

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：18001

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23655070

研究課題名（和文） 石けん膜の流体デバイス機能の研究

研究課題名（英文） Investigation of molecular transport techniques using soap film to realize new fluidic devices

研究代表者

米藏 誠哲 (YONEKURA NOBUAKI)

琉球大学・理学部・准教授

研究者番号：60291100

研究成果の概要（和文）：

石けん膜を流体とする新たな分析デバイスを実現するため、石けん膜による分子・粒子輸送法を試験した。安定な高粘性の石けん膜では、膜内に分子・粒子を分散させるよりも膜上の液滴に分子・粒子を取り込んで輸送することがよいことが分かった。液滴は高粘性の石けん膜と融合せずに数分間安定に存在し流動しながら濡れ広がることが分かった。また多価の電解質を含む液滴は電場により一定の移動度で泳動できること、価数によって分離できる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

To realize new fluidic devices using soap film, we have investigated techniques for the transport of molecules in and on soap film. Viscous soap films optimized for stability can last for several days and allow us to transport analyte molecules involved in droplets on the films, not dispersed in the film. The droplets on the film are stable for several minutes without coalescing with the film and can flow and spread freely. It has been shown that the droplet containing polyvalent electrolytes on the film can be transported with a constant mobility by an electric field and separated by the valence.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：石けん膜、液滴

## 1. 研究開始当初の背景

石けん膜は界面化学・流体物理の分野で古くから研究されているが近年ほとんどブレイクスルーがなく、本研究のように分析デバイス機能を検討した例は皆無である。微小流体デバイスは広大な研究分野において極めて精力的に研究されているが、流体はガラス基板内のマイクロチャネル中の水

が主流であり、石けん膜を流体とした例は皆無である。

申請者は近年ハイドロゲル・フォーム等のソフトマターによるイオン輸送デバイス（ラチェット機構を利用）・回路の開発研究を進めている。最近石けん膜にコロイド粒子（遺伝子デリバリー用の DNA 高分子複合体や海洋バクテリア・ウイルス等）を展

開し、蛍光顕微分光やブラウン運動解析法を使って計数・流体学的サイズ分析を実施した。これは石けん膜の静的な2次元性を利用しただけであるが、石けん膜には、極小曲面・マランゴニ効果・液相と単分子膜の2相の存在、フォーム形成等の多様で構造・物性が流体デバイスとして利用できることに気づき本研究を企画するに至った。

## 2. 研究の目的

以下の3つのデバイス機能の検討・研究を実施する。

(1) 荷電分子の分離・抽出デバイス機能  
石けん膜が水相・単分子膜相をもつこと、2次元流体であること、極小曲面を形成することを利用した、荷電分子の分離・抽出法を確立する。2つの研究「荷電分子の水相・単分子膜相への分離・抽出」と「DNAの抽出・光学マッピング」を完成させる。

(2) 輸送デバイス機能

石けん膜のマランゴニ効果と2次元流体であることを利用した中性・荷電分子・粒子の輸送法を確立する。「マランゴニラチェット輸送」の研究を完成させる。

(3) 検出デバイス機能

石けん膜が水相・単分子膜相をもつこと、2次元流体であること、熱により膜厚が変化することを利用した検出法を確立する。「単一分子分光検出(蛍光分子を対象)」を完成させる。

## 3. 研究の方法

(1) 水相・単分子膜相への分離・抽出

正電荷・負電荷を持つ色素を石けん膜の一端から導入し、他の2つの膜端に正負の電圧を印加、電気泳動により分離、回収する方法を試験する。アルキル鎖を結合させた荷電色素を石けん膜の単分子膜相に導入し、電気泳動により分離させる。親油性溶媒を膜に接触させ分離したアルキル鎖色素を抽出する。色素の分布の画像解析により濃度分布を求め分離の速度・効率、および回収効率を定量的に評価する。また単分子膜相を親油性溶媒接触吸収させることで単分子膜相を移動させる方法を確立し、単分子膜相に展開した疎水性分子の分離・抽出を試験する。

