

マイクロマシーニングと流れ分析法のマイクロチップ化

馬場嘉信

徳島大学薬学部薬品物理化学教室, 〒770-8505 徳島市庄町1丁目78番地

Micromachining and Microfabrication of Flow Analysis

Yoshinobu Baba

*Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
The University of Tokushima, Shomachi, Tokushima 770-8505, Japan*

The Application of micromachining techniques to prepare microfabricated system for flow analysis is reviewed. Microstructures and capillaries, integrated detector systems, valveless switching of sample flow, and electroosmotic pumping are concepts that can be combined in a variety of ways to produce unique, miniaturized analytical systems. Integration of microflow control devices and microflow sensors allowed very precise control of small flow. High performance liquid dosing microsystems and sophisticated chemical analysing microsystems were demonstrated by the combination of microflow devices and microsensors. Applications of microflow devices and systems are also introduced.

1. はじめに

今から10年以上前に、Ruzicka¹⁾は、フローインジェクション分析法(FIA)のマイクロ化をめざして、集積マイクロコンデュイットFIAシステムを提案した (Fig. 1)。これは、プラスチックの小型ブロックにマイクロチャンネルを形成し、平らなプラスチックシートで覆い、FIA用の流路を作成するものである。さらに、これらの流路は、図のように、インジェクションバルブ、ポンプ、検出器等に接続されている。ブロックは、手のひら

サイズで、当時世界的に流行し始めていた"Walk Man"になぞらえて、"Walk Man" type FIAと呼ばれていた。

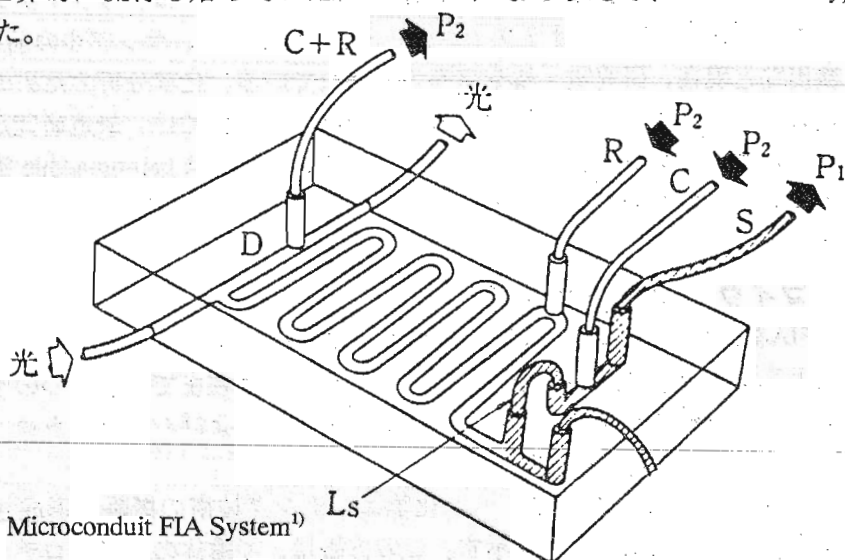


Fig. 1 Integrated Microconduit FIA System¹⁾

集積マイクロコンデュイトFIAシステムでは、手のひらサイズのブロックに流路のみが形成されていたが、最近のマイクロマシーニング技術の進展に伴って、さらに小型化が実現され、単一のチップ上に流路のみならず、ポンプ、インジェクター、バルブ、検出部などを同時に実現したマイクロ総合分析システム(μ -TAS: micro total analysis system)の概念(あるいはLab-on-a-chip concept)が提案され(Fig. 2)²⁾、FIAをはじめ、クロマトグラフィーおよび電気泳動においても次々に実現されつつある³⁾⁻¹⁰⁾。

