されてきた。バイオナノテクノロジー分野においては、MEMS 製造技術によるガラス微細加工は実験室のピーカー、ガラス管やマイクロピペットなどに対応するマイクロなガラス器具を作る技術としての利用が期待されてきた。実際は、基礎研究の現場では安価に研究者のニーズに合わせた微細構造を容易に提供できるポリジメチルシロキサン (Poly-Di-Methyl-Siloxane : PDMS) が多用されており、実用研究では安価で使い捨てが可能なプラスチックが検討されている²⁾。しかし、ガラスには上記の材料にない長所がある。例えば、作製時や使用時に薬品性や耐熱性が要求される場合には上記の材料よりも優れており、その加工技術は重要である。

シリコン同様にガラスの反応性イオンエッチング (Reactive Ion Etching : RIE) の試みは RIE の発明以来、数多く行われている^{3)~10)}。その技術は、半導体加工レベル³⁾から MEMS のための深掘り加工レベル^{4)~10)}へと大きく進化してきた。現在は、シリコンの深掘り加工と同じく誘導結合プラズマなどの高密度プラズマを採用した RIE 装置に SF₆あるいは C₄F₈などのガスを用いる方法が主流である。ガラスの RIE において、シリコンと最も異なる点は、ガラスには化学組成の異なる様々のものがあり、その違いによりエッチング特性が全く異なることである^{4),5),9)}。表 2・2・1 に MEMS 分野で使用される代表的なガラスの化学組成を示す。

図 2・2・1 に SF₆ ガスを用いたガラスの RIE 例を示す。図の例はすべて 1 時間加工した結果である。スライドガラスにも使われているソーダライムガラスは安価であり、工業的に重要なガラスである。このガラスをフッ素系ガスを用いた RIE でエッチングすると、成分中の Na と Al

表 2・2・1 MEMS 用ガラスの化学組成

	SiO ₂	B ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	MgO	CaO	ZnO	Na ₂ O	Li ₂ O	others
Quartz	>99.9								
Pyrex* ¹	81	13	2				4		
SD2* ²	58.8	1.5	22.3	4.9		10	2.5		0.2
Soda-lime	73		1	4	7		15		
Li-SW* ³	68	6	8	14				3	1

*1 コーニング社の商標 *2 HOYA 社の商標 *3 旭テクノガラス社の商標 いずれも陽極接合可能。

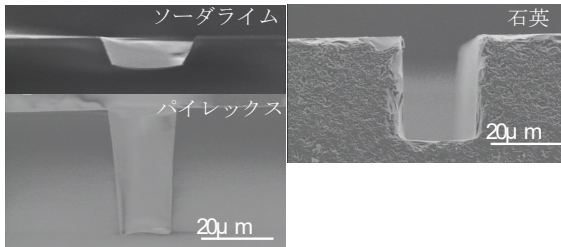


図 2・2・1 反応性イオンエッチングによる各種ガラスの加工例

のフッ化物からなる不揮発性の反応生成物が大量に発生し、表面あるいは側面に堆積し、エッチングを阻害することが知られている。この堆積膜のためにエッチング速度は遅く、側壁面がテーパを形成する。一方、バイレックス®は主成分に SiO₂ と B₂O₃ を多く含有し、フッ素と反応し揮発性の高い生成物 (SiF₄, BF₃) を発生するためにエッチング速度は速い。しかし、微量に存在する Na, Al のために側壁面に僅かなテーパが形成される。そのテーパ角とエッチング速度はパターンサイズと形状に依存することが知られている^{3),5),6)}。このエッチング特性の違いは不揮発性堆積物の量と側壁面の面積の比の違いにより説明されている。ほぼ 100% の SiO₂ からなる石英ガラスでは堆積物を発生するエッチングガスを使用しない限りは、材料とガスとの反応による不揮発性生成物が発生しないために垂直に加工することができる。図から分かるように、バイレックス®ガラスは、異方性（方向性）のある加工に適しており、エッチング速度もガラス材料のなかでは比較的速く、反応性イオンエッチングを用いた微細加工用の材料として優れている。

生産性の観点において、ガラスの RIE には幾つかの課題がある。ガラスのエッチング速度はシリコンのそれと比較すると一桁程度遅い。これは、ガラスの主成分がシリコン酸化物でありシリコンと酸素の強い結合エネルギーを切断する必要があるためである。また、この切断のために高い自己バイアス（数百 V）が必要であり、スパッタ効果によりマスクとの選択比（被加工材とマスクのエッチング速度比）を高くとることが困難であることも課題である。選択比の方は、スパッタ耐性が高い Ni などの金属膜の利用や C₄F₈ などの堆積効果のあるガスを用いることで改善できる。選択比を高くできなくても、マスク自体の厚さを厚くする方法、例えば、シリコン板¹⁰⁾ や厚膜フォトリソグレイドなどの厚いマスクを用いる方法によっても解決できる。

