

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26886004

研究課題名(和文) ナノ流体内光電気効果の解明と、複数一分子操作への応用

研究課題名(英文) Studying optoelectric effects in a nanofluidic space for the application in parallel manipulation of molecules

研究代表者

太田 禎生 (Sadao, Ota)

東京大学・工学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：70731214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ナノ流体デバイス技術に、柔軟に可変な光パターンニング技術を融合させ、ナノ空間内の光電気効果による空間選択的静電場を生成し、水中の生体一分子の非接触操作技術を開発しようとしている。電気二重層の厚みより小さな数百nm以下の流路高さで粒子が自由に動き回れる50～200umの流路幅を持つナノ流体デバイス作製法を開発した。さらに、自在な光パターンを対象に照射できる光電気工学系を実現し、実際に微粒子が光電的に操作できることを検証した。

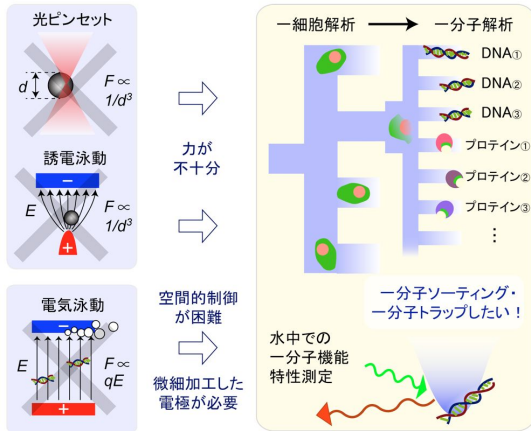
研究成果の概要(英文)：In this research, we are developing a technology for enabling remote and parallel manipulation of biological molecules in water by utilizing spatially localized induction of electrostatic fields in a nanofluidic space. We have developed a simple method of fabricating a device that has a nanofluidic channel with width of 50-200um and with thickness smaller than 100nm, which is smaller than thickness of the electric double layer. Moreover, we developed an optical and electrical setup for projecting arbitrary optical illumination and demonstrated the optoelectric manipulation of small particles.

研究分野：ナノ・マイクロ工学

キーワード：ナノ流体 光電気工学

1. 研究開始当初の背景

近年、一細胞解析技術や次世代 DNA シークエンシング技術の進展により、生体機能の1細胞レベルでの定量的評価が前進し、生命科学や医学を進展させようとしています。今後さらに詳細な一分子レベルでの操作・測定・解析技術が進むことにより、より網羅的な細胞情報解析が可能となると期待されています。従来の微粒子を非接触に操作する技術として、集光したレーザー光を用いる光ピンセットや、交流電場強度勾配を利用する誘電泳動等の技術が確立され、さらに両技術を融合させた技術として、光を選択的に半導体に当てることで、電極間に非常に不均一な交流電場を発生させ、光誘起による選択的な誘電泳動機構を実現する Optoelectronic Tweezers (OET) が開発されました。しかし上記技術群は全て、発生する力の大きさが粒子径に依存することから、水中でより小さな生体一分子を操作するには、十分な力を発生できませんでした。



そこで、本研究では、このような問題点のブレーク・スルー技術として、静電気力の応用に注目しています。静電気力の大きさは、粒子の電荷に依存して粒子径には依存しないため、非常に微小な生体分子の泳動等が可能であり、空間選択的に安定な静電場を生成することができれば、生体一分子の非接触粒子操作技術への応用が期待できます。しかし、一般的に、静電場を発生させる機構において、静電場を打ち消すように、イオン分子が電極面に引きつけられてイオン二重層を形成するため、両電極面で電気分解を起こさず、長時間にわたり一分子を補足・操作することは、原理的に難しいとされてきました。近年、主に米国において、電気二重層の厚みより小さなナノメートルスケールの空間(ナノ空間)内で、表面電荷による静電場を生成するナノ流体技術を用いることにより、静電場の打ち消しを無くし、静電場で生体一分子を操作する試みがなされてきましたが、固定した微細電極を作製する必要がある等の困難から、自在な選択的一分子操作までには至

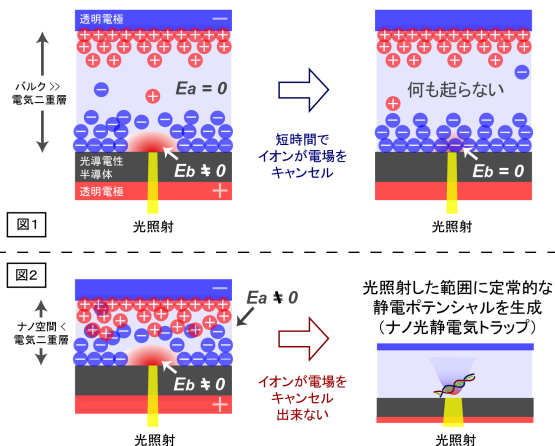
っていません。

2. 研究の目的

本研究は、ナノ流体デバイス技術に可変な光パターニング技術を融合し、ナノ空間内の光電気効果による空間選択的静電場を生成し、水中の生体一分子の非接触操作技術の実現を目指し、その基礎的な実験系構築を行っています。

