調査・報告

精密微細加工技術の分析分野への応用に関する調査研究

宮口　孝司*　佐藤　健*　天城　裕子**　種村　竜太***　樋口　智*

Report of Market and Technology of Micro Chemical Analysis Using Micro Fabrication

MIYAGUCHI Takashi*，SATO Takeshi*，AMAKI Yuko**，TANEMURA Ryota*** and HIGUCHI Satoru*

1.　緒　　言

マイクロ加工を応用した微細なマイクロ化学チップによって，これまで複雑で手間のかかる化学分析を安価かつ短時間に行うことのできるμ-TAS（マイクロタス，Micro Total Analysis System）あるいは Lab-on-a-chip と称される分析手法が実用化の段階に差し掛かっている。

そこで本調査研究では，精密微細加工技術を応用した分析装置に関する①講演会開催による情報提供，②技術動向と企業における技術課題の調査，③加工実験などによる要素技術の蓄積を行い，県内企業の高付加価値分野への参入を促すとともに，共同研究や公募型研究事業への研究課題の提案をすることを目的に活動した。

2.　活動概要

2.1　講演会の開催

NPO 法人長岡産業活性化協会 NAZE「にいがたナノ基盤技術実践会」が主催した平成 27 年度　第 2 回「にいがたナノ基盤技術実践会」講演会を共催した（平成 27 年 12 月 7 日）。

講演内容は以下のとおり。

講演①「MEMS カンチレバー構造を用いた多機能センサデバイスとその応用」
講師：新潟大学　工学部　機械システム工学科
助教　寒川 雅之　氏

IoT（Internet of Things），スマートヘルスケア（健康寿命の増進，在宅医療，POCT(Ponit of Care Testing)，ロボット手術）などで必要とされるシリコン製マイクロカンチレバー構造を応用した力センサ，触覚センサ，バイオセンサや Ti 製微小針の作製とその特性評価について講演した。

講演②「MEMS 製造におけるプラズマ加工技術の役割」
講師：サムコ株式会社 取締役常務執行役員
技術開発統括部長　山葉 隆久　氏

プラズマを使った主にシリコンのドライエッチング技術について，その歴史と原理および方式による加工特性の違いを概説した。

マイクロ分析やそれに関連する微細加工技術の動向について，先進的な取り組みを会員企業などと共有することができた。

2.2　市場や県内企業の動き

マイクロ化学チップはガラスやシリコンなどの上に微細な流路を形成することで，混合や分離，反応などを手のひらサイズのチップ上で行うことができる。マイクロ化学チップを用いた分析手法としては，

①試薬による蛍光発色・吸光度分析
②電気泳動
③抗原抗体反応による蛋白質などの分析
④フローサイトメトリ

などがある。これらを単独もしくは組み合わせて分析を行う。これらの特徴としては，

①サンプルが極少量（数 μL 程度）
②測定時間が短い

*　研究開発センター
**　中越技術支援センター
***　下越技術支援センター

③温度の急上昇，急下降が可能
④小型
⑤低装置コスト
⑥低分析コスト

などが挙げられる。温度の急上昇，急下降が可能な点は，DNA 増幅，化学操作の迅速化や化学反応時の副生成物の割合を下げるなどにとって都合が良い。

極少量の血液などで分析が可能であることから，患者の身体的負担を抑えた病気診断や遺伝子情報の解析などが簡便・迅速に行えると期待されているほか，り患する確率が高いがんや疾患を個々人が知ることのできる遺伝子発現解析は，すでにビジネスに発展している[1)~4)]。

このような状況のなか，米国大統領は，2015 年の一般教書演説の中で，Precision Medicine Initiative を推進すると発表した[5)]。これまでの治療法の多くは「平均的な患者（average patient）」向けにデザインされたものであったが，遺伝子，環境，ライフスタイルに関する個人ごとの違いを考慮した予防や治療法を確立することで，より良いがんの治療法の開発・提供を行うというもので，100 万人またはそれ以上のボランティアからなる全米研究コホートの創設を行うとした。2016 年度の大統領予算案は 2.15 億ドルである。日本でも，今後同様の動きがあると思われ，この動きに適合する製品として, DNA チップなど個人の遺伝情報を計測する装置の需要が増えると考えられている。

