化学/バイオマイクロ・ナノシステム

—エレクトロニクスの微細加工技術の化学/バイオへの応用—

庄子習一

早稲田大学理工学部電気・情報生命工学科 ☎ 169-8555 東京都新宿区大久保 3-4-1

(2003 年 7 月 11 日受理)

Micro/Nanosystems for Chemical/Biochemical Applications
—Applications of MEMS and Top-down Nanotechnologies
for Chemistry and Biotechnology—

Shuichi SHOJI

Department of Electrical Engineering and Bioscience, Waseda University
3-4-1 Ohkubo, Shinjuku-ku, Tokyo 169-8555

(Received July 11, 2003)

Recent topics of the chemical/biochemical micro/nanosystems using MEMS technologies and top down nanotechnologies are reviewed. This field is called Micro Total Analysis Systems (μ TAS), the Lab-on-a-Chip and BioMEMS. The largest international academic conference of this field, Micro Total Analysis Systems (μ TAS 2002), was held in Nara, Japan last November. A general trend in the conference is analyzed and described. Some noteworthy papers concerning the technologies of biomolecule handling and separation are picked up and introduced.

1. は じ め に

集積回路の大規模化、メモリの大容量化を支えて来たエレクトロニクスの微細加工はメカニクスとエレクトロニクスの融合分野 Micro Electro Mechanical System: MEMS の分野でも近年目覚ましい進展を遂げている。特に MEMS 技術はオプティクス、通信や化学・バイオの分野など広い範囲で応用へ向けた研究が進んでいる。化学/バイオ分析システムのダウンサイジングに関しては、1980 年代半ばから MEMS 研究者により始められ、90 年代に入ると化学・生化学分野の研究者に注目されるようになった¹⁾。この分野は欧州では Micro Total Analysis System: μ TAS, 米国では Lab-on-a-Chip あるいは BioMEMS と呼ばれている。我が国では μ TAS の方が一般に受け入れられているようである。化学、生化学、分析化学の研究者による従来分析手法へのマイクロ化技術の応用が盛ん

に研究され、21 世紀の新しいツールとして応用範囲が広がりつつある²⁾。また、化学/バイオシステムを小型化するためのマイクロチャネルの形成技術やマイクロバルブやマイクロポンプなどのマイクロ流体制御素子の研究が MEMS 研究者によって引き続き行われている^{3,4)}。その一方、マイクロ化された流路（マイクロチャネル）中の流体の物理やその性質を利用した Microfluidics 研究も盛んとなっている。DNA の分析を目的とした μ TAS としては、チップ電気泳動システムやゲノムチップなどがすでに市販されている。しかし、いくつかの例を除けば総合的な意味でのシステムとしては現時点ではまだ実用化されておらず、その実現に向けた研究が中心となっている。その一方、ダウンサイジング化はマイクロメータスケールからナノメータスケールへと向かっており、ナノサイズの構造体の分析への応用の例も見られるようになってきた⁵⁾。これはナノテクノロジーとバイオの関わりが始まったことを意味しており、ナノバイオという新たな融合領域が立ち上がりつつあることを示す一

E-mail: shojis@waseda.jp

例と考えられる。システムの実用化の観点から見ると、対象となる生体分子とデバイス・システムの適合性が重要となりつつある。具体的にはシステム内のマイクロチャネル表面の制御を目的としたコーティング技術や化学反応を実現するマイクロ反応セルの触媒表面など液-固体表面の研究が、今後益々重要となると考えられる。本報では、まず、MEMS、ナノテクノロジーと化学/バイオ融合研究の発表の場として位置付けられている Micro Total Analysis Systems: μ TAS 国際会議の動向を紹介する。また、化学/バイオ分野の応用を目的とした素子・要素・システムのダウンサイジング化の有効性について考察する。さらに、 μ TAS 分野のトピックスのいくつかを紹介する。

