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*　齋藤　博****　長谷川　雅人*

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

MIYAGUCHI Takashi*, SATO Takeshi*, AMAKI Yuko**, TANEMURA Ryota***,
HIGUCHI Satoru*, SAITO Hiroshi**** and HASEGAWA Masato*

1. 緒　　言

マイクロ加工を応用した微細チップによって，これまで複雑で手間のかかる化学分析を安価で短時間に行う 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セミナーによる情報提供，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　研究会の開催

微細加工を応用した分析装置に関するテーマと（独）科学技術振興機構が主導するオープンイノベーション組織であるナノテクノロジープラットフォームに関するテーマで 2 人の講師を招聘し，講演会を開催した（微細加工研究会講演会，平成 26 年 11 月 11 日）。会場は新潟県工業技術総合研究所で，参加人数は 23 名であった（図 1）。アンケート調査では，参加者のほとんどが，技術的な興味と情報収集を目的に参加しており，講演内容には「非常に参考になった」または「参考になった」とおおむね好評であった。

図 1　講演会の様子

講演会は 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」との共催で実施した。講演内容は以下のとおり。

講演 1「文部科学省ナノテクノロジープラットフォームの概要」
講師：（独）科学技術振興機構
　　産学官連携推進マネージャー
　　戸田 秀夫　氏
内容：全国の大学などで保有するナノテクノロジー研究施設・人材を活用し，微細構造解析・微細加工・分子物質合成を支援する事業の紹介。

講演 2「微細加工を応用した分析装置の現状と展望」
講師：東京大学　総長特別参与
　　応用化学専攻　教授　北森 武彦　氏
内容：微細加工技術を用いたマイクロ～ナノチップを応用した製品が上市され始めている。これらの製品製造に必要な構造・基礎加工技術・原理・検出技術とその特徴，応用製品について

* 研究開発センター
** 企画管理室
*** 下越技術支援センター
**** 県央技術支援センター

実例を挙げて概説した。

2.2　市場や県内企業の動き

マイクロ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し，混合や分離，反応などをチップ上で行うことから，Lab-on-a-Chip あるいは μ-TAS（マイクロタス：micro Total Analysis System）と呼ばれ，数 μL 以下のサンプル量で遺伝子情報や分析などが可能になることから注目されている[1)]。

市販されているものには，ヒトゲノム解析の中核をなす DNA シーケンサーや汎用の電気泳動分析装置などがある。近年，創薬分野で iPS 細胞が注目されているが，マイクロチャンネルを多段に連ねて薬剤の濃度勾配を精密に作りだす流路アレイなどが開発されており，人の体細胞から iPS 細胞を作り出し，その人に対しての薬の効き具合を短時間で調べることのできるテーラーメイド医療などへの展開が検討されている。

次に，マイクロ流体チップの製造技術動向について述べる。マイクロチップの素材，製造法，流路チップを封止する方法などマイクロ流体チップの現状を調査した。流路の断面サイズは 20～1000μm 程度が多い。

材料に関しては，量産性に優れるが耐久性や耐熱性，耐薬品性に劣る「プラスチック」，耐薬品性や耐熱性はプラスチックに勝るが変形しやすいなどの欠点がある「シリコーン樹脂」，化学的に安定なうえ耐熱性，剛性などの面で優位であるが量産性は低い「ガラス」などが使われている。ガラスは切削加工部分にチッピングが発生するなど機械加工に関する課題が多い。また，ガラスのフォトリソ加工では，ドライエッチングの際，微細加工で良く用いられる材料であるシリコンとは異なる特殊なフッ素系ガスが必要であり，パターニングに用いるレジスト材についても金が用いられるなど，シリコンとは異なる点が多い。

マイクロチップ部材の接合は，熱融着，プラズマによる表面活性化処理，接着剤などによって行われている。ガラス同士の接合に関しては，光学的な平面にまで研磨した面を合わせるだけで接合するオプティカルコンタクトという手段がある。

