サブミクロンサイズにおける高分子の球状形成方法

清野 裕司^{*1}・カートハウス オラフ^{*1}

(受付 2005 年 5 月 13 日・審査終了 2005 年 7 月 25 日)

要 旨 サブミクロンサイズにおける高分子を基板上で球状に形成する方法を開発した。この方法は希薄ポリマー溶液をディウエッティングにてポリマーマイクロドームを基板上に配置し、アセトン、テトラヒドロフラン、酢酸エチルなどの溶媒に溶解またはゲル化する高分子に溶媒の液体または気体を添加することにより高分子が軟化し、高分子自身の表面張力により、位置を保持したまま球状に形成する方法である。この方法はポリスチレン/テトラヒドロフランなどの高分子が溶けてしまう組合せでも水などの不溶性のものを加えることによって球状に形成することが可能である。また熱可塑性をもつポリスチレンは熱を加えてドーム状、アセトンを添加して球状の可逆的の形状変化が可能である。高分子フィルムに溶媒を添加すると Voronoi 現象と同様に厚さによって形成結果が変わるのが確認された。この形成方法の検討に高分子を配置する方法としてディウエッティングを利用したが、この形成方法がディウエッティングのみに限定されるものではない。

1 緒 言

サブミクロンスケールにおける球状形成方法を開発することはナノスケールにおける加工技術、測定技術、マイクロレンズなどさまざまな発展に極めて重要な技術である。

中でも、位置を保持する方法としては基板上に微小サイズに配置した光反応性熱硬化性樹脂をこの樹脂より適宜に比重の軽い液体の中に下向きとする状態で加熱液化させ、さらに加熱硬化させることによって球形に形成する方法が知られている^{1),2)}。しかしながらその場合、形成することのできる高分子が熱硬化性樹脂に限られる、重力を利用して形成しているため大量の液体が必要である、高沸点の液体を使用するため洗浄が難しいという問題点が生じてくる。

そこで筆者らは、熱による形成方法ではなく高分子を溶解またはゲル化させる溶媒(液体または気体)を添加することで高分子が軟化し、表面張力により球形に形成する方法を開発した。

また、サブミクロンスケールで任意の大きさに高分子を配置する方法として、ガラスローラーを用いた希薄な高分子溶液のディウエッティング法を用いた³⁾。

ディウエッティングとは、種々のポリマーの希薄な溶液を滴下すると、基板上にマイクロメートルサイズのポ

リマードロップレット、もしくはポリマードームが形成されることをいう^{4)~6)}。ポリマードームのサイズや形状は、溶液の濃度、溶媒の蒸発スピード、基板の状態などによってコントロールすることができ 300 nm~100 μ m の範囲の直径で、高さが直径の 5% のものを作製することができる。

ディウエッティングによる自己組織化は、熱対流の非平衡開放条件下で生まれる散逸構造の一つである⁷⁾。散逸構造の形成は、複雑なパラメーターに支配されているものの極めて一般的な物理現象であり、原理的にはすべてのポリマー溶液に適用可能である。それゆえ、散逸構造を利用した高分子の組織化が可能となる。親水性の基板に疎水性のポリマー溶液を滴下すると液滴ができ溶媒の蒸発に伴って小さくなる。溶媒の蒸発初期には溶液の界面がスムーズに移動するが、しばらくすると間欠的に界面がジャンプして後退しはじめる slip-stick motion と呼ばれる現象が起こる。

実際にポリスチレンのような疎水性の高分子を親水性の基板上で気化すると、高分子がはじかれ、いわゆるディウエッティングが起こりポリマーが凝集することが知られている⁸⁾。

間欠的な界面の後退が起こる濃度領域では、表面張力の不安定性から生じる界面の自発的な拡散運動であるマランゴニ効果⁹⁾によって、溶液界面上でのポリマー濃度の不均一化が起こり、濃縮された部分からフィンガリング現象¹⁰⁾が発生する。カバーガラスやマイカなどの

^{*1} 千歳科学技術大学(☎066-8655 千歳市美々 758-65)

Figure 1. Schematic view of the roller apparatus to make the dewetted samples and three methods to apply solvent for the shape-change process.