2. Micro Total Analysis Systems: μ TAS 2002 の動向

μ TAS 国際会議は、MEMS 技術の化学・生化学分野への応用を目的としたマイクロシステムの研究開発に関する国際会議として位置付けられている⁶⁾。Lab-on-a-chip, BioMEMS 等、関連して多数の商用のワークショップが開催されているが、 μ TAS はアカデミックな国際会議として最大の規模となっている。本会議は、1994 年にオランダのエンスヘデで開催されて以来、1996 年スイス・バーゼル、1998 年カナダ・バンフ、2000 年再びエンスヘデ、昨年来国・モントレーとこれまで、欧州、北米で開催されてきた。6 回目となる μ TAS 2002 は 2002 年 11 月にアジアでは初めて奈良で開催された。今回は口頭発表 66 件、ポスター発表 256 報の合計 322 件の報告があった。Fig. 1 に報告された論文をテクノロジー応用、分析手法の 3 つの分野に分けた論文の割合を示す。テクノロジー (MEMS、材料、ナノ) に関する論文は全体の 45% を占め、ついで化学・生化学応用が 43%、残りが検出方式・素子に関するもので 12% となっている。Fig. 2 にテクノロジーを細分類した結果を示す。マイクロスケールの流路 (マイクロチャネル) 内の流体を対象とした Microfluidics の制御方式、デバイスやシステムに関するものが 59% を占めている。これは化学・生化学の分析・合成などを目的としたシステムはいずれも流体中で反応、分離を行うものが多いことを示している。このため、マイクロチャネル内での流体の性質を考慮した素子、要素、システムの研究が中心となっている。ついで、材料、MEMS の加工技術に関する論文が多く、特にプラスチック等の材料、加工技術が目立つ。また、ナノテクノロジーの当該分野への応用に関する論文も増えているのが今回の特徴である。Fig. 3 に化学・生化学応用の細分類を示す。DNA 分析を対象としたものは並列化、高

Fig. 1 Categories of the μ TAS 2002 papers.

Fig. 2 Categories of the papers concerning technologies.

速化によるハイスループットのスクリーニングを対象としており、全体として DNA からプロテオームの分析に関心が向かっている。このための分離技術に関する論文が 23% と大きな割合を占めている。電気泳動チップに関連した論文の割合が大幅に減少し、代わりに医療、環境、薬品開発など応用を明確化した報告の割合が増えている。また、生体細胞を対象とした研究が増えたのも今回の特徴で、細胞のハンドリング、培養などを目的としたマイクロシステムの論文が目立った。さらに、分析システムの自動化には欠かすことのできない生体サンプルの前処理に関する論文も見られるようになり、本当の意味での総合的な化学・生化学マイクロシステムへのアプローチが始まっていることが感じられる。Fig. 4 に検出方式・素子の細分類を示す。これによると全体の 41% が蛍光、吸光など光学的方法に関するものであり、この中では検出器の小型化に関連するものが大半を占めている。プロテオームの分析を対象とする場合は検出器の分解能の点で質量分析が現時点では有効となるため、その報告が次いで多くなっている。また、集積化を考えると電気化学的な検出器が有望となる。他にも、様々な新しい検出手法や評価方向が提案された。

3. ダウンサイジング化の効果

ここで、化学/バイオの分野における素子・要素・システムのダウンサイジング化の有効性について考える。

Fig. 3 Categories of the papers concerning chemical/biochemical applications.

Fig. 4 Categories of the papers concerning detection methods (sensors).

化学反応を行う容器（代表寸法：L）の小型化に伴うスケール効果は1) 拡散による混合が起こり易い 2) 体積（L³）に対する容器の表面積（L²）の比が大きくなる 3) マイクロ化された流路を流れる流体を考える場合、断面積に対する周囲長が大きくなるなどがある。1) は容器寸法が1/10になった場合、混合時間が1/100に短縮される効果があり、拡散律速の反応においては反応時間の短縮につながる。2) の効果としては容器内の液体の加熱、冷却など温度制御や表面-液体間の触媒化学反応の効率化が期待できる。3) では壁と流体との粘性力の影響が慣性力よりも大きくなることから、マイクロチャネル内を流れる流体は安定な層流となる。以上のようなマイクロ化の効果を生かしたマイクロアクターがMEMS技術の応用により製作されている。これまでのところ、 μ TAS分野では、3) の層流の性質を利用した報告がほとんどであり、1) の効果を利用した例がそれに次いでいる。2) の効果では、温度制御の有効性を生かしてDNAの増殖を行うPolymerize-Chain-Reaction (PCR) 用の反応器がある。今後は、2) の表面-液体間の界面効果の化学/バイオへの応用が期待され、その際には固体表面の制御が問題となる。この分野において、表面ナノ構造とバイオの関わりに関する研究が益々重要