マイクロチップを用いた分析手法としては，①試薬混合による発色・吸光度分析，②キャピラリ電気泳動，③フローサイトメトリ，④抗原抗体反応による極微量検出，⑤ナノポアを用いた DNA 分析などがある。フローサイトメトリは，ガラスの流体チップを用いた古典的な計測法である。この測定法は，流体に分散させた粒子の構造や大きさをガラス製の細いチューブに通して光の散乱を観察するもので，分子生物学などで標準的な分析手法となっている。マイクロ流体チップを用いた分析における利点としては，

① サンプル量が極少量（数 μL 程度）
② 測定時間が短い
③ 反応温度の急上昇，急下降が可能
④ 測定装置がコンパクト
⑤ 装置コストの低減
⑥ 分析コストの低減

などが挙げられる。

反応温度の急上昇，急下降が可能な点は，DNA 増幅や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。装置コストや分析コストの低減は，ヒトゲノムの解析ビジネスなどに発展している。今後は，単分子物性を調べる DNA シーケンサーや抗原抗体反応を用いた超高感度分析に注目が移っている。

農業への分析装置の応用展開について検討するため，県内でも導入が進んでいる施設園芸において養液栽培を行っている事業所にヒアリングを行ったところ，「培養液は夏場は 1 月に 1 回，冬場は 2 月に 1 回程度の頻度で約半量を廃棄，交換しており，費用は 1 回 2～3 万円程度である」，「現在，排水規制はないが，将来的には規制されるのではないか」，「交換の理由

は養分バランスの崩れ，菌体濃度の増加である」，などの情報を得ることができた。農業分野は有望な応用先である可能性が高いと考えている。また，環境分析において，流れ分析の置き換え用途も有望である。

県内に，これらを用いた分析装置やマイクロ流体チップを製造している企業はないが，3 社ほどがマイクロ流体チップの試作経験を有していた。また，プラスチック製の流体チップ金型を手掛けた企業もあった。これらは，いずれも市場が立ち上がる前に試作を行ったものの，具体的な市場ニーズが顕在化するまでに時間が経過してしまい，参入をあきらめたものが多い。分析機器メーカーのニーズをくみ取り，分析手法を確立して，必要な仕様を固めたうえで共同研究体制を確立することが，研究を成功に導くためには不可欠である。

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，エッチング加工による試作を行った。

流路深さと幅の目標値は，それぞれ 50μm とした。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，次いでガラスをバッファードフッ酸を用いて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。

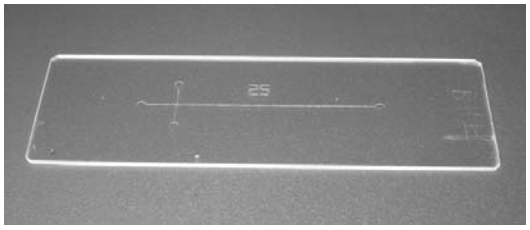

図 2　作製したチップの外観

図 2 に作製したチップの外観を示す。図には示さないが，液溜のエッチング断面はばらつきはあるものの，おおむね狙いの 50μm に近い値となった。しかし，流路部は液溜に比べ約 10μm 浅くなった。

液溜に比べ流路幅が狭いため，エッチング液の置換が不十分であったと考えられ，液の循環法を検討する必要がある。エッチング面の粗さは，場所によって違いがあるものの平坦部では Ra0.005μm と平滑な面が得られた。

また，流路幅は 50μm 狙いに対して 120μm となった。マスク幅は 25μm であるので，アンダーカット（マスクの真下部分にエッチングが進むこと）値は 45μm 程度となった。これはエッチング深さと同等であり，エッチングが等方的に進行していることを示している。

したがって，現状の幅 50μm/深さ 50μm の形状をウェットエッチングで形成することは困難であり，必要断面積に応じて幅と深さの再検討が必要である。

3.2 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 程度，所要サンプル量が数 μL 以下程度であり，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挙げられる。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の内部の分析が可能であることもラマン分光分析の利点である。