しかし、エッチング速度の劇的な向上は困難である。このようにガラスの RIE においては選択比と加工速度を共に満足させるのは難しい。しかし、現実の利用状況を見てみるとバイオナノテクノロジーの用途においては貫通加工は特殊であり、大部分の用途においてエッチング速度 $0.3\sim 1.0\ \mu\text{m}/\text{min}$ は十分な値である。シリコンはエッチング速度、選択比ともに 1 桁程度高く貫通加工も可能である³⁾ という長所を有するが、光学的に不透明であるという短所もある。前述のように、両者は接着剤なしで接合できるので、デバイス構造に合わせて両者の材料の特徴を補完し合えば貫通構造を必要とする用途への対応もできる。しかし、1 チップ当たりの面積が大きくなるバイオナノテクノロジー用途²⁾ においては、コスト面の制限からシリコンの併用はやはり難しいと考えられる。現状では、同じくガラスと接着しやすい PDMS との併用が現実的となっている。

その他の課題として、ガラスの RIE に使用するガスは SF_6 や C_4F_8 などの温暖化係数の高いガスを使用することが挙げられる。半導体プロセスにおける酸化膜エッチングと同様に、温暖化係数の低いガス (C_3F_8 など) への転換が必要とされている。

■参考文献

- 1) 江刺正喜, 藤田博之, 五十嵐伊勢美, 杉山 進: “マイクロマシーニングとマイクロメトロニクス,” 培風館, 1992.
- 2) 北森武彦 (監修): “マイクロ・ナノ化学チップと医療・環境・バイオ分析,” エヌ・ティー・エス, 2009.
- 3) 式田光宏, 佐藤一雄, 田中 浩 (監修): “マイクロ・ナノデバイスのエッチング技術,” シーエムシー出版, 2009.
- 4) P.W. Leech: “Reactive ion etching of quartz and silica-based glasses in CF_4/CHF_3 plasmas,” vol.55, pp.191-196, 1999.
- 5) X. Li et al.: “Deep reactive ion etching of Pyrex glass using SF_6 plasma,” Sens. & Actuators A, vol.87, pp.139-145, 2001.
- 6) X. Li et al.: “Fabrication of high-density electrical feed-throughs by deep-reactive-ion etching of Pyrex glass,” J. MEMS, vol.11, pp.625-630, 2002.
- 7) T. Ichiki et al.: “Deep dry etching of borosilicate glass using fluorine-based high-density plasmas for micrbelectromechanical system fabrication,” J. Vac. Sci. & Tech. B, vol.21, pp.2188-2192, 2003.
- 8) L. Li et al.: “Smooth surface glass etching by deep reactive ion etching with SF_6 and Xe gases,” J. Vac. Sci. & Tech. B, vol.21, pp.2545-2549, 2003.
- 9) E. Metwalli et al.: “Reactive ion etching of glasses: Composition dependence,” Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B, vol.207, pp.21-27, 2003.
- 10) K. Kokari: “Deep plasma etching of glass with a silicon shadow mask,” Sens. & Actuators A, vol.141, pp.677-684, 2008.

1-2-3 レジスト 3 次元加工

(執筆者: 佐藤寛暢) [2010年3月 受領]

高アスペクト比の構造体をフォトリソグラフィにより簡単に作製可能な SU-8 は耐薬品性に優れていること、露光後の構造体が透明であるため光学観察が可能であること、また生体適合性を持つとされていることなどの理由で、 μTAS デバイスの構造材料として広く利用されている。シリコンやガラスを対象とする従来の微細加工技術は、ドライエッチング装置や接合装置などの高価で特殊な装置を必要とする。これに対して SU-8 を用いた 3 次元微細加工法は、今のところ開発者の創意工夫によって成り立つ面が大きく、比較的安価な装置環境で実施されているという特徴がある。ここでは、 μTAS デバイスへの応用を想定した SU-8 よる 3 次元加工

技術についていくつか紹介する。SU-8 の 3 次元加工の要素技術としては、露光技術、接合技術、そして基板からのリリース技術が挙げられる。以下、それぞれについて簡単に説明する。

(1) 露光技術

従来の半導体微細加工技術では実現困難な傾斜構造体を露光方法を工夫することで作製することができる。具体的には、ガラス基板上に Cr パターニングを施し、その上に SU-8 を塗布する。その基板を傾斜させ裏側から紫外線を照射することにより、基板に対して傾斜した構造体を作製できる¹⁾。また、フォトマスクと SU-8 を塗布した基板を一緒に傾斜させ露光することでも同様の傾斜構造体を形成することができる²⁾。両方法ともに通常の露光方法と併用することで、傾斜構造と垂直構造が共存する 3 次元構造体を形成することができる。本方法を用いてマイクロフィルタ¹⁾やシースフロー形成ユニット²⁾が作製されている。

