

前田英明

(独)産業技術総合研究所生産計測技術研究センター・チーム長

マイクロ空間場によるナノ粒子の超精密合成

§1. 研究実施の概要

本研究は、マイクロ空間化学合成技術、いわゆるマイクロリアクター技術をナノ粒子合成反応の精密解析ツールとして応用し、ナノ粒子生成過程を精査・解析することで、ナノ粒子利用時に要求される種々の付随的要件を満足するような最適合成ルートの選定指針確立と製造プロセスへの展開を目的とする。本年度は、以下の項目に関して検討した。

(1) in-situ 測定システムの設計と構築： マイクロリアクターを用いた in-situ X線吸収分光(XAFS)測定装置を高度化し、核形成から成長初期でのナノ粒子の局所構造と結合(分解・生成)キネティクスを高精度に調べた。今年度はアンジュレータ放射光ビームによる励起ビームの高輝度化と新型シリコンドリフトダイオード検出器による検出効率向上を組み合わせた高度化を行い、マイクロ空間の反応物質の蛍光 XAFS により、ナノ粒子反応初期過程の実時間観察を行った。EXAFSと UV-vis 分光から得られた反応キネティクスと構造情報(粒子径と密度)が一致する事を示し、CdSe ナノ粒子の表面修飾効果に適用した結果、ナノ粒子径および密度が添加される表面修飾濃度に強く依存することを見出した。

(2) 計算機シミュレーション技術の開発： 分子シミュレーションについては、クラスタ生成から核発生、結晶成長にいたるナノ粒子成長過程のシミュレーション手法開発に向け、Cu(一元系)および CdSe(二元系)クラスタの安定構造計算を継続して実施した。実験結果と比較するため、安定構造に対する動径分布関数の計算を可能にし、さらに UV-Vis スペクトル予測を導入した。次に、界面活性剤などの溶媒環境がクラスタの安定構造に及ぼす影響をシミュレーションするため、Cu クラスタについて、界面活性剤を含む系の自動モデリングや自動計算手法の基礎部分を開発した。

また、コンビナトリアル合成実験データに対するニューラルネットワーク(NN)を用いた解析シス

テムにおいては、データサンプリング手法の改善やアンサンブル学習との併用により、解析能力を向上させるとともに各種手順の自動化を進めた。さらに、アミン種を3種類変えた、合計 3,400 以上のコンビナトリアル合成実験データの解析を実施した。それぞれのアミン種において、構築したネットワークが蛍光ピーク波長などのナノ粒子特性に対する高い予測能力を持つことが明らかとなり、NN 解析が有効であることを確認した。さらに、NN の予測精度向上を目的として複数種の初期ニューロンパラメータセットを用いる大規模な最適ネットワーク探索を可能にした。

(3) 各種材料合成： 昨年度に開発したコンビナトリアル合成装置に反応系探索装置を設置し、Cu ナノ粒子をモデルとして反応系を探索した。100 の反応系からの絞り込みを行い、最終的な反応系を4つに絞ることができた。更にマイクロリアクターにより温度や濃度比の最適化を行い、最終的には1ヶ月以内に粒子径約 3nm の安定な Cu ナノ粒子を得ることができた。さらに、この Cu ナノ粒子を用いて膜化(焼結)試験を行ったところ、200°C以下で金属光沢を有する良導電性を示す膜が得られた。洗浄後、トルエンに分散させた溶液を焼結にすることにより Cu 膜が得られたが、焼結中の導電率の温度依存性を見たところ、180°C程度で電気抵抗が安定化し、200°C以下で焼結が終了したことが分かった。また、速度論効果に関しては、ZnSe および ZnS ナノ粒子を合成する際に、その昇温速度を制御することによって結晶相と形態を制御することが可能だった。さらに、本年度から新規の材料として、タンパク質の結晶化をターゲットとした研究に着手した。本年度はデバイスの設計・作製を行い、そのデバイスを用いて生成した微小液滴中でのモデルタンパク質の結晶化に成功し、併せてその核発生・成長挙動を詳細に調査した。

§2. 研究実施体制

(1)「産業技術総合研究所」グループ

- ① 研究分担グループ長: 前田 英明 (産業技術総合研究所生産計測技術研究センター、チーム長)
- ② 研究項目
 - ・コンビナトリアル合成システムの構築
 - ・in-situ 測定システムの設計と構築
 - ・計算機シミュレーション技術の開発
 - ・各種材料合成

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

(1) in-situ 測定システムの設計と構築

H22 年度には in-situXAFS 測定装置をアンジュレーター収束ビームが利用できる高エネルギー加速器研究機構(KEK)の NW2 ステーションに持ち込み、リアクターのチャンネル径(500 μm)と SR ビーム径を整合させることによって蛍光 X 線の励起効率を高めた。さらに蛍光 X 線の計測システムを新たに有効面積が 50 mm^2 で計数率が高いシリコンドリフトダイオード検出器(SDD)を現有システムに加え、計数効率を 4-5 倍高めた。測定システムの配置は図1に示すようにビームに対して水平面内で 45 度傾けた精密 XY ステージにマウントされたリアクタの位置を精密に制御して反応時間に対応した位置情報として観測する。反応時間と時間軸の対応は 100msec が 1mm であり 70mm のリアクター長で 7 秒となる。SR ビームをマイクロリアクタのチャンネルの任意のマイクロ空間(500 μm 幅)に照射し、内殻励起で蛍光 X 線を放出させその収量から広域 X 線吸収分光法(EXAS)、X 線吸収端近傍構造(XANES)を計測する蛍光法を採用した。EXAS、XANES は長距離秩序に依存しないため、溶液から固相にいたる局所構造を観察できる点、および高感度(mM/l)に溶液試料を測定することができる特徴を持つ。