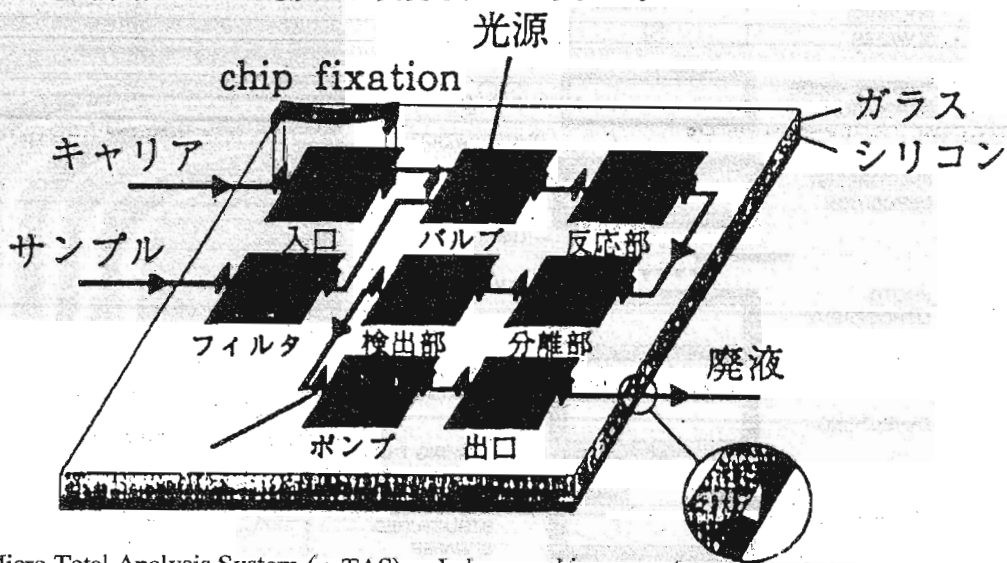


Fig. 2 Micro Total Analysis System (μ -TAS) or Lab-on-a-chip concept

この方法論は、コンピュータで成功を収めたマイクロチップテクノロジーと化学分析システムあるいはバイオテクノロジーとを融合させて、サンプルの前処理、反応、分離、検出など現在、研究室・検査室等で行われている、化学分析のための操作を全て、数cm角のマイクロチップ上に設計するものである。本稿では、最近研究が進みつつある、マイクロマシーニング技術を応用した、 μ -TASあるいはLab-on-a-chip構想に関する研究の最新の動向について紹介する。

2. マイクロマシーニング

FIAをはじめとした、流れ分析法をマイクロチップ化するには、マイクロチャンネルによる流路の形成が必須である。そのために、現在までに、2つのマイクロチャンネル形成技術（光リソグラフィー・化学エッチングおよびシンクロトロン放射光を利用したプロセス）が開発された¹¹⁾⁻¹⁵⁾。

Figure 3に光リソグラフィー・化学エッチング技術の概略と形成されたマイクロチャンネルの電子顕微鏡写真を示す。この方法は、半導体のマイクロチップを形成する際に用いられるもので、まず、シリコンウェファーあるいはガラス板の表面にフォトレジストを被膜する。次に、作りたい流路の形に穴をあけたマスクを作成し、ガラス板の上に乗せて光を照射する（光リソグラフィー）。この操作により、ガラス板のフォトレジストがマスクの穴の形に従って除かれ、ガラス表面が露出する。さらに、ガラスを溶かす酸で処理することで、断面が台形のマイクロチャンネルを形成することができる（化学

