

## 走査型電極法によるコロイド集積化シートの作製とその物性の研究

### Physical Properties of Colloidal Assembly Sheets Prepared by Plug-in Electrodes

代表研究者 高知工科大学 古沢 浩 Kochi University of Technology Hiroshi FRUSAWA

Recent years have witnessed significant advances in engineering colloidal systems beyond large-scale models for atoms or molecules. We now have a variety of methods for guiding colloidal self-organization by tuned interparticle potentials or external fields. The external fields used for guiding the assembly are electric and magnetic fields, gravity, shear, and so on. Among them, the advantage of using AC electric fields stems from the ability to precisely and easily tune the parameters of magnitude, frequency, wave shape, and phase. In this study, we induce the dielectrophoresis at will by plugging into colloidal dispersions a microelectrode needle pair with micromanipulators. The microelectrode pair forms a rectangular area of maximum field strength where the two dimensional chemical potential well is created to trap colloids in dielectrophoretic equilibrium. We have prepared three kinds of electric microsheets consisting of polymer beads, single walled carbon nanotubes, and lipid nanotubes between the electrode needle pair plugged into the aqueous dispersions under the control of micromanipulators. The plug-in system holds advantages over conventional ones equipped with built-in electrodes; one of them is that the microsheets are portable from liquid to gas phases without colloidal polymerization, which has been demonstrated in the present study.

#### 研究目的

これまで我々は、ナノ技術のキーツールである走査型電極の2本対が、観察や計測以外にも非接触操作や2次元集積化において有効であることを実証してきた。この走査型電極法の集積化法としての特徴は、マイクロマニピュレータにより制御された電極対を溶液中のどこにでも配置できるので、基板直上（すなわち固液界面）から気液界面に至る種々の界面近傍で界面に平行な2次元集積体を形成できる点にある。そこで本研究では、高分子微粒子系、カーボンナノチューブ・DNA系、および脂質ナノチューブ系に本方法を適用し、前述の特徴を生かした走査型電極法ならではの研究を実施する。具体的には、高分子微粒子系を用いて従来難しかった集積プロセスの追跡を行い交流電場集積に関する基礎的知見を得ると共に、カーボンナノチューブ・DNA系や脂質ナノチューブ系の配向集積体シートを気相へと取り出して特性評価を行うことにより、本方法の液相材料プロセス法としての有効性を実証することを目的とする。

## 研究経過

走査型電極装置は、Fig. 1 のように任意波形発生装置（33220A, Agilent 社製）で生成された交流電場がマニピュレータ（ナリシゲ社製）制御により平行配置されたタングステン針状電極対間に印加される構成となっている。以下では、高分子微粒子、カーボンナノチューブおよび脂質ナノチューブ系の順で、本方法を適用した結果を報告する。

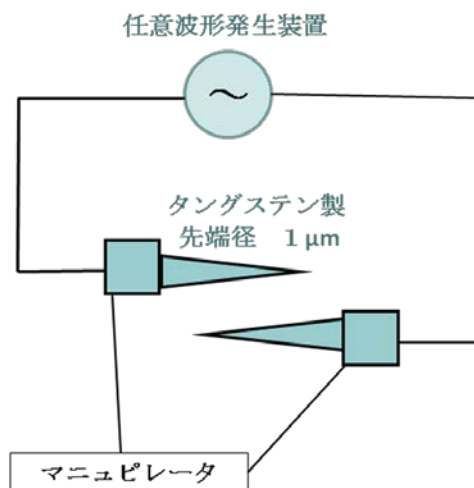


Fig. 1 A schematic of our plug-in system

### 1. 走査型電極法の原理解明： 高分子微粒子系の電場集積と誘電泳動との関連

交流電場下での物体集積には複数の要因が考えられるが、走査型電極法が印加する 100kHz 以上の周波数の交流電場の場合には、以下で述べる誘電泳電集積が主因であると考えられる。すなわち、物体と溶媒の誘電率の差に比例した量であるクラウジウス・モソッティ因子  $\delta\epsilon$  が正の値を示す周波数域では、電場下の物体の化学ポテンシャルが  $(v/2) \delta\epsilon E^2$  だけ下がるため、電極外から誘電泳動して集積するのである ( $v$ : コロイド1個の占有体積、 $E$ : 電場振幅)。しかし、電場誘起溶媒流や集積に伴うコロイド間相互作用による化学ポテンシャル変化の誘電泳電集積への影響については、これまで検証がなされていなかった。そこで本テーマでは、走査型電極法が有する既述の自由配置性および顕微鏡視野範囲内の電場印加領域の設定容易性を利用して、集積キネティクスの追跡を行った。