通常の露光方法では、SU-8 の層を上から下まで紫外線が透過するため、両持ち梁や片持ち梁のような構造を作製することは困難である。このような中空構造を実現するためには、SU-8 層の中ほどで紫外線の透過を遮る必要がある。SU-8 層内に Cr/Au の薄膜パターンを埋め込むことでこれを実現し、片持ち梁を作製した例が報告されている³⁾。具体的には、PDMS のスタンプを用いてパターニングを行うマイクロコンタクトプリンティングを用いて Cr/Au の薄膜パターンを SU-8 上に転写し、その上に更に SU-8 を塗布することにより Cr/Au の薄膜パターンを SU-8 層内に埋め込む。この Cr/Au 薄膜直下の部分には紫外線が当たらないため中空形状を作り出すことができる。本方法を用いてマイクロ流路内にカンチレバーを配した構造が作製されている。

紫外線レーザーを用いて SU-8 の表層部分のみを露光することで中空の 3 次元構造を作製した報告がある⁴⁾。レーザーの焦点位置を走査することで任意の形状を作り出すことができる。また、レーザーパルスの繰り返し周波数を制御することで、構造体の厚さを変化させることが可能である。

(2) 接合技術

マイクロ流体デバイスを想定した場合、SU-8 を塗布した基板を張り合わせるにより流路上面の蓋をすることができる。この張合せ技術を用いれば流路内壁のすべてを SU-8 で構成することが可能となる。その一つの方法として、基板にごく薄い層の SU-8 を塗布し、それ自体を接着剤として張り合わせる方法がある。本方法は低温(室温)での接合であるため、熱に弱い物質などを含むデバイスの作製に有効である。これを用いて、SU-8 で作製したキャピティ内に 50 ナノリットルの液体を封入したデバイスが作製されている⁵⁾。

二つ目の方法として、SU-8 にソフトバークを施した後張り合わせる方法がある。ソフトバークにより溶媒を飛ばした後、ガラス転移温度付近で SU-8 基板同士を接触させ圧力を加えることにより接合を行う。この際、接着層となる SU-8 の膜厚が均一であること及び圧力を均一に加えることが重要となる。この方法を用いてセンチメートルオーダーのマイクロ流路を作製した例が報告されている⁶⁾。

(3) リリース技術

SU-8 の構造体を作製するためには、まずシリコンやガラスなどの基板の上に塗布する必要がある。しかし、安価で使い捨てが可能なデバイスを実現するためには、SU-8 の構造体のみをデバイスとして利用し、シリコンやガラスは使いまわす方が望ましい。このようなフリースタンディングな SU-8 の構造体を得るために基板からのリリース技術が必要となる。ここではウ

エット及びドライの2つのリリース方法について述べる。

ウェットのリリース方法としては、ガラスやシリコンの熱酸化膜上に SU-8 の構造体を形成し、HF 溶液を用いて下地のガラスや熱酸化膜をエッチングにより除去することで SU-8 の構造体をリリースする方法である⁶⁾。この方法は、HF 溶液が非常に危険であること、及び強酸に浸漬されることで SU-8 の架橋反応が促進され、追加の現像処理が不可能となる点が問題点として挙げられる。

ドライのリリース方法としては、基板上に形成したテフロン膜上に SU-8 の構造体を形成したのち、カミソリの刃などを使ってテフロン膜との境目から SU-8 の構造体を機械的に引き剥がす方法である⁷⁾。一見、乱暴な方法のようであるが、ウエハスケールでのプロセスが可能な非常に優れた方法である。作業者の力量に頼らない汎用性のある技術にまで高められることが期待される。

■参考文献

- 1) H. Sato, et.al. : “In-channel 3-D micromesh structures using maskless multi-angle exposure and their microfilter application,” *Sensors & Actuators A*, vol.111, pp.87-92, 2004.
- 2) R. Yang, et.al. : “Microfabrication and test of a three-dimensional polymer hydro-focusing unit for flow cytometry applications,” *Sensors & Actuators A*, vol.118, pp.259-267, 2004.
- 3) D. Haefliger, et.al. : “Three-dimensional microfabrication in negative resist using printed masks,” *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol.16, pp.951-957, 2006.
- 4) H. Yu, et.al. : “Fabrication of three-dimensional microstructures based on singled-layered SU-8 for lab-on-chip applications,” *Sensors & Actuators A*, vol.127, pp.228-234, 2006.
- 5) A. Nijdam, et.al. : “Fluidic encapsulation in SU-8 μ -reservoirs with μ -fluidic through-chip channels,” *Sensors & Actuators A*, vol.120, pp.127-183, 2005.
- 6) S. Tuomikoski, et.al. : “Free-standing SU-8 microfluidic chips by adhesive bonding and release etching,” *Sensors & Actuators A*, vol.120, pp.408-415, 2005.
- 7) M. Cheng, et.al. : “Dry release of polymer structures with anti-sticking layer,” *Journal of Vacuum Science and Technology A*, vol.22, no.3, pp.837-841, 2004.