リアクターセルにそった連続的な測定により原料溶液からナノ粒子にいたる成長初期過程を高精度に計測するため、リアクターセルの水平および垂直移動範囲は、 $\pm 20 \text{ mm}$ とし計算機により高精度($\pm 0.01\text{mm}$)で位置制御を行う。当初の SR ビームは 2.5GeV 蓄積リングの非収束マルチポールウイグラーを使用したためビーム径(2-3mm 以上)とリアクター径との整合が悪く効率よい励起ができなかった。H22 年度は装置を 6.5GeV リング(AR)のアンジュレータ光の利用できる NW2A ステーションに持ち込んでビーム径とリアクタ径を整合させた。これにより強度は 50 倍以上増大し高効率の蛍光励起が可能となった。

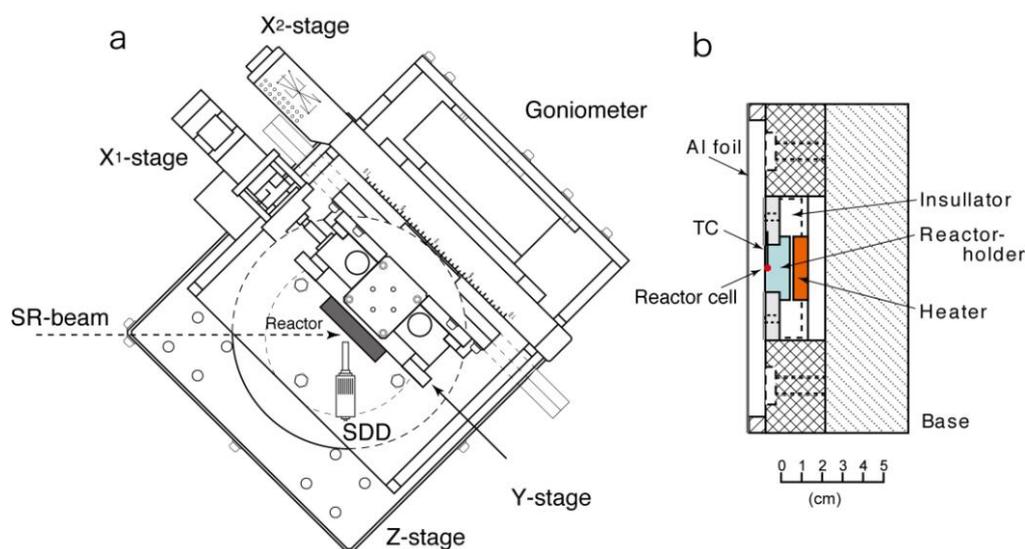


図 1 in-situ XAFS 測定装置(a: 上面図、b:リアクターアクタ側面)

計測系はコンパクト SDD をリアクタに接近させて配置したが有効面積が 9mm^2 で必要な立体角の確保が困難であることから、新たに大型 SDD (有効面積 50mm^2) を整備して計数システムの増強を図った。計数率を決めるのは計数回路のピーキングタイムであるが、後者は $0.25\mu\text{s}$ で前者の $0.80\mu\text{s}$ より高速の計測が可能である。

蛍光 X 線強度を NW2A のモノクロメータとアンジュレータギャップ走査に同期して、XANES、EXAFS を測定するための基本的装置が完成した。リアクタの位置を精密に制御して高輝度放射光ビームをマイクロリアクタセルに照射して、ナノ粒子の「その場」測定を試みた。リアクタの XY 位置を $80\text{mm} \times 40\text{mm}$ の範囲で制御が可能である。赤外線カメラで測定した温度分布イメージを図 2 上段に示した。下図 2 下段には SDD の配置を示す。SDD1 は当初整備した Amptek XR100、SDD2 は H22 年度に増強された Vortex EX90 である。後者の配備により計数効率は 4-5 倍に増強され、EXAFS 測定時間は 1/2 に短縮された。

