

マイクロ空間化学研究ラボにおけるマイクロ・ナノ空間テクノロジーの現状と展開

マイクロ空間化学研究ラボ 副ラボ長 前田英明

1. はじめに

マイクロリアクターは、マイクロチャンネルリアクターとも呼ばれ、数～数百 μm の微細流路を有する微小反応器の総称である。(1)加熱、冷却速度が速い、(2)流れが層流である、(3)単位体積当たりの表面積が大きい、(4)物質の拡散長が短いので反応が迅速に進行する等の特徴があり、これらを利用して従来にはない高速かつ高選択性の反応系の構築が可能である。近年、化学反応や分析の分野においてマイクロ空間の有する種々の特徴が広く一般に認知されるようになり、各所で非常に活発な研究・開発が行われている。

本稿では、昨年4月に九州センター内に発足したマイクロ空間化学研究ラボの研究事例を紹介し、その実用的見地からの将来性を述べてみたい。

2. マイクロ流路内の流体挙動

マイクロリアクターを用いた化学反応のほとんどは流通系で行われる。従って、マイクロ流路内での流体の挙動に関する知見・情報は、化学反応を設計、あるいは理解する上で極めて重要である。

周知のように、マイクロリアクターの場合、流路のサイズが数～数百 μm であるため、水や有機溶媒等の液体を流すときのレイノルズ数は数十～数百となり、流れは層流状態となる。従って、Y字流路を介して二種類の液体をマイクロリアクターに流通させると、二種類の液体が混じり合うことなくチャンネル内を併走する様子が観察される。このような多相流体系は、液-液系だけでなく液-気系でも比較的容易に達成することができ、このような流体制御性の良さがマイクロリアクターの大きな特徴の一つである。しかし、二次元平板上に微細流路を構築したチップ型リアクターの場合、流路の折り返し部分で複雑な流体構造を呈することが明らかとなっている[1]。

最近、我々はFig.1に示すようなアクリル(PMMA)製マイクロリアクターを用いてマイクロチャンネル内の流体構造を共焦点蛍光顕微鏡で観察し、その結果に基づいて微細空間の中の流体構造をシミュレーションした[2]。



Fig. 1 Microreactor used in this research and its channel structure.

Fig.2はリアクター各部位における流体の断面構造の観察結果とそのシミュレーション結果をまとめたものである。図から明らかなように、流速が小さいとき(上図)は、慣性力の影響で二液の界面が変形し、その後に逆方向の慣性力を受けることによって初期の界面状態に復元する様子が見られる。しかし、流速が大きくなる(下図)と、二次流れの影響による流体変形が著しく、その後の逆方向の慣性力によりさらに複雑な界面形状となっている。このような界面の変形程度は、流速だけではなく、流体の密度・粘度、壁面との相互作用の大きさによっても複雑に変化する。

後述するように、かかる流体構造や界面変形が化学反応に著しく影響していると思われる、マイクロ空間での化学反応、特に流通系のチップリアクターを用いた化学反応の場合には十分な理解

(A) Measuring and simulating positions



と制御が必要になると思われる。

3. マイクロ空間を用いたナノ粒子の合成

反応条件の精密コントロールが容易なマイクロリアクターは、工業用精密反応装置としての大きなポテンシャルがある。一方、最近ナノテクノロジーが急速に関心を集めており、ナノ粒子も、蛍光粒子、磁性粒子として近い将来その需要は非常に大きくなると考えられる。ナノ粒子の合成法に関しては、多くの方法が報告されているが、合成時に前駆体濃度を急激に上昇させることが必要となる事が多く、反応系内で温度や前駆体濃度の不均一性が生じやすい。スケールアップを行うと、反応制御性および再現性はますます低下する。このため、ナノ粒子の大量合成は非常に難しいといわれており、合成方法に関するブレイクスルーが望まれている[3]。この観点から、我々はマイクロ流体システムを利用したナノ粒子の合成は、その大量合成のための大きなブレイクスルーになりえると考え、医療・生化学分析分野に用いる蛍光タグなどとして大きな需要が期待されているCdSeナノ粒子の合成を試み、その反応制御性および再現性について検討した[4-6]。