1-2-4 ポリマー加工 (ナノインプリント)

(執筆者：松井真二) [2015年5月 受領]

ナノインプリントは、凹凸のパターンを形成したモールドを、基板上の液状ポリマーなどへ押し付けパターンを転写するものである¹⁾。10 nm レベルのナノ構造体を、安価に大量生産でき、かつ高精度化が可能となりうる技術として近年注目を浴びている。

1995年に Chou 教授が、ポリマーのガラス転移温度付近で昇温、冷却過程により 10 nm パターン転写が可能であるナノインプリント技術を発表した²⁾³⁾。熱サイクルプロセスであるため、熱ナノインプリントとも呼ばれている。その後、オランダのフィリップス研究所 (1996年)、米国テキサス大学の Wilson 教授が紫外光硬化樹脂を用いた、光 (UV) ナノインプリント技術を発表した⁴⁾⁵⁾。その後、世界の研究機関でナノインプリント技術研究開発が開始され、10 nm パターン転写が可能であることがその再現性ととも報告され、ナノインプリント装置が市販されるとともに、ナノインプリント技術が一般化し、その応用デバイスの発表が行われるようになってきた。

応用分野として、光学部品、パターンド・メディア、マイクロ流体デバイス、バイオチップ、有機 EL などのフレキシブルエレクトロニクス、太陽電池、燃料電池などのデバイス応用研究

が行われている。高精度アライメントを必要とする LSI 応用については、研究段階であるが、IT・エレクトロニクス、バイオ・ライフサイエンス、環境・エネルギーのすべての分野でナノインプリント技術を利用した製品展開が進行中である。

(1) 熱ナノインプリント技術

Chou らによるナノインプリントでは、熱可塑性樹脂の PMMA (ポリメタクリル酸メチル：ガラス転移温度 (T_g) 105 °C) を基板に塗布し、PMMA ポリマー層のガラス転移温度以上に昇温して、ポリマーを液状とする。その後、モールド (Ni 基板, Si 基板, または SiO_2/Si 基板の SiO_2 層にパターン形成) をプレスし、ガラス転移温度以下に冷却後、モールドと基板の引き離しを行う。この方式が熱ナノインプリントである²⁾。

転写パターンを作製するプロセスを図 2・4・1(a)に示す。(1) シリコン基板に熱可塑性樹脂 (PMMA など) 薄膜を塗布形成する。(2) 熱可塑性樹脂を塗布した基板をガラス転移温度より数 10 °C 高い温度 (PMMA の場合、ガラス転移温度が 105 °C であるので 120~150 °C) まで加熱して熱可塑性樹脂を軟化させ、(3) モールドを熱可塑性樹脂に接触させて 5~10 MPa で加圧することにより、レジストを变形させる。(4) プレスした状態を保ちつつ、基板温度を冷却し樹脂を硬化させ、モールドの凹凸を樹脂に転写する。(5) 樹脂が十分硬化した後、モールドを離す。このとき、モールドの凸部に相当する部分が、シリコン基板上に薄い残膜として残る。酸素の反応性イオンエッチングで残膜のレジストを除去し、基板表面を出す。

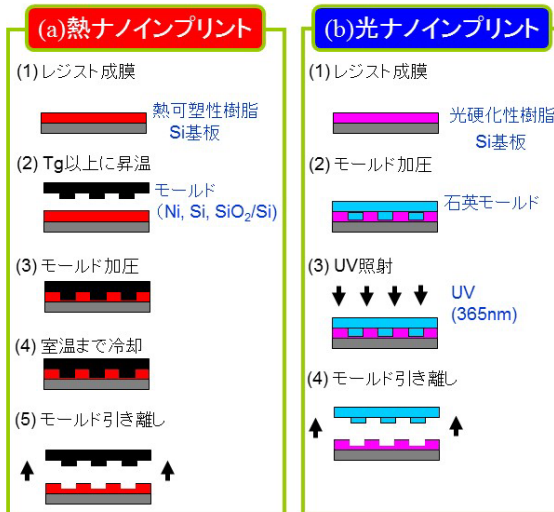
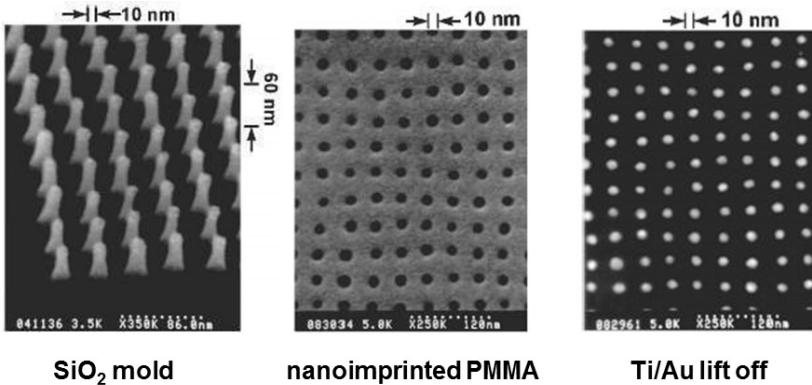