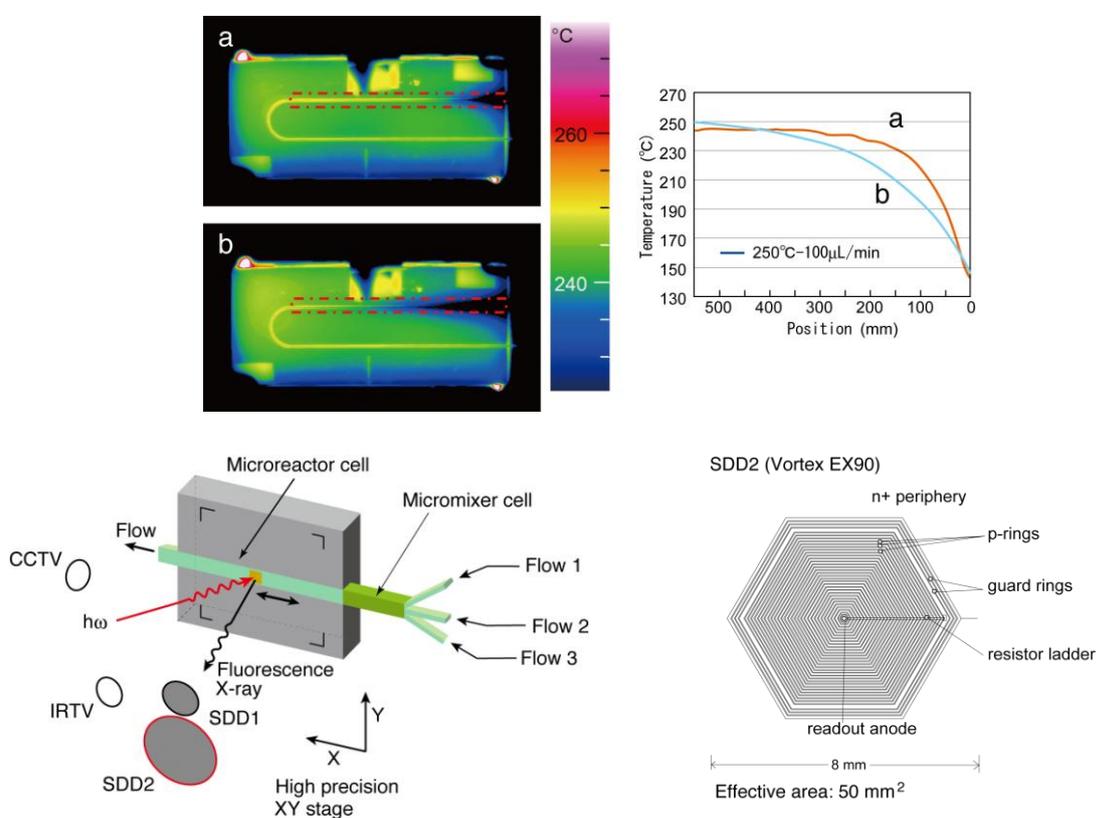


図 2 リアクターの温度分布(上)と実験配置(下左)および SDD2(下右)

①CdSe系: CdSe ナノ粒子を対象として、その場 XAS 測定を行い局所構造と結合(分解・生成)キネティクスを評価した¹⁾。原料には TOP-Se と Cd 酢酸塩を含むオクタデセン(ODE)溶液を用い、 240°C で全長 70mm の Kapton 製リアクタチューブに流速 7.6mm/s で反応を観測した。多重散乱を考慮した EXAFS 精密解析を行い Se-Cd 結合から、CdSe ナノ粒子成長の初期過程の結合生成キネティクスとナノ粒子サイズと粒子濃度の精密評価を行った。結合の生成を直接観測して結合キネティクスから粒子サイズと粒子濃度を直接的に観測する手法は、本研究グループが

H21年度に開発したものであるが、H22年度には EXAFS の解析により得られたキネティクスが (反応出発物質の分解がない場合) UV-vis 分光の結果と一致することが確認され、EXAFS によるキネティクス評価が UV-vis 測定が困難な初期成長にも適用できることが示された⁴⁾。

②ZnSe 系: 準安定クラスター (MSC) の存在が示唆されている ZnSe 系への適用にはいくつかの技術的問題があった。出発物質 (ZnAc₂、ZnI₂) の分解が高速に生じることにより生成物が ZnSe と未反応出発物質で記述することができず、ZnSe+Zn イオンとなるため、2成分の解析ができないことや、出発物質に依存した壁析出と剥がれ落ちが生じるため安定な測定が困難である。図3に Zn K-XANES スペクトル (微分) の時間変化を示す。反応開始で Zn ナノ粒子が成長するが反応開始と同時に出発物質の分解が生じる様子が示される。ZnSe 系に関しては安定な MSC の精密な EXAFS、XANES のバッチ測定を行い UV-vis スペクトルのピークと関連させて、クラスターの構造を調べている。

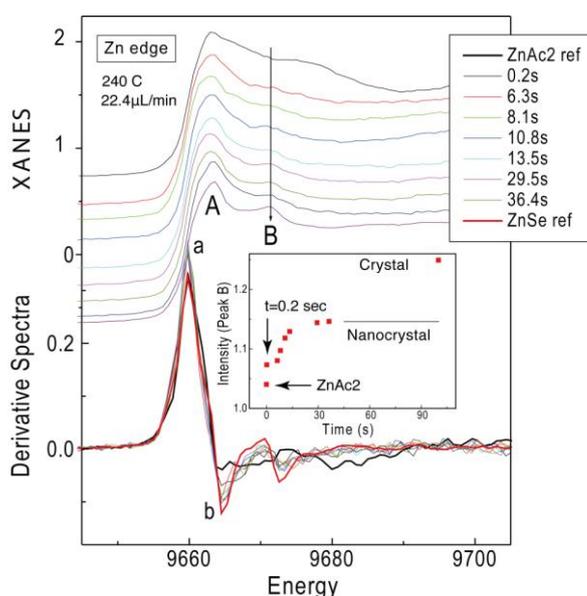


図3 反応中の Zn K-XANES スペクトル (図中下段は微分スペクトル)

③Cu 系: Cu ナノ粒子系の予備実験を行い、成長初期過程を XANES スペクトルで観測し、多重散乱理論による解析をすすめている。Cu ナノ粒子系の反応条件の最適化には高効率実験系の整備が不可欠である。次年度の実験では高度化した実験システムの稼働によりこの系での実験が軌道に乗る見込みである。Cu 出発物質を (Cu(CF₃COCH₂COCF₃)₂) : Cu-acac-F6、溶媒を (CH₃CH₂O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₃)、還元剤を ((C₆H₅)SiH₂(C₆H₅)) : DPS (ジフェニルシラン) として反応させた時の最終生成物のバッチ測定による Cu K-XANES スペクトル (図4左) により金属状態の Cu ナノクラスターが生成する。さらに多重散乱法によるシミュレーション (図4右) の結果から、N=13 に近い状態であることが示唆される。より詳細には EXAFS から Cu-Cu 結合を測定し