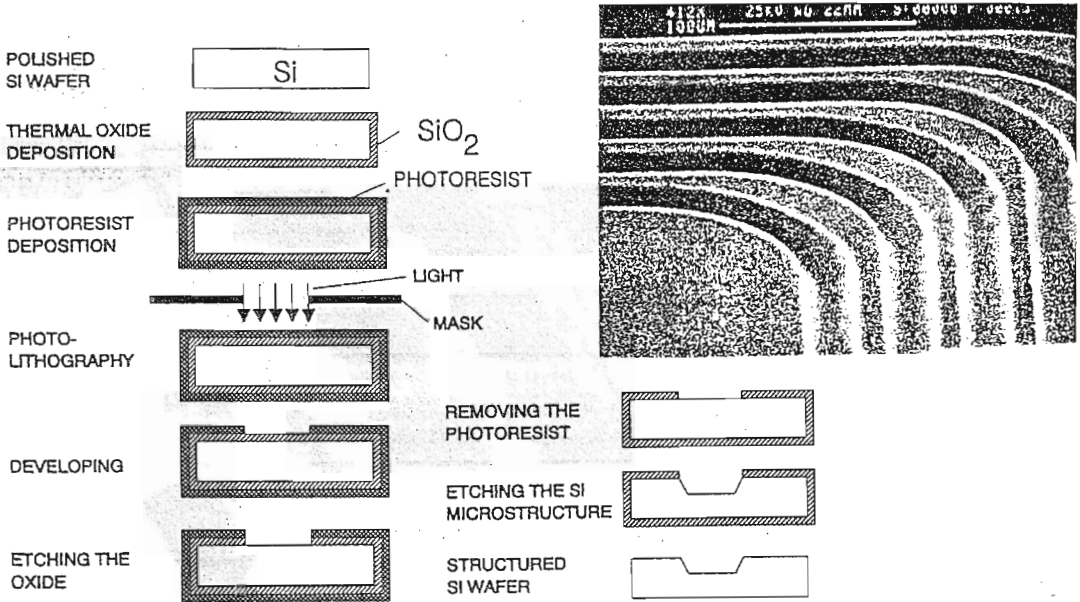


Fig. 3 Process steps in a standard one-mask micromachining procedure

学エッチング)。このような技術により、電子顕微鏡写真にみられるような、マイクロチャンネルを自由に作成することができる。この際に、作成できるチャンネルは、幅が、数 μm ~100 μm 、深さが数 μm ~数10 μm のものである。

この方法は、比較的簡便に、様々な流路を望みのままに作成できるという利点があるために、ガスクロマトグラフィー¹¹⁾、FIA¹²⁾、液体クロマトグラフィー¹³⁾、キャピラリー電気泳動¹⁴⁾¹⁵⁾等のマイクロチャンネル作成に応用されてきた。しかし、この方法では、断面が台形のチャンネルしか形成できない、あまり深い溝を作成することができないなどの欠点を有していた。

