様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ６ 月 １０ 日現在

機関番号：１２３０１
研究種目：若手研究
研究期間：2021～2023
課題番号：２１Ｋ１８０７１

研究課題名（和文）Siナノワイヤの細線化とアスペクト比調整によるウイルス感染超早期診断の実現

研究課題名（英文）Towards the Achievement of Early Diagnosis of Viral Infection through Thinning and Aspect Ratio Adjustment of Si Nanowires

研究代表者
張　慧（Hui, Zhang）

群馬大学・大学院理工学府・助教

研究者番号：８０７９４５８６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、感染初期段階の微量なウイルスを高感度かつ迅速に検出するために、Siナノワイヤ（NW）バイオセンサの構造を最適化することで、理論計算と実験の両面からセンサの検出感度向上の可能性を調査した。また、特異的な生体分子を検出するため、Si表面の処理手法を検討した。各表面処理後のSi表面における化学結合の官能基を測定し、その処理手法が有効であることを確認した。さらに、インフルエンザウイルスの検出評価では、抗原HA1と抗体anti-HA1 IgGの結合反応を利用した抗原HA1の検出実験を行い、HA1濃度の増加に伴うセンサ電流が連続的に減少することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ウイルス感染症の拡大により、感染初期のごく微量な生体分子を高感度かつ迅速に検出する診断ツールの開発が渇望されている。PCR法は低濃度物質の高精度検出が可能ですが、時間と労力がかかるのが課題である。本研究では、高感度化に寄与する要素を理論解析した上で、実験検証により低濃度のインフルエンザウイルス抗原HA1の検出を確認した。この研究成果により、ごく微量な生体分子の検出が可能となり、将来的には画期的な疾病の早期診断技術として貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the potential for high-sensitivity sensing by optimizing the structure of Si nanowire (NW) biosensors to detect viruses in the early stages of infection through both theoretical calculations and experiments. Furthermore, to detect specific biomolecules, we explored Si surface functionalization methods and measured the functional groups of chemical bonds on the Si surface after each treatment. In evaluating influenza virus detection, we conducted experiments to detect the antigen HA1 using the binding reaction between the antigen HA1 and the antibody anti-HA1 IgG, resulting in a continuous decrease in sensor current with increasing HA1 concentration.

研究分野：ナノ電子デバイス、医用システム関連

キーワード：シリコンナノワイヤ　バイオセンサ　構造最適化　電子線描画　高感度　ウイルス検出

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　C－１９、F－１９－１、Z－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

新型コロナウイルスやインフルエンザウイルスなどの急性呼吸器感染症の出現に伴い、感染初期段階での判定と早期治療による重篤化や流行を抑えることが求められている。新型コロナウイルスやインフルエンザウイルス感染の発症初期におけるウイルス濃度は 3-4 $\log_{10}$ copies/mL で、モル濃度に換算するとサブ 10 aM に相当する[D. R. Hijano, *et al.*, PLoS One, 2019 等]。また、鼻水や唾液などの検体を希釈して夾雑物を除去する際には、ウイルス由来のタンパク質濃度も低下するため、高感度で微量な生体分子を検出できるバイオセンサの実現が必要である。申請者はナノ微細加工技術を用いて n 型 Si ナノワイヤ（SiNW）バイオセンサを作製し、SiNW の細線化により濃度 6 aM（1 aM=10^{18} mol/L）の免疫グロブリン G（IgG）の特異的検出に成功した[H. Zhang, *et al.* ACS Appl. Mater. Interfaces, 2020]。そのため、SiNW の構造を最適化することで、生体分子の微量電荷によるチャネル全体の空乏層変化を最大限に誘起することにより、aM 濃度の生体分子の検出が可能かを検証することに着目した。さらに、SiNW 表面処理法の確立及びマイクロ流体チップの作製により、ごく微量なウイルスを高感度かつ迅速に検出可能なセンサの実現を目標とした。

２．研究の目的

本研究は、ごく微量なウイルスを超高感度かつ迅速に検出するための最適な SiNW 構造を提案し、実際の実験では電子線描画法及び反応性イオンエッチング法を用いて提案した構造を持つ SiNW バイオセンサを作製する。また、SiNW の表面修飾法の確立とマイクロ流体チップの作製により、超低濃度のインフルエンザウイルス抗原（HA1）の検出を目的とする。