高分子微粒子としては、アクリル酸で表面を修飾したポリスチレン粒子（大日精化工業）を用いた。サイズはプロセス評価に適した直径  $3\mu\text{m}$  であり、濃度は 0.02wt.% である。ガラス基板に分散液 400 $\mu\text{l}$  を滴下し、電極間距離  $30\mu\text{m}$ 、横幅  $90\mu\text{m}$  の配置条件で針状電極を平行に挿入した。集積範囲全体を視野内に収めた状態で、画像解析により微粒子の集積数と集積面積の時間依存性を調べた結果が、それぞれ、Fig. 2 と Fig. 3 である。まず Fig. 2 の集積数の時間依存性からは、電場強度と集積速度が比例しており、その傾きは電場強度の増大につれて大きくなるが見てとれる。一方、Fig. 3 の占有面積の時間依存性からは、集積完了前に面積が飽和値に達しており、直径  $3\mu\text{m}$  の高分子微粒子においても集積体は単層ではなく2層以上の構造となっていることが示唆される。さらに、集積速度の周波数依存性や基板からの距離依存性についても調べた。その結果、前者からは上述のクラウジウス・モソッティ因子の符号が負へと切り替わるクロスオーバー周波数の同定でき、また、後者からは基板付近の電場誘起溶媒流の影響範囲を見積もることができた。

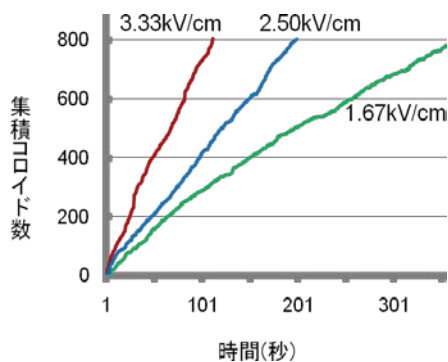


Fig. 2 Time dependence of the total number of assembled colloids

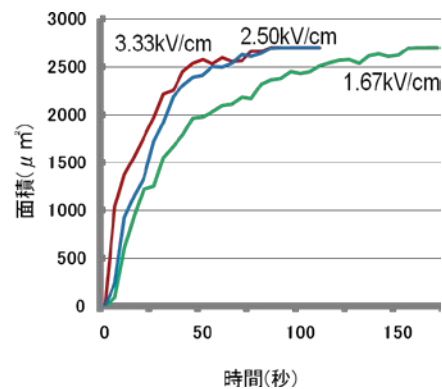


Fig. 3 Time dependence of the occupied area by assembled colloids

## 2. カーボンナノチューブ系配向集積化シートの作製とそのキャラクタリゼーション

一本鎖 DNA が物理的吸着により単層カーボンナノチューブ (SWCNT) の表面に巻きつく結果、難水溶性の SWCNT は可溶化し長期に安定分散することが知られている。さらに、サーモン由来の DNA を過剰添加した実験では、DNA 鎖は SWCNT に巻き付くだけでなく溶液中を浮遊することとなり、その浮遊 DNA の並進エントロピーに起因した枯渇効果により SWCNT が配向し液晶相を形成することが報告されている。このときの等方相—液晶相の境界は、SWCNT の濃度によらず重量濃度比が DNA/SWCNT=1 の条件に位置している。そこで本テーマでは、様々な DNA 濃度で配向集積した SWCNT 系シートを気相へ取り出した後に、その偏光度を通して配向性と上述の溶液構造との関連を調べた。

配向集積を行うため、上記と同じサーモン精巢由来の DNA 断片 (和光純薬) と長さ 5~30 $\mu\text{m}$  の SWCNT (cheaptubes 社) を用いて、以下の手順で混合溶液を作製した。まず、23wt. %の DNA 溶液 5ml を 90 $^{\circ}\text{C}$  で 30 分間加温したのち、等方相条件である 5 種類の重量濃度比 (DNA/SWCNT=0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1) となるように SWCNT 粉末を添加した。その後、10 $^{\circ}\text{C}$  以下の冷却下で超音波分散し、2000g で 10 分間遠心分離を行った上澄み液 10 $\mu\text{l}$  をガラス基板上に滴下した。

交流電場 (強度 20kV/m、周波数 20MHz) を濃度比 0.6 の混合溶液中の幅 200 $\mu\text{m}$ 、電極間距離 50 $\mu\text{m}$  の領域に印加し配向集積した後に、自然乾燥によって気相へと取り出した。さらに、電極と切り離しガラス基板へと静置した薄膜の 3D デジタルマイクロスコープ (オムロン社製) による撮影像が Fig. 4 である。FE-SEM による拡大観察により良好な電場配向秩序も確認された。さらに、同様の気相下での配向集積体を他の濃度比の DNA・SWCNT 混合溶液で作製し、偏光子と鋭敏色板を用いた簡易偏光観察像の画像解析により偏光度の変化を評価した。その結果、重量濃度比 0.6 付近で偏光度はピークを示し、それ以上の DNA 添加で液晶相へと近づくにつれて偏光度が減少することがわかった。