平滑性に富む基板では、フィンガリングが成長しライン状に発達していく様子が確認されている¹¹⁾。マランゴニ効果やフィンガリング不安定性は、溶液中央部に形成されるベナール対流によることが明らかになっている。この結果は、溶媒蒸発時に形成される散逸構造が、高分子のパターンとして基板上に固定化されたことを意味している。

上記のディウエッティングにより任意の大きさに配置された高分子ドームにアセトン、テトラヒドロフラン、酢酸エチルなどの溶解またはゲル化する溶媒を添加し位置を保ったまま球形に形成する方法として、回転している基板の上から溶媒を滴下するスピン法、溶媒雰囲気下に基板を入れる Vapor 法、基板を直接溶媒につける Soak 法の三つを開発した (Figure 1)。回転速度などを調整する必要があるが、スピン法は半導体乾燥方法のロタゴニ乾燥法、Vapor 法は IPA 蒸気乾燥法の装置を利用することが可能で新規の加工装置を開発する必要はない¹²⁾。

2 実 験

2.1 材料

今回使用した材料を示す。

ポリスチレン (average $M_w \sim 280000$ by GPC, pellets, Batch #: 08709LA), ポリヘキシルチオフェン (Poly (3-hexylthiophene-2,5-diyl) regioregular, average $M_w \sim 87000$ Batch #: 17303LB) は Aldrich Co., Inc., アセト

ン, テトラヒドロフランは関東化学(株), 酢酸エチル, トルエンは和光純薬工業(株), クロロホルム (ACS, ISO, Reag. Ph Eur) はメルク(株)より購入したものを使用。任意の大きさに高分子を配置するため, ポリスチレン/トルエン溶液 (1.5 mg/mL) およびポリヘキシルチオフェン/クロロホルム溶液 (0.2 mg/mL) を作製し, マイカ基板 (日新イーエム(株)製) もしくはカバーガラス (松浪硝子工業(株)製) とガラスローラーの間に約 200 μL 滴下しモーター (FSD-23 改, ユーエスアイ・システム(株)) にて 0.6~15.0 mm/min の速度で引きガラスローラーを回転させた。ディウエッティング過程をコントロールすることによって, 基板全体に約 1~10 μm の高分子マイクロドームを配置した。また, ディウエッティングに使用した溶媒が残留する可能性をなくすために, 基板上に配置してから 1 日以上時間がたったものを使用した。

2.2 球状形成方法の検討

スピン法: 約 1~10 μm の間の任意の大きさにポリスチレンマイクロドームを配置した基板に対しスピンコーター (1H-D7 MIKASA CO., LTD. 製) により回転数が 500~3000 rpm の状態で基板上にアセトンを約 0.4~1.0 mL 滴下しポリスチレンの形状変化を検討した。

Vapor 法: ポリスチレン/トルエン溶液 (1.5 mg/mL) をカバーガラス基板に垂らし, ガラスローラーを 0.6 mm/min の速度で引くことによって 3~10 μm のドーム状にポリスチレンを配置。アセトンの入った密閉容器に入れ, 室温で一晩置いてポリスチレンの形状変化を検討した。また, 基板がアセトンに浸かる部分は Soak 法の検討に使用した。ポリヘキシルチオフェン/クロロホルム溶液 (2.0 mg/mL) をカバーガラス基板に垂らし, ガラスローラーを 5.0 mm/min の速度で引くことによってポリヘキシルチオフェンをストライプ状に配置した。

底にテトラヒドロフランを入れた気密容器に液が触れないように基板を配置し, テトラヒドロフランを 60°C で 30 分間過熱した (過酸化物の発生を抑えるためにテトラヒドロフランに 2,6-Di-*tert*-butyl-*p*-cresol (関東化学(株)製) を 5~10% 溶かした)。

Soak 法: 任意の大きさにポリスチレンを配置した基板をアセトン, テトラヒドロフランなどの溶媒に直接つけ素早く引き上げた。

2.3 他溶媒の種類の検討

溶媒の違いによる変化を確認するためカバーガラス上にポリスチレン/トルエン溶液 (1.5 mg/mL) を 1.6 mm/min の速度でガラスローラーを引き, 直径 0.5~3.0 μm のドーム状にポリスチレンを配置しトルエン, テトラヒドロフラン, アセトン, 酢酸エチルにメタノール, 蒸留水を 0~30% の割合で混合した溶液を滴下し溶媒による変化を検討した。

Figure 2. Picture of the microscope setup for the focal length measurement.