しかしラマン分光分析は一般的に EC や UV 吸光度法と比較して検出感度が低く，通常 100ppm 以上の濃度を必要とする。そこで，今回微量金属イオンの検出方法を検討するにあたり，金属キレート溶液に金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。

図 3 に Fe-PAR キレート溶液（Fe 濃度約 0.2～0.3ppm）に各粒径の金ナノコロイド溶液を体積比で等量添加したサンプルのスペクトルを示す。粒径 50nm コロイド添加時に最も顕著な SERS 効果が出現した。また感度増幅されるピークは主に配位子 PAR の構造に帰属できる [2),3)]。粒径 10, 100nm 添加については，50nm 添加時に見られるピークの増強効果がほとんど確認できない。

3.3 電気泳動分析装置の電極システム

分析装置の中核部分を動作させる電気泳動分析装置の電極システム部分の試作を行った。

図 4 に電気泳動チップと電極を示す。電気泳動チップは，Microfluidic ChipShop GmbH 社製である。チップの大きさは 96 ㎜×16 ㎜で，厚さは 1.5 ㎜であり，流路の高さおよび幅は約 50μm である。金製の検出電極が流路を横切っており，高電圧（数 kV）をかけて分離されたイオンの伝導率を測定することで検出を行う。

同電極システムの制御プログラムは LABView で作製した。高圧電源の電圧シーケンスとリレーの開閉シーケンスを実行するほか，検出電極に 2kHz の電圧を印加し，生じた電流をシャント抵抗による電圧で抵抗に換算し，測定する構成である [4)]。リレー制御が正常に行われ，システムが正常に動作することを確認した。

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，農業分野への適用が有望である。

(2) ガラスチップへのウェットエッチングによって流路を形成した。

(3) ラマン分光分析と直径 50nm の金ナノ粒子を用いることで，1ppm 以下の遷移金属イオンを検出することができた。

(4) 高電圧制御回路およびその制御プログラムによる，電気泳動装置の電極システム部分を試作した。

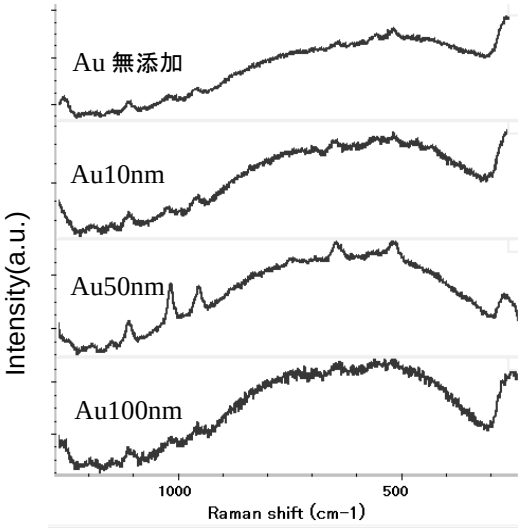

図 3　Fe-PAR SERS スペクトル

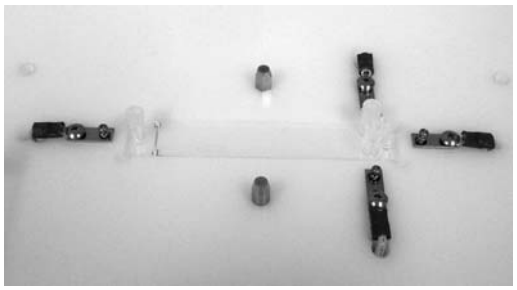

図 4　電気泳動チップと電極

参考文献

1）北森武彦，“平成 26 年度第一回微細加工研究会配布資料”．

2）Kuang Lu Cheng, Keihei Ueno, Toshiaki Imamura, ”CRC Handbook of Organic Analytical Reagents, Second Edition”, p220.

3）N. Leopold, L. Szabó, A. Pîrnău, M. Aluaş, L.F. Leopold, V. Chiş, O. Cozar, “Raman spectroscopic and DFT theoretical study of 4-(2-pyridylazo) resorcinol and its complexes with zinc (II) and copper (II)”, Journal of Molecular Structure 919 (1), 2009, pp.94-99.

