

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19022

研究課題名（和文）同位体ダイヤモンド超格子薄膜の弾道熱輸送を利用した革新的バイオセンサーの開拓

研究課題名（英文）Development of new biosensors based on phonon transport of isotope diamond thin films

研究代表者

萩 博次（Ogi, Hirotsugu）

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：90252626

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：ダイヤモンドは高い熱伝導率と原子間結合力を有し、この特徴を生かした新しいバイオセンサーの可能性を探索した。こういったダイヤモンドの優れた力学的性質は、炭素の同位体を制御することによりさらに向上する。そこで、¹²Cの炭素と¹³Cの炭素の比率が様々であるダイヤモンドの薄膜を合成し、これに微細加工を施すことに成功した。また、顕微鏡レーザー超音波計測システムを開発し、この微細なダイヤモンド内の超音波や熱の伝播をモニタリングすることに成功し、さらに、表面にリガンド蛋白質を固定化して、標的蛋白質を検出するバイオセンサーの実験を実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難病や感染症などの疾患の早期発見は極めて重要な社会課題であり、また、創薬プロセスにおいても、標的と結合する薬剤物質の高感度・多チャンネル検出技術の進化が望まれている。バイオセンサーはこういった分野において必須のデバイスであり、さらなる高感度化と多チャンネル化が望まれており、本プロジェクトにおいて提案する手法はそういった社会課題を解決し得る革新的な手法であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Diamond shows very high thermal conductivity and sound velocity, and using such outstanding phonon properties, we investigated possibility for development of new highly sensitive diamond biosensors. The phonon properties are further improved by controlling the isotope ratio in diamond. We then established the methodology for synthesizing diamond thin films with various isotope ratio (ratio between ¹²C and ¹³C). We also succeeded in establishing the microfabrication method to obtain a thin free standing diamond chip, on which we immobilized ligand proteins and detected target proteins through the change in the phonon properties.

研究分野：超音波工学

キーワード：ダイヤモンド 同位体 薄膜 バイオセンサー ピコ秒超音波

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌や感染症においては、罹患の早期発見が極めて重要であり、罹患初期に分泌される特定の蛋白質などの生体物質(バイオマーカーと呼ぶ)を検出することにより、治療効果の向上や感染拡大抑制につながる。こういったバイオマーカーの検出にはバイオセンサーが用いられている。申請者はこれまで高感度無標識バイオセンサーの開発に従事してきた。創薬分野においては、生体分子間の親和性を計測することが重要であるが、蛍光標識等を蛋白質に付加すると、本来の親和性が得られないために、無標識計測が高精度の親和性評価において重要となる。代表的な無標識バイオセンサーとして、振動子バイオセンサーに注目し、研究開発を重ねてきた [1]。そして、さらなる高感度化のために、Pt ナノ薄膜のフォノン振動を用いたバイオセンサーを考案した[2]。この際、コヒーレントフォノンだけでなく、熱フォノンの挙動を観測することにより、より高感度に蛋白質検出が行えることに気づいた。そこで、極めて熱伝導率の高いことで知られる 12C 単結晶ダイヤモンド薄膜に注目し、そのフォノン輸送特性の基礎研究およびこれを利用したバイオセンサーの開発を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、ダイヤモンド内の高いフォノン輸送能力を利用して、単結晶ダイヤモンド薄膜に対して微細加工技術を用いた加工を実施し、高感度のフォノンバイオセンサー実験を行うことを目指している。通常のダイヤモンドは約 99% の 12C の炭素と約 1% の 13C の炭素から構成されている。ダイヤモンドの熱伝導率は極めて高いことは良く知られているが、この同位体比を制御することにより、さらなる熱伝導率の向上が見込まれている。本研究では、まず、これら同位体比を制御した単結晶ダイヤモンド薄膜の成膜条件を確立することを目指した。さらに、顕微ピコ秒レーザー超音波法を開発し、これらのダイヤモンド薄膜におけるフォノン輸送挙動を計測するための光学系の開発を実施する。そして、これらのダイヤモンド薄膜に対して微細加工技術の条件を見出し、バイオセンサーチップとして加工する。そして、実際に、超高速フォノン輸送現象を用いた抗体検出実験を実施することを目指した。

3. 研究の方法

顕微のピコ秒レーザー超音波光学系を構築した。波長 800 nm の 2 台のフェムト秒パルスレーザーをシンクロロックシステムにおいて同期させ、1 台をフォノン励起のためのポンプ光用とし、もう 1 台をフォノン検出用のプローブ光用とした。ポンプ光は音響光学結晶により強度変調を与えて、50 ~ 150 倍の対物レンズによりセンサー表面に集光させた。プローブ光は非線形光学結晶により波長を 400 nm としてセンサー表面に集光した。反射したプローブ光を光検出器により検出し、ロックインアンプを介して変調成分を抽出した。フォノンの存在により、プローブ光の反射率がわずかに変化するため、ロックインアンプの出力振幅からフォノンの動的挙動を検出することができる。ステージにより光路長を変化させることにより、ポンプ光とプローブ光の到達時間差を制御して、超高速のフォノン挙動を観察した。

