

International Training Program

オランダ Twente 大学 MESA+研究所 派遣報告

名古屋大学工学研究科 化学・生物工学専攻
内藤豊裕

本報告書は独立行政法人日本学術振興会が実施する若手研究者インターナショナルトレーニングプログラム（以下 ITP）について報告したものであり、本プログラムの目的、提携大学と受け入れ研究室、日本との相違、プログラム中の研究活動、について記述する。

本プログラムでは、名古屋大学プラズマナノ工学研究センターのもと、プラズマ新規応用技術を学ぶことを目的とした「プラズマナノ材料・デバイスプロセス基礎研究人材育成プログラム」としてオランダ Twente 大学 MESA+研究所にて二ヶ月間の研究活動に従事した。Twente 大学 MESA+研究所は、世界有数の MEMS 設備を整えており、オランダのナノテク国家プロジェクトである NanoNed の中心機関である。また、同研究所は電気工学、化学、材料、物理等の幅広い研究分野の研究者と専門の技術職員、500 名の MESA+研究所員（うち 275 名が科学者）が在籍しており、複数のグループと企業との積極的な共同研究による異分野融合研究を進めている。報告者は微細加工技術を医療分野や分析ツールへと応用するマイクロ・ナノ流体デバイス研究を専攻しているが、この分野において世界で最も権威が高く、最も規模の大きい microTAS 国際会議の第一回開催地も同大学であり、研究概念の提唱から現在に至るまで世界をリードし続けている。

報告者は、2010 年 1 月 10 日から同年 3 月 16 日までの 60 日間、同大学 van den Berg 教授の BIOS Lab on Chip グループにて研究を行った。当研究室は微細加工技術によって作製した Lab-on-a-Chip (LOC) と呼ばれる微小空間デバイスを用いて、(1) ナノ空間における流体特性の解析、(2) 物理学、化学、生物医学、生命科学の異分野研究の融合、(3) マイクロ・ナノテクノロジーを応用した新規 LOC デバイスの開発、(4) 新規 LOC デバイスの評価、を行っている。前述のマイクロ・ナノ流体デバイス研究分野において世界でも有数の研究グループである。研究室は現在 44 名所属しているが、そのほとんどが研究スタッフである。van den Berg 教授のもとには 7 名のサイエンティフィックスタッフ（教員）と、2 名の客員教授、5 名のテクニカルスタッフ（技術職員）がおり、修士課程の学生はわずか 4 名である。新たな LOC デバイスの開発のために、各教員のもとでアプリケーション開発、作製法の開発、検出系の開発、原理の検証、他分野への応

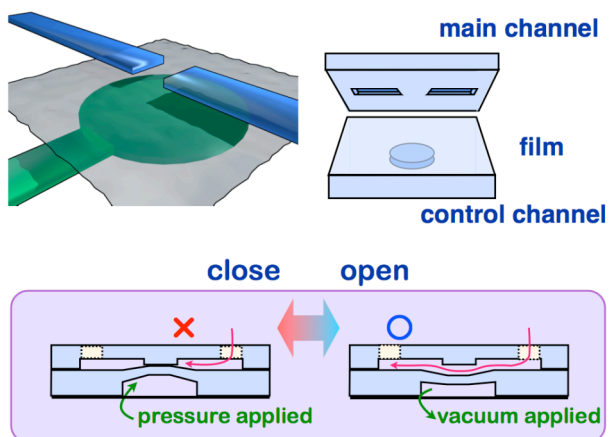
用等それぞれ研究され、教員を通じてそれぞれの結果を共有することで次の研究の足がかりとしている。複数の研究室がひとつの研究室にまとめられ、常に共同研究をしているという印象である。また、技術職員の研究貢献が非常に大きく、試薬や装置の管理から、実験法、測定法のアドバイスまでしている。さらに、建物の 2 階は工房となっており、実験にあると便利なホルダや、実験装置等の作製もしている。この技術職員のあり方も日本と大きく違うもののひとつである。

技術職員の貢献度が高いというのは新規応用技術開拓やデバイス開発の分野では非常に大きな違いである。新しいデバイスや技術の開発の場合、装置そのものが市場に存在しないため装置の外枠、ホルダ、その他パーツ等を自身で設計し外注するか作製しなければならない。既製品の型に合わせて設計・開発することもあるが、これでは本当の意味での新規デバイスの開発にならないこともある。装置開発を目的とした研究以外にも、研究によって実験系が変化することも多々あるので、既存の装置に改良が必要なことも多い。設計や装置作製に詳しく無い研究者が、自身で自分の実験系に適した装置を完成させるには多くの時間を費やすことになる。その点、専門のスタッフが行うことで、早く、完成度の高い物が作製されるうえ、研究者は実験に専念することができるので、研究が効率化される。