クラスター数依存性から確認することが必要であるが、少なくとも安定なスモールクラスターが成長できることは確認された。

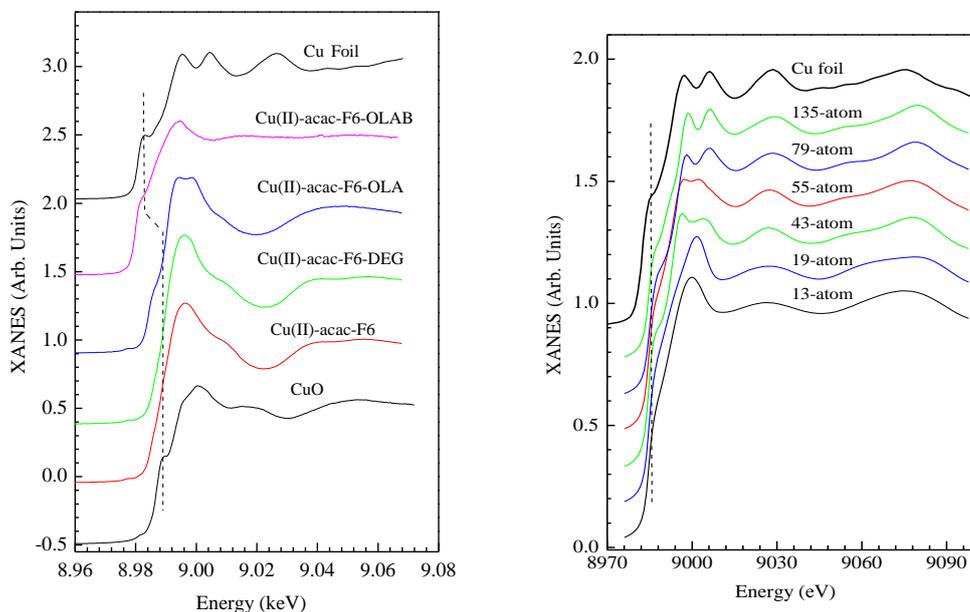


図4 Cu ナノクラスターの Cu K-XANES スペクトル(左)および MS 計算スペクトル

(2) 計算機シミュレーション技術の開発

ナノ粒子の成長過程を解析するため、クラスタ生成から核発生、結晶成長過程のシミュレーション手法開発を引き続き実施した。まず、昨年度に続いて密度汎関数法を用いて、Cu (一元系)、CdSe (二元系) などの材料系に対するクラスタ安定構造計算を行った(非経験的分子軌道計算ソフトウェア Gaussian を使用)。また、in situ XAFS 測定と計算結果を比較するため、安定構造に対する動径分布関数を計算可能にし(図5上)、さらに吸収スペクトルとの比較のため電子状態計算による UV-Vis スペクトル予測を導入した。クラスタの安定構造探索計算においては、共存す

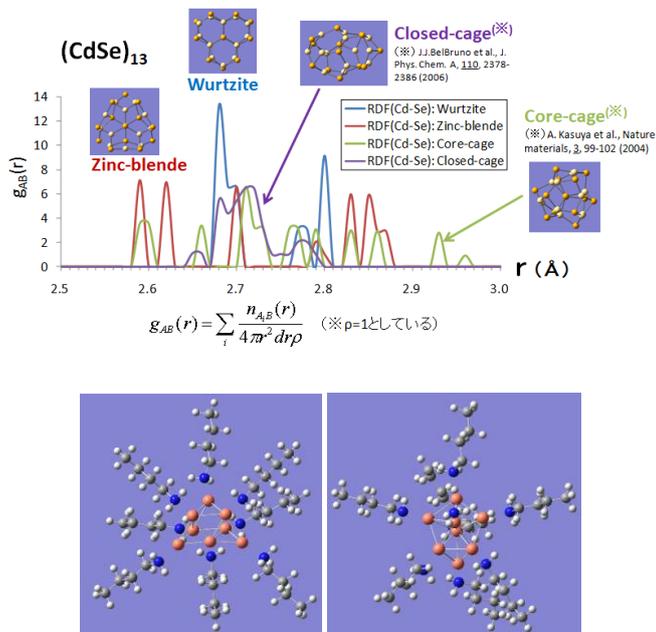


図5 CdSe クラスタに対する動径分布関数の計算予測(上)、およびアミン系界面活性剤共存下での Cu クラスタ安定構造(下)

る界面活性剤がクラスタの安定構造に及ぼす効果を評価するための手法開発を開始した。第一段階として、一元系の Cu クラスタについて、界面活性剤を含む系の初期構造自動モデリングや自動計算などの基礎部分のプログラム開発を行い、その結果、図5下に示すように、界面活性剤共存下での種々の安定構造候補を求めることが可能になった。続いて、多元系への拡張の第一歩として、二元系クラスタ部分の自動モデリング試験を行った。今後、安定構造の探索精度と計算時間のバランス調整を行い、さらには多元系材料にも対応可能とするなど、本手法の完成度を高めていく。