(2) DNAの抽出・光学マッピング

水溶性高分子の添加により粘性を増強した石けん膜にバクテリア・培養細胞を添加、長鎖DNAを抽出、膜に多電極を差し込み交

流電場の印可により長鎖DNAをほぐし展開、蛍光色素で染色、蛍光像をバックイルミネーション CCD カメラ付き蛍光顕微鏡で撮像(光学マッピング)し、DNAのサイズを解析する。

(3) マランゴニラチェットによる輸送

電気泳動では不可能な中性分子の輸送を、石けん膜のマランゴニ効果とラチェット機構(バイアスの無い非対称周期的な場とブラウン運動を利用して一方向の流れを取り出す機構)を組み合わせた方法で実現する。マランゴニ効果は石けん膜の不均一表面張力で駆動される流動であり、表面張力の分布が非対称であると、非対称流動が起こる。のこぎりの歯のような非対称周期的な電極により荷電をもった界面活性剤で作られた石けん膜に交流電場を印可すると、その界面活性剤の濃度分布に偏りが生じ不均一周期的分布の表面張力が形成され、その結果生じた石けん膜の流動とブラウン運動を交互に繰り返す事で中性分子が輸送される。

(4) 単一分子検出

石けん膜中の蛍光分子(または蛍光プローブ)を対象に、レーザー顕微鏡と高感度 CCD カメラで検出する。石けん膜の単分子膜相による分離分析に重要な輸送能を定量的に評価するため、多粒子トラッキング法を使って単分子膜中の分子のブラウン運動(気液界面の2次元ブラウン運動)を詳細に計測したい。

## 4. 研究成果

中性の界面活性剤で構成される石けん膜の調整法を検討し、グリセリン・ポリビニルアルコールを添加して粘性上げることで最大で3日間安定な石けん膜を作成できることが分かった。当初のすべての計画は石けん膜内に分子を分散し電場や表面張力を用いて輸送制御できることを想定していたが、我々が作成した安定な石けん膜では内部に分子を均一に分散できず、電場や表面張力では輸送制御が困難であることが判明した。しかし分析対象を液滴とすれば石けん膜上で輸送制御が可能であることを見だし、研究の方向を石けん膜上の液滴の濡れ広がりとの electrokinetic 現象の研究へ大きく修正することにした。

(1) 水相・単分子膜相への分離・抽出

① 石けん膜上の液滴の濡れ広がり現象  
グリセリン・ポリビニルアルコールを含む

高粘性のけん膜に種々の荷電色素を含む水溶液を滴下し、写真撮影によりその溶液の色素濃度の分布の時間変化を調べた。図1はOrange G 色素溶液の結果である、分布が形状を変えず石けん膜上で移動しており、色素溶液は石けん膜に浸透せず、液滴として移動していることが分かる。

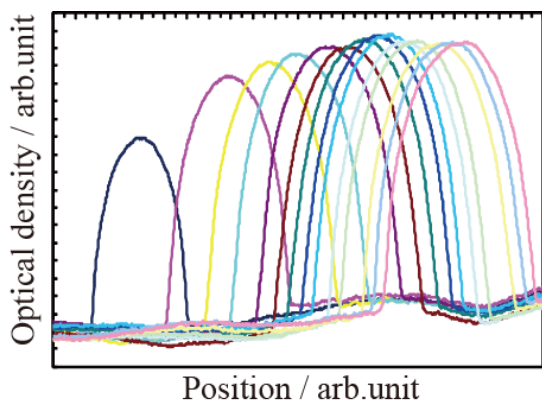


図1 石けん膜上液滴中の OrangeG 色素の濃度分布

不溶性固体面上または非混和性の液体の液面上において液滴の半径  $R$  は時間  $t$  の  $n$  乗に従うことが知られている。図2は液滴の半径の対数と時間の対数をプロットしたものであり、種々の色素溶液でほぼ直線になることから、その冪乗則が成り立っていることが分かる。 $n$  は 0.09 から 0.16 であり、非混和性の液体の液面上における液滴と同様な重力とキャピラリー力の釣り合いで決まる冪乗則で濡れ広がることが分かった。疎水性の溶質が存在すると石けん膜に浸透拡散することも見いだした。