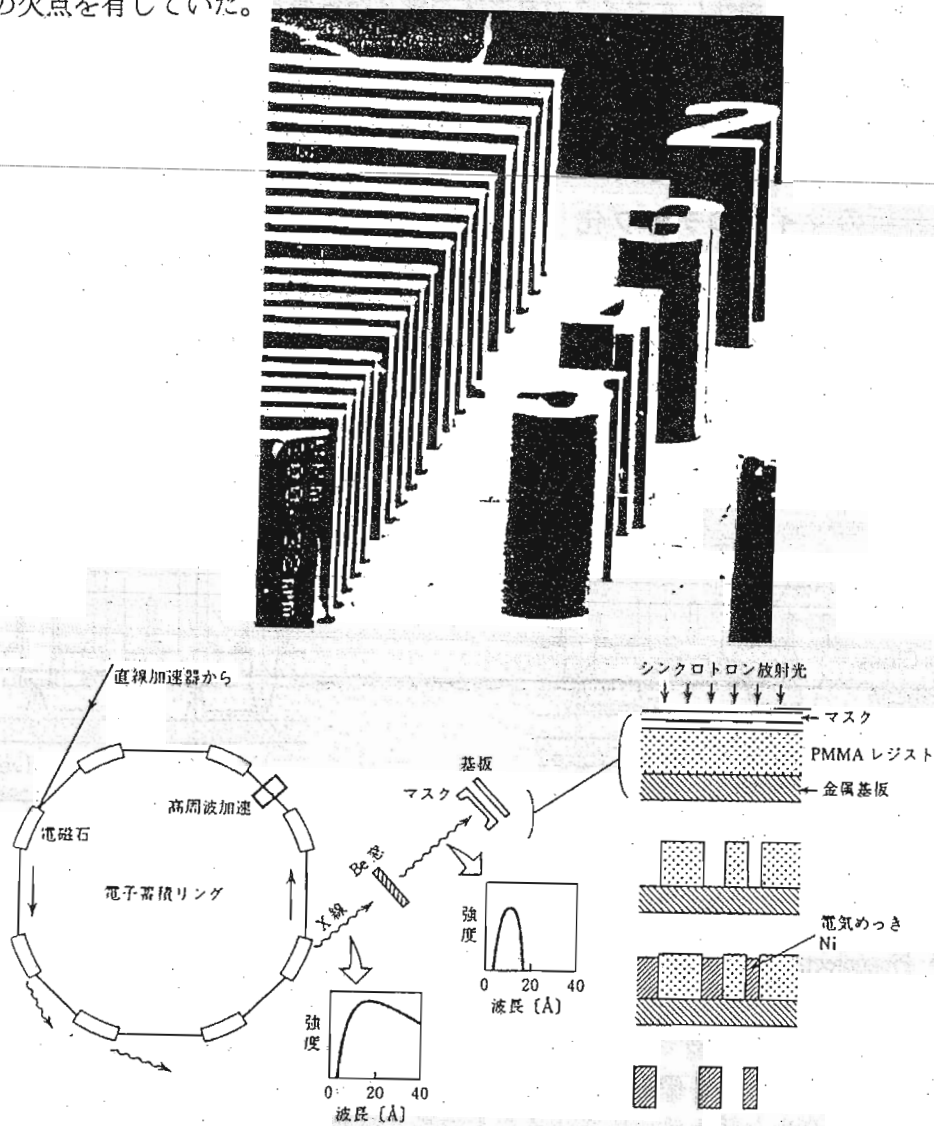


Fig. 4 シンクロトロン放射光を利用したLIGA process

そこで、平行で透過性の高いシンクロトン放射光を利用した、LIGA (Lithographic Galvanoformung Abformung) プロセスが開発された (Fig. 4)。LIGA プロセスは、厚さ 100 μm 以上のレジスト (アクリル系樹脂) を用いて、シンクロトン放射光 X 線でパターンを転写する事によって任意の形状の電鍍 (めっきによって鑄込む) 型が製作できる。その後、電気めっきによって、レジストが現像によって溶解除去された部分に金属をたい積させ、金属のマイクロ構造体を製作することができる。さらに、これを型として用い、プラスチックのマイクロ構造体を二次的な製品として作成することができる。Fig. 4 に LIGA プロセスにより製作したマイクロ構造体の電子顕微鏡写真を示す。これは、厚さ 200 μm の構造体の生成を示している。

このようなマイクロマシーニング技術の進歩により、流れ分析をマイクロチップ化する際に必要な、マイクロポンプ、マイクロバルブ等の作成が可能になった。

3. 流れ分析のマイクロチップ化

このようなマイクロマシーニング技術の進歩により、流れ分析をマイクロチップ化する際に必要な、マイクロポンプ、マイクロバルブ等の作成が可能になった¹⁶⁾⁻²¹⁾。

流れ分析に必須のマイクロポンプには、レシプロケーティング型およびペリスター型の 2 種類がある。

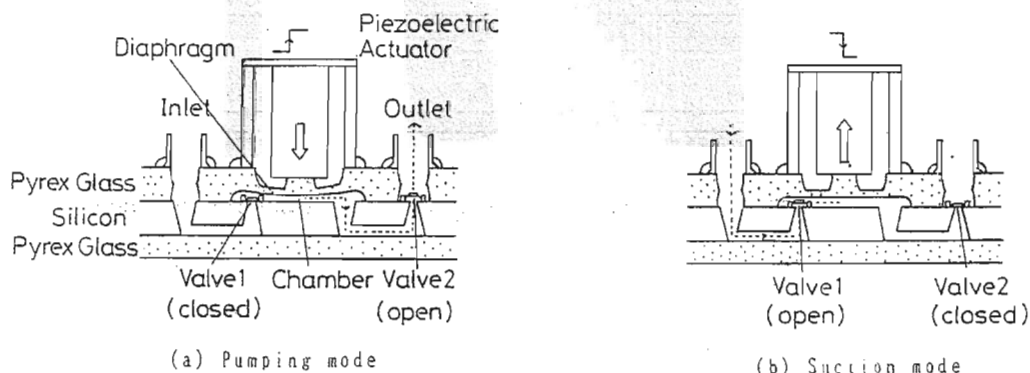


Fig. 5 Piezoelectric type reciprocating micropump²⁰⁾

レシプロケーティング型マイクロポンプとしては、Fig. 5に示すように、マイクロバルブとアクチュエーターを備えた、チャンバーから成っている。チェックバルブとアクチュエーターが流量と最大排出圧を決める上で最も重要である。アクチュエーターとし

