

平成21年 5月14日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18760310
 研究課題名（和文） 酸化マグネシウム亜鉛を用いた電界効果型グルコースセンサの開発
 研究課題名（英文） Development of field-effect based glucose sensors using a ZnMgO alloy
 研究代表者
 小池 一歩（KOIKE KAZUTO）
 大阪工業大学・工学部・准教授
 研究者番号：40351457

研究成果の概要：

65歳以上の人口が国内総人口の1/5を占める今日、生活習慣病を煩う患者数が年々増加の一途をたどっている。特に糖尿病患者の割合が大きく深刻な社会問題となっている。この問題を解決するため本研究では、微量の血液で血糖値を手軽に検出できる電界効果型グルコースセンサ（血糖値センサ）の開発を行った。センサの母体材料には生体適合性の高い酸化マグネシウム亜鉛を用い、グルコースの検出にはグルコース酸化酵素を用いた。最終的に、グルコースに対する検出速度が20秒以下、検出可能範囲が0～5 mg/cm³のセンサを開発することに成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,700,000	0	2,700,000
2007年度	400,000	0	400,000
2008年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	120,000	3,620,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：酸化マグネシウム亜鉛，酸化亜鉛，グルコースセンサ，バイオセンサ，電界効果トランジスタ，グルコース酸化酵素

1. 研究開始当初の背景

今から約9年前に「人に優しい医療機械の開発」を目指したバイオベンチャーセンターが大阪工業大学に設立された（2000年度に文部科学省の補助金を受けた5年間の研究プロジェクト）。当時、私はこのプロジェクトの構成員であり、電極タイプのグルコースセンサの開発に関わった。チオール基を有するスペーサ分子を用いて金電極表面に酵

素の固定化を試みたが、電解質溶液中で固定化した酵素が剥離し易いことから、センサの測定精度や再現性に課題を残した。

当時の知見と経験を生かして、私は酸化半導体で構成される電界効果トランジスタ（FET）を用いたグルコースセンサを提案した。グルコースを検出するゲート表面にシランカップリング処理を施すことで、その後固定化する酵素との結合が強くなり、従来

の問題を解消できると考えた。また、このセンサはFETを基盤としているため、素子の微細化によってセンサの高感度化や小型化も実現できると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、酸化マグネシウム亜鉛 (ZnMgO) を母体材料とする電解質溶液ゲートタイプのFETを作製し、そのゲート表面にグルコース酸化酵素を固定化することで実用レベルのグルコースセンサを開発することである。

3. 研究の方法

図1に目標とする電解質溶液ゲートFETを用いたグルコースセンサの断面図を示す。A面サファイア基板の上に単結晶の酸化亜鉛 (ZnO) と ZnMgO のダブルヘテロ構造を形成し、その上にソースとドレイン電極およびグルコース酸化酵素を固定化したゲート電極を形成する。これにより、電解質溶液ゲートタイプのFETが得られる。このFETは、酵素による化学反応を電気信号へ変換する信号変換装置 (トランスデューサ) としての役割を果たす。以下に実験手順の詳細を述べる。

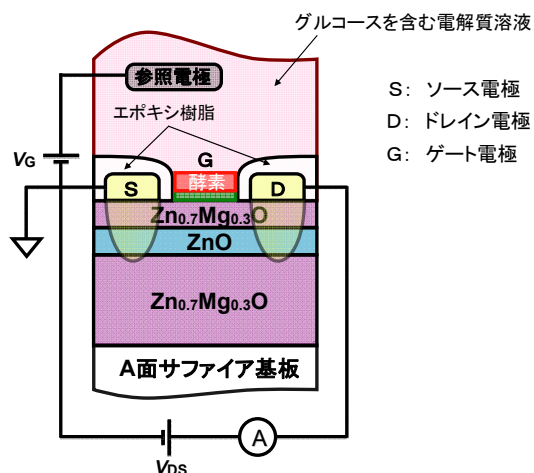


図1 ZnO/ZnMgOヘテロ構造を用いた電解質溶液ゲートFETをトランスデューサとするグルコースセンサの断面図。

(1) まず、現有のラジカル支援分子線エピタキシ装置を用いて、A面サファイア基板上に単結晶のZnOとZnMgOを接合したダブルヘテロ構造を形成する。ヘテロ界面に形成される二次元電子ガスの電気特性や量子井戸の光学特性を調べ、バイオセンサのトランスデューサとして適した構造を得る。
(2) 作製したヘテロ構造をフォトリソグラフィとプラズマエッチング技術を用いて電解質溶液ゲートFETへ加工し、水溶液中でFETの動作特性を調べる。センサの感度特