2.4 可逆的形狀変化の検討

熱可塑性をもつポリスチレンを配置するため、ポリスチレン/トルエン溶液 (1.5 mg/mL) をマイカ基板に 1.6 mm/min の速度でガラスローラーを引き約 5 μm のマイクロドームを作製, 2000 rpm で回転させながらアセトン を約 0.5 mL 滴下し球状に形成したことを確認した。形成したポリスチレン球をホットプレートで 140°C/20 min に熱し, 形状変化を確認した。再びアセトンを前回と同様の条件で滴下し形状変化を確認した。

2.5 マイクロレンズへの応用

基板とガラスローラーの間にポリスチレン/トルエン溶液 (1.5 mg/mL) を約 0.5 mL 垂らして 0.6 mm/min の速度でガラスローラーを引き 3~10 μm のポリスチレンマイクロドームを作製し, 透過型顕微鏡((株)オリンパス製 BX51TRF)の光路上にスライドガラスに [F] と書いたマスクを設置しマイクロドームにピン트가合っている状態からサンプルが乗っているステージを z 軸方向に動かし, マイクロドーム内に [F] と書かれた像が写るまでの距離を測定 (Figure 2) した。スピンの法によりアセトン約 0.4 mL を 2000 rpm で回転させた基板に滴下し球状に形成, マイクロドーム同様にポリスチレン球の底にピン트가合う地点から球内部にマスクの像が写るまでの距離を測定, さらに, 球形に形成した基板をホットプレートで 90°C/6 min に熱し, 再び底から内部に像が写るまでの距離を測定した。

2.6 フィルムの場合の検討

ポリスチレン/クロロホルムまたはポリスチレン/酢酸エチル溶液 (1.5 mg/mL) をガラス基板の上に垂らし, 500~2000 rpm の回転数で基板上にフィルムを作製した。フィルムを作製してから一日以上経過したものにアセトンを滴下し, 球状に形成される様子を確認した。

3 結果と考察

3.1 形成方法について

スピンの法はカバーガラス, マイカ基板ともにポリスチレン/アセトンの組合せで形成したものを斜めから SEM (S-3500N Hitachi Science Systems, Ltd. 製) で観測したところ, 位置を保持したまま接触角が 5 度程度から 120 度

Figure 3. Electron microscope pictures of polystyrene micro-spheres after dewetting, i.e. before applying acetone (top) and after applying acetone (center, bottom).

以上に大きくなり球状に形成されたことを確認した。また, スピンの回転数を上げることによって球の高さが低くなること, 同一基板上であっても直径が 1 μm 程度までは球状になるがそれより直径が大きくなると球がつぶれてくることが確認された (Figure 3) (写真は上下とも同一基板であり, 球状のため底部分に金属が十分に着かず黒くへこんで見える)。カバーガラスを使用した場合にスピンの回転数を上げてみたところ, 3000 rpm 以上ではポリスチレンの欠落が確認された。これは, 遠心力と吸着力の影響で球状形成には限界回転数があることを示している。

Vapor 法はポリスチレンをアセトン雰囲気中で形成したが, 接触角が 10 度程度の盛り上りは確認されたが, 球状に形成することはできなかった (Figure 4)。しかし, ストライプ状に配置したポリヘキシルチオフェンをテトラヒドロフラン雰囲気下に置いたところ, SEM にて球状の物体が形成されたことを確認した。また透過型顕微

Figure 4. Electron microscope pictures (60 degree slant view) of a polystyrene sample subjected to the soak method. Half of the slide was immersed in acetone, while the upper half was in supernatant acetone vapor.

鏡では、確認できないほど薄くストライプ状に配置されたポリヘキシルチオフェンと比べ強いコントラストを側面にもつ物体が確認された。蛍光の様子がポリヘキシルチオフェンと同様であるので、球状の物体がポリヘキシルチオフェンであると確認した。これより位置は保持できないが、球形に形成することを確認した(Figure 5)。

これより Vapor 法は直接触れると簡単に溶けてしまう素材や薄い素材を形成するのに有効な方法であるが、溶けにくい素材や厚い素材には不適當と考えられる。

Soak 法は最も簡易な方法で直接つけるだけでポリスチレン/アセトンの組合せで位置を保持したまま接触角が 90 度程度の半球に形成することができた(Figure 4)。またつける時間を極端に短くすることによって、通常高分子が溶けてしまうポリスチレン/テトラヒドロフランなどの組合せでも半球形に形成することができた。しかしこの場合では位置を保持することはできなかった。