では、圧電的、静電的なものなどがある。Fig. 5に示す、圧電アクチュエーター型のは、十分な力と高い応答性(100 ms)を示し、100 $\mu\text{L}/\text{min}$ までの流量を得ることが出来る。他のタイプのレシプロケーティング型マイクロポンプにおいても、数~数100 $\mu\text{L}/\text{min}$ までの流量を得ることが出来る²⁰⁾。

ペリスター型のマイクロポンプとしては、圧電的なものが主に開発されている。Figure 6に示すように、3つのバルブとポンプシステムが連動的に動き、ペリスター的なポンプとして働く。このポンプでは、100 $\mu\text{L}/\text{min}$ 程度の流量を達成できる¹⁶⁾。これ以外にも何種類かのペリスター型ポンプが開発され、それぞれ、数10~数100 $\mu\text{L}/\text{min}$ までの流量を得ることが出来る。

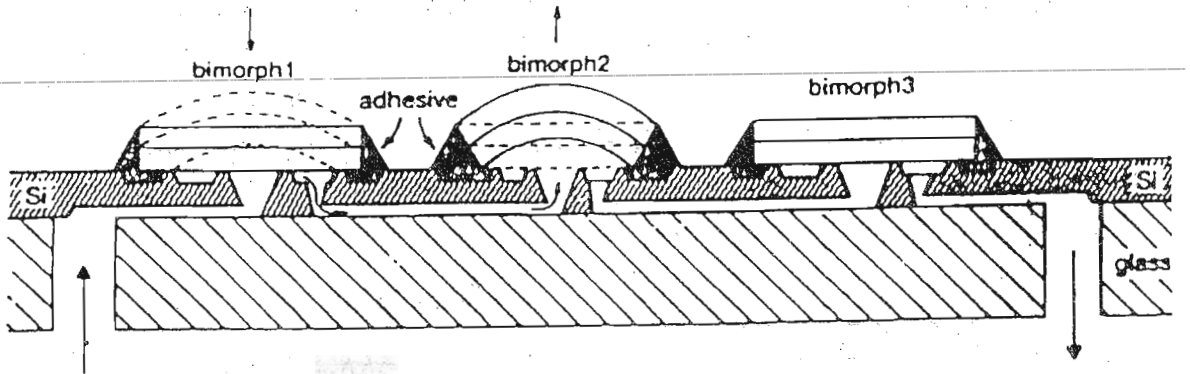


Fig. 6 Piezoelectric type peristaltic micropump¹⁶⁾

流れ分析法のマイクロチップ化を達成する上で、マイクロポンプと同様に重要なのは、マイクロバルブである。現在までに開発された、マイクロバルブとしては、アクチュエーターを利用しているものと利用していないものに大別される。

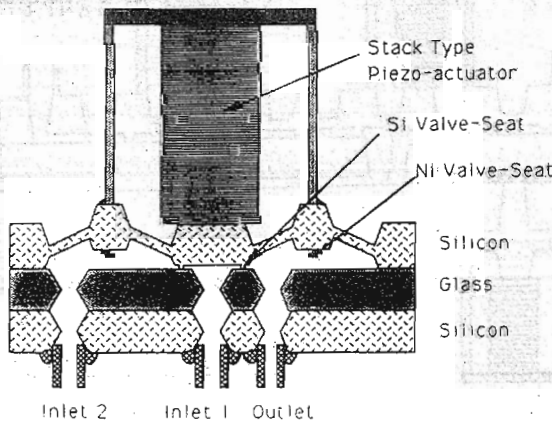


Fig. 7 Piezoelectric type three-way microvalve¹²⁾

Figure 7に、圧電的アクチュエーターを利用した三方向バルブの例を示す¹²⁾。このバルブは、非常に小さいデッドボリュームを持ち、応答時間も10 ms以下である。また、バルブの大きさは、数 mm以下である。

これらのマイクロポンプとマイクロバルブを用いて、FIAシステムが開発された(Fig. 8)¹²⁾。このシステムでは、マイクロポンプでキャリア溶液を送液し、二つのマイクロバルブを用いて、サンプルインジェクターを形成している。さらに、サンプルと試薬の化学反応および、検出のためのセルはマイクロチャンネルにより作製されている。