農業分野や環境分析においても，連続分析や迅速・低コスト分析への要求は高まっており[6)~8)]，マイクロ化学分析は有力な解決手段になると考えられている。

このような状況のなか，県内企業や大学などと連携体を構築し，関連する機器の開発を検討した。

3.　フィジビリティスタディ

微細加工を応用した分析装置として，マイクロ流体チップを用いた電気泳動分析が有望であると考え，関連するフィジビリティスタディを行った。

3.1　ガラス流体チップの試作

化学分析に使用するマイクロ流体チップの作製に関して，課題を把握するため，ウェットエッチングによる試作を行った。

図 1 に流路の作製手順を示す。流路の材質はほうケイ酸ガラスである。流路の深さ目標値は 50μm とした。流路の幅は深さと同じ 50μm が望ましいが，エッチング液の回り込みを考慮して，形状の基となるフォトマスクの幅は目標の 50μm より狭くした。しかし，狭すぎるとエッチング液がうまく浸透しないことから，フォトマスクの幅は 20μm とし，深さのみを目標にウェットエッチングを行った。

始めに，Au と Cr をウェットエッチングしてエッチングマスクを形成した。次いでガラスを 48%フッ酸を用いて 8.5 分間エッチングしたのち，レジスト，Au，Cr を順に剥離して，マイクロ流体チップを作製した。

図 2 に作製した流路の断面形状を示す。深さは 42.5μm であり，幅は一番広い部分で 180μm

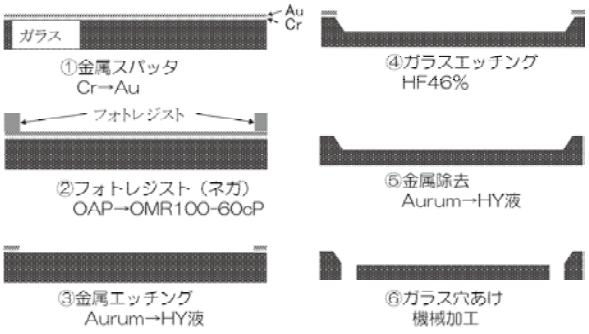

図 1　流路の作製手順

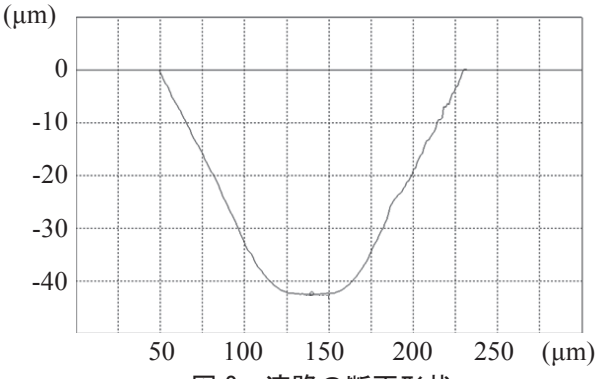

図 2　流路の断面形状

であった。

図 3 に作製した流路の外観を示す。流路は十字に交差しており，末端は研削加工によって貫通穴が開いている。ガラス基板の寸法は 50mm ×100mm×t0.7mm である。

次に，流路のふたになるガラス基板に，電極を形成した。材質は，流路基板と同じほうケイ酸ガラスである。

図 4 にふたへの電極形成手順を示す。金属膜の形成にはリフトオフを用いた。リフトオフでは，エッチングによる方法とは逆に，金属膜を成膜する前にフォトレジストでパターニングを行う。その上に Ti および Pt を成膜し，レジストを除去することによって電極を形成した。

