

試験研究助成報告書

(平成29年度 助成分)

平成31年 3月 29日

公益財団法人 熊谷科学技術振興財団 御中

代表研究者・所属機関名

京都大学大学院

所属学部学科・所属部課室・役職

工学研究科・助教

氏名 内藤 豊裕



貴財団より助成を受けました件につき下記の通り（中間・最終）報告致します。

1. 研究テーマ及び期間 電気浸透材への選択的分子吸着を利用した簡易濃度定量法の開発 平成30年4月～平成31年3月
2. 共同研究者名 氏名 所属機関・職名 久保 拓也 京都大学・准教授
3. 成果の概要 水・大気・土壌の汚染物質調査や、緊急を要する医療現場での診断、出入国における検疫や薬物検査など、試料採取現場でスクリーニングが可能なオンサイト分析技術の需要が高まっている微細加工技術を駆使して作製した微小空間・微小構造を用いて様々な化学・生物学における実験操作を可能とし、実験室レベルの実験操作を数cm角の基板上へ集積するmicro Total Analysis System (μ TAS) は、小型分析装置として注目されている。作製される微小空間・微小構造は設計自由度が高く、精密に形状・サイズ・配置を制御することが可能で、微小空間内の流体制御も容易にできるため、実験操作の集積化だけでなく、並列化や、機械による実験の自動化、自動化による再現性向上が期待されている。 一方で、我々はこれまでに据置型分析装置を用いて、河川水中に含まれる目的分子の高選択性分析を可能にする分離場の開発に成功している。この分離場は分子インプリント法を用いて作製されており、ハイリスク薬のひとつであるスルピリドの10,000倍濃縮を可能にしている。本手法のオンサイト分析への応用のため、微細加工技術と組み合わせた小型分析装置の開発を試みた。 小型装置による分析のため、分子インプリント技術による表面修飾を施した電気浸透材を用いることで、ポンプ・分離場・検出器の機能を持つ材料の開発を目指した。この小型装置では、材料表面への選択的な目的物質を吸着による、ポンプ送液能の変化から水中に含まれる対象物の濃度定量を行う。本装置の開発のため、電気浸透材の構造最適化によるポンプ送液能の向上と、表面修飾による選択的分子吸着表面の構築、表面吸着による濃度定量の原理検証を行った。

polydimethylsiloxane (PDMS) 製の微小構造体配列をEOPとして用いた。EOPの両末端に、電極としてそれぞれ白金棒と白金管を挿入した。白金管は、抵抗管を通して試料導入口と接続した。EOP両末端に電圧印加することでEOP内部にEOFが誘起され、試料導入口から抵抗管内部に試料が流入する。試料導入口から29.5 mmの位置に検出窓を作製し、試料の検出時間からEOPの流量を測定した。

EOPは定圧ポンプであることから、背圧に依存してEOPの流量も変化することが予想される。接続する抵抗管長さを変化させ、各背圧におけるEOPの流量をプロット (P-Qプロット) することで、ポンプの送液特性を評価することができる。抵抗管には中空のフューズドシリカキャピラリーを、抵抗管内部で損失する圧力はHagen-Poiseuille流れに従うとして、算出した。予想通り、抵抗管を長くすると、EOPの流量は低下し、その流量減少は抵抗管内部の圧力損失と負の一次相関があることが確認できた。本研究では、P-Qプロットのx切片をEOPの最大流量、y切片をEOPの最大吐出圧として、EOPの送液性能の評価に用いた。

初期検討として、ポンプの長さ、印加電圧がEOPの送液性能に与える影響を評価した。電極間距離が30 mmと60 mmのEOPを作製し、それぞれのEOPについて、100 Vと200 Vの印加電圧におけるP-Qプロットを作成した。まず、同じ長さのEOPを比較すると、印加電圧が高くなることで、最大流量、最大吐出圧がともに高くなることが確認できた。一方、印加電圧が等しい条件では、最大吐出圧に有意な差は見られないが、最大流量は短いポンプにおいて高くなった。このことから、電極間距離が短いほど低電圧でも高い流量が得られることと、高い吐出圧を得るためには、内部構造の形状や構造体表面の化学修飾などの検討が必要であることが明らかになった。構造を最適化することで、EOPはわずか6 Vでも駆動することが確認された。