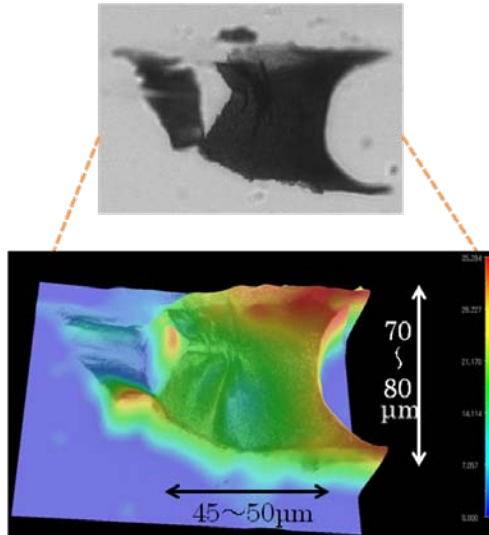


Fig. 4 A three dimensional digital microscopy image of aligned and dried carbon nanotube sheet

### 3. 脂質ナノチューブ系配向集積化シートの作製とその管内への物質充填

糖脂質を構成要素とする内径が 10nm から 100nm 程度のナノチューブ (脂質ナノチューブ、lipid nanotube (LNT)) の管内空間は、他のナノチューブと比べて生体適合性に優れており、DNA、タンパク質、ウイルスなどの生体物質の包接が可能である。このユニークなナノ空間をナノ生体反応場へと応用する際の課題の一つとして、LNT (あるいは管内ナノ反応場) の並列集積化がある。そこで本テーマでは、LNT を並列集積したナノリアクターシートの実現を目指して、前項の CNT と同様のプロセスにより LNT の配向集積化シートを気相へと取り出し、集積化管内へ金ナノ粒子の導入を行った。

電子顕微鏡像より、使用した LNT (産総研ナノチューブ応用センタ製) の内径は約 50nm であることが確認されている。集積の際には、遠心分離によりチューブ長が 10 $\mu$ m から 50 $\mu$ m 程度のものを選別し超音波分散したのちに約 300 本/mm<sup>3</sup>の濃度に調製した水分散溶液を用いた。また、配列固定用の添加剤としてはカチオン性タンパク質であるヒストン (和光純薬) を、また金ナノ粒子 (ワインレッドケミカル) としては直径が 20nm と 60nm の 2 種類を使用した。

カバーガラス上に滴下された上記の水分散溶液 20 $\mu$ l に走査型電極対を挿入して交流電場 (周波数 350kHz、電場強度 10kV/cm) を印加すると、偏光性を有する配向集積体が水中に 5 分前後で形成された。集積後、さらに 0.4wt.%のヒストン溶液 20 $\mu$ l を滴下して LNT の配列揺らぎを抑制 (配列固定) すると、気相取り出しの際の破損率が低下した。Figure 5 は、配向集積体を気相へ取り出した直後の写真である。上述の並列化リアクターシートの作製を意図して、Fig. 5 では、LNT 長軸方向のシート長を管長に合わせた 10 $\mu$ m に設定している。また、マイクロインジェクターを用いて気相下 LNT シート全体に直径 20nm の金コロイドを滴下した結果、毛管現象により管内充填されたことがデジタルマイクロスコープ像より確認できた。金ナノ粒子の未充填および充填シート像の比較から、金充填によるシートの呈色であることがわかる。なお対照実験として、上記のナノチューブ

内径よりも大きい直径 60nm の金ナノ粒子を滴下すると、シートの呈色は起きなかった。さらに、紙数の関係で詳細は省くが、FRET 効果によりこれらの結果の定量化も行った。

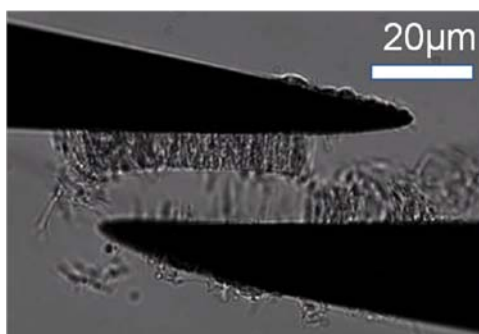


Fig. 5 An optical microscopy image of aligned and dried lipid nanotube sheet

## 考察

走査型電極法は、集積原理に関する基礎研究、および、新しい液相集積化プロセスの実現に有効であることが明らかとなった。具体的には、高分子微粒子系の集積プロセスの追跡により、誘電泳動集積の全過程について初めて詳細に調べることができた。また、カーボンナノチューブや脂質ナノチューブの配向集積化シートが重合反応を経由せずに気相へと取り出せることを示したことにより、これまで専ら溶媒のゲル化によって集積体の単離を行ってきた液相集積化プロセスの新展開が期待される。以下では、これら3つの系で得られた結果のより具体的な考察を記す。