今までのデータをまとめると次のことがいえる。

スピンの法は形成できる大きさが遠心力と高分子と基板の吸着力によって制限されるが、使用する溶媒の量や作製時間が他の方法に比べて少なくコストパフォーマンスに優れた方法と考えられる。

Vapor 法は薄膜などの極めて薄い素材などにも応用が可能であり、高分子が解けやすい溶媒の場合にも利用することが可能である。

Soak 法は球状に形成することは今のところできてい

Figure 5. Micrographs of a dewetted regiorandom poly(3-hexylthiophene-2,5-diyl) sample after applying the vapor method. a) SEM picture, b) optical micrograph, c) fluorescence micrograph (yellow excitation).

ない。しかし、溶媒の種類、配置する高分子の大きさ、高分子フィルムの厚さ、溶媒と高分子の接触時間など形成条件の初期検討に利用することが可能と考えられる。

3.2 溶媒の種類の違い

Table 1 に示すようにポリスチレンを溶解させるテトラヒドロフランでも蒸留水を加えることによって位置を保持したまま球状に形成することが可能であった。

これより、ポリスチレン/アセトンのような高分子/高分子をゲル化させる溶媒の組合せ以外でも、高分子を溶かす溶媒と非溶媒の混合液を溶媒として使用することが可能である。

また、テトラヒドロフランとメタノールの組合せのように高分子を溶かす溶媒と溶かさないう非溶媒の混合液であっても溶媒の溶解力が非溶媒に比べて強い場合にはフィルム状になることが確認された。

これは混合液の溶解力が強く高分子がゲル化せず、表

Table 1. Swelling test of solvents

Solvent	Ratio	Shape change	Solution ¹⁾	Position ²⁾
acetone	—	○	×	○
acetone/methanol	9 : 1	○	×	○
acetone/methanol	8 : 2	×	×	—
acetone/methanol	7 : 3	×	×	—
acetone/water	9 : 1	×	×	—
acetone/water	8 : 2	×	×	—
acetone/water	7 : 3	×	×	—
ethyl acetate	—	×	○	×
ethyl acetate/methanol	9 : 1	×	○	×
ethyl acetate/methanol	8 : 2	×	○	×
ethyl acetate/methanol ³⁾	7 : 3	○	○	○
THF	—	×	○	×
THF/methanol	9 : 1	×	○	×
THF/methanol	8 : 2	×	○	×
THF/methanol	7 : 3	×	○	×
THF/water	9 : 1	×	○	×
THF/water ³⁾	8 : 2	○	○	○
THF/water ³⁾	7 : 3	○	○	○
toluene	—	×	○	×
toluene/methanol	9 : 1	×	○	×
toluene/methanol	8 : 2	×	○	×
toluene/methanol	7 : 3	×	○	×

¹⁾ The polymer domes dissolve, or form films. ²⁾ The polymer domes change shape, and keep their positions on the substrate.
³⁾ Part of the domes dissolve and form a film, but some of the domes show shape change.

面張力の低い液状になるためである。また、ポリマーと基板の相互作用と混合液と基板の相互作用も影響していると考えられる。

3.3 可逆的形狀変化

スピン法によってマイカ上のポリスチレンマイクロドームを球状に形成した後 140℃ で 20 分間加熱したところ位置を保持したまま球が広がりドーム状態に戻ることが確認された。しかし、球状に形成する以前までの直径ほど大きくはならなかった。このドームに再びスピン法による形成を行ったところ球状に形成された。

これを再び 140℃ で 20 分加熱すると再びドーム状に形成された。マイカ基板の模様より測定地点を決めこれらの工程を確認するとドーム/球の位置はまったく変わらず、ドームの時にはコントラストが弱く、球の時にはコントラストが強くなることが確認された (Figure 6)。

以上のことをまとめると、ドーム状態、球状態を可逆的に形成することができることを示すものであり (Figure 7) この形状変化を利用したスイッチの開発が可能である。

3.4 マイクロレンズへの応用

現在すでに使用されているマイクロレンズの作り方には、熱を利用する方法 (基板上にホトレジストなどに

Figure 6. Optical micrographs of a polystyrene sample on mica subjected to solvent and heat treatments. Note the fixed positions of the microdomes.

