

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：24403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26630403

研究課題名(和文) 1分子制御化学を実現する1分子液滴反応場の創成

研究課題名(英文) Development of single-molecule reactors for single-molecule regulated chemistry

研究代表者

許 岩 (Xu, Yan)

大阪府立大学・21世紀科学研究機構・講師

研究者番号：90593898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、研究代表者が提案した1分子制御化学の実現に向けて、超微量液体(流体)操作に適したナノ流体デバイスを用いて、1分子液滴反応場となるアトリットル(aL)液滴を形成する方法を創成した。具体的には、研究代表者が開発したNano-in-Nano集積化技術を用いて、ナノ流路内に超高精度の局所親水-疎水ナノパターン表面を構築することに成功した。この超高精度の局所親水-疎水ナノパターン表面を有するナノ流体チップを利用することで、気-液界面に発生するラプラス圧力差の原理に基づくアトリットル液滴の生成が可能であることを実験で明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, toward the realization of single-molecule regulated chemistry which is a new concept proposed by us, a method for the formation of attoliter droplets using a nanofluidic device was developed. The high-precision fabrication of local hydrophilic/hydrophobic nanopatterns in tiny nanofluidic channels, which are the core structures proposed by us for the formation of attoliter droplets, was achieved by using a nano-in-nano integration technology developed by us. The liquid-handling experimental results revealed that the fabricated nanofluidic device containing the high-precision hydrophilic/hydrophobic nanopatterns possessed the capability to form attoliter droplets based on the principle of Laplace pressure difference at the liquid/gas interface in the nanofluidic channel.

研究分野：ナノ化学システム、1分子科学

キーワード：アトリットル液滴 ナノ流体デバイス Nano-in-Nano集積化 1分子制御化学

1. 研究開始当初の背景

微視的な流体（液体）の「量」をより微小に制御することは、化学やバイオなど幅広い分野の様々なプロセスの精度、集積度及び処理能力をより向上させるため、基礎研究及び産業開発に関わる極めて重要な要素能力となっている。とくに近年、ヒトゲノム計画完成後の生命科学における諸課題解決の系口となる1細胞分析が注目されているが、その実現には1細胞内容物の体積（ピコリットルレベル； $pL = 10^{-12} L$ ）よりもっと小さいスケールの液体（流体）の制御技術が求められている。また、化学分野において、ピコリットル液体（流体）の操作技術の確立により1分子検出が容易になり、分析化学技術の革新をもたらしたが、液体（流体）操作の「量」を更にスケールダウンすることができれば、「1分子検出」から「1分子操作」へとさらに進化させ、1分子操作を核とする究極の化学合成技術を創出することが期待される。

そこで研究代表者は、分子をビルディングブロックとして直接的に取り扱い、液相における化学反応に携わるすべてのプロセスを1分子単位で行う「1分子制御化学」のコンセプトを提案した。

理論上では、超微小体積を有するアトリットル ($aL = 10^{-18} L$) の液滴反応場に閉じ込められた μM 濃度の溶液の溶質分子数は1分子とされる。研究代表者は、1分子制御化学のコンセプトを実現するために、アトリットルの液滴反応場すなわち1分子液滴反応場に着目した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、提案した1分子制御化学の実現に向けて、研究代表者が得意とする超微量液体（流体）操作に適したナノ流体デバイスを用いて、1分子液滴反応場となるアトリットル (aL) の液滴を形成する方法の創成である。

3. 研究の方法

本研究で利用するナノ流体デバイスとは、内部にナノメートル（1メートルの十億分の1）サイズの流路（ナノ流路）が彫り込まれた数センチ四方のガラス板で、超微小流体実験環境として、近年発展を遂げている最先端デバイスである。ナノ流路はフェムトリットル ($fL = 10^{-15} L$) の体積を有するが、本研究では、ナノ流体デバイスを用いて容量 aL の液体の連続操作可能な超微小空間を創出する。しかし、ナノ流路では比表面積が極めて大きくなるため、マイクロ流路で行われるような二相流による液-液二相系エマルション原理に基づく微小液滴の生成は困難である。そこで本研究では、気-液界面に発生するラプラス圧力差の原理によりナノ流路内でアトリットル液滴を形成する手法を提案した。ラプラス圧力差を生じさせるためには、ナノ流路内における 100 nm 精度の局所的親水-