性に影響を与えるON/OFF比や伝達コンダクタンス、センサの安定性に影響を与える閾値電圧の変動や電流ドリフトに注目し、トランスデューサとして優れたFETを開発する。

(3) 図2に示すように、FETのゲート表面にアミノシラン分子を用いたシランカップリング処理を施してアミノ基を表面に修飾する。修飾したアミノ基の一部は酵素の足場となり、残りのアミノ基は酵素反応によって生成したプロトンと結合 ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$) してゲート表面の電位に変化を与えるイオン感応基として働く。また、シランカップリング処理によってZnMgO表面に結合力の強いSi-O基が形成されるため、酸やアルカリ水溶液に対してエッチングされ易いZnMgOゲート表面の保護に役立つ。シランカップリング処理前後の表面に対して、光電子分光装置および当該研究補助金で購入したフーリエ変換赤外分光光度計を用いて、表面の化学結合状態を調べ、シランカップリング処理に適した条件 (溶媒の種類、シラン分子濃度、処理温度、処理時間) を確立する。

(4) 図2に示すように、上記(3)のプロセスでシランカップリング処理を行った後、架橋剤であるグルタルアルデヒドを用いてグルコース酸化酵素を固定化する。酵素の活性度や活性持続特性を調べるため、アミノアンチピリンとフェノールによる比色測定を行う。また、前項と同様に光電子分光装置とフーリエ変換赤外分光光度計を用いて、表面の化学結合状態を調べ、酵素の固定化に適した条件 (溶媒の種類、酵素濃度、処理温度、処理時間) を確立する。

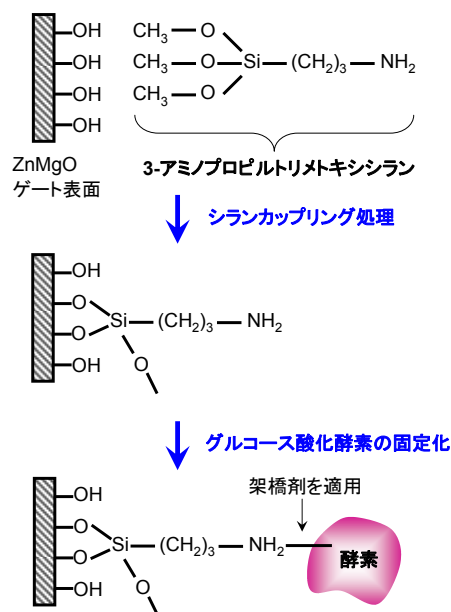


図2 ZnMgOゲート表面へのシランカップリング処理およびグルコース酸化酵素の固定化プロセス。

(5) 上記(4)のプロセスで作製したグルコースセンサに対して、水溶液中に含まれるグルコースの検出感度、検出速度、検出の安定性を調べる。また、ゲート表面に高密度の酵素を化学吸着させるためにゲート表面にZnOナノロッドを形成する技術を、センサの感度を向上させるために素子を微細化する技術を、それぞれ開発する。

4. 研究成果

(1) A面サファイア基板の上に単結晶のZnO/ZnMgOダブルヘテロ構造を作製したところ、ヘテロ界面に二次元電子ガスが形成されていることを明らかにした。この発見は世界で初めてのことで、その後の実験でZnOとZnMgOの自発分極差に基づく内部電界が原因であることも明らかにした。また、ZnO/ZnMgOダブルヘテロ構造の下地層にMg組成の低いZnMgO層を15nm挿入することで、サファイア基板とZnMgOバッファ層の界面に形成される縮退層を経由した電気伝導の抑制に成功した。これにより、二次元電子ガスに基づく電気伝導がより支配的となり、室温で $1 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ の高いシートキャリア密度と $150 \text{ cm}^2/\text{Vs}$ の高い電子移動度が実現した。

(2) 次に、フォトリソグラフィとプラズマエッチング技術を駆使して、ゲート長3mm、ゲート幅5mmの電解質溶液ゲートFETを作製した。図3にゲート表面にシランカップリング処理を施したFETのドレイン電流とドレイン電圧の関係を示す。明瞭なピンチオフと飽和特性を持つデプレッションタイプの特性が得られた。このときの伝達コンダクタンスは 0.1 mS 、ON/OFF比は 10^4 であった。