ニューラルネットワーク(NN)に基づくコンビナトリアル合成実験データ解析システムの開発においては、実用ツールとしての完成度を高めるため、データサンプリング手法の改善やアンサンブル学習との併用などによって解析能力を向上させるとともに、プログラム開発による各種手順の自動化を進めた。前年度、本解析システムが大規模なコンビナトリアル合成実験データ(特定のアミン種について1,000件程

度)に対応できることを確認した²⁾が、本年度はさらに他のアミン種においても NN 解析が有効であることを確認した。平成21年度に実施した CdSe ナノ粒子のコンビナトリアル合成実験データ(アミン3種

について合計4,500実験

結果から、異常値などを除いた3,404実験を抽出し、合成条件(反応温度:5条件、反応時間:5条件、Cd濃度:3条件、Cd:Seモル比:4条件、アミン濃度:5条件)と、ナノ粒子特性(蛍光ピーク波長、量子収率、蛍光ピーク半値幅、CdSe反応収率)のデータベースをアミン3種(ドデシルアミン、オレイルアミン、オクチルアミン)についてそれぞれ作成した。各アミン種のデータベースから、学習用として50%のデータをランダムに選出し、320通りの学習条件でNNを構築した(図6上)。学習用データ以外の40%のデータによって最適なネットワークを選定し、さらに学習および選定の両方に使用していない10%を確認用データとして、NNの予測能力を確認するために用いた。また、予測を安定化させるだけでなく予測能力の向上が期待できる、複数のネットワークを利用するアンサンブル学習の手法を適用した(予測能力の高い10個のNNの平均予測値を使用)。確認用データに対する蛍光ピーク波長の予測値と実測値の関係を調べたところ(図6下)、3種のアミンそれぞれで構築したNNが高い予測能力を示しており、NN解析システムが原料系によらずコンビナトリアル合成データを安定して解析可能であることを確認した。加えて、初期ニューロンのパラメータセット

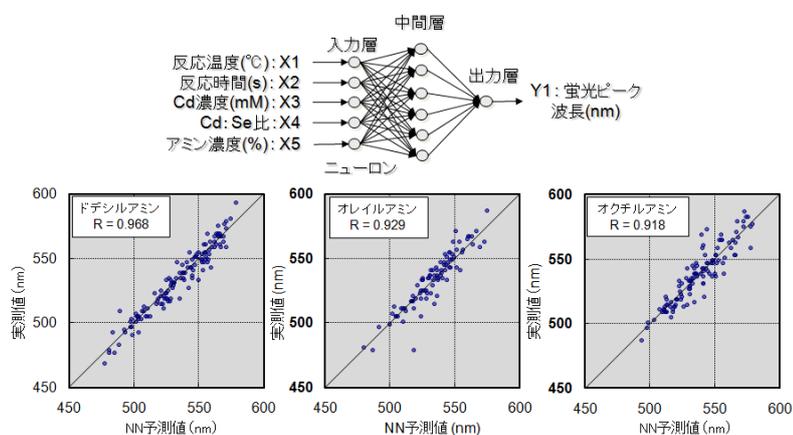


図6 NN構造(上)と確認用データに対する蛍光ピーク波長のNN予測値と実測値の関係(下)

を複数種用いた、より大規模な最適ネットワーク探索の手法を本解析システムに組み込み、さらなる NN の予測精度向上を可能にした。

(3) 各種材料合成

我々はこれまで、合成条件をコンビナトリアル的に探索するシステムをつかった条件探索を行ったが、利用する試薬系を決定する反応系探索も非常に重要である。そこで、昨年開発したコンビナトリアル合成装置に反応系探索装置を設置し、Cu ナノ粒子をモデルとして反応系を探索した。スクリーニング条件として、反応系に使う試薬の沸点 200°C以下(第一条件)という条件下、4種のCu源、5種の界面活性剤、5種の還元剤を選択(100の組合せがある)した。これから、第二条件(溶液反応が可能)下でバッチスクリーニング(100→44 反応系)、第三条件(表面プラズモンによるCuナノ粒子の形成確認可能)下でマイクロリアクタースクリーニング(44→20 反応系)、第四条件(窒素雰囲気中で酸化および凝集が無し)下でさらにオフラインスクリーニング(20→4 反応系)を行った。その結果、これら4つの条件に見合う反応系を、100の反応系から4反応系に絞ることができた。更にマイクロリアクターにより温度や濃度比の最適化を行い、最終的に、1ヶ月以内に粒子径3nm程度の安定なCuナノ粒子を得た。このCuナノ粒子を洗浄後、トルエンに分散させた溶液を焼結にすることによりCu膜が得られた。焼結中の導電率の温度依存性を見たところ、図7のように180°C程度で電気抵抗が安定化し、200°C以下で焼結が終了したことが分かった。

一方で、ZnSeおよびZnSナノ粒子を合成する際、同一の原料溶液を用いても、昇温プロファイル制御により結晶相と形態制御が可能な事を示した。図8に示すZnSナノ粒子の場合、粒子の生成温度が結晶相に大きく影響し、100°C以下ではウルツ鉱相が、125°C以上ではセン亜鉛鉱相が安定な事がマイクロリアクターを使った急速昇温実験(500°C/s)により明らかになった。また、125°C以下で長時間熟成した場合はウルツ鉱相の棒状粒子が得られ、急速加熱により125°C以下の温度をスキップした場合はセン亜鉛鉱相の球状粒子が得られて、温度プロファイル制御の昇温速度と相転移速度・成長速度のバランスによって結晶相と形態が決定されることが示唆された。