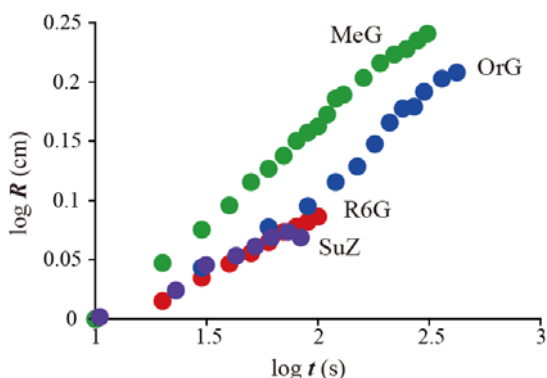


図2 液滴半径と時間の両対数プロット (SuZ: Sulfonazo III, MeG: Methyl green, OrG: Orange G, R6G: Rhodamine 6G) 界面活性剤と水だけで構成された石けん膜上に水を滴下すると滴下速度に依存して石

けん膜と融合するか、液滴となってカオス的なバウンスをすることが報告されている。高粘性の石けん膜上の液滴は融合やバウンスせずに濡れ広がることを本研究で初めて明らかにした。

②石けん膜上液滴の electrokinetic 現象 石けん膜に電場印可するとその膜上に荷電色素液滴は泳動する。図3は電場あたりの泳動距離と泳動時間のプロットである。

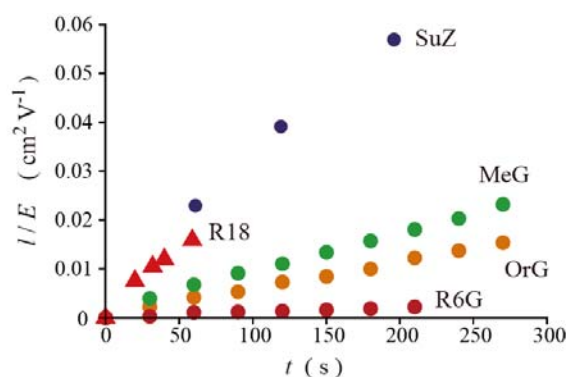


図3 色素液滴の泳動距離と時間のプロット

2 価以上の価数の色素液滴 (SuZ は 4 価、MeG と OrG は 2 価、R6G は 1 価) は泳動され、その泳動速度は価数とともに増加している。液滴自体は中性であるのに泳動に極性と価数依存性をもつ電気泳動的な振る舞いが観測されている。しかし 1 価の色素液滴は泳動方向が反転することがあるため誘電泳動の可能性もある。しかし、DNA やタンパク質等の高分子を含む液滴は泳動されない。非常に興味深い electrokinetic 現象であるが、研究期間内にこれらの結果を包括的に説明するメカニズムは明らかでなかった。現在、electrokinetic 現象を解明すべく、不均一電場分布、液滴のサイズ・溶質の種類・組成、液滴と界面活性剤の種類 (誘電率) を変え系統的な実験を検討している。メカニズムは未だ解明されていないが石けん膜上の液滴を電場マニピュレートできることが示された。

#### (2) DNA の抽出・光学マッピング

アガロースを加えた石けん膜内で電気泳動による DNA の抽出は、泳動バッファーを添加すると熱の発生により石けん膜が崩壊するため確認できなかった、また石けん膜上の DNA を含む液滴では誘電・電気泳動はできなかった。しかしアルミナ膜上のバクテリアから長鎖 DNA が抽出・光学マッピングができることが示された、石けん膜を伸