３．研究の方法

生体分子を高感度かつ迅速に検出するため、理論計算と実験の両面で SiNW バイオセンサの構造（NW 幅、高さ、不純物濃度）と検出感度の依存性を調査し、高感度 SiNW バイオセンサの実現を目指した。東京大学の共同利用設備を利用し、以下の研究項目を実施して研究を推進した。

(1) SiNW バイオセンサ構造の最適化によるセンサ検出感度の評価

COMSOL 有限要素解析法を用いて３次元 SiNW バイオセンサモデルを構築し、SiNW 幅、高さ、不純物濃度のパラメータを変更して、SiNW 表面の電荷密度変化に伴う電気特性の変化を計算した。100 種類の組み合わせ結果から高感度に検出できるセンサ構造を予測した。実際に異なる幅、高さ、不純物濃度を持つ SiNW センサ素子を作製し、センサの電気特性、pH 応答特性などの実験を通してセンサの感度を評価した。

(2) SiNW 表面処理法の確立と化学結合状態の測定

特異的な生体分子を検出するため、Si 表面処理技術の確立は重要である。作製した SiNW センサに表面処理を実施し、X 線光電子分光分析装置を用いて各処理を施した Si 表面の化学結合官能基を測定し、表面処理の有効性を確認した。

(3) インフルエンザウイルス抗原 HA1 の検出

センサの検出感度を評価するため、本研究ではインフルエンザウイルス表面のヘマグルチニン（HA1）をターゲットとし、検出実験を設計した。抗原 HA1 と抗体 anti-HA1 IgG の結合反応を利用して、anti-HA1 IgG を SiNW 表面に修飾した後、抗原 HA1 の検出実験を行った。

４．研究成果

(1) SiNW バイオセンサ構造の最適化によるセンサ検出感度の評価

図 1 は、COMSOL 半導体モジュールにより構築した SiNW バイオセンサの 3 次元モデルを示しており、実際の実験で作製したセンサ構造とほぼ一致している。電極部パッドの寸法と厚さはそれぞれ 1 μm、2 μm、0.1 μm に設定し、SiNWs の長さ、本数はそれぞれ 14 μm、5 本に固定した。SiNW の表面に自然酸化膜と空乏層からなる絶縁領域を設定し、電極間に電圧を印加した。ここでは、SiNW 内部の不純物濃度を 8.5×10^{16} から 5×10^{19} cm^{-3}、NW 幅を 10 から 150 nm、高さを 10 から 30 nm に変化させ、100 種類の組み合わせで特定の表面電荷密度の変化に応じたセンサの電気特性を計算した。これにより、SiNW バイオセンサの幅や高さ及び NW 内部の不純物濃度が検出感度に与える影響を解析して、高い抵抗変化率及び安定した電気特性を持つセンサ構造を予測した。

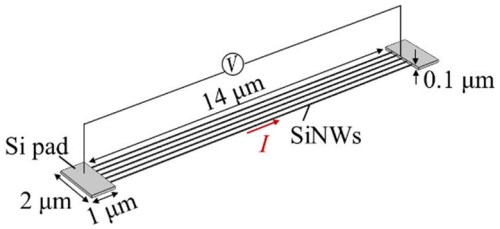

図 1 COMSOL Multiphysics 6.1 で構築された SiNW バイオセンサの三次元モデル

表面電荷密度 7.5×10^{-5} C/m^2 における SiNW 幅、高さ及び不純物濃度とその抵抗変化率の計算結果を図 2 に示す。散布図の赤い点はより高い抵抗変化率を示しており、高感度検出の可能性が高い。これら計算結果から、SiNW 幅、高さ、不純物濃度をそれぞれ 10-20 nm、10-40 nm、8.5×10^{16}-2×10^{17} cm^{-3} 程度に制御することで、生体分子を高感度に検出することが可能であると予測した。また、理論計算の信頼性を確認するため、NW 幅依存性の理論計算結果と、これまでに得た実験結果を比較したところ、一致する傾向が確認できた。