トリオクチルフォスフィンオキサイドおよびステアリン酸、および酢酸カドミウムを混合、溶解させた溶液とトリオクチルフォスフィンにセレンを溶解させた溶液を混合し、原料溶液を作製した。合成に使用した装置の模式図をFig.3に示す。原料溶液をあらかじめ設定温度に加熱したキャピラリー(200 μm , 長さ1m)に通過させ、溶液を加熱、CdSeナノ粒子を得た。加熱時間は原料液の流速を変化させて調節した。得られた生成物は、クロロホルムで100倍に希釈して、吸光スペクトル、及び蛍光スペクトルの測定を行った。また、吸光スペクトルの吸収ピーク位置より、粒子径を推定した。

CdSeナノ粒子の吸光および蛍光スペクトルのピーク位置は量子効果による粒径依存性があり、小粒子ほど低波長側にシフトする。反応温度を275 または245 とし、加熱時間を0.5-10minとしてCdSe粒子の合成を行った。得られた試料に365nmの紫外光を照射すると、Fig.4に示すような青緑色から橙赤色の蛍光が得られた。吸光スペクトルの測定により、得られた生成物の吸収ピーク位置は500~600nmであり、それぞれの試料の粒径は2.4~4.2nmと推算された。今回の合成条件では、

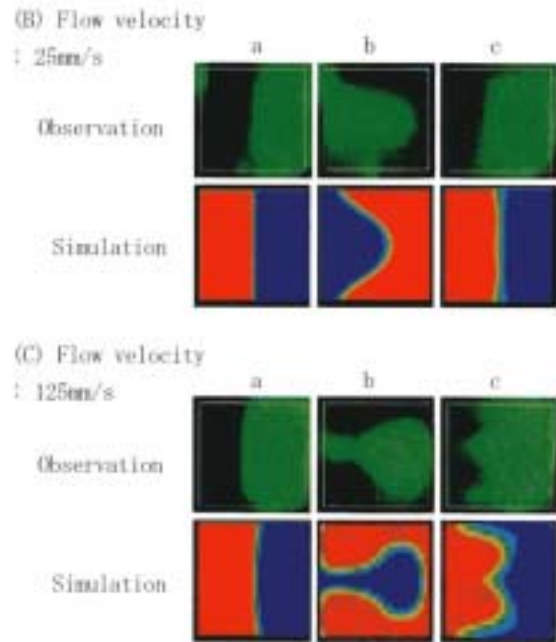


Fig. 2. Fluidic behavior in a microreactor. (A) indicates schematic positions of observation and simulation. (B) and (C) show results of observation and simulation at flow velocities of 25 and 125mm/s.

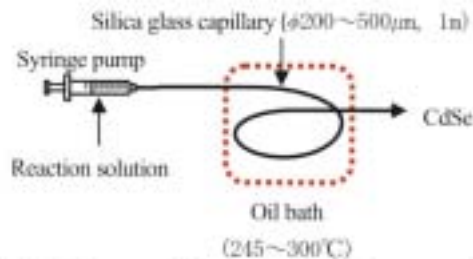


Fig. 3 Diagram of flow reactor for CdSe nano-particles.



Fig. 4 Fluorescence obtained from CdSe nano-crystals formed under different synthetic conditions. Average particle diameter is (a) 2.4nm, (b) 2.8nm, (c) 3.4nm, (d) 3.8nm and (e) 4.2nm, respectively.