**高分子微粒子系：** 集積数に微粒子1個当たりの断面積を掛け算することで得られた集積延べ面積を、光学顕微鏡上の占有面積（すなわちシート断面積）で割り算することで集積化シートの垂直方向の微粒子積層数を見積もった。得られた結果は 2.1 となり、これは焦点移動の観察結果から予測される積層数 2 ととも良く一致している。さらに、1秒あたりの集積数(集積速度)の電場依存性が 2 乗に比例していることから、集積プロセスの初期から後期にわたって誘電泳動により支配されていることが明らかとなった。このことは、針電極先端付近の強い電場勾配が吸引ポンプの働きをしていることを意味しており、針状電極を採用する走査型電極法の集積化技術としての優位性が示唆される。

**カーボンナノチューブおよび脂質ナノチューブ系：** 水中の配向集積体を気相へ取り出す際に直面した問題は、(1) 水分蒸発過程での凝集体など不要物の混入、および(2) 乾燥直前の電気分解や水の表面張力による集積体の破壊である。試行錯誤の結果、適切な試料を用いれば気液界面近傍で集積することにより(1)の問題を回避できることが判明した。一方、(2)の問題については、DNA可溶化カーボンナノチューブは界面活性剤被覆などの場合に比べて集積体の一体性が高いため、乾燥直前に電場印加を止めて薄膜の配向集積体を気相へと取り出すことは比較的容易であった。これは、一本鎖DNAが二本鎖に戻ろうと鎖間結合しカーボンナノチューブの配向固定化が行われた結果として理解できる。一方、弱アニオン性である脂質ナノチューブではカチオン性高分子の添加による静電的相互作用の導入が必要であった。ヒストン以外にもカチオン性の合成高分子の一つである

ポリアリルアミンで同様の効果を確認しているが、ヒストンには乾燥直前の電気分解が起こりにくいという実際上の利点があった。ただし配列固定法については、多様な観点からの今後の検討が必要である。

## 研究発表

### 口頭発表

1. 古沢浩；「脂質ナノチューブの電気・光操作によるデバイス化」、SORST シンポジウム(4) 「ナノ空間材料」その特性と魅力（東京、2010）
2. 古沢浩、谷口成男、羽田武士；「走査型誘電泳動法によるコレステロール含有リポソームのワンステップ診断と識別回収」、日本機械学会バイオエンジニアリング講演会（岡山、2010）
3. 吉井玄、戸田達也、古沢浩；「DNA・カーボンナノチューブ系の枯渇効果と電場配向特性」日本物理学会年次大会（岡山、2010）
4. 谷口成男、鍵山恵利、古沢浩；「コロイドの誘電泳動集積」日本物理学会（岡山、2010）
5. 楠目匠、古沢浩、亀田直弘、増田光俊、清水敏美；「液晶滴による脂質ナノチューブの光駆動回転」日本物理学会年次大会（岡山、2010）
6. 森友也、和田義弘、首藤和香、古沢浩、亀田直弘、増田光俊、清水敏美；「脂質ナノチューブシートの偏光性」日本物理学会年次大会（岡山、2010）
7. 吉井玄、井上昌一、古沢浩；「交流電場下での DNA・カーボンナノチューブ複合体の構造形成」日本物理学会秋季大会（熊本、2009）
8. 森友哉、池田拓也、山崎真幸、井上昌一、谷口成男、古沢浩、亀田直弘、増田光俊、清水敏美；「交流電場による脂質およびカーボンナノチューブの集積：配向シート化とメゾ構造形成」日本物理学会年次大会（東京、2009）

### 誌上発表

1. 古沢浩；”脂質ナノチューブ一本の特性評価” 清水敏美・木島剛編「有機・無機・金属ナノチューブ」（フロンティア出版、2008） pp. 244-251.
2. 古沢浩；「走査型電極による非接触操作と分別回収」福田敏男・新井史人編「細胞分離・操作技術の最前線」（シーエムシー出版、2009） pp. 284-290.
3. K. Hirano, M. Aoyagi, T. Ishido, T. Ooie, H. Frusawa, M. Asakawa, T. Shimizu and M. Ishikawa; "Measuring the Length Distribution of Self-Assembled Lipid Nanotubes by Orientation Control with a High-Frequency Alternating Current Electric Field in Aqueous Solutions," *Analytical Chem.* **81**, 1459 (2009).
4. H. Frusawa and N. Taniguchi; "Scanning Dielectrophoretic Manipulations of Micro Objects," to be published in *J. Intelligent Automation and Soft Computing*.