3.2　非接触電気伝導度検出器用アンプの試作

電気泳動装置の検出装置の一種である，非接触電気伝導度検出[9]（C^{4}D：Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection ）は，検出する電解液に電極が触れないことから，電極の消耗や金属などの堆積がないため安定した測定が可能であるうえ，感度が高いため注目されている。

検出器には，ロックインアンプが使われる。ロックインアンプは，検出電極部のインピーダンス変化に敏感なアンプであり，ノイズの多い微弱な信号を検出することが可能である。検出感度を最大にするためには位相の補正が必要であることから，本研究では位相の補正機能を有するロックインアンプを試作した。

図 5 に試作したロックインアンプの出力波形を示す。350kHz の正弦波を入力し，ローパスフィルターを通す前の出力波形を撮影した。位相の補正を行っているため，波形はきれいに揃っている。

3.3　ラマン分光分析による検出方法

本項ではラマン分光分析による金属イオン検出の検討を行った。ラマン分光分析の利点としては，測定プローブ（レーザー照射径）が 1μm

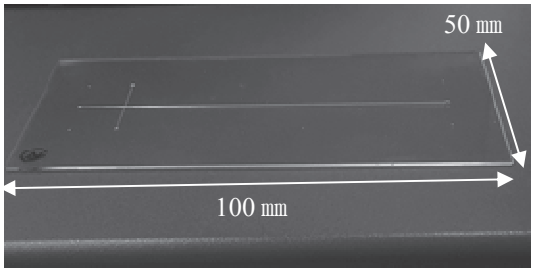

図 3　作製した流路の外観

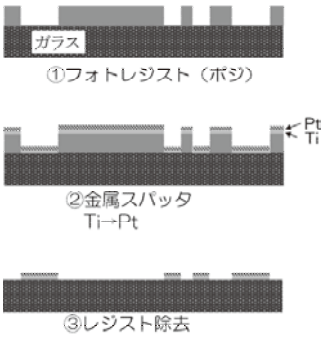

図 4　ふたへの電極形成手順

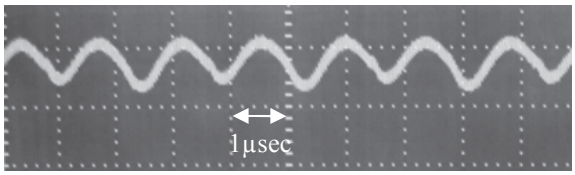

図 5　ロックインアンプの出力波形

程度，所要サンプル量が数 μL 程度以下であり，マイクロ流路の溶液サンプルに十分対応可能であることがあげられる。また，水溶液サンプルの大半を占める水の影響が少ないこと，ガラスやアクリルなどの可視光に対して透明な物質を透過した分析が可能であることもラマン分光分析の利点である。

本研究では，昨年度と同様に金属キレート溶液にナノコロイド溶液添加による表面増強ラマンスペクトル（SERS：Surface-Enhanced Raman Spectoscopy）の効果について検討した。キレート剤は 4-(2-Pyridylazo)resorcinol(PAR)を用いた。

昨年度の調査において，微量金属イオンを対象とした PAR の金属錯体について，Au ナノコロイド添加による SERS スペクトルについて報告し，金属イオン濃度でサブ ppm 程度まで検出可能であり，かつ，10，50，100nm の 3 種類のうち 50nm がもっとも安定した SERS 効果を発現することが確認されている。

今回はAuナノロッドおよびAgナノコロイドについて，同様に Fe-PAR 錯体で測定を行い，材質および形状による SERS 効果について検証した。Fe イオンの濃度は 0.2ppm であり，PAR が Fe イオンと同モルになるよう混合した。Au および Ag の結果をそれぞれ図 6，7 に示す。Ag ナノコロイドにおいても，Au ナノコロイドと同様に代表的な長さが 50nm 付近を用いた場合の SERS スペクトルが比較的明瞭である。Au ナノロッドについても長径が約 50nm のサンプルが SERS 効果が最も高かった。分子との吸着効果や，表面プラズモン共鳴と励起レーザー波長との関連性が考えられるが，詳細は不明である。