図 2・4・1 ナノインプリントプロセス

Chou らの実験により、10 nm 以下の転写が可能なが示され、本技術自体には解像度限界がなく、解像度はモールドの作製精度によって決まることが実証された。現状のフォトマスクと同様に、モールドさえ入手できれば、従来のフォトリソグラフィより簡便に、はるかに安価な装置により、極微細構造が形成できる。図 2・4・2 に Si 基板上の SiO_2/Si モールドを用いて、熱ナノインプリントされた 10 nm の PMMA 転写パターンを示す³⁾。更に、サファイア基板の

0.2 nm ステップをガラス上に転写した熱ナノインプリントが報告されている⁶⁾。以上のように、熱サイクルインプリントは、簡便な装置で、大面積に 10 nm オーダーの構造を形成できる量産技術としての可能性を有している。



“Sub-10 nm imprint lithography and applications”

Stephen Y. Chou, Peter R. Krauss, Wei Zhang, Lingjie Guo, and Lei Zhuang
J. Vac. Sci & Technol., B15(6), pp. 2897-2904 (1997).

図 2.4.2 熱ナノインプリントの高解像度パターン

(2) 光 (UV) ナノインプリント技術

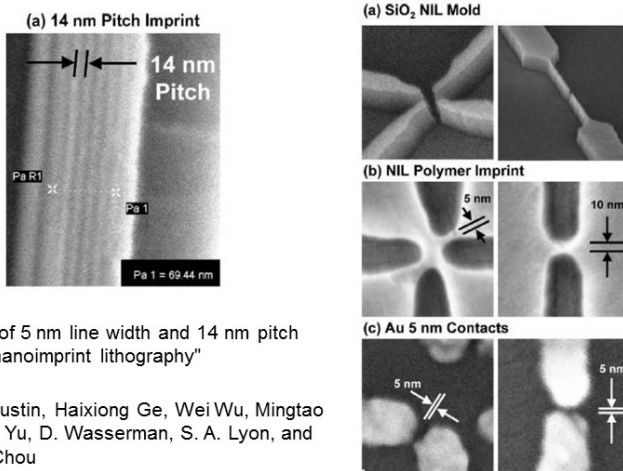
UV ナノインプリントは、室温プロセスで、石英基板表面にパターンの凹凸をつけた透明モールドを用いる。低粘性の光硬化樹脂をレジストとして用いているため、石英モールドのレジストへのプレス圧は、熱ナノインプリントが 5~10 MPa であるのに対して、0.1 MPa 以下と極めて小さい⁴⁾⁵⁾。これらの特徴のために、位置合わせ精度及び重ね合わせ精度は基本的に現状の光ステップと同程度であると期待できる。パターン転写には紫外光が用いられるが、その解像度は光の波長に依存せず、石英モールドのパターンサイズにより決まる。

このプロセスを図 2.4.1 (b)に示す。このプロセスは、(1) シリコン基板上に光硬化樹脂薄膜を塗布形成する。次に、(2) 室温で、粘度の低い光硬化樹脂を石英モールドで変形させて、(3) その後に紫外光 (300~400 nm : 通常 365 nm) を照射して樹脂を硬化させ、(4) モールドを離すことによりパターンを得るものである。

パターンを得るのに紫外光の照射のみで行えるので、熱サイクルに比べ、スループットが高く、温度による寸法変化などを防ぐことができる。また、モールドには紫外光を透過するモールドを使用するので、モールドを透過しての位置合わせが行える利点もある。ステップ&リブートによりウエハ全面へのインプリントも可能となる。

光ナノインプリント用のモールドとして、石英が用いられる。ラインエッジラフネス (LER) が 0.6 nm のモールドを用いて、UV ナノインプリント用光硬化樹脂 PAK-01 (東洋合成(株)) へ転写結果、転写パターンの LER は 0.8 nm であることが示されており、光ナノインプリントの低 LER 転写特性が実証されている⁷⁾。また、線幅 5 nm の石英ナノインプリントモールドを

電子ビーム露光とドライエッチングで作製し、UV ナノインプリントした結果、図 2・4・3 に示すように最小線幅 5 nm パターンの転写に成功している⁸⁾。更に、2.4 nm 径のカーボンナノチューブを PDMS で型取り、PDMS モールドを用いて UV ナノインプリントを行い、線幅 2.4 nm の光硬化樹脂パターン転写が報告されている⁹⁾。



"Fabrication of 5 nm line width and 14 nm pitch features by nanoimprint lithography"

Michael D. Austin, Haixiong Ge, Wei Wu, Mingtao Li, Zhaoning Yu, D. Wasserman, S. A. Lyon, and Stephen Y. Chou

Appl. Phys. Lett., 84(26), pp. 5299-5301 (2004).