となると思われる。

4. μ TAS 分野のトピックス

μ TAS 分野の現状は化学/バイオへの応用分野が年々広がっており、次第に実用化を目指した研究が増えている。紙面の関係で紹介できるのはその一部のみとなるが、バイオへの応用という観点から最近のトピックスを以下に述べる。

4.1 生体分子ハンドリング

最近1つの細胞から取り出した生体物質を増殖し分析することを目的とした研究が盛んになっている。これまでもバイオの実験では細胞や生体物質の選択・採集を行う目的にはフローサイトメータが用いられてきた。これはサンプルを1個ずつ液滴に閉じ込め、空気中に放出して、光学検出をもとにその軌道を静電的に制御して取捨選択を行うシステムである。この装置は大型で高価であるため、同じ機能を小型でしかも安価なマイクロチャネルを形成したマイクロチップを利用して実現する研究がなされている。その1つとして、生体物質を含むサンプルの流れを両側から搬送流（キャリア流）で挟んだシースフローを用いたものが報告されている^{7,8)}。蛍光ラベル化した生体物質が観測点を通る際の蛍光強度を検出し、その信号をもとに生体物質の出口を切り替える。その際、左右キャリアフローの流量により流れ出る出口を切り替える（スイッチング）ものが先に報告された⁷⁾。しかし、スイッチング時間が長く実用的でないため、Fig. 5 (a) のように分岐点付近に電極を設けて電気泳動力を用いてスイッチングを行うものが開発されている⁸⁾。細胞を対象とするソーティングの際、印加電界が細胞機能に影響を与える可能性があるため、廃棄する場合のみに電圧を加えるなどの工夫が施されている。同じ機能を実現するものとして熱によりゾル-ゲル転移するハイドロゲルをキャリアとして用いる方式が提案されている。汎

Fig. 5 Biomolecules sorting microsystems realized in micro-channel.^{8,9)} (a) Using depulsive dielectrophoretic force for the flow switch. (b) Using thermal sol-gel transition for the flow switch.

用のポリマー材料であるメチルセルロースは55℃以上になるとゾルからゲルへと転移する。この性質を利用して細胞をトラップする試みがなされている⁹⁾。また、新たに開発されたナノ材料のMebiol Gel™ (MG)は転移温度が36℃であり、生体分子のハンドリングには適している。ハイドロゲルの相転移を利用するとマイクロチャネルの一部を局所的に加熱することにより固化化した部分を作ることが可能となる。マイクロチャネルの一部を収束赤外線レーザで加熱することにより、これを実現して新しいコンセプトのマイクロバルブを製作できる。これにより従来のように複雑な機械的機構を必要とせず、単純なマイクロチャネル内の任意の場所にバルブ機能を持たせることが可能である。この原理を用いるとFig. 5 (b)のようにマイクロスケールのY字型のマイクロチャネルを用いて、細胞や生体分子を選択分離する

Fig. 6 Chip electrophoresis using nano arrayed pillars instead of the gel.^{10,11)}

マイクロフローセルが実現できる。スイッチングに必要な時間はゲル化するポリマーの熱容量および基板 (Si-ガラスの張合せ構造) の熱伝導およびスイッチングの制御機構によって決まるが、試作したものでは、100 msec程度であった。実際のゾル-ゲル転移速度はmsecのオーダーであり、検出-制御をPCコントロールし、流路形状を最適化することによりさらなる高速化が図れる。