このように、マイクロマシーニング技術により作製されたマイクロポンプおよびマイクロバルブ等を適切に組み合わせることで、自由にFIAの流路を設計・開発する事が可能になった。さらに、今後、マイクロチップ化したFIAシステムが、その携帯性などの利点を生かして、環境分析、臨床分析などの分野に応用されるものと期待されている。

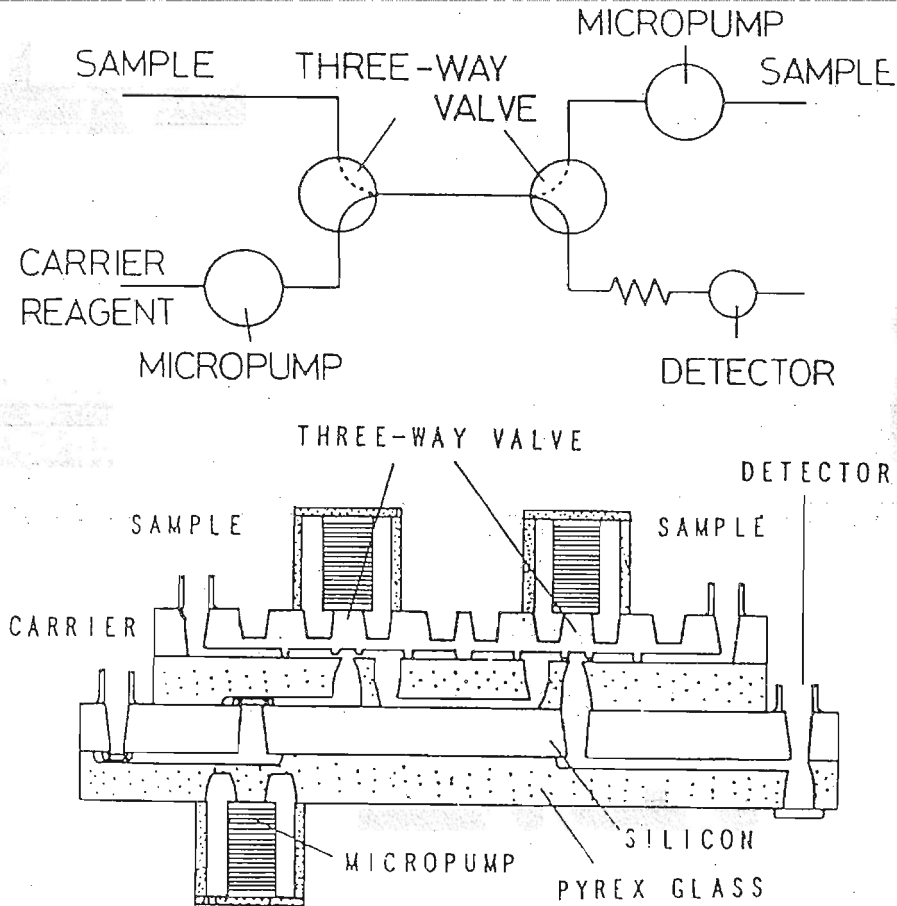


Fig. 8 Integrated flow injection analysis system¹²⁾

4. 統合型マイクロデバイス

マイクロマシーニング技術は、FIAやキャピラリー電気泳動などの単独分析法のマイクロチップ化のみならず、様々な分析法、サンプル前処理法などを単一のチップ上に実現した統合型マイクロデバイスの出現を促進した。

既に、FIAとキャピラリー電気泳動を統合したシステム²²⁾²⁴⁾、酵素反応とキャピラリー電気泳動を統合したシステム²⁵⁾²⁹⁾、PCR (polymerase chain reaction)とキャピラリー電気泳動を統合したシステム³⁰⁾³¹⁾、キャピラリー電気泳動と質量分析計を統合したシステム³²⁾³³⁾等が開発されている。

Figure 9にPCRとキャピラリー電気泳動を統合したシステムを示す³¹⁾。このシステムでは、チップ上に作られた、PCRのマイクロ反応槽において、まず、遺伝子を増幅する。増幅された遺伝子は、そのまま、マイクロチャンネル中を移動して、電気泳動チャンネルに導かれる。最終的には、遺伝子は、キャピラリー電気泳動的に解析される。図から明らかなように、遺伝子がわずか1分程度で解析できており、非常に短時間に遺伝子の増幅と解析が終了していることがわかる。