加熱時間が短いほど、反応温度が低いほど、生成物の粒径は小さく、リアクター内での滞留時間および反応温度により、粒子径の制御が可能になったことがわかった。Fig.5は、275 1 minの条件で同じ実験を5回おこなって再現性を調べた結果である。吸光スペクトルは非常によく一致し、本法の高い再現性が認められた。

以上のように、マイクロ流体システムを用いることにより温度および成長時間の精密制御が可能であり、厳密なプロセス制御が必要とされるナノ粒子の合成を極めて安定かつ再現性良く行えることが明らかとなった。

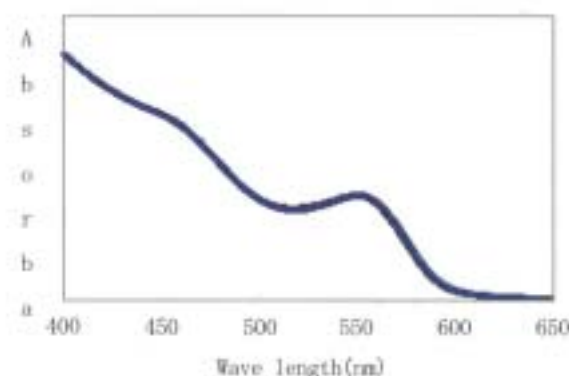
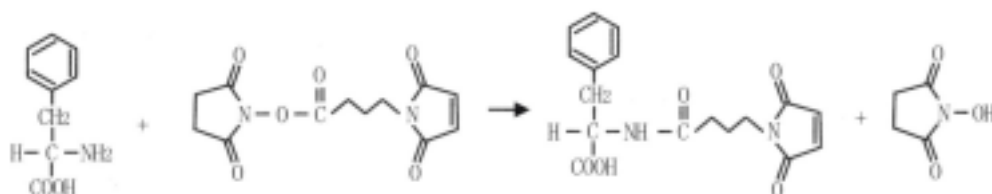


Fig. 5 Reproducibility of CdSe nano-particle formation. Experiments were repeated to 5 times at 270°C for 10min.

4. マイクロリアクターを用いた有機・生化学反応

先に我々は、マイクロリアクターを用いた酵素反応を行い、バッチ反応に比較して数～数十倍の反応加速効果が有ることを報告した[6]。本現象に関しては、いまだ不明な点が多く、詳細な原因解明には至っていない。しかし、反応の加速効果に対して酵素濃度依存性が大きいこと、酵素の壁面への吸着効果では無いこと等から考えて、マイクロチャンネル内における流体構造の特異性と密接に関連しているのではないかと推測している。

最近、ある種の有機反応がマイクロ空間内で著しく加速あるいは減速する現象を見出した[7]。反応が1000～2000倍に加速したのは下記に示す反応である。



この反応は、L-PhenylalanineにGMBS (N-(4-Maleimidobutyryloxy)succinimide) を付加する反応であり、ビーカーやフラスコ等を用いたバッチ反応では30～40時間の反応で収率80%程度である。それに比較して、この反応をマイクロリアクターで行うと、Fig.6に示すように、ある流量条件下で著しい反応の加速効果が認められ、わずか3分程度で収率が80%に達した。ここで特筆すべき点は、反応速度が二液のマイクロチャンネル内滞留時間、すなわち流体の流通速度に強く依存していることである。本現象の詳細は、現在、調査中であるが、以下のような特徴を有している。

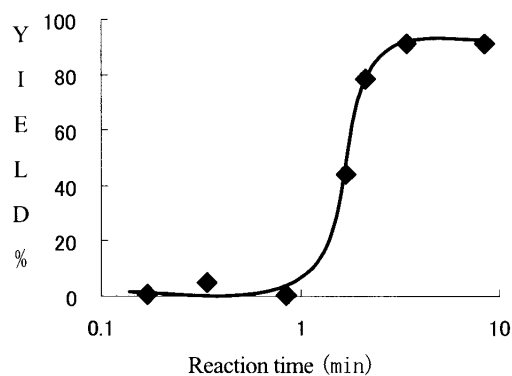


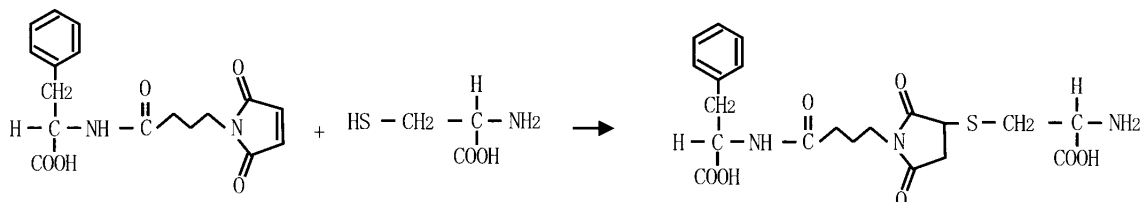
Fig. 6 Enhanced chemical reaction between L-Phenylalanine and GMBS.