報告者のプログラム中の研究テーマは、マイクロバルブの開発である。LOC デバイスは、小さな化学プラントのようなもので、20 mm 角程度の基板上で複数の溶液操作を行うことが求められる。これを行うためには、溶液の流れの on / off を切り替えることのできるバルブを基板上に作製しなければならない。

従来のマイクロバルブの中でも最も利用されているのが、圧力によって弁を動かし、微細流路の開閉を行う空気圧式バルブである。これは溶液を流し化学操作を行う流路をもった層、弁となる薄膜、弁を操作するための圧力印加用流路をもった層、の 3 層構造となっている。弁となる薄膜は Polydimethylsiloxane (PDMS) と呼ばれるポリマーかフッ化炭素樹脂を用いて作製されるが、蛍光色素溶液は PDMS に浸潤することがあるため蛍光観察には向いていない。フッ化炭素製薄膜は高い弾性係数のため必要とする印加圧力も大きくなる。本

研究では、光硬化性樹脂（NOA シリーズ，Norland）を用いたバルブの開発することを目的とした。NOA シリーズは蛍光色素溶液を湿潤させず、またフッ化炭素よりも低い弾性係数を持つ。また、PDMS を鋳型として容易に複製することも可能である。



Figure, 1 マイクロバルブのコンセプト
溶液導入用流路の下には薄膜（圧力印加用流路の上部壁面）を挟んで圧力印加用流路があり、圧力印加用流路に圧力を印加すると薄膜が溶液導入用流路をせき止める。逆に引圧を加えることで流路深さが深くなるので溶液が流れやすくなる。

第一週目は、今回のプログラムの諸手続き、研究室の紹介、実験時における安全講習、本研究のおおまかな目的についてのディスカッションをした。このディスカッションで空気圧式バルブの開発することが決定した。

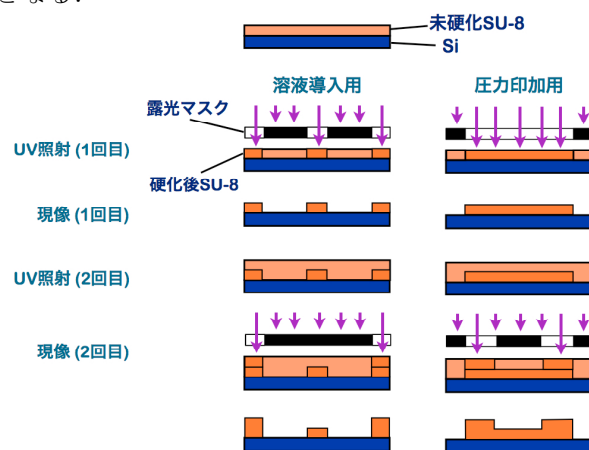
第二週目は、研究室のほとんどの人員がワークショップに参加していたので、デバイス作製の基本となる操作を学び、その習得のため一連の操作を繰り返し行った。

第三週目に、当研究室の卒業生で企業にてマイクロバルブの開発をしている研究員とディスカッションする機会があり、本研究の方向性を決定した。また、弁となる薄膜の作製とマイクロ流路の設計をし始めた。

第四週目は引き続き、薄膜の作製と流路の設計を行った。薄膜は、3種類の材質を用いて作製し、それぞれの材質において最適な薄膜作製法と、作製時の厚みの測定を行った。その結果、厚み $6\ \mu\text{m}$ のフッ化炭素膜と、厚み $30\ \mu\text{m}$ 程度（使用する試薬によっては若干厚くなる）のポリウレタン膜を作製することが分かった。流路の設計も週末に完了したので、デバイス作製には必要なフォトリソグラフィの段階でもちいる Cr マスクの作製を技術職員に依頼した。

第五週目、第六週目はデバイスの鋳型を作製した。LOC デバイスの開発では、ソフトリソグラフィと呼ばれるプロセスがよく用いられる。これは、フォトリソグラフィによって作製した鋳型に未重合