図 2・4・3 光ナノインプリントの高解像度パターン

■参考文献

- 1) 松井真二, 平井義彦: "ナノインプリント技術," 電子通信学会出版, 2014.
- 2) S.Y. Chou, P.R. Krauss, and P.J. Renstrom : Appl. Phys. Lett., vol.67, pp.3114, 1995.
- 3) S.Y. Chou, P.R. Krauss, and P.J. Renstrom : J. Vac. Sci. Technol., vol.B15, pp.2897, 1997.
- 4) J. Haisma, M. Verheijen, and K. Heuvel : J. Vac. Sci. Technol., vol.B14, pp.4124, 1996.
- 5) T. Bailey, B.J. Chooi, M. Colburn, M. Meissi, S. Shaya, J.G. Ekerdt, S.V. Screenivasan, and C.G. Willson : J. Vac. Sci. Technol., vol.B18, pp.3572, 2000.
- 6) Y. Akita, T. Watanabe, W. Hara, A. Matsuda, and M. Yoshimoto : Jpn. J. Appl. Phys., vol.46, 06FH01, 2009.
- 7) 廣島 洋 : 光技術コンタクト, vol.41, no.6, pp.19-27, 2003.
- 8) M.D. Austin, H.W. Wu, M.L. Zhaoning, Y.D. Wasserman, S.A. Lyon, and S.Y. Chou : Appl. Phys. Lett., vol.84, pp.5299, 2004.
- 9) F. Hua, Y. Sun, A. Gaur, M.A. Meitl, L. Bilhaut, L. Rotkina, J. Wang, P. Geil, M. Shim, J.A. Rogers, and A. Shim : Nano Lett., vol.4, pp.2467, 2004.

1-2-5 紫外線硬化樹脂 (集光ビーム)

1-2-6 金属加工

1-2-7 型成型及び接合実装

■S2 群 - 7 編 - 1 章

1-3 デバイス機能化及び集積化技術

1-3-1 形状記憶合金アクチュエータ

1-3-2 強誘電体アクチュエータ

1-3-3 柔らかいバルーンアクチュエータ

1-3-4 バイオアクチュエータ

1-3-5 センサ及び集積化システム技術

■S2 群 - 7 編 - 1 章

1-4 流体素子ユニット

1-4-1 マイクロ流体素子

(執筆著者：三宅 亮) [2010年6月受領]

マイクロ流体素子といえば、1950年代後半から1960年代にかけて盛んに研究された純流体素子を忘れてはならない¹⁾。図4・1・1は典型的な純流体素子の構成図で、平板に機械加工により蟻溝状の流路を形成させたものである。大きさは用途に応じて数 cm から数十 cm まで様々ある。下から流入する主填流に対して左右から制御流を与えることで、主填流の流出先を右と左の出口に切り替えることができる。一度切り替わると、そのまま壁に付着して流れるため(コアンダ効果)、スイッチング素子として利用することができる。これらの素子を複数個、並列、直列に連結することで、原理的には論理演算回路の実現が可能となる。しかしながら、ちょうど同時期、トランジスタが出現してきたため、演算用素子としては普及しなかった。融雪用スプリンクラーやエアシャワーのノズルなどに利用されるに留まっている。ただし、このように平板上に蟻溝を設け、それを積層して流路を形成する純流体素子のデザイン手法は、その後のMEMS加工技術の発展と相俟って、医療分析やバイオ研究向けのマイクロ流体素子のデザインや製法に少なからず影響を与えてきた。

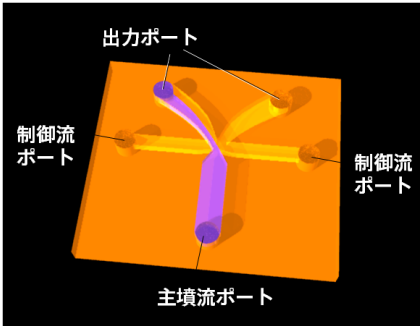


図4・1・1 純流体素子 (スイッチング素子)