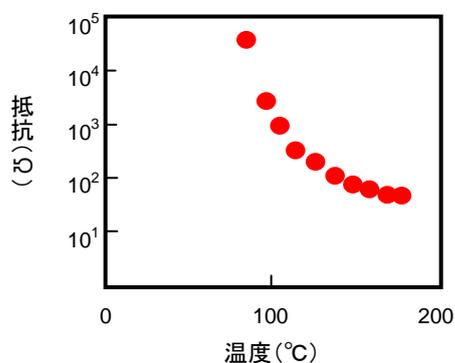


図7 Cuナノ粒子の焼結中の電気抵抗値変化

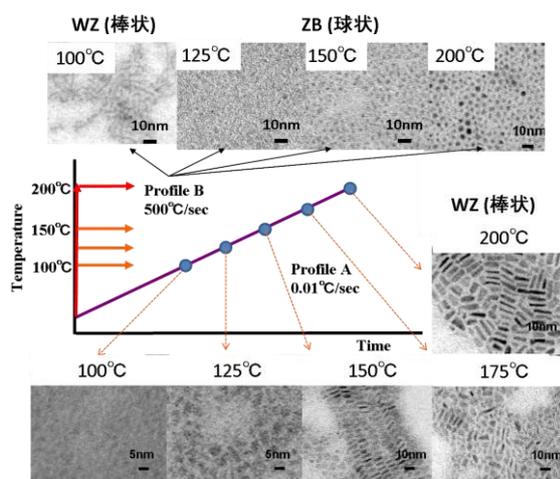


図8 ZnSナノ粒子の結晶相と形態の制御
昇温プロファイルの制御による結晶相の制御
(ZB:セン亜鉛鉱相)

マイクロ空間を用いるタンパク質の結晶化においては、液滴のサイズ・形状が結晶化に与える影響を精査した。連続相と分散相の流量比を変化させて、様々な体積の液滴を生成させる操作に加え、3種類の内径が異なるチューブに液滴を回収することにより、同体積でも形状の異なる液滴を形成させタンパク質の結晶化を行った。

まず、ソーマチンをモデルとして結晶化を行ったところ、3種類のチューブ全てにおいて液滴体積の増加に伴い、液滴内で析出する結晶数が増加し、液滴の体積が減少するほど析出する結晶数のばらつきが小さくなる傾向がみられた。また、液滴体積が小さいほど核生成、結晶成長時に過飽和度が大きく低下するため、析出する結晶数が少なくなり、結晶数のばらつきが小さくなると考えられた。次に、液滴の形状、および比表面積がタンパク質の結晶化に与える影響について検討を行った。同じ体積の液滴であっても、回収するチューブの太さによって液滴の形状が変化する。また、液滴が小さくなれば連続相との液-液界面が増大することから液滴の比表面積が結晶化に影響を与えている可能性が考えられる。図9に液滴単位体積当たりの結晶数と比表面積の関係を示す。

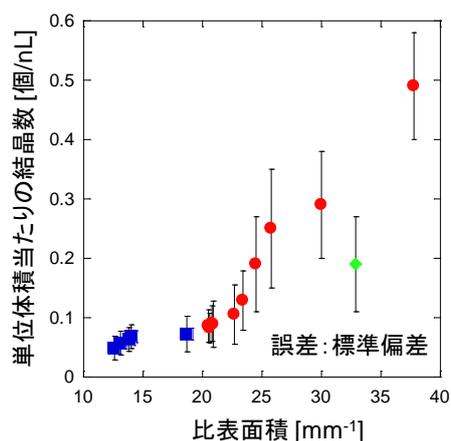


図9 液滴単位体積当たりに析出した結晶数と比表面積の関係

(■ : 内径 360 μm、● : 内径 200 μm、◆ : 内径 130 μm のテフロンチューブ)

解析の結果、液滴の比表面積の増加にしたがい、液滴の単位体積当たりに多くの結晶が析出することが分かった。このことから、マイクロ空間では液滴の体積、形状を調整することによって、液滴内で析出する結晶数の制御が可能であると考えられる。

次に、上記の研究から得られた知見を用いて、微小液滴中でのソーマチンの結晶成長の解析を行った。バッチでは結晶化初期段階で複数の結晶が析出してしまうため、1個の結晶に注目した晶析挙動の解析は困難であった。タンパク質の結晶の成長機構を解析するには、1個の結晶に注目して解析を行う必要がある。マイクロ空間の微小液滴中では、先に示したように結晶の析出を制御することができるため、液滴中に析出した1個の結晶に注目して解析を行った。液滴体積が約14 nLの場合、ソーマチンの晶析が24時間以内に開始された。また、液滴の体積は結晶成長速度には大きな影響を与えていないと思われた。しかし、液滴の体積が小さいほど、晶析が開始

するまでの時間である誘導期にばらつきが生じたため、さらに体積が小さい液滴中でのソーマチンの結晶成長速度の測定を行った。液滴の体積が 4 nL、1nL の場合にも結晶成長速度はほぼ一定だが、誘導期に大きなばらつきが生じ、誘導期が長くなっていた。1 nL の液滴中の結晶成長速度は、4 nL の液滴とほぼ一緒であった。結晶成長に誘導期の長さに関係しているかを検討するために、1 nL の液滴をさらに静置し、10 日間の結晶成長速度を解析した。(図10)