ポリマーを流し、固めた後にポリマーをはぎ取ることによって、鋳型とは凹凸が反対のパターンを持った構造体を得ることができるプロセスである。容易にパターンを変更することができ、ひとつの鋳型があれば複製を 3 時間程度で作製できるので、デバイス開発の初期段階によく用いられる。今回作製した鋳型は、SU-8 と呼ばれる光硬化性樹脂をもちいて作製し、通常のプロセスを 2 回繰り返して作製する 3 次元型のものである。段差計をもちいて作製した流路の鋳型の高さを測定したところ、一段目の高さが $45\ \mu\text{m}$ 、二段目も $45\ \mu\text{m}$ で全体が $90\ \mu\text{m}$ の高さを持つ流路を作製したことが分かった。作製した溶液導入用流路はバルブ部のみが $45\ \mu\text{m}$ 、その他は $90\ \mu\text{m}$ の深さを持つ流路となる。



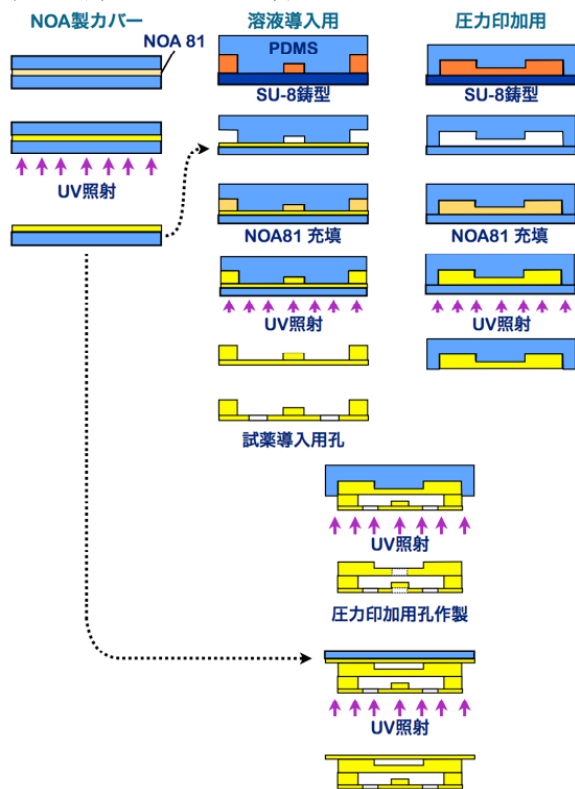
Figure, 2 SU-8 鋳型の作製スキーム
シリコン基板上にネガ型光硬化性樹脂（SU-8）をスピンドクターによって均一に塗布する。その後、流路パターンが黒塗りであるマスクを用いてフォトリソグラフィを行った。露光を 2 回繰り返した後、現像することで異なる 2 つの高さをもつ SU-8 鋳型を得た。

溶液導入用流路の下には薄膜（圧力印加用流路の上部壁面）を挟んで圧力印加用流路があり、圧力印加用流路に圧力を印加すると薄膜が溶液導入用流路をせき止める。逆に引圧を加えることで流路深さが深くなるので溶液が流れやすくなる。

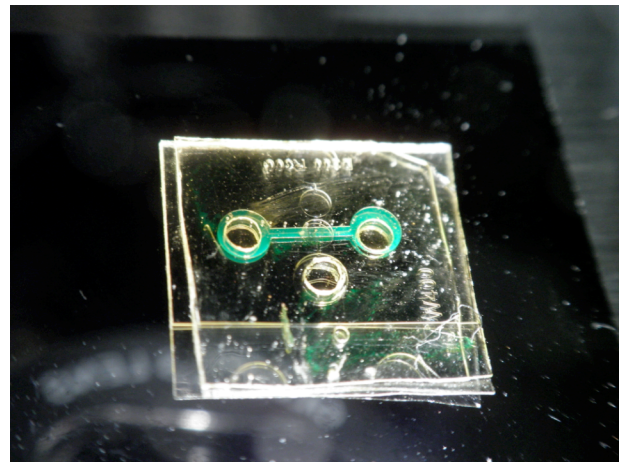
第七週目は、NOA チップの作製を行った。五週目および六週目に作製した鋳型に PDMS のプレポリマーを流し込み、SU-8 と凹凸が逆の鋳型を作製した。さらにその PDMS 製鋳型に NOA を流し込み、紫外光 ($366\ \text{nm}$) を照射することで NOA 製のチップを作製した。NOA などの光硬化性樹脂には酸素による硬化反応の障害が報告されており、PDMS の高い酸素溶解性および酸素透過性を鋳型として使用することで、鋳型側の表面のみが未硬化のチップを作製することができる。表面のみが未硬化であるので、他の基板と貼り合わせた後に再び紫外光を照射することで、良好な接着が行える。当研究室では、ガラスと PDMS 製鋳型の間に光硬化性樹脂（NOA 81）を流し込むことで流路を