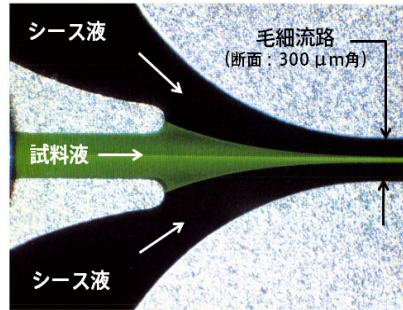


図4・1・2 細胞分析用フローセル

図4・1・2は、正に純流体素子の流路形状を参考に設計された細胞分析用のフローセルである²⁾。厚さ100 μmのステンレス板3枚に流路パターンをウエットエッチング技術で加工し、上下をガラスで挟み込むことで幅・深さ300 μmの細胞分析用の流路を形成している。左側のノズルから流入する試料液は写真上下から流入するシース液で包み込まれて右側の毛細流路に縮流しながら入っていく。毛細流路では、壁面の強い拘束力により中心流速が数 m/s に至っても層流状態を保つため、写真に示すように細く安定した試料液の流れを形成させることができる。細胞をこの試料液に混在させておくと、毛細流路に細胞を一行に整列させて高速に流すことができる。この細胞をめがけてレーザー光などを照射し、散乱光や蛍光を測定することで一つひとつの細胞情報を高速に得ることができる。

マイクロ流体素子が純流体素子と根本的に異なるところは、その「小ささ」である。ここでいうところの「小ささ」とは 1 cm の流路が 10 μm になるといった桁レベルでの微小化を指す。上記の細胞分析用フローセルの毛細流路では寸法 (= d) が極めて小さいため、流速 (= v) が大きくなっても流体の慣性力は小さく保たれる。慣性力と粘性力の比で表すレイノルズ数 (= vd/ν , ν : 動粘性係数) もそれに応じて小さくなり、高速な流れであっても乱流に移行せず安定な流れを得ることができる。小さくなると、このように「寸法効果」が顕著になる。この寸法効果をうまく利用した別のマイクロ流体素子として微量の試薬と試料液を迅速・均質に混合させるためのマイクロミキサがある。次に、このマイクロミキサについて紹介する。

分子拡散による混合時間は $t=L^2/D$ で見積もることができる。拡散係数として典型的な値 $D=1\times 10^{-3}\text{mm}^2/\text{s}$ を与えると、拡散距離が $L=1\text{mm}$ の場合の所要時間は 17 分にもなり、それが 1/100 の 0.01 mm (=10 μm) になると、所要時間は 0.1 秒まで短縮する。100 μm 以下のピッチで 2 液を交互に分散させた状態を作り出せば、攪拌子で対流を起こす必要はなく、分子拡散のみで極めて迅速・均一に混合が可能となる。

図 4・1・3 はこれらの効果を利用した、試薬と試料液を混合・反応させるためのマイクロミキサである³⁾。薄く平たい混合室の底面に多くのマイクロノズルを 100 μm 間隔で整列して設け、そのノズルから試薬液を噴出させる。その流れは図にあるように微小な液柱(ブルーム)となって立ち上がる。2 次元的に分布する微小液柱の群は 2 液の接触面積を著しく増大させる。また、ブルーム間の距離を小さくかつ均等に設定しているのも、まだらのない迅速な混合が実現するというものである。マイクロミキサはコンパクトな水質分析装置や、高効率な化学合成反応のためのマイクロリアクタに利用されている。

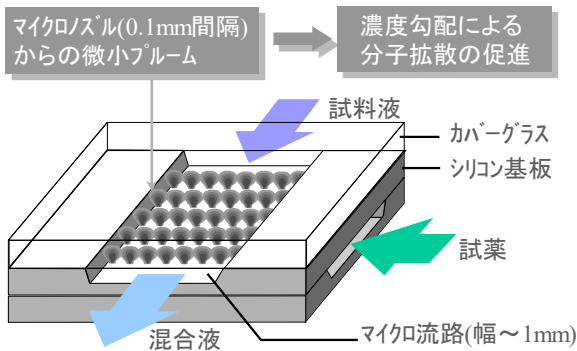


図 4・1・3 マイクロミキサ

■参考文献

- 1) 尾崎省太郎, 原 美明: “純流体素子入門,” 日刊工業新聞社, 1967.
- 2) R. Miyake, H. Ohki, I. Yamazaki, and R. Yabe: “A DEVELOPMENT OF MICRO SHEATH FLOW CHAMBER,” Proceedings of MEMS '91, pp.265-270, 1991.
- 3) R. Miyake, T.S.J. Lammerink, M. Elwenspoek, and J.H.J. Fluitman: “Micro Mixer with Fast Diffusion,” Proceedings of MEMS '93, pp.248-253, 1993.