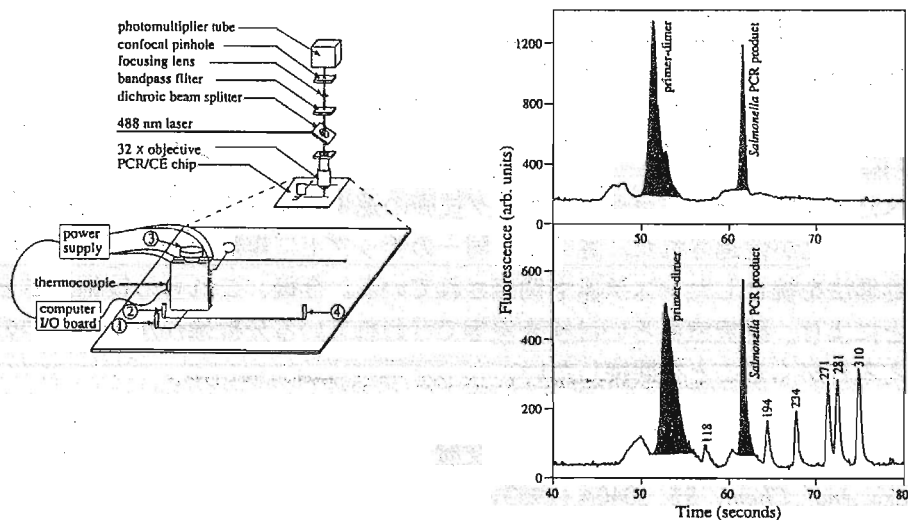


Fig. 9 Functional integration for PCR and capillary electrophoresis on a microchip³¹⁾

Figure 10にマイクロチャンネルと質量分析計の統合システムを示す³²⁾。このシステムでは、チップ上に複数の平行したマイクロチャンネルを形成し、それぞれのチャンネルに異なるサンプルを導入する。それぞれのマイクロチャンネル中では、サンプルは、電気浸透流のポンプにより流し、最後に、質量分析計へと導く。このシステムにより、質

量分析計のサンプル測定のスループットが著しく増大し、コンビナトリアルケミストリーで合成された数多くの化合物のスクリーニングに適している。

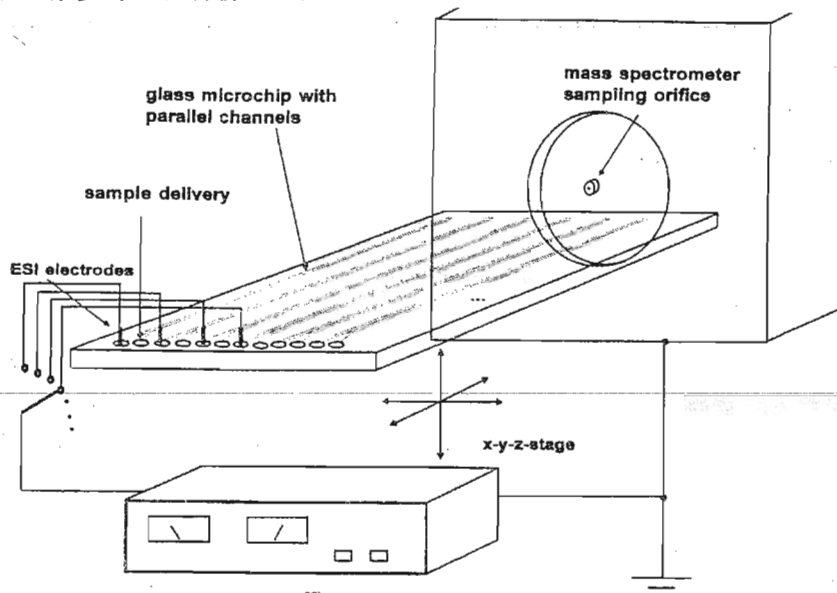


Fig. 10 Microchip ESI-MS interface³²⁾

5. おわりに

以上述べたように、マイクロマシーニング技術の進歩に伴って、様々な流れ分析法のマイクロチップ化が促進された。さらに、同一のチップ上に複数の分析法あるいはサンプルの前処理法を統合したシステムも開発されている。今後、これらの技術がさらに発展することにより、研究室あるいは検査室等で行われている分析操作が全て一つのチップ上で行える日がくることを期待したい。