作製し、その後、鋳型側をガラスで蓋をする方法でガラス-NOA-ガラスチップを作製していたが、本プログラムでは溶液導入用流路、薄膜、圧力導入用流路と三層の NOA を張り合わせるために、ガラスの代わりに平坦な PDMS スタンプを使用し、PDMS 製鋳型との間に NOA 81 を流し込み両表面が未硬化なチップを作製することで三層の貼り合わせを試みた。このチップ作製法では片表面の接着は良好であるが、もう一方の表面の接着は良好でなく、貼り合わせがうまくいかなかった。

最終週は、七週目にうまくいかなかった NOA チップの張り合わせの問題を解決し、バルブの評価を行った。片側の未硬化表面を接着した後では、もう一方の未硬化表面の化学的、物理的な状態が変化していると考えた。化学的状態の変化は主に未硬化表面の硬化反応が進んでしまい、樹脂が硬化してしまうこと、物理的状態の変化は硬化による物理的収縮もしくは操作誤差としてできる不均一な厚みを持った表面であると考察している。そこでガラスとの貼り合わせをやめ、NOA 81 で作製した未硬化表面をもつフレキシブルなカバーと張り合わせることにした。反応条件の条件出し等を行った結果、NOA 製チップの作製に成功し、この流路に液体を流したところ、溶液の漏れがなく、接着が良好であることが分かった。



Figure, 3 NOA チップ作製スキーム
SU-8 鋳型に PDMS を流し込むことで PDMS 鋳型を作製した。NOA-81 はガス透過性の高い PDMS 表面側で、硬化が阻害されるために粘着質になっている。溶液導入用、圧力印加用流路、NOA 製カバーをそれぞれ作製し、それらを積層させることでチップを作製した。

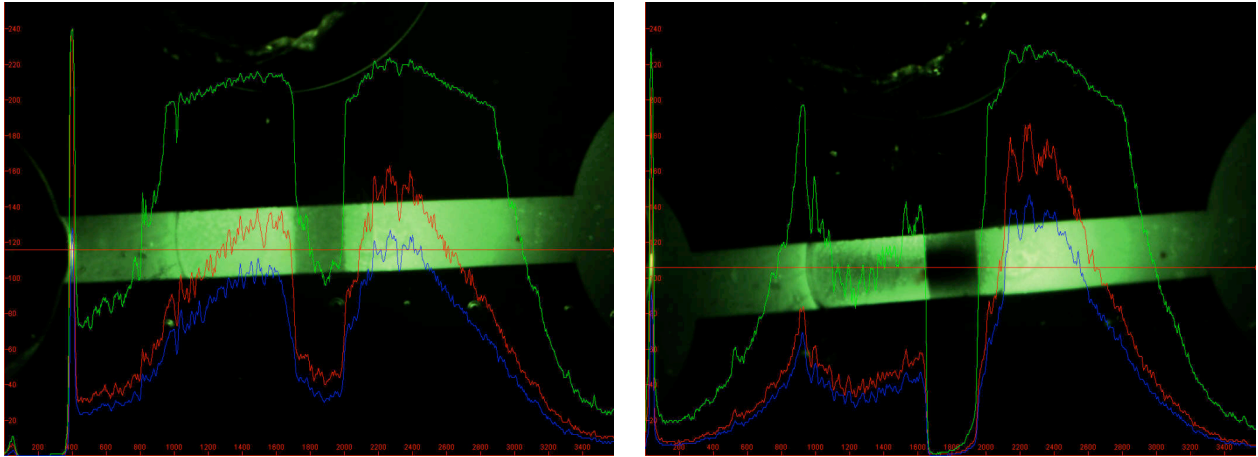


Figure, 4 作製したチップ
溶液導入用流路に蛍光色素溶液を導入してある。溶液導入用孔間の距離は 5 mm. 手前にある圧力印加用流路にポンプによって圧力を印加することでバルブを操作する。