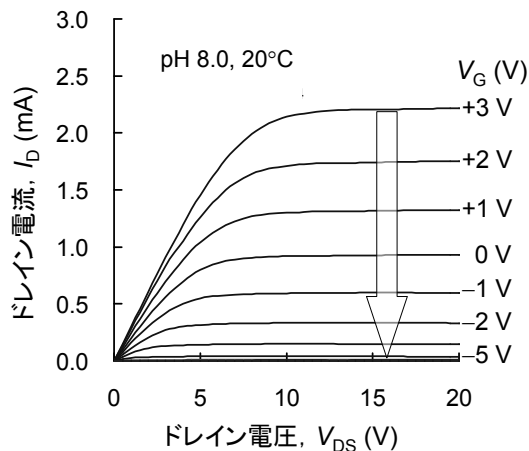


図3 電解質溶液ゲートFETのリン酸緩衝水溶液中における電気特性。

(3) 次に、FETのゲート表面に3-アミノプロピルトリメトキシシラン分子を用いてシランカップリング処理を施した。光電子分光装置、フーリエ変換赤外分光光度計を用いてシランカップリング処理後の表面状態を調べ、シラン単分子膜が形成される最適な条件を見いだした。図4にリン酸緩衝水溶液中にシランカップリング処理を施したFETを浸漬させて、水溶液中のpHを5.51から7.75へ変化させたときのドレイン電流の時間応答を示す。ここで、FETの伝達コンダクタンスが最も大きくなるドレイン電圧とゲート電圧に固定して実験を行った。この図より、pHが増加する度にドレイン電流が素早く減少していることが判る。このときの応答速度は5秒以内であった。pHが増加すると水溶液中の水素イオン（プロトン）の数が少なくなるため、ゲート表面のアミノ基と結合するプロトンの割合が少なくなる。その結果、ゲート表面の電位が減少しドレイン電流が減少したと云える。図4の挿入図にpHとドレイン電流の関係を示す。pHの増加に対してドレイン電流がほぼ線形的に減少していることが判った。以上の実験より、シランカップリング処理を施したFETがpHセンサとして機能することを明らかにした。

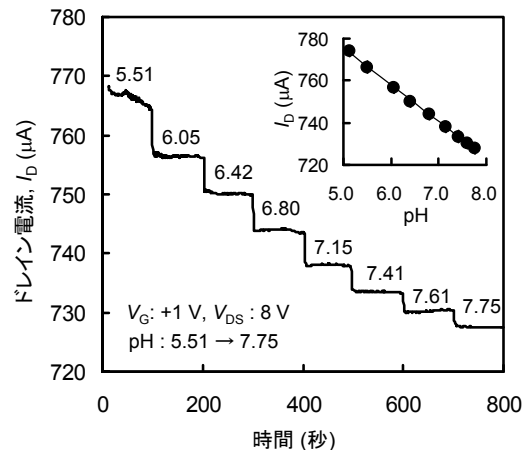


図4 リン酸緩衝水溶液中におけるpHセンシング特性。図中にpHとドレイン電流の関係を示す。

(4) シランカップリング処理後のゲート表面に架橋法でグルコース酸化酵素を固定化した。架橋剤にはグルタルアルデヒドを用いた。前項と同様に、光電子分光装置とフーリエ変換赤外分光光度計を用いて酵素固定化後の表面状態を調べ、高密度の酵素を固定化する条件を見いだした。また、酵素の活性度を調べるために、アミノアンチピリンとフェノールを試薬とする比色測定を行った。この試薬にグルコースが存在すると、酵素反応によってキノン色素（赤）が生成される。その吸光度を調べることで、酵素活性を定性的に

評価した。図5は酵素を固定化したFETをリン酸緩衝水溶液に浸漬し、水溶液中のグルコース濃度を0から 5 mg/cm^3 へ変化させたときの透過スペクトルを示す。グルコースを注入する前は可視光領域で約80%の透明性を保っていたが、グルコースを注入したことで、約505 nmの波長で吸収が起こった。このことから、ゲート表面に固定化された酵素が水溶液中のグルコースと反応してキノン色素が生成されていることが確かめられた。