同位体比を制御したダイヤモンド薄膜の成膜は、マイクロ波プラズマ CVD 法により単結晶ダイヤモンド基板に行った。原料ガスを 99.999% の純度の 12C から成るメタンガスと、99% の純度の 13C から成るメタンガスの混合ガスとし、両者の混合比を変えることにより、成膜されるダイヤモンド薄膜内の同位体比を制御した。作製したダイヤモンド薄膜の表面に 10nm 厚さの Pt 薄膜を成膜し、フォノン源とした。

また、ダイヤモンド薄膜内の熱輸送挙動を再現する数値計算を行った。Pt 薄膜、同位体比制御ダイヤモンド薄膜、ダイヤモンド基板からなる層状モデルとし、Pt 表面に面内強度分布がガウス分布であるレーザーが照射された際の熱輸送を解析した。これにより、同位体比制御ダイヤモンド内の熱輸送を正確に評価するための条件を検討した。

また、作製したダイヤモンド薄膜をドライエッチングにより加工する条件を見出した。プラズマガスにより基板であるダイヤモンド部を除去し、センサーとして使用する薄膜ダイヤモンド部分だけを孤立させる加工法について条件を検討した。

さらに、ダイヤモンド薄膜内の熱輸送を現象を用いたバイオセンサー実験を行った。ダイヤモンド薄膜表面に Pt 薄膜を成膜し、リガンドとしてプロテイン A を固定化し、免疫グロブリン G (IgG) を捕捉させ、これによりフォノン輸送に現れる影響を評価した。

4. 研究成果

構築した顕微ピコ秒レーザー超音波法により計測した例を図 1 に示す。上図は、プローブ光の反射率変化の時間変化をしめしている。時刻 0 において、プローブ光とポンプ光が同時に試料表面を照射したため、過渡的な温度上昇にともなって反射率が急激に増加する。その後、熱輸送により表面温度が低下するために反射率変化も低下する。同時に、時刻 0 において弾性波が励起され、薄膜内部に伝播する。この弾性波によりプローブ光が後方に回折され、試料表面で反射されたプローブ光と干渉を起こし、結果、全体の反射率に振動が発生する。この振動をブリルアン振動と呼ぶ。中図は、温度変化にともなう反射率変化を差し引き、ブリルアン振動だけを抽出した図である。この振動周波数からダイヤモンド薄膜内の音速を評価することができる。下図は、ブリルアン振動を除去した場合の反射率変化である。この場合の反射率変化は表面温度の変化を

表している。図1に示すように、超高速で起こるフォノン輸送現象を高い S/N 比において計測することのできる光学系を構築することに成功した。

マイクロ波プラズマ CVD 法において、(001)面を有するダイヤモンド基板上に同位体比を制御したダイヤモンド薄膜を成膜する条件を見出した。原料ガスを 99.999%の純度の ^{12}C から成るメタンガスと、99%の純度の ^{13}C から成るメタンガスの混合ガスとし、両者の混合比を変えることにより、 ^{13}C の比率が 0.001%、25%、50%、74%、99%の単結晶ダイヤモンド薄膜を作製することに成功し、これらの作製条件を見出した[3]。薄膜の厚さとして $3\ \mu\text{m}$ を標準とした。

また、ダイヤモンド薄膜において、その熱輸送の時間発展シミュレーションを行い、正確に、ダイヤモンド薄膜内のフォノン物性評価を行うことのできる最適条件 (Pt 薄膜厚さ、ダイヤモンド薄膜厚さ、熱計測を行う時刻など)を見出すことができた[3]。図2はそういった時間発展データの計算例である。試料表面の温度変化を表しており、実際に観測される温度変化(プローブ光の反射率変化)とよく一致している。

また、プラズマガスにより基板であるダイヤモンド部を除去し、センサーとして使用する薄膜ダイヤモンド部分だけを孤立させる加工する手法を確立した。この結果、例えば、 ^{12}C ダイヤモンドの自立膜センサー要素を開発することに成功した。