疎水パターン表面を構築しなければならない。これは極めて挑戦的であった。本研究では、研究代表者が開発した Nano-in-Nano 超高精度集積化技術 (Y. Xu, Lab Chip, 2015, 15, 1989) を用いて、ナノ流路における局所的親水-疎水パターン表面を構築した。このナノ流路内に構築した局所的親水-疎水パターン表面を利用することで、実験で流体操作の条件を検討しながら、ナノスケールにおける液滴の生成を行った。

図1に本研究の基本の実験セットアップを示す。ナノ流体チップは、ナノ流路を十字に交差させたものを液滴生成と操作に用い、圧力コントローラを接続した3組のマイクロ流路を通じて液体と空気を導入した。

4. 研究成果

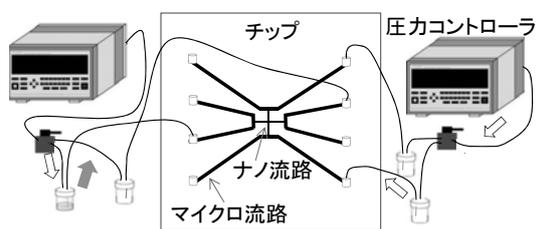


図1. 基本の実験セットアップ

① ナノ流路内超高精度局所的疎水性界面を構築するための Nano-in-Nano 集積化

本研究ではナノ流路内に局所的に金表面を集積し、金表面上に疎水性自己組織化単分子膜 (Self-Assembled Monolayers, SAM) を形成することにより、ナノ流路内に局所的親水-疎水界面を構築した。金表面のナノ流路内の集積化の位置精度が作製できる液滴の体積を左右するので、その集積化位置精度を評価した。Nano-in-Nano 超高精度集積化技術を用いてガラス基板の上に作製したアトリットル液滴生成の基本十字ナノ流路構造を図2に示す。Nano-in-Nano 超高精度集積化技術を用いることで、横流路（幅 520 nm 、深さ 240 nm ）内には十字角から 50 nm 、 100 nm 、 200 nm 、 300 nm 、 400 nm のそれぞれの位置（図2の x 距離）に金表面 ($300 \text{ nm} \times 470 \text{ nm}$) の集積化ができた（図2）。このような十字ナノ流路構造が利用すれば、それぞれ 6.2 aL 、 12.5 aL 、 25.0 aL 、 37.4 aL 、 49.9 aL の液滴が生成可能であると考えられる。金表面の設計位置と作製後の実際位置（図2a）を比較することにより集積化の位置精度を得た（図2b）。 x 軸方向の位置誤差は $(8 \pm 16) \text{ nm}$ で、最大 30 nm 、最小 0 nm であることがわかった。 y 軸方向の位置誤差は $(-16 \pm 9) \text{ nm}$ で、最大 0

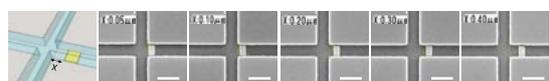


図2. Nano-in-Nano 集積化により作製したアトリットル液滴生成用の基本ナノ流路構造体

nm、最小-25 nm であることがわかった。位置誤差は極めて小さいため、Nano-in-Nano 集積化技術はアトリットル液滴を生成するためのナノ流路内超高精度局所的疎水性界面の構築にとっても適合していることが明らかにした。