文献

1. J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **55**, 1040A (1983).
2. A. Manz, N. Graber, and H.M. Widmer, *Sensors & Actuators*, **B1**, 244 (1990).
3. R.F. Service, *Science*, **268**, 26 (1995).
4. A. Manz, D.J. Harrison, E. Verpoorte and H.M. Widmer, *Adv. Chromatogr.*, **33**, 1 (1993).
5. S. Shoji and M. Esashi, *J. Micromech. Microeng.*, **4**, 157 (1994).
6. C.L. Colyer, T. Tang, N. Chiem, and D.J. Harrison, *Electrophoresis*, **18**, 1733 (1997).
7. 馬場嘉信, *ファルマシア*, **32**, 549 (1996).
8. 馬場嘉信, *高分子*, **46**, 894 (1997).
9. 馬場嘉信, 『最新の分離・精製・検出法』, 梅澤他編, エヌ・ティー・エス出版, 1997,

pp. 856-877.

10. 馬場嘉信, 医学のあゆみ, **183**, 285 (1997).
11. S.C. Terry, J.H. Jerman, and J.B. Angell, *IEEE Trans. Electron. Devices*, **ED-26**, 1880 (1979).
12. S. Nakagawa, S. Shoji, and M. Esashi, *Proc. IEEE-MEMS Workshop*, **1990**, 89 (1990).
13. A. Manz, Y. Miyahara, J. Miura, Y. Watanabe, H. Miyagi, and K. Sato, *Sensors & Actuators*, **B1**, 249 (1990).
14. D.J. Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Ludi, and H.M. Widmer, *Anal. Chem.*, **64**, 1926 (1992).
15. D.J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, and A. Manz, *Science*, **261**, 895 (1993).
16. J.G. Smits, *Sensors & Actuators*, **A21-A23**, 203 (1990).
17. F.C.M. van de Pol, H.T.G. van Lintel, M. Elwenspoek, and J.H.J. Fluitman, *Sensors & Actuators*, **A21-23**, 198 (1990).
18. M. Esashi, *Sensors & Actuators*, **A21-A23**, 161 (1990).
19. S. Shoji, M. Esahi, B. van der Schoot, and N. de Rooij, *Sensors & Actuators*, **A32**, 335 (1992).
20. S. Shoji, S. Nakagawa, M. Esashi, *Sensors & Actuators*, **A21-A23**, 189 (1990).
21. T.S.J. Lammerink, M. Elwenspoek, and J.H.J. Fluitman, *Proc. IEEE-MEMS Workshop*, **1993**, 254 (1993).
22. S. Liu and P.K. Dasgupta, *Anal. Chim. Acta*, **268**, 1 (1992).
23. J.M. Mesaros, P.J. Gavin, and A.G. Ewing, *Anal. Chem.*, **68**, 3441 (1996).
24. A.G. Ewing, P.J. Gavin, P.B. Hietpas, and K.M. Bullard, *Nature Medicine*, **3**, 97 (1997).
25. S.C. Jacobson, R. Hergenroder, L.B. Koutny, and J.M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **66**, 1114 (1994).
26. S.C. Jacobson, L.B. Koutny, R. Hergenroder, A.W. Moore, Jr., and J.M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **66**, 3472 (1994).
27. S.C. Jacobson, R. Hergenroder, A.W. Moore, Jr., and J.M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **66**, 4127 (1994).
28. S.C. Jacobson and J.M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **68**, 720 (1996).
29. K. Fluri, G. Fitzpatrick, N. Chiem, and D.J. Harrison, *Anal. Chem.*, **68**, 4285 (1996).
30. A.T. Woolley and R.A. Mathies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 11348 (1994).
31. A.T. Woolley and R.A. Mathies, *Anal. Chem.*, **68**, 4081 (1996).
32. Q. Xue, F. Foret, Y.M. Dunayevskiy, P.M. Zavracky, N.E. McGruer, and B.L. Karger, *Anal. Chem.*, **69**, 426 (1997).
33. R.S. Ramsey and J.M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **69**, 1174 (1997).