さらに、そういったダイヤモンド自立膜センサー要素を用いた抗体検査を行った。ダイヤモンドセンサーチップ表面に Pt 薄膜を成膜し、表面を酸および超純水により洗浄し、カルボキシル基末端を有する自己組織化単分子膜を形成した。そして、カルボキシル基を活性化させて、黄色ブドウ球菌プロテイン A を固定化した。続いて、ウシ血清アルブミンにより未反応の活性化部位をブロッキングした。そして、ウサギ IgG 溶液にセンサーを 1 時間浸漬し、センサー表面に固定化したプロテイン A により IgG を捕捉した。バッファ溶液で洗浄後、顕微ピコ秒超音波光学系に組み込み、センサー部位の熱輸送挙動を計測した。その後、グリシン塩酸バッファ溶液にて洗浄し、IgG を除去した状態で再び光学系に組み込み、フォノン輸送挙動を計測した。こういった実験により、IgG がセンサー表面に捕捉された状態であると、フォノン輸送挙動が影響を受けることが判明した。これにより、新たなバイオセンサー技術の起点となることが期待される。

< 引用文献 >

- [1] H. Ogi, Wireless-electrodeless quartz-crystal-microbalance biosensors for studying interactions among biomolecules: A review, Proc. Jpn. Acad. Ser. B, 89(9), 401-417 (2013).

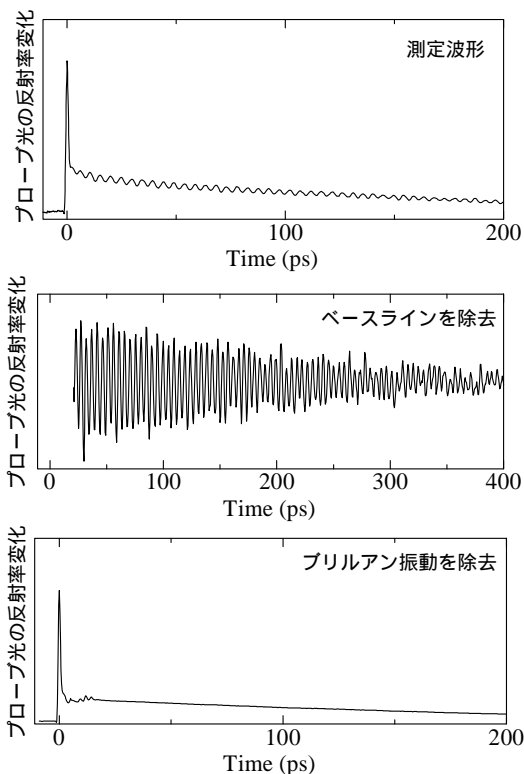


図1 99% ^{13}C ダイヤモンド薄膜試料に対するプローブ光の反射率変化(上)、熱輸送に起因するベースラインを除去してブリルアン振動を抽出した図(中)、ブリルアン振動を除去して熱輸送現象を抽出した図(下)。

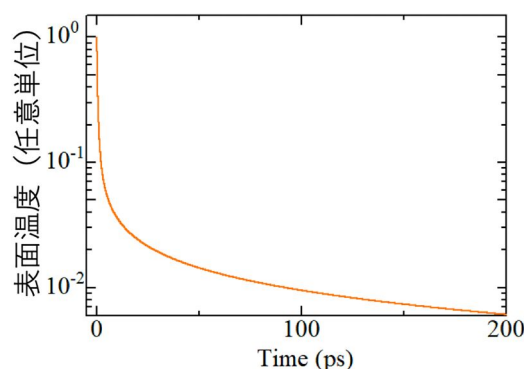


図2 表面温度変化の数値計算結果

[2] H. Ogi, T. Kawamoto, N. Nakamura, M. Hirao, and M. Nishiyama, Ultrathin Film Oscillator Biosensors Excited by Ultrafast Light Pulses, *Biosen. Bioelectron.* 26, 1273-1277 (2010).

[3] H. K. Weng, N. Nagakubo, H. Watanabe, and H. Ogi, Thermal conduction in isotope diamond thin films studied by pump-probe laser reflectivity measurement, *Jpn. J. Appl. Phys.* 59, SKKA04 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 H. K. Weng, N. Nagakubo, H. Watanabe, and H. Ogi	4. 巻 59
2. 論文標題 Thermal conduction in isotope diamond thin films studied by pump-probe laser reflectivity measurement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn. J. Appl. Phys.	6. 最初と最後の頁 SKKA04
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ab7c0f	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hsu Kai Weng, Akira Nagakubo, Hideyuki Watanabe, and Hirotsugu Ogi
2. 発表標題 Phonon propagation in isotope diamond thin films studied by pump-probe laser reflectivity measurement
3. 学会等名 The 40th Symposium on Ultrasonic Electronics（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡邊 幸志 (Watanabe Hideyuki) (50392684)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・エレクトロニクス・製造領域・主任研究員 (82626)	
研究分担者	加藤 史仁 (Kato Fumihito) (70780170)	日本工業大学・基幹工学部・准教授 (32407)	