Figure 7. Schematic explanation of the mechanism of pearl formation.

よって高分子を配置し、熱によってドーム状に形成する¹³⁾), 液体を利用する方法 (微小サイズに配置した光反応性熱硬化性樹脂をその樹脂より比重の軽い液体の中に下向きとする状態で加熱液化させさらに加熱し硬化させる^{1),2)}), X 線を利用する方法 (基板をモノマー雰囲気下に置き形成したいところに X 線を当てモノマーを重合させることにより基板上にレンズを形成させる¹⁴⁾) がある。

しかしながら、熱を利用する方法では球レンズのよう

Figure 8. Change of focal lengths by solvent and heat treatment. Experimental results (left) and schematic explanation (right).

な基板との接触角が90度以上のものを作製することができない。液体を利用する方法では使用できる高分子が熱硬化性樹脂に限られ、沸点の高い液体を利用するので使用した液体を除去するのにウェット洗浄などの除去工程が必要になる。X線を利用する方法ではX線の取り扱いが難しく、重合形成するのにも時間がかかる。

それに対して今回開発した溶媒を利用した方法の場合、使用できる高分子はゲル化させる溶媒または溶解する溶媒があれば使用することができる。他の方法に比べて形成時間が短く、使用する材料も少ない。これらの利点がある溶媒を利用した方法が使用可能かポリスチレン球を作製しマイクロレンズの可能性を検討した。

直径約5μmのポリスチレン球/ドーム内にスライドガラスに書かれた[F]という像を写すことにより、ポリスチレン球、ドームどちらにもレンズ効果があることを確認した。この時のz軸方向に動かした距離はドームが11μm、球が4μmであった。さらに、90°Cで6分加熱することによってz軸方向に動かす距離が7μmに伸びることも確認した(Figure 8)。顕微鏡の光路が完全な平行光ではないため正確な焦点距離を求めることはできないが、それに近い値を示している。

これは、溶媒を利用する形成方法によりマイクロレンズを作製することが可能であり、熱を加えることにより曲度を変え自由な焦点距離の設計が可能であると示している。さらにその特長である位置保持性により形成以前に任意の位置、たとえばレーザー素子や発光素子の上、光導波路に配置すれば、直接その上にレンズを形成することが可能である。

3.5 フィルムの場合

高分子フィルムを作製しスピン法にて球状に形成したところ厚さにより変化の工程が異なることを確認した。薄い状態では、フィンガリング現象が発生してフィルムの端が伸び、ちぎれることによって球形を形成、さ

Figure 9. Formation of dewetted polymer structures by starting from a spin coated polymer film, which has been subjected to acetone vapor. Different dewetted structures from thick and thin polymer films are compared.

らに、高分子ゲルの表面張力によって球形に形成されると予想される。また膜厚が厚くなるにしたがってフィルムの表面にあるパーティクルがディウエッティングの核となり、このパーティクルを中心に空間が成長し、空間と空間の接点が球形に成長していく様子が確認された(Figure 9)。これは熱によって液化したポリマーフィルムがディウエッティング現象によってポリゴンのVoronoiパターンに変化していく様子¹⁵⁾とよく似ている。

以上の結果からこの形成方法は熱ではなく、溶媒によってゲル化した高分子が自らの表面張力によって球形に形成されたと考えられる。

フィルムの実験結果から、溶媒を利用して球状に形成する方法に有効な厚さにも限界があると考えられる。

この研究では高分子を任意の大きさに配置する方法にディウエッティングによる高分子マイクロドームを使用した。ホトリソグラフィーなどの方法により高分子を

Figure 10. Schematic explanation of one future application: an optical micro switch.