4.2 生体分子の分離

DNAやタンパク質の分析には、蛍光分析、吸光分析などの光学的な手法が多く用いられている。生体分子の分析の技術が向上した背景の一つは、多くの類似物質の中から特定の被検出分子を特定する選択性の向上があげられる。現状ではセンサに選択性を持たせるのではなく、クロマトグラフィー的手法で分子量や電荷量によって分子を分離し、それを検出することによって高選択性を実現している。μTASの分野ではチップ電気泳動システムにおいては、マイクロチャネル自体をクロマトグラフィーのカラムとして用いる場合が多いが、高分子ゲルを充填したマイクロチャネルを用いる場合も報告されている。最近、Fig. 6のように高分子ゲルの代わりに、ドライエッチングによる高アスペクト比ガラス加工により形成されるナノピラーアレイを用いる研究が報告され注目されている^{10,11)}。ナノピラーは高分子ゲルに比べ、ナノ構造の寸法のばらつきが少なく分離の均一性に優れていることが証明されている。DNAの分離に関しては非常に有効な技術と思われる。さらに、タンパク質を対象とする場合には、ナノピラーの表面構造を精密に制御する必要があり今後の課題となると思われる。一方、高分子ゲルの代わりに新しい材料であるCore-Polymerized Micelle (CMP)という球状のナノ物質を充填し、精密に制御されたナノスケール空間で電気泳動分離を行う研究が

なされている¹²⁾。

5. お わ り に

本報ではエレクトロニクスの微細加工技術をベースとしたMEMSとトップダウンナノテクノロジーの化学/バイオへの応用の動向について紹介した。バイオに関する研究はDNAからプロテオームへ対象が移り、より高感度な分析技術、より精密な化学プロセスを実現するものが評価される傾向が見られる。医療、環境、薬品開発などに関してもより具体的評価を必要とすることになる。これらの分野で実用的なマイクロシステム実現する上で、デバイスやシステム内部の液-固体、気-固体界面を始めとする表面の制御が大きな課題となり、表面の科学の解明とその利用が重要な位置を占めると考えられる。今後これに関連した論文発表が益々増加することが予想される。

謝 辞

本報をまとめるに当たり協力頂いた東京大学北森武彦教授、徳島大学馬場嘉信教授、早稲田大学船津高志教授に感謝いたします。紹介した研究の一部は文部科学省の科学研究費「早稲田大学 COE 分子ナノ工学研究拠点」の助成を受けて行ったものである。また、マイクロ流体素子・要素の調査に関して一部 NEDO「マイクロ化学プロセス技術の体系化」の助成を受けて行った。

文 献

- 1) 庄子習一：電子情報通信学会論文誌, **J 81-C-I**, 7: 385

- (1998).
- 2) 北森武彦編：“マイクロチャネル特集号”，化学 **54** (化学同人，1999).
- 3) S. Shoji: “Topics in Current Chemistry” 194, ed. by A. Manz and H. Becker (Springer Verlag, Berlin, 1998) p. 164.
- 4) S. Shoji: “Biosensors and Their Applications”, ed. by V. C. Yang and T.T. Ngo (Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999) p. 225.
- 5) ナノテクノロジーハンドブック編集委員会編：“ナノテクノロジーハンドブック IV：バイオ・化学に使う”(オーム社，2003).
- 6) 庄子習一：表面技術 **54**, 2 (2003).
- 7) A. Wolff, U.D. Larsen, G. Blankenstein, J. Philip and P. Tellemann: Proc. Micro Total Analysis Systems: μ TAS 1998 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1998) p. 77.
- 8) T. Hara, T. Ichiki, Y. Horiike and K. Yasuda: Proc. Micro Total Analysis Systems: μ TAS 2002 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002) p. 124.
- 9) Y. Shirasaki, H. Makazu, K. Tashiro, S. Ikeda, T. Sekiguchi, S. Shoji, S. Tsukita and T. Funatsu: μ TAS 2002 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002) p. 925.
- 10) Y. Tezuka, M. Ueda, Y. Baba, H. Nakanishi, T. Nishimoto, Y. Takamura and Y. Horiike: μ TAS 2002 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002) p. 212.
- 11) J. Tsuda, Y. Tada, G. Hashiguchi, K. Hirano, N. Kaji and Y. Baba: μ TAS 2002 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002) p. 109.
- 12) N. Kaji, M. Tabuchi, Y. Nagasaki, K. Kataoka, K. Yoshikawa and Y. Baba: μ TAS 2002 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002) p. 45.