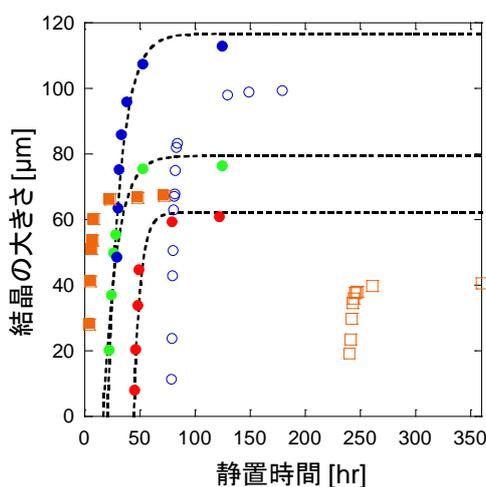


図 10 ソーマチンの結晶成長速度

(● ● ● ○ : 液滴体積 4 nL (Φ200 μm) ■ □ : 液滴体積 1 nL (Φ130 μm))

その結果、これまでと同様に結晶成長速度には大きな変化は見られなかった。

次に、別のモデルタンパク質として、リゾチームを用いて同様の解析を行った。リゾチームの場合、ソーマチンと異なりすべての液滴で結晶が析出するわけではなく、液滴のサイズや比表面積の大きさにより晶析率が変化し、同じ液滴体積でもチューブ径を小さくすることにより比表面積が大きくなると晶析率が増加する傾向が見られた。(図11)

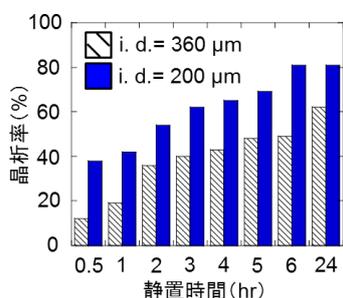


図11 リゾチームの結晶化に与える比表面積の影響(液滴体積:60nL)

また、比表面積が大きくなると核が複数できる確率が高くなり、晶析率が増加する傾向が見られたが、その結晶サイズは減少する傾向にあった。ソーマチンの場合に見られた誘導期のばらつきは、

リゾチームでも同様に見られ、特に同じ液滴中に複数個の核が生成するケースにおいてはばらつきが顕著になる傾向が見られた。

前述のとおり、ソーマチンとリゾチームのいずれにおいても、誘導期のばらつきはあるものの、いったん始まった結晶の成長速度は同じであることから、その成長過程を詳細に解析することにより、成長機構を知ることができるものと考えられる。ここでは、結晶成長の速度論的解析手法として知られる Avrami 解析を適用することにより解析を行った。

ランダムな核発生とその成長という一次相転移、すなわち Avrami-Erofe'ev 型反応モデルは一般式

$$-\ln(1-\alpha) = kt^m$$

で表わされる。 α は時間 t における反応率で、 k は反応速度定数である。 m は核発生速度や成長の様態を示すパラメータであり、「Avrami 指数」と呼ばれている。本実験においては特に、結晶成長が三次元的であることが目視観察により明らかであるため、この解析による成長機構の絞り込みが容易に行える。また、実際の解析は、 $\log[-\ln(1-\alpha)]$ と $\log t$ プロットをとり、その傾きから Avrami 指数を決定した。このような解析の結果、いずれのタンパクでも、1-14nL の範囲のほぼ真球液滴において、すべての結晶で Avrami 指数は 1.5 に近い値であった。この結果は、以下のことを示している。

- i) 核発生速度が無限大、すなわち核発生が初期に瞬時に 1 個だけ、もしくはごく少数生じる
 - ii) 結晶成長は、拡散律速。すなわち、液滴内の対流の抑制を示唆
- i) の内容は目視による観察結果に一致する。また、ii) の内容も踏まえ、液滴の大きさとその中でできる結晶の個数に関する考察を下記のとおり行った。

対流のない小さな液滴内で結晶が成長していくと仮定する。

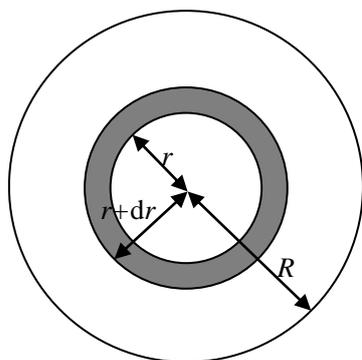


図 12 微小液滴モデル

左の図12のように、半径 R の液滴内の半径 r と $(r+dr)$ に囲まれた微小球殻を考える。

N : 拡散流束

D : 拡散係数

C : タンパク濃度

C_0 : もとからのタンパク初期濃度

Fick の法則 : $N = -D \frac{dC}{dr}$

液滴の中心に 1 個の単結晶ができると仮定し、かつその結晶の大きさは無視できると仮定。この結晶の成長過程で、溶液中のタンパクが消費されていく速度を $-r_p$ とする。この時のタンパクの物質収支は、次の式で表わされる。

$$4\pi r^2 \left(-D \frac{dC}{dr}\right) \Big|_{r=r+dr} - 4\pi r^2 \left(-D \frac{dC}{dr}\right) \Big|_{r=r} = 4\pi r^2 \cdot dr \cdot r_p$$

この式を整理して、

$$\frac{D}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dC}{dr} \right) + r_p = 0$$