さらに、酵素活性の持続性を調べるため、比色の測定を繰り返し行った。図6に示すように10回目の測定でも初回と同等の吸光度が得られた。このことから、ゲート表面に固定化された酵素が水溶液中で剥離することなく、その活性が保たれていることが明らかになった。また、図6の挿入図に示すように、0～ 5 mg/cm^3 の広い濃度範囲で濃度と吸光度がほぼ線形の関係であることも明らかになった。

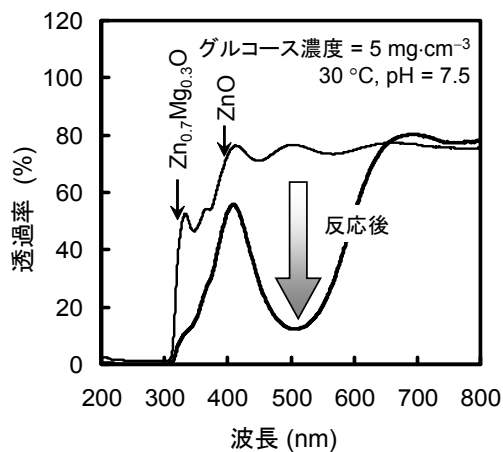


図5 酵素反応前後の透過スペクトル。

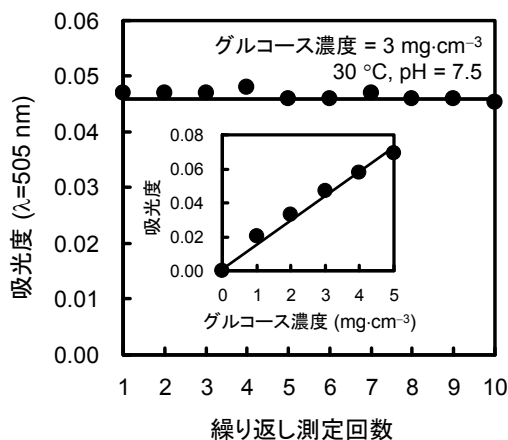


図6 比色の繰り返し測定による吸光度の変化。図中にグルコース濃度に対する吸光度の関係を示す。

(5) 作製したグルコースセンサに対して、水溶液中でのグルコースの検出特性を調べた。図7にpH 7.5のリン酸緩衝水溶液中にグルコースを100秒毎に8回注入したときのドレイン電流の時間応答を示す。グルコースを注入する度にドレイン電流が増大することが判った。これは、ゲート表面に固定化された酵素が水溶液中のグルコースと反応してプロトンが生じ、そのプロトンが酵素の下地にあるアミノ基と結合することでゲートの表面電位が上昇したことを示している。また、応答速度は20秒以内で実用レベルであった。図8にグルコース濃度とドレイン電流の増加量の関係を示す。参考のため図中に食後2時間後の血糖値指標も示した。比色の測定結果と同様に、0から 5 mg/cm^3 の広い濃度範囲でドレイン電流がほぼ線形的に変化していることが判る。5 mg/cm^3 を超えて線形性が失われているのは、酵素反応が活発になって水溶液中の溶存酸素が減少し、酵素反応が抑制されたためである。