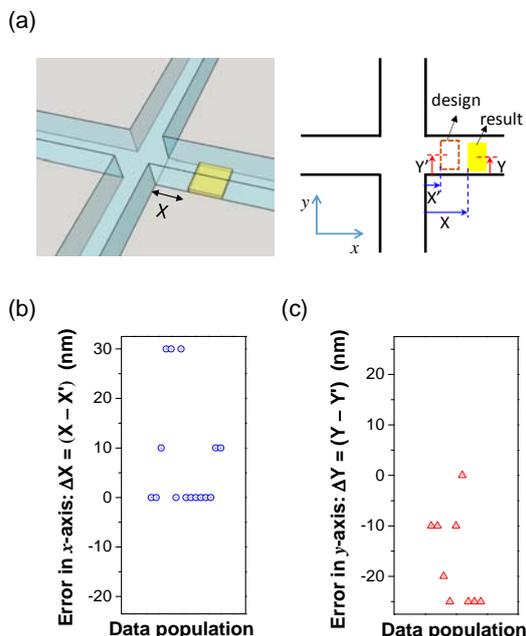


図3. 金表面のナノ流路内集積化の位置精度評価。(a)評価方法の概略図;(b)x軸方向の位置誤差;(c)y軸方向の位置誤差。

②アトリットル液滴生成するためのナノ流体チップの作製

空気導入用マイクロ流路と液体導入用マイクロ流路を2本ずつ有するマイクロ基板と横20本(局所金表面あり)、縦1本の十字ナノ流路を有するナノ基板を作製し、研究代表者らが開発したガラスナノ流体チップの低温ボンディング技術(Y. Xu, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, 402, 1011; Y. Xu, *Lab Chip*, 2013, 13, 1048; Y. Xu, *Lab Chip*, 2015, 15, 1989)によりそれぞれのガラス基板を接合させ、アトリットル液滴を生成するためのナノ流体チップの作製に成功した。具体的には、マイクロ基板はフォトリソグラフィ、プラズマエッチングにより作製した。一方、ナノ基板はNano-in-Nano 超高精度集積化技術を用いて作製した。ナノ基板作製の詳細は以下に述べる。電子ビームリソグラフィ(EBL)、プラズマエッチングで十字ナノ流路を作製した後、再びEBL、プラズマエッチング及び真空蒸着、リフトオフといった工程を経てナノ流路内に金表面を作製した。結果、143 aLの液滴が生成可能なナノ流体チップの作製ができた。

③ナノ流路内超高精度局所的疎水性界面の構築

金表面上にSAM形成できる疎水性アルカンチオール(1-butanethiol (BT)、

1-dodecanethiol (DT)、1H,1H,2H,2H-perfluorodecanethiol (PFDT))を利用した。安定性と一定の接触角とを備え持つSAMの作製には、各疎水性アルカンチオール溶液の濃度や反応(SAM形成)時間、接触角を評価した。ナノ流路内での直接評価は困難であるため、同じ条件において金を蒸着させたガラス基板上でこれらのパラメーターを間接評価した。同間接評価を通じて、アトリットル液滴の生成実験にPFDT溶液を利用することを決定した。最適化したSAM形成条件を基に、作製したアトリットル液滴生成チップにPFDT溶液を導入し、ナノ流路内の金パターン表面にSAMを形成した。これにより、ナノ流路内超高精度局所的親水-疎水界面の構築ができた。

④アトリットル液滴の生成

横方向のナノ流路につながる液体導入用マイクロ流路に超純水を毛細管力で導入し疎水性SAM界面(バルブ)で止める条件を検討した。図1に示すように、さらに圧力コントローラーを用いて縦方向の空気導入用マイクロ流路から空気を導入し、流路内の液体を切り取り、アトリットル液滴の生成に挑戦した。結果について、最適化した実験条件を用いた場合、ナノ流路の付近にある疎水性SAM界面でナノ流体を止めることに成功した。同様の実験を数回行ったが、毎回同じ場所の疎水性SAM界面でナノ流体止まるという結果が得られた。これらの結果よりバルブとしての再現性が高いことが確認できた。また、流路内の液体切り取り実験を行ったが、縦方向のナノ流路にうまく空気が導入できなかった。流路内に何らかのつまりが生じていると考えられる。今後はその問題を解決し、切れ取り圧力の検討、液滴の作製、操作に取り組むことが必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

- ① 許岩, 原田敦史, ナノ流路で開閉可能な超微小スマートバルブ:フェムトリットル単位の液体を自在に制御, *化学*, 査読無, 2016, 71 (7), 36-39.
- ② Y. Xu, M. Shinomiya, A. Harada, Soft Matter-Regulated Active Nanovalves Locally Self-Assembled in Femtoliter Nanofluidic Channels, *Advanced Materials*, 査読有, 2016, 28, 2209-2216. (doi:10.1002/adma.201505132)
- ③ Y. Xu, Q. Wu, Y. Shimatani, K. Yamaguchi, Regeneration of Glass Nanofluidic Chips through a Multiple-Step Sequential Thermochemical Decomposition Process at