3. 研究の方法

ナノ空間内の光電気効果による空間選択的静電場を生成するという本案に関して説明します。例えば下図のような、透明電極+光導電性半導体、水、透明電極のシンプルなデバイスの電極間に直流電圧をかけ、光を空間的にパターンして半導体に投影します。すると光を照射された範囲の半導体の抵抗値が下がるため、局所的に半導体表面の電荷分布が変化して、静電ポテンシャルを一時形成します。今までのバルク系においては、この光電気効果で静電場が発生しても直流電圧下で引き付けられたイオン二重層が打ち消してしてしまうため、役に立たないとされてきました(下図1)。一方で申請者は、同様な光誘起の静電場を二重層厚みより小さなナノ流体空間において発生させると、十分なスペースが無いためにイオンが電場を打ち消しきれない可能性に注目しています(下図2)。言い換えれば、局所的に光をパターンするだけで、ナノ流体内に、光電氣的に定常静電ポテンシャルを形成できます。この系を用いれば、一分子を蛍光画像上で認識し、別の光を目的生体分子周辺の半導体表面に当てるだけで、生体分子の熱運動を抑えるに十分大きな静電気力を与えられます。



本手法を実現するため、以下の実験系の開発を行ってきました。

光電気ナノ流体デバイスの開発

ナノ流体空間内で、水中の微粒子を光電気効果によって操作するための光電気ナノ流体デバイスの開発を行いました。まず電気二重層の厚みより小さな100nm以下の流路高さ(半導体表面からの距離)と、粒子が自由に

動き回れる大きな流路幅 (50nm - 200nm) を実現するナノ流体デバイスの開発を行いました。具体的にはまず、カバーガラス表面に、高い導電性を有する透明 Indium Tin Oxide (ITO) 薄膜電極を、スパッタ法により約 50 nm 成膜しました。その上に、光導電性半導体であるアモルファスシリコン膜をプラズマ化学気相蒸着法により約 200 nm 成膜しました。カバーガラス及び成膜後のガラス基板には、RCA 洗浄を施しました。本研究における流体デバイスでは、上面電極は、この ITO 上のアモルファスシリコン膜となり、下面電極は、ITO 電極となります (図 4)。そのため、光導電性の高いアモルファスシリコン膜が必要となり、東北大学の協力を得て実現しました。成膜したアモルファスシリコン膜にレーザー光を照射した場合と照射してない場合で、アモルファスシリコン膜の電気抵抗値を測定し、本研究に十分な光導電性が得られることを確認しました。

次に、本研究の光電気ナノ流体デバイスでは、両電極を平行に、100nm 以下のギャップで配置させることが必要ですが、従来加工手法は、ガラス流路をエッチングしており、高コストだけでなく、デザインの柔軟性を大きく制約してきました。そこで、我々は、非常にシンプルで柔軟なナノ流路加工法を開発しました。具体的には、まず、アモルファスシリコン膜上に、SU8 フォトレジストをスピコートし、光パターンを行います。このフォトレジストパターン成膜したガラス基板を、150 度で加熱しながら、ITO 成膜したガラス基板を対面接触させ、光パターンしたフォトレジストを接着剤兼流路壁として採用することにより、再現性の高いナノ流路構造作製方法を実現しました。さらに、本研究で重要となるのが、フォトレジストパターン膜の厚みを、100nm 以下にすることですが、SU8 2000.5 フォトレジストをシクロペンタン (SU8 シンナー) を用いて、適当な濃度に希釈することにより、100nm 以下の薄膜を得ました。2 枚のガラス基板の対面接着後の画像を図 4 に示します。また、分子が移動する十