また、構造体表面にアミノ基を導入したEOPの送液性能についても比較した。修飾溶液の濃度が高くなるにつれて、最大流量および最大吐出圧が向上した。高い濃度の修飾溶液によって構造体表面へのアミノ基導入数は増加したためと考えられ、選択的な分子吸着による表面電荷の抑制効果の可能性が示唆された。

ここまでの検討をもとに、オンサイト分析への応用に向けた小型分析デバイスの開発を行った。EOFは材料の表面電荷によって誘起されるため、構造体表面に吸着した分子によって固体表面電荷が遮蔽されると、EOFの低下が期待される。APTESで構造体表面にアミノ基を導入したのち、benzyltributylammonium chloride (BTBA) と4-sulfobenzoic acidのイオン結合型錯体で修飾した。その後、1M NaCl aq.によってBTBAを除去することで、表面にスルホ基を有するEOPを作製した。EOFの速度変化から、アミノ基およびスルホ基の導入を確認したのち、吸着溶液中の分子が吸着前後のEOPの流量変化を測定した。吸着溶液にはAmmonium chloride, tetraethylammonium chloride, tetrabutylammonium chloride の3種類のアンモニウム塩水溶液を用いた。

アンモニウム塩水溶液でEOP内部を30秒間満たした後、純水に置換して流量測定を行った結果、アンモニウム塩水溶液を導入後のEOPの流量が低下した。流量低下後のEOPを1M NaClで洗浄することで、流量が上昇することが確認できたことから、アンモニウム塩が材料表面に吸着し、表面電荷を抑制したことで流量が減少したと考えられる。流量減少量に注目すると、AC吸着時にもっとも流量が減少していた。吸着分子のサイズは、ACがもっとも小さいことから、AC水溶液導入時により多くの分子が構造体表面に吸着したと考えられる。

より高度な分離を可能にするため、分子インプリント法を用いて標的分子と選択的に相互作用する分子認識場をEOP表面に構築した。官能基導入量の向上を期待してガラス製の微小構造体を用いた。アミノ基導入後、4-(tributylammoniummethyl)benzyl tributyl-ammonium chloride (TBTA) と4-sulfobenzoic acidのイオン結合型錯体で修飾した。無水酢酸/ピリジン/クロロホルム混合溶液によって残存アミノ基をキャッピングしたあと、1 M NaCl aq.によってTBTAを除去することで、官能基間距離がTBTAと同程度の微小構造体 (MI-EOP) を作製した。

MI-EOPはTBTA水溶液導入後に流量が減少した。TBTA水溶液導入後も流量はわずかに減少するが、その流量減少量は有意な差があった。TBTAはBTBAよりも分子サイズが大きいにも関わらず、減少量が大きかったことから、MI流路表面にTBTAと選択的に相互作用する認識場の構築が確認された。また、TBTA、BTBA混合溶液を吸着溶液に用いた場合、その減少量はTBTA溶液を吸着溶液に用いた場合の流量と同程度であった。このことから、複数種のイオン種が存在する場合においても、本MI-EOPは構造体表面に吸着したTBTA分子を選択的に検出していると考えられる。また、低電圧条件 (< 10 V) での測定も可能であることが確認され、オンサイト分析への応用可能性を示すことに成功した。

4. 研究成果の発表状況 (予定を含む)

招待・依頼講演

- 1) 内藤 豊裕, "本当に使いにくい3つの技術" すぐには役に立たない研究講座Part 2 (2018)
- 2) 内藤 豊裕, "マイクロ流体デバイスによる分離分析化学への新しいアプローチ" CUPALシンポジウム 微細加工とその応用研究シンポ (2018)

発表論文

- 3) T. Naito, H. Inoue, S. Futagami, A. Kunisawa, T. Kubo and K. Otsuka, *Sensors and Materials*, 2019,31,1,45-52.

他、分析手法の選択性に関する結果、オンサイト分析条件での実験結果について発表予定である。