ここで境界条件は、次の2つ。

$$r=0 \text{ のとき } \frac{dC}{dr}=0; r=R \text{ のとき } C=C_0$$

さらに、ここでの結晶化が0次反応（前述の Avrami 解析の結果から、十分に希薄な拡散律速を仮定）と仮定する。すなわち、 $-r_p$ が r によらず一定値 q であるとする、前記式は次のように書ける。

$$C = \frac{q}{6D} (r^2 - R^2) + C_0$$

R も C_0 も常に正である必要があるので、

$$R \leq \sqrt{\frac{6DC_0}{q}}$$

ここで大雑把に、 $D=10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ 、 $C_0=3 \text{ wt\%}$ （リゾチームの場合の典型的な条件）、ソーマチンでは 1 wt\% ）、 $q=3 \times 10^{-6} \text{ kgL}^{-1}\text{s}^{-1}$ （結晶が出始めてから成長止まるまで 10000 秒）とすると、 $R \leq 240 \text{ }\mu\text{m}$ となる。すなわち、液滴が、おおよそ数百 μm の大きさを超えると、外側部分に過飽和状態の場所が残りに残って、そこで別の結晶成長が始まり、結果として1個の液滴内に複数個の単結晶ができやすくなることを意味するとともに、実際の実験結果にもよく一致する。また、同体積でも、比表面積の大きな液滴では、結晶の生じる個数が増えることも意味する。

本年度に得られた結果から、マイクロ空間では液滴の体積、形状を制御することによって、結晶の析出を制御できることが示された。また、結晶成長機構については、溶液内の対流が抑制されており、微小重力場での結晶成長に類似している可能性を示した。また、液滴の体積を制御することにより、結晶の析出を制御できる可能性を見出した。

他方、本手法によって得られた結晶の評価も行った。佐賀県立九州シンクロトロン光研究センター (SAGA-LS) の BL07 にて、得られた結晶の X 線回折像の撮影を行い、その結果から格子定数を求めた。右図13のように、結晶調製に用いたキャピラリーを 2cm ほどの長さに切り、キャピラリー中から結晶を取り出さず、液滴内に結晶を置いたまま撮影を行ったところ、右写真のような結果を得た。1 つの結晶につき 3-4 枚の撮影を行い、格子定数などの結果を得た。ソーマチン、リゾチームそれぞれ無作為に選んだ 5-6 個の単結晶に対して同じ測定を行ったところ、ソーマチンはいずれ

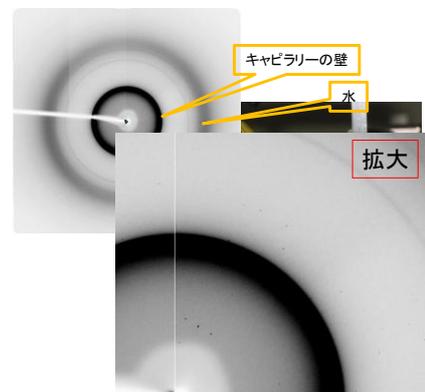


図 13 タンパク質微結晶の X 線回折写真

も、空間群:P4₁2₁2 晶系:tP であった。格子定数は、 $a=b=58.69\pm 0.13\text{ \AA}$ 、 $c=151.53\pm 0.58\text{ \AA}$ 、 $\alpha=\beta=\gamma=90.00^\circ$ であった。リゾチームについては、空間群:P4₃2₁2 晶系:tP であり、格子定数は、 $a=b=79.3\pm 0.19\text{ \AA}$ 、 $c=37.6\pm 0.55\text{ \AA}$ 、 $\alpha=\beta=\gamma=90.0^\circ$ であった。比較対象としてバッチ中で調製した結晶についても測定を行ったが、微少液滴中で調製した結晶と同じであった。また、プロテインデータバンク(PDB)に収録されているデータよりも、格子定数が若干大きめとなっているが、これは、一般的な測定が凍らせた状態で行われるのに対し、本測定は凍らせず、液滴内に結晶を置いたまま測定を行ったことによるものである。

今回の実験では、誘導期にばらつきがありつつも同じ結晶が得られていることを確認したことに加え、キャピラリー状態のまま X 線回折測定に供することができることを確認した。このことは、従来よりもはるかに簡便に、得られた結晶のファーストスクリーニングを行えることにつながる。

§ 4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

- 1) Z. H. Sun, H. Oyanagi, H. Nakamura, Y. Jiang, M. Uehara, K. Yamashita, A. Fukano and H. Maeda, "Ligand Effects of Amine on the Initial Nucleation and Growth Processes of CdSe Nanocrystals", J. Phys. Chem. C2010, 114, 10126-10131 (DOI:10.1021/jp101345n)
- 2) Ayumi Toyota, Hiroyuki Nakamura, Haruka Ozono, Kenichi Yamashita, Masato Uehara, Hideaki Maeda, "Combinatorial synthesis of CdSe Nanoparticles Using Microreactors", J.Phys.Chem. C., vol.114, No.17, pp.7527-7534, 2010 (DOI:10.1021/jp911876s)
- 3) Dorjpalam Enkhuvshin, Hiroyuki Nakamura, Kenichi Yamashita, Masato Uehara, Hideaki Maeda. "Seed assisted phase control of TiOPc: Application of microfluidic mixing". Integrated Miniaturized Materials—From Self-Assembly to Device Integration, MRS Proceedings Volume 1272, kk09-10, (10.1557/PROC-1272-KK09-10)
- 4) H. Oyanagi, Z. H. Sun, Y. Jiang, M. Uehara, H. Nakamura, K. Yamashita, L. Zhang, C. Lee, A. Fukano and H. Maeda, " In situ XAFS experiments using a microfluidic cell: application to initial growth of CdSe nanocrystals", J. of Synchrotron Radiation, (2011.March). 18 (DOI:10.1107/S0909049510050545) (in press)

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)