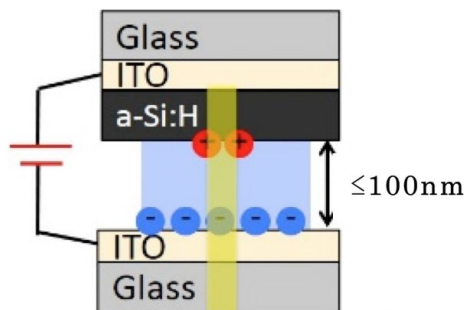


図 3 本研究で作製したナノ流体デバイスの模式図

分な領域を確保するために、流路幅を 50  $\mu\text{m}$  ~ 200  $\mu\text{m}$  となるように作製しました。

デジタル・マイクロミラー・デバイスを用いた光学系の構築

ナノ流体デバイス開発と同時に、デバイス上に所望の光パターンを投影する光学系を構築しました。本研究では、光パターンニングの手法として、デジタル・マイクロミラー・デバイス (DMD) を用いました。DMD は、半導体 CMOS プロセスで作製された集積回路上に、多数の可動式の微小鏡面であるマイクロミラーを、アレー状に配列させた構造を持っており、各ミラーを個別に駆動することにより、投射する光パターンを簡単に制御することが可能です。我々は、この DMD を組み込んだ光学系を構築し (次頁図 5 (a))、2 で開発したナノ流体デバイスおよび電源回路等を組み合わせることで、図 5 (b) に示すように、DMD の光パターンニングで微粒子を操作する光電気ナノ流体デバイス回路の実験系を完成させました。具体的には、波長 488 nm、200mw の CW レーザーを複数のレンズを用いて DMD 上に集光させ、DMD のミラー面で反射した光を、光学顕微鏡に設置された対物レンズを用いて、ナノ流体デバイス上に集光させ、空間的光パターンとして投影しました。ナノ流体デバイス中の微粒子の動きを、カメラを用いて観測しました。また、流体デバイスの電極には、直流電圧および交流電圧を発生させる電源回路を接続しました。

#### 4. 研究成果

評価実験として、本手法を用いて、流路高さ 50 $\mu\text{m}$  程度のマイクロ流体デバイスを作製し、デバイスの電極間に交流電圧をかけることで、直径 30 $\mu\text{m}$  程度のポリスチレンビーズを、光電気効果 (誘電泳動) を利用して操作する実験を行いました。ナノ流路中にポリスチレンビーズと水を投入し、ITO 電極間に 10V、10kHz ~ 200kHz の交流電圧をかけて、レーザー光を照射したところ、レーザーが照射された部分において、選択的にビーズが引き寄せ

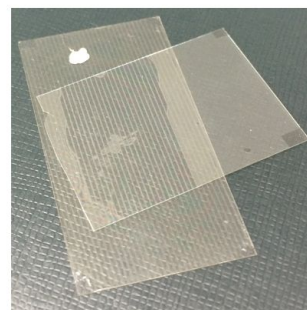


図 4 フォトレジストパターン成膜後のカバーガラスと ITO 基板を対面接着させた流体デバイス

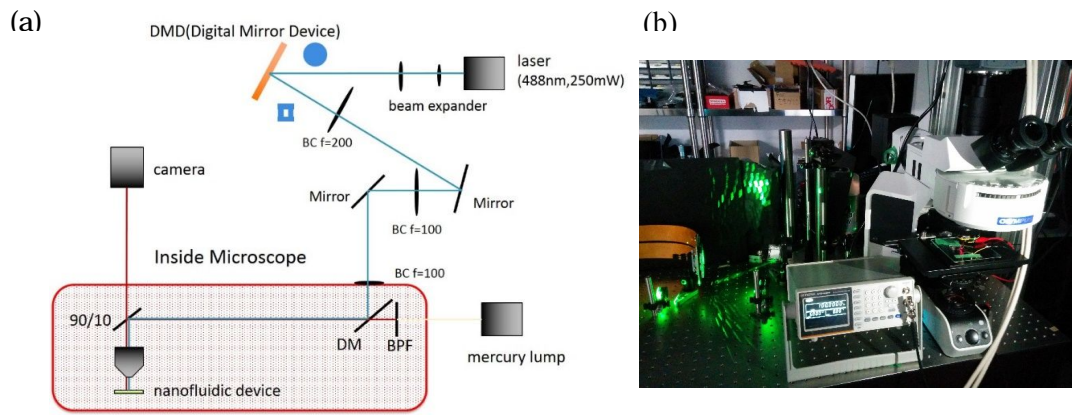


図5 (a) 構築した光学系の概略図 (b)本研究で開発した光電気ナノ流体デバイス回路の実験系全体写真

られる結果を得ています。本研究により開発したデバイス作製法により、光電気効果を用いて微粒子を操作する流体デバイスを作製できたと判断しました。さらに、現在、本手法により作製した流路高さ100nmの光電気ナノ流体デバイスにおいて、電極間に直流電圧を印加し、一生物分子の大きさにより近い直径80nm程度の金ナノ粒子を、レーザーにより誘起された静電気力で操作する実験を進めています。順調に進めば、非侵襲的なりモート操作法として、水中で捕えた生体一分子を、より自然な状態での特性や機能を、光学的に詳細に調べられるようになります。さらに確立した技術を元にナノ流体デバイスと組み合わせ、光パターンに従ってダイナミックに機能する高度な光バーチャルナノ流体回路を実証し、一細胞に含まれる個々の生体分子のハイスループットなソーティング等、バイオテクノロジー応用を目指していきます。

5. 主な発表論文等  
〔その他〕

sadaota.net

6. 研究組織

(1)研究代表者

太田禎生 (SADAO OTA)

東京大学・大学院工学系研究科・客員研究員

研究者番号：70731214