1-4-2 マイクロ流体機械

1-4-3 マイクロ液滴生成

(執筆著：平間宏忠，鳥居 徹) [2015年6月受領]

マイクロ液滴（以下、液滴）は、直径数 μm から数百 μm の水滴や油滴である。これらの液滴は、それぞれ油中分散水滴や Water-in-Oil (W/O) 液滴や W/O エマルション、水中分散油滴や Oil-in-Water (O/W) 液滴や O/W エマルションなどとも呼ばれる。基板上に溝（T 字もしくは十字など）を掘りそこへ蓋をした構造からなる微小流路に、一定流量の液体試薬を送液することで、サイズの揃った（単分散）液滴が連続的に作製できる（図 4・3・1(A)）。微小流路を用いた液滴生成は、単分散の液滴が高速（～毎秒 1 万個）に生成でき、液滴サイズが幅広く調整できるため、様々な用途に利用されている。

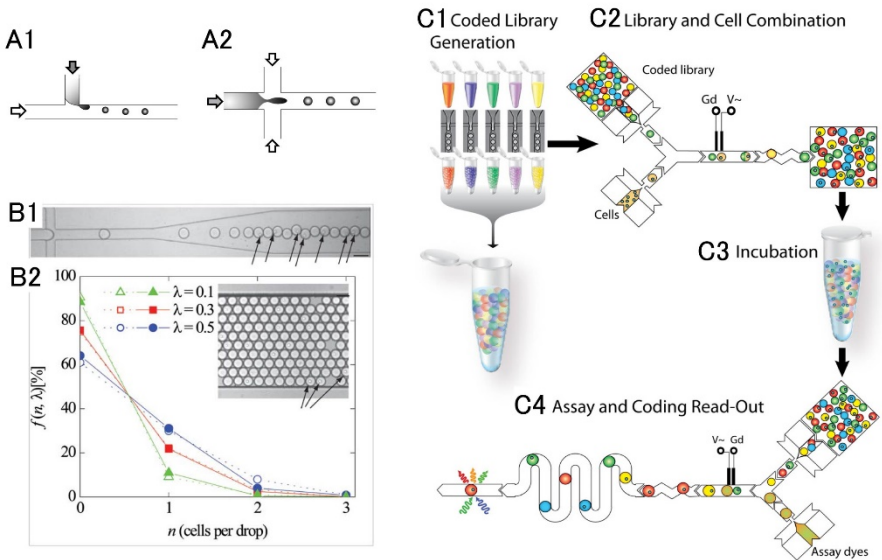


図 4・3・1 微小流路を用いた液滴生成とその応用。(A) 微小流路による液滴生成，(B) 液滴への細胞の内包¹⁾，(C) 液滴を用いた単一細胞解析の一例²⁾。

(B) : Copyright © 2008 American Chemical Society, (C) : Copyright © 2009 National Academy of Sciences, USA)

微小流路に送液する液体に、様々な物質（例：金属・樹脂粒子，細胞，分子）を懸濁させておくことで、それらの物質を内包した液滴を生成することができる。こうして得られた液滴はカプセルとして利用できる。特に、細胞を内包した液滴を生成する場合，細胞懸濁液を希釈しておくことで，液滴中の細胞数が 0 個もしくは 1 個となる（ポアソン分布に従う）ように調整することができる（図 4・3・1(B)）¹⁾。そのため，1 個の液滴に生きた細胞を 1 個ずつ閉じ込めることができる。

一方、がん細胞などでは、細胞 1 個単位の特徴を理解することが重要であるため、細胞を 1 個ずつ精密に操作し計測する、単一細胞解析が盛んに行われている。近年では、単一細胞解析に液滴を用いることで、様々なハイスループットの単一細胞解析が実現されている。ここではその一例として、細胞 1 個を内包する液滴を用いた、細胞への薬物の毒性試験について紹介する (図 4・3・1(C))²⁾。本研究では、微小流路を用いて、様々な薬物からなる液滴と 1 個の細胞を内包した液滴をそれぞれ生成する。続いて、これらの液滴を 1 対 1 で合体させる。最後に、液滴中の細胞の生死を検出することで、各薬物の細胞への毒性が計測できる。

生化学プロセスに微小体積の液滴を用いることで、前述のようにプロセスをハイスループット化できるだけでなく、貴重な生化学試薬や細胞の使用量を減らすことができようになった。今後、液滴を用いたバイオプロセスの技術開発が進むことによって、バイオ関連研究の更なる迅速化に貢献することが期待される。

■参考文献

- 1) Koster, S. et al. : “Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells,” Lab on a chip 8, pp.1110-1115, doi:10.1039/b802941e, 2008.
- 2) Brouzes, E. et al. : “Droplet microfluidic technology for single-cell high-throughput screening,” Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol.106, pp.14195-14200, doi:10.1073/pnas.0903542106, 2009.