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

Ⅳ　資　　料

「図」および「表」の再掲（抜粋）

Ⅲ 調査・報告

3. 炭化繊維利用研究会報告

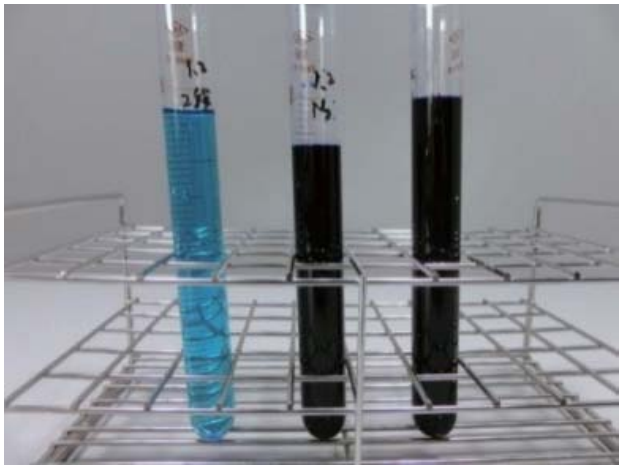

図4　メチレンブルー吸着測定
左：賦活化処理後炭化綿，中：ヤシ殻活性炭，右：賦活化処理なし炭化綿
（73ページ）

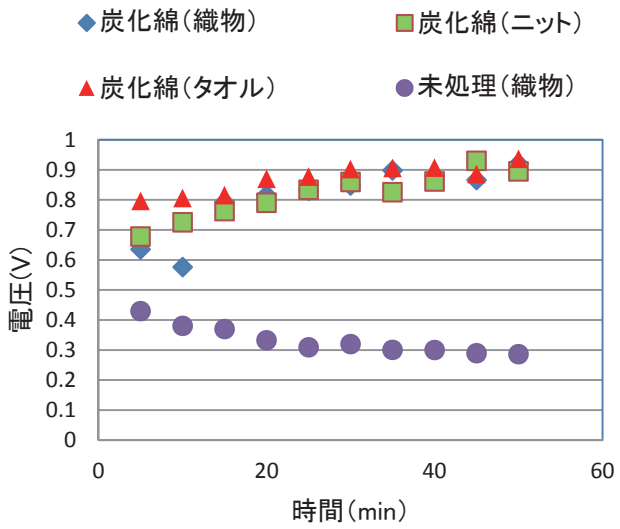

図5　炭電池の電気特性
（73ページ）

4. 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

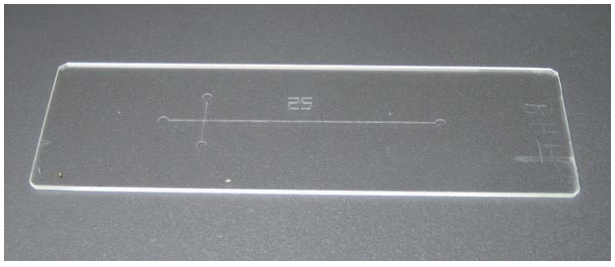

図2　作製したチップの外観
（76ページ）

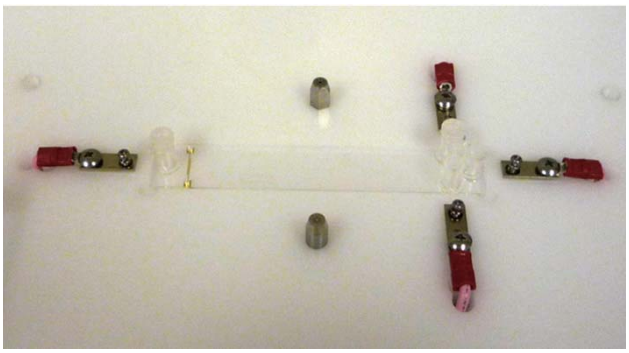

図4　電気泳動チップと電極
（77ページ）