配置した場合でも同様の結果を得られると考えられる。

4 結 論

この形成方法は、マイクロドームなどの任意の大きさに配置した高分子にアセトン、テトラヒドロフラン、酢酸エチルなど溶解またはゲル化させる溶媒の液体または気体を添加することにより高分子が軟化し、高分子自身の表面張力により球形に形成する方法である。さらに溶媒を添加する時間をコントロールすることによって球状の高分子の高さを調整することが可能である。また、高分子に熱可塑性がある場合には球状に形成された高分子を過熱することにより表面張力を弱めて高さを調整することが可能であり、さらに加熱することによってドーム状に形成することができる。これに対して溶媒を再度添加させることにより球状に戻る可逆的な形状変化が起こる。つまり初めに球形に形成した高分子球の焦点距離を熱を加えることによって長くすることが可能であり、任意の焦点距離のマイクロレンズを作製することが可能となる。

以上の溶媒を用いた形成方法はサブミクロンサイズにおける形成方法として重要な方法になると思われる。

Formation of Micronsize Polymer Spheres by Dewetting

Yuji KIYONO*¹ and Olaf KARTHAUS*¹

*¹Chitose Institute of Science and Technology (758-65 Bibi, Chitose 066-8655, Japan)

We report a new method to produce arrays of polymer spheres on substrates. This method relies on the solvent swelling and shape changes of dewetted arrays of polymer aggregates. We could show that polystyrene microspheres can be made by spin coating acetone, tetrahydrofuran, ethyl acetate, and other solvents. Polystyrene usually dissolves in tetrahydrofuran, but the addition of water leads to a swelling of the polymer aggregates. The shape of a thermoplastic polymer can be reversibly changed by the new method. Conducting polymers such as polyhexylthiophene can be used, too, and applications of the reversible shape change for microlenses are discussed.

KEY WORDS Formation method of polymer / Micro lens / Micro switch / Self-Organization / Surface / Solvent / Dewetting /

(Received May 13, 2005; Accepted July 25, 2005)

[Kobunshi Ronbunshu, 62(11), 546–552 (2005)]

また、熱による形状変化を利用したスイッチなどの応用も可能と考えられる(Figure 10)。

さらに、この形成方法のマイクロレンズへの応用は現在、半導体製造プロセスにおいて使われている装置をそのまま使用することが可能であり、容易に商用化が可能でかつ現在使用されているほかのマイクロレンズの製造方法よりコストパフォーマンスに優れた方法である。

文 献

- 1) 田村広基(スタンレー電気(株)), 特開 2002-350606.
- 2) 臼井博明(スタンレー電気(株)), 特開 2002-353511.
- 3) O. Karthaus, K. Kaga, and H. Kageyama, *Proc. SPIE.*, **5464**, 221 (2004).
- 4) O. Karthaus, T. Koito, N. Maruyama, and M. Shimomura, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **327**, 253 (1999).
- 5) J. Hellmann, H. Hamano, O. Karthaus, K. Ijio, M. Shimomura, and M. Irie, *Jpn. J. Appl. Phys., Part 2*, **37**, L816 (1998).
- 6) O. Karthaus, L. Grasjo, N. Maruyama, and M. Shimomura, *Chaos*, **9**(2), 308 (1999).
- 7) G. Nicolis and I. Prigogine, "Self-Organization in Nonequilibrium Systems", Wiley Interscience, New York (1977), p. 13.
- 8) O. Karthaus, K. Kaga, J. Sato, S. Kurimura, K. Okamoto, and T. Imai, *ACS Symp. Ser.*, **869**, 199 (2004).
- 9) L. E. Scriven and C. V. Sterling, *Nature*, **187**, 186 (1960).
- 10) X. Fanton and A. M. Cazabat, *Langmuir*, **14**, 2554 (1998).
- 11) N. Maruyama, T. Koito, T. Sawadaishi, O. Karthaus, K. Ijio, N. Nishi, S. Tokura, S. Nishimura, and M. Shimomura, *Supramol. Sci.*, **5**, 331 (1998).
- 12) 小川洋輝, 堀池靖浩, "はじめての半導体洗浄技術", 初版, 工業調査会, 東京 (2002), p. 79.
- 13) Ph. Nussbaum, R. Völkel, HP Herzig, M. Eisner, and S. Haselbeck, *Pure Appl. Opt.*, **6**, 617 (1997).
- 14) H. Ottevaere, B. Volckaerts, J. Lamprecht, J. Schwider, A. Hermanne, I. Veretennicoff, and H. Thienpont, *J. Opt. Appl. Opt.*, **4**, S22 (2002).
- 15) Y. Asano, A. Hoshino, H. Miyaji, Y. Miyamoto, and K. Fukao, *ACS Symp. Ser.*, **869**, 186 (2004).