張・乾燥させることでバクテリアから直接 DNA を抽出・光学マッピングすることを検討している。

(3) マランゴニーラチェットによる輸送  
マランゴニーラチェットは荷電をもった界面活性剤で作られた石けん膜に交流電場を印可する必要があるが、電場の印可により石けん膜は崩壊するためできなかった。しかし、ラチェットの試験研究としてメラミンフォームを用いた色素分子のロッキングラチェット輸送の研究を行った。

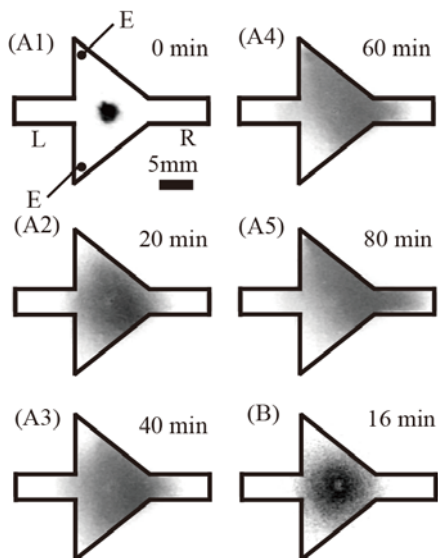


図4 ラチェットによる色素の非対称輸送

図4のように三角形状のメラミンフォームの中央に荷電色素をスポットし上下に低周期交流電場を印可すると色素は右へのバイアスがないにも関わらず右の方へ輸送できることが分かった。図5は左右のチャンネルへの色素の移動量を調べた結果であり、60分以降急激に右へ輸送されていることが分かる(点線は等方的な拡散をシミュレートした結果)。

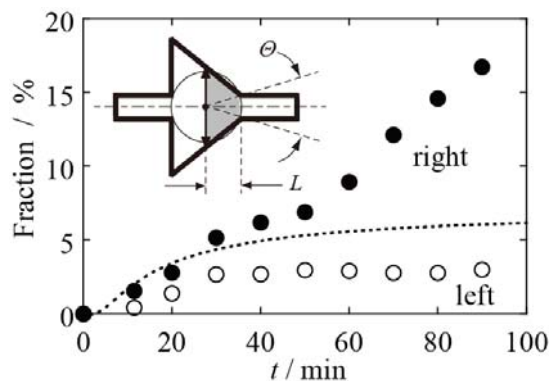


図5 色素の左右チャンネルへの移動量

図6のように上下方向から交流電場により

色素を導入し右へ輸送することも可能であった。これによりこのラチェットは整流回路と等しい機能を持つことが示された。

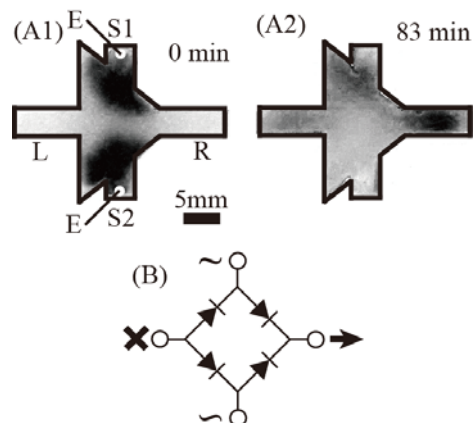


図6 色素交流を整流するラチェット

#### (4) 単一分子検出

高粘性の石けん膜内の単分子検出は、顕微鏡の air contact 対物レンズと石けん膜の接触が避けられず研究期間内に実現できなかった。油浸対物レンズと石けん膜の間に非混和性の油を挟んで観測する方法を試験している。多粒子トラッキング法により細胞内の蛍光粒子の細胞内通常拡散と能動輸送は評価できるようになった。また蛍光相関分光装置を構築し単一粒子の拡散測定を検討している。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

- ① Nobuaki Yonekura and Ryo Shiroma, Unidirectional Transport of Small Ions by Melamine Foam Ratchets, 査読有, Chemistry Letters, 40, 2011, 1182-1183. DOI: 10.1246/cl.2011.1182

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

米藏 誠哲 (YONEKURA NOBUAKI)

琉球大学・理学部・准教授

研究者番号: 60291100