バルブの性能評価では、溶液用流路を蛍光色素で満たし、その後、圧力導入用流路をポンプによって加圧、引圧を加えたときのバルブ部の蛍光強度の変化を観察した。圧力印加前はバルブ部の蛍光強度はそれ以外の部分の半分程度の蛍光強度であった。これはバルブ部の流路深さが他の部分の半分であることと一致している。圧力印加用流路を加圧するとバルブ部の蛍光強度は 0 になり、引圧にすると蛍光強度が高くなることも確認できた。また、溶液導入用の流路幅が 100 μm では、バルブは機能しないが、200 μm 以上 (500 μm 以下) の条件では機能することも確認できた。

これらの結果から、バルブの機能は薄膜の変位可能領域の最小距離に依存しており、バルブを閉じている状態でもバルブ部の壁面付近に溶液の残存が確認できることから、弁の変位は流路側壁を支持点 (変位 0) とした上に凸のカテナリー曲線を描いていると考えられる。薄膜の変位を剛性率のモデルとして考えると、バルブの機能は薄膜の厚み、バルブ部の流路深さにも依存すると推測される。

今後の研究課題として、弁の膜厚を薄くする、バルブ部の深さを小さくする、バルブ部の形状を変える等の改良をすることでバルブの機能は向上すると考えられる。PCR のように反応場の隔離を目的とする場合は、反応場のみを深くすることで流路壁面近傍の隙間をなくすことができると期待している。本実験は、圧力印加用流路に印加した圧力を測定していない、圧力を任意の値に変更することができていない、ということもあり、バルブの機能評価が定量的でなかった。また、溶液導入用流路も流れがある状態ではなく、どの程度溶液をせき止めることができるのかも測定できていない。よって、溶液用流路へ蛍光ビーズ懸濁液を一

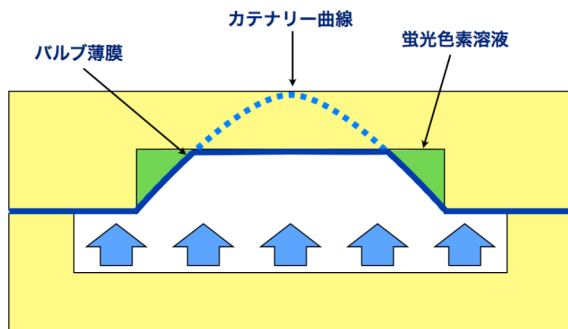


Figure, 5 バルブ開口時（左）と閉口時（右）の流路蛍光画像

バルブ開口時は、バルブ部のみ緑の蛍光強度が周辺の半分程度であるのに対し、閉口時は蛍光強度が0になる。開口時に蛍光強度が半分なのはバルブ部の流路高さが周辺の半分の高さであることに起因する。

定流速で流しながら、印加圧力の値を変更できるポンプや、シリンジを用いてバルブを開閉させ、そのときの蛍光ビーズの動きを観察することで、より定量的なデータを得る必要があると考えている。

本派遣プログラムを通して研究者として新たな技



Figure, 6 バルブ閉口時の模式図

バルブ開口時の薄膜は、圧力印加用流路から一様力を受け、上に凸のカテナリー曲線を描くように変位する。この際、溶液導入用流路の壁面近傍では完全に液体を遮ることはできていない。

術、知識を学ぶだけでなく、海外の人々・文化とふれあう貴重な体験もできた。研究室のメンバーも、休日に出かけた先で出会った人々も自国の歴史や文化、地理等に詳しくあった。研究室には様々な国籍の人々が所属しており、それぞれの国の話について聞くことができた。特にヨーロッパは国が密集し、隣接国も多く、歴史も長いこともあり、自国だけでなく隣国の文化・歴史・地理等についても詳しくあった。他国に関する興味も強く、頻繁に日本や故郷について質問された。質問されるたび、自分の返答が正しいのか不安に感じられた

り、返答に詰まってしまったりと、自身の国や故郷のことについて何も知らないことを実感し、同時にそのことを恥ずかしく感じた。報告者も世界の一部の日本に生まれた人間であることをしっかりと認識し、日本人として自信を持って世界と交流できるように精進していきたいと思っている。

最後にこのような機会を与えてくださった ITP 派遣プログラム関係者の方々、提携大学 Twente 大学 MESA⁺の方々に心より深謝の意を表する。