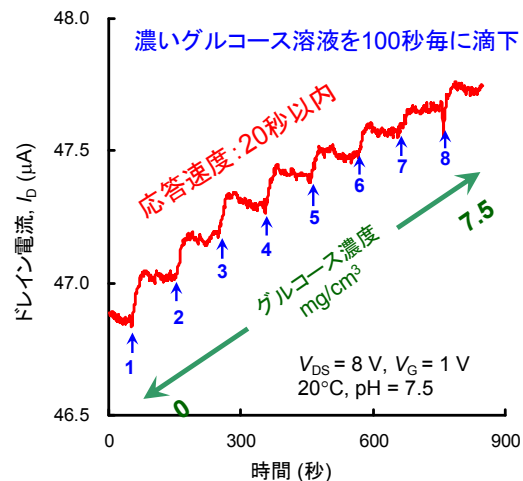


図7 リン酸緩衝水溶液中にグルコースを注入した際のドレイン電流の時間応答。

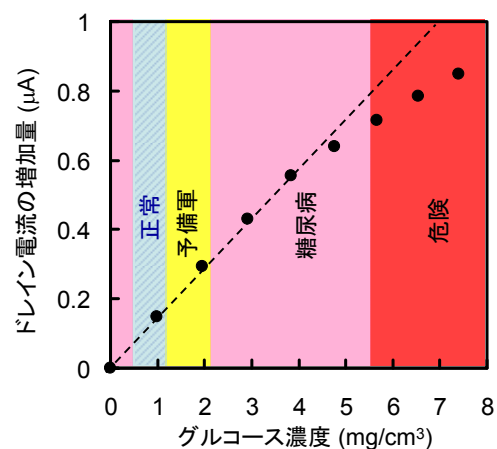


図8 グルコース濃度とドレイン電流の増加量の関係。図中に食後2時間後の血糖値指標を示す。

(6) 最後に、グルコースセンサの感度向上を目指して以下の検討を行った。一つ目はFETのゲート表面により多くの酵素を固定化するために高密度のZnOナノロッドを形成することである。具体的には、硝酸亜鉛六水和物とヘキサメチレンテトラミンを含む水溶液に試料を浸漬させて、95°Cで3時間の加熱処理を行った。その結果、c軸へ配向した直径100nm、高さ1μmのZnOナノロッドが 10^9 cm^{-2} の密度で得られた。二つ目はFET素子を微細化することである。FET素子のゲート幅を保ったまま、ゲート長を狭めることで伝達コンダクタンスを大きくできる。実際にゲート長を3mmから0.1mmに狭めたところ、伝達コンダクタンスを一桁以上大きくすることができた。いずれも、本研究で開発したグルコースセンサの感度をさらに高めることを可能とするものである。今後もグルコースセンサの高性能化を目指して研究を継続する。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計11件)

- ① Kazuto Koike, Daisuke Takagi, Mitsuhiro Hashimoto, Takahito Hashimoto, Tomoyuki Inoue, Ken-ichi Ogata, Shigehiko Sasa, Masataka Inoue, Mitsuaki Yano, Characteristics of an enzyme-based ZnO/Zn_{0.7}Mg_{0.3}O heterojunction field-effect transistor as glucose sensor, Japanese Journal of Applied Physics, 48, pp. 04C081-1 - 04C081-4, 2009, 査読有.
- ② 小池一步、高移動度ZnO/ZnMgO電界効果トランジスタとバイオセンサ応用, 応用物理, 77, pp. 296 - 300, 2008, 査読有.
- ③ Kazuto Koike, Daisuke Takagi, Motoki Kawasaki, Takahito Hashimoto, Tomoyuki Inoue, Ken-ichi Ogata, Shigehiko Sasa, Masataka Inoue, Mitsuaki Yano, Ion-sensitive characteristics of an electrolyte-solution-gate ZnO/ZnMgO heterojunction field-effect transistor as a biosensing transducer, Japanese Journal of Applied Physics, 46, pp. L865 - L867, 2007, 査読有.

[学会発表] (計41件)

- ① Kazuto Koike, Daisuke Takagi, Mitsuhiro Hashimoto, Takahito Hashimoto, Tomoyuki Inoue, Ken-ichi Ogata, Shigehiko Sasa, Masataka Inoue, Mitsuaki Yano, Characteristics of an enzyme-based ZnO/Zn_{0.7}Mg_{0.3}O heterojunction field-effect transistor as a glucose sensor, 2008 International Conference on Solid

State Devices and Materials, Ibaraki, Japan, 2008. 9. 26.

- ② Kazuto Koike, Daisuke Takagi, Motoki Kawasaki, Yoshinobu Nakamura, Yoshiaki Hirano, Shigehiko Sasa, Masataka Inoue, Mitsuaki Yano, Electrolyte gate ZnO/ZnMgO field effect transistors as pH sensors, The 13th International Conference on II-VI Compounds, Jeju, Korea, 2007. 9. 11.
- ③ Kazuto Koike, Daisuke Takagi, Shigehiko Sasa, Yoshiaki Hirano, Yoshinobu Nakamura, Masataka Inoue, Mitsuaki Yano, pH response of a surface-modified ZnO/ZnMgO field-effect transistor in an electrolyte solution, 2007 International Meeting for Future of Electron Devices, Kansai, Osaka, 2007. 4. 24.

[図書] (計1件)

- ① 佐々誠彦, 小池一步, 前元利彦, 矢野満明, 井上正崇, 「酸化亜鉛系トランジスタとその応用」, 八百編: ZnO系の最新技術と応用, シーエムシー出版 (2007) pp. 103-130.

[その他]

ホームページ等

<http://www.oit.ac.jp/japanese/nanotech/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池 一步 (KOIKE KAZUTO)

大阪工業大学・工学部・准教授

研究者番号: 40351457