High Temperatures, *Lab on a Chip*, 査読有,
2015, 15, 3856-3861.
(doi:10.1039/C5LC00604J)

- ④ Y. Xu, N. Matsumoto, Flexible and in situ Fabrication of Nanochannels with High Aspect Ratios and Nanopillar Arrays in Fused Silica Substrates Utilizing Focused Ion Beam, *RSC Advances*, 査読有, 2015, 5, 50638-50643. (doi: 10.1039/C5RA06306J)
- ⑤ Y. Xu, N. Matsumoto, Q. Wu, Y. Shimatani, H. Kawata, Site-Specific Nanopatterning of Functional Metallic and Molecular Arbitrary Features in Nanofluidic Channels, *Lab on a Chip*, 査読有, 2015, 15, 1989-1993. (doi: 10.1039/C5LC00190K)

[学会発表] (計 10 件)

- ① Y. Xu, Site-specific working inside nanofluidic channels: General methodology, critical techniques, and nanobio applications, *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015)*, 2015/12/15-20, Sheraton Waikiki Hotel (Honolulu, Hawaii, USA)
- ② 山口晃司、許岩、局所的疎水性 SAM 界面による超高精度ナノ流体制御、*化学とマイクロ・ナノシステム学会第32回研究会*、2015/11/26-27、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)
- ③ Y. Xu, Site-Specific Functionalization of Nanofluidic Channels, *International Workshop on Extended-Nanofluidics*, 2015/3/26-27、東京大学小柴ホール(東京都文京区)
- ④ 許岩、マイクロ・ナノ化学チップ技術の最前線、*第12回NanoSquareカフェ*<招待講演>、2015/3/7、大阪府立大学 I-site なんば (大阪府大阪市浪速区)
- ⑤ Y. Xu, Functionalization of Nanofluidic Channels and its Application to NanoBio Sciences <招待講演>、*Summit of Biomedical and Health Engineering (2015) of SIAT, CAS*、2015/1/5、中国科学院 深セン先進技術研究院 (Shenzhen, China)
- ⑥ Y. Xu, Construction of Functional NanoBio Interfaces in Nanochannel Spaces、*第24回日本MRS年次大会*、2014/12/10-12、横浜情報文化センター (神奈川県横浜市)

⑦ 四宮未郷、原田敦史、許岩、ナノ流体スマート制御へ向けたチオール化温度応答性ポリマーの分子設計と合成、*評価、第36回日本バイオマテリアル学会大会*、2014/11/17-18、タワーホール船堀 (東京都江戸川区)

⑧ M. Shinomiya, A. Harada, Y. Xu, Smart Nanochannel based on a thiolated temperature-responsive polymer, *RSC Tokyo International Conference 2014*、2014/9/4、幕張メッセ (千葉県千葉市)

⑨ 許岩、マイクロ・ナノ界面の創製によるマイクロ・ナノ化学バイオシステムの研究 (平成25年度化学とマイクロ・ナノシステム学会若手優秀賞 受賞講演) <招待講演>、*化学とマイクロ・ナノシステム学会第29回研究会*、2014/5/22-23、日本女子大学目白キャンパス (東京都文京区)

⑩ 四宮未郷、川田博昭、原田敦志、許岩、ナノ流路内自己組織化温度応答性界面によるナノ流体スマート制御、*化学とマイクロ・ナノシステム学会第29回研究会*、2014/5/22-23、日本女子大学目白キャンパス (東京都文京区)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：流路構造体および流路構造体の製造方法

発明者：許岩

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2014-101461 号

出願年月日：2014年5月15日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

大阪府立大学・許研究室 HP

<http://www.chemeng.osakafu-u.ac.jp/group8/index.html>

許研究室HPには本研究の最新の研究結果

に関して随時発信しています。

6. 研究組織

(1)研究代表者

許 岩 (XU, Yan)

大阪府立大学・21世紀科学研究機構

ナノ科学・材料研究センター・特別講師

研究者番号：90593898