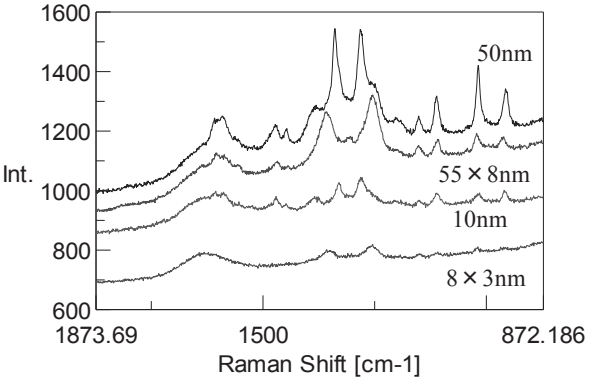

図 6　Fe-PAR SERS スペクトル(Au)

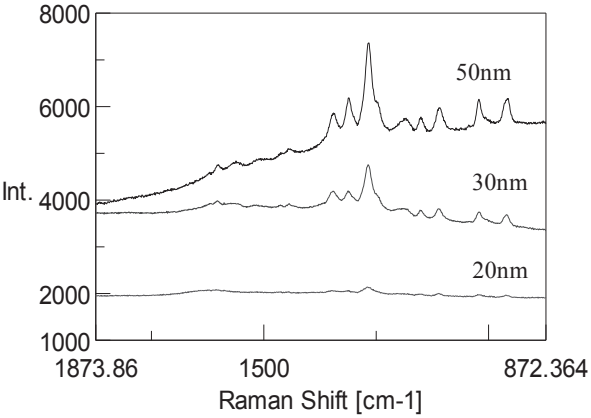

図 7　Fe-PAR SERS スペクトル(Ag)

4. 結　　言

(1) 微細加工を用いたマイクロ流体チップの適用分野および現状技術を調査し，バイオ・医療，農業，環境など様々な分野で活用され始めていることが分かった。

(2) 電気泳動を行うための装置の一部として，ガラスチップのウェットエッチングによって流路を形成した。さらに流路のふたにリフトオフによって電極を形成した。

(3) 非接触電気伝導度検出器用の位相補正機能を有するロックインアンプを試作し，350 kHz の入力信号に対して位相補正が可能であることを確認した。

(4) SERS 効果を安定的に発揮する粒子径や代表的な長さは，金および銀で形状は問わず 50nm 付近であった。

参考文献

1) https://mycode.jp/landing/a12_f.html?src=pc_se_adw_000004412&gclid=CNPVjNXO2ssCFdgjvQodeaYGLg.

2) 北森武彦，“平成 26 年度第一回微細加工研究会配布資料”.

3) 日刊工業新聞，“薬剤費節減個別化医療で追及”，平成 27 年 11 月 13 日.

4) 横山ほか，“マイクロフリュイディスク技術を用いた全自動免疫測定装置ミュータスワコーi30，“生物試料分析，Vol.33，No3，2010，pp.201.

5) https://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryou/genome/dai1/siryou04.pdf

6) 佐藤ほか，“キャピラリ電気泳動法によるイチゴの糖組成分析”，福岡県農業総合試験場研究報告，28，2009，pp.56.

7) 溝口，“土壌センサーを用いたフィールドモニタリングの基礎と応用”，http://www.iai.ga.a.u-tokyo.ac.jp/mizo/seminar/130516/abstract/1.mizo.pdf.

8) 高速処理自動比色分析装置カタログ，ビーエルテック（株）.

9) M. Galloway, et. al., “Contact Conductivity Detection in Poly(methyl methacylate)-Based Microfluidics Device for Analysis of Mono- and Polyanionic Molecules”, *Analytical Chemistry*, Vol.74, No.10, 2002, pp.2407-2415.