反応溶液をあらかじめ混合してマイクロリアクターに流通させると、反応の加速効果は全く認められなかった。すなわち、化学反応に対して原料液2液の作り出す界面が極めて重要な役割を果たしていると考えられた。

反応加速の程度は原料濃度に強く依存し、低濃度ほど加速効果は大きかった。これは

前述の酵素反応の場合と同じ傾向であった。

これとは逆に、以下に示す反応はバッチ反応では瞬間的に反応が終結するが、マイクロリアクターを用いると、Fig.7に示すように、ある条件下では反応を著しく遅延させることも可能であることが分かった。



以上の2つの反応は有機化学的に特別な反応ではなく、ごく普通の化学反応である。詳細な解明はこれからであるが、反応速度が流体の流通速度に強く依存していることが共通点である。このことは、前出のマイクロ流路内での流体挙動・構造の重要性を示すと共に、マイクロリアクター構造の最適化ならびにマイクロ空間中での適切な流体操作により、従来にない化学反応を実現できる可能性を示すものである。

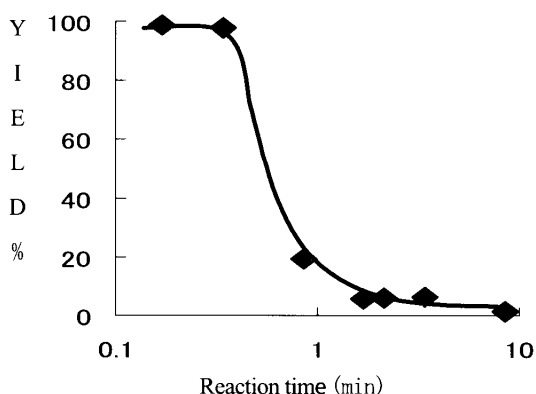


Fig. 7 Delayed chemical reaction between GMB-L-Phe and L-Cystein.

5. マイクロ流路中におけるDNAの伸張・配向

近年、人やその他の生物の遺伝子解読がすすみ、その成果を基に各種遺伝子の特異とその機能解析、さらには生命現象の分子レベルでの理解と各種疾病に対する効果的薬剤や治療法の開発へと発展している。我々はこのような現状を受け、マイクロチップを利用した遺伝子センシング技術の開発を行っている。これは、糖尿病や高血圧症等の生活習慣病、あるいはガンを発病させる遺伝子をターゲットに、遺伝子中の塩基配列の変異性を簡便かつ高感度に検出するものである。

この一連の研究の過程で、我々はDNAがマイクロ流路を移動する際に流れに沿って伸張し配向するという現象を見出した[8]。Fig.8は蛍光色素(DAPI)で染色したDNA(T4GT7)をマイクロチャンネル内に流通させたときの分子形状を蛍光顕微鏡と超高感度カメラで撮影したものである。静止時はランダムコイル状に丸まっていたDNAが流動中は流れに沿って伸張・配向している様子が観察される。一般にDNA、RNA、タンパク等の長鎖生体高分子は

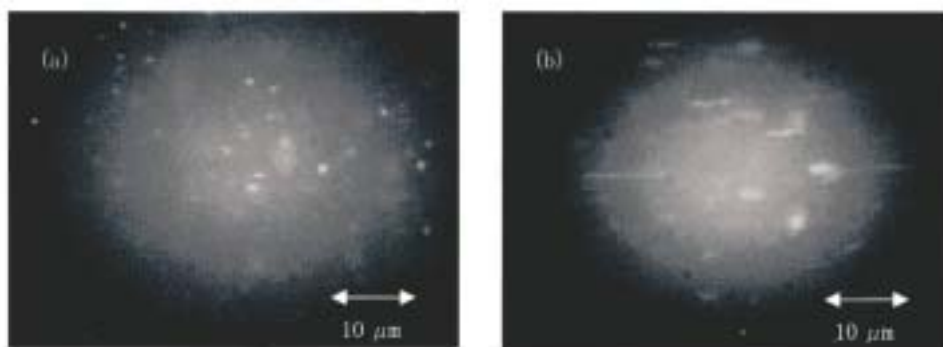


Fig. 8 Extension and orientation of DNAs (T4GT7) in a microchannel.

主として液相中で取り扱われ、通常はランダムコイル状の凝集構造をとって安定化している。このようなコンフォメーションを崩して直線上の分子構造を達成する手法として、電気泳動法、レーザーマニピュレーション法、ズリ応力法等が報告されているが、たかだか数百 μm 径の流路内を流通させるだけでDNAの凝集 - 伸張構造を制御できることは極めて興味深い現象である。

このようなDNA鎖の伸長現象は、マイクロチャネル内の流れが層流であるということによって誘起されていると考えられる。層流がフレキシブルなポリマーを伸長させるというコイル - ストレッチ転移は、すでに数学的手法によってその可能性が示唆[9]されており、本現象はそれを証明する実験事実と考えられる。なお、流れているときの写真に、伸び方の異なるDNAが共存して写っているという結果は、この数学的考察とも一致するところであった。

かかる現象を利用すれば、DNA、RNA、タンパク等の長鎖生体高分子のある特定の部位に機能性の官能基や化合物を導入する技術の開発が可能と目され、マイクロリアクターならではの生化学反応の構築ならびに将来のバイオテクノロジーの重要な基盤技術への発展が期待される。

6 . おわりに

近年、化学反応や分析の分野においてマイクロ空間の有する種々の特徴が広く一般に認知されるようになり、各所で非常に活発な研究・開発が行われている。今後は、従来の化学反応の効率化や高度化に留まらないマイクロ空間ならではの反応系が探索・発見されて行くと思われる。本稿で述べた、マイクロリ流路における特異な流体挙動、マイクロリアクターを用いたナノ材料の合成や有機・生化学反応の研究例がその一助になれば幸いである。

参考文献

- 1) Kawazumi, H.; Tashiro, A.; Ogino, K.; Maeda, H. *Lab on a Chip* 2002, 1, 8-10.
- 2) Yamaguchi, Y.; Takagi, H.; Yamashita, K.; Maeda, H.; Sotowa, K.; Kusakabe, K. submitted.
- 3) Hu, B.; Shaw, D. in " Nanostructure Science and Technology " ed. By R.W.Siegel, E.L. Hu, M.C.Roco, pp15-33, Kluwere Academic Publishers (Nederland, 1999).
- 4) Nakamura, H.; Yamaguchi, Y.; Miyazaki, M.; Uehara, M.; Maeda, H.; Mulvaney, P. *Chem. Lett.* 2002, 10, 1072-1073.
- 5) Nakamura, H.; Yamaguchi, Y.; Miyazaki, M.; Uehara, M.; Maeda, H.; Mulvaney, P. *Chem. Commun.* 2002, 23, 2844-2845.
- 6) Nakamura, H.; Miyazaki, M.; Maeda, H.; Tashiro, A.; Ogino, K.; Watari, T. *Micro Total Analysis Systems* 2002, 2, 885-887.
- 7) Miyazaki, M.; Nakamura, H.; Maeda, H. *Chem. Lett.* 2001, 5, 442-443.
- 8) Pgino, K.; Miyazaki, M.; Nakamura, H.; Maeda, H. *ITE Lett.* 2002, 3, 362-366.
- 9) Miyazaki, M.; Yamashita, K. Fuji, H.; Nakamura, H.; Maeda, H. submitted.
- 10) Yamashita, K.; Yamaguchi, Y.; Miyazaki, M.; Nakamura, H.; Maeda, H. submitted.
- 11) Frank, F. *Proc. Roy. Soc. Lond.* 1974, A319, 127-136.