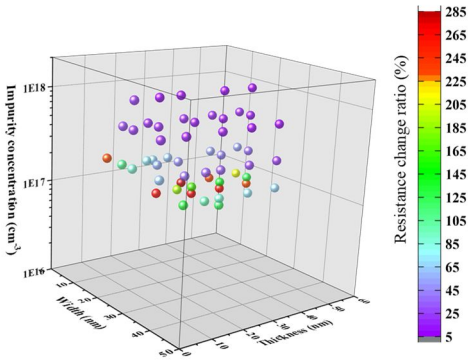

図 2 表面電荷密度 7.5×10^{-5} C/m^2 における SiNW 幅、高さ、不純物濃度と抵抗変化率の依存性の計算結果

実験では、不純物熱拡散とイオン注入の手法を用いて、異なるリン不純物濃度を持つ SOI 基板を作製した。その基板の上にフォトリソグラフィとスパッタリングを用いて電極を形成し、電子線描画装置を用いて電極間にレジスト NW を作製した。ここでは、NW の設定幅、露光量を調整することで、異なる幅の NW を作製した。次に、東京大学共用設備の反応性イオンエッチング装置を用いてレジスト NW を SOI 基板の表面 Si 層へ転写し、SiNW を作製した。最後に、絶縁膜の形成、チップのダイシング、およびデバイスのパッケージングという一連の作業を行い、デバイスを完成させた。センサの FET 特性及び pH 応答特性を測定することで、センサの感度を評価した。図 3 は、SiNW センサの pH 応答の模式図、および NW 幅と不純物濃度依存性の測定結果を示している。図 3(b)の測定結果から、SiNW 幅が細くなると、各 pH 濃度の溶液中で大きな電流変化率が得られることが分かった。図 3(c)には、幅が同じ 30 nm で異なる不純物濃度の SiNW センサを用いた pH 応答の測定結果を示している。この結果から、不純物濃度を抑えることで、より大きな電流変化率が得られるという傾向が見られた。これらの実験結果と理論計算が一致していることを確認した。

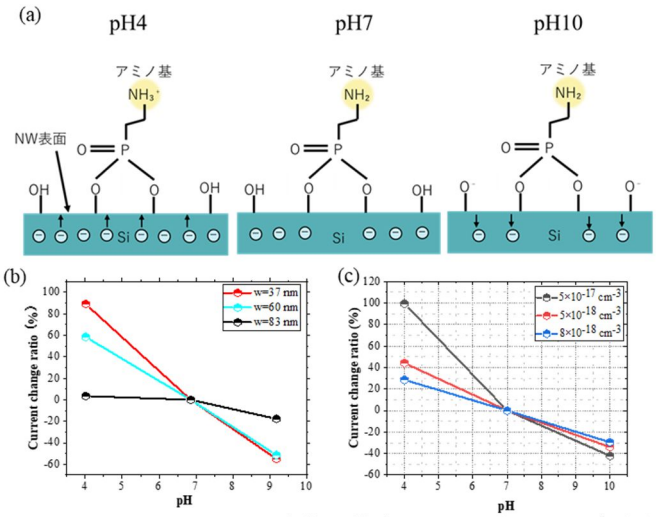

図 3 (a) SiNW センサの pH 応答の模式図；(b)異なる pH 溶液中の電流変化率の NW 幅依存性; (c)不純物濃度依存性(w = 30 nm)

(2) SiNW 表面処理法の確立と化学結合状態の測定

特異的な生体分子を検出するために、センサの表面処理が重要である。センサと生体分子の界面は、検出対象の生体分子と直接的に相互作用する部分であり、その性質が検出感度や特異性に大きく影響する。表面処理後の基板表面の化学結合状態を調べるため、以下の手順で基板の表面処理を行い、X 線光電子分光分析装置（XPS）を使用して Si 表面の化学結合官能基を測定した。まず、基板を濃度 1 mol/L の希塩酸に 30 min 間で浸し、センサの洗浄および親水性の向上を図った。次に、希塩酸で洗浄した基板を UV オゾン処理することでさらに親水性を向上させた。その後、ホスホン酸処理（1 mmol/L, 24 hours）を行った。図 4 に表面処理された基板の XPS 分析結果を示している。図 4 の縦軸は光電子検出器によって測定された光電子の強度、横軸は結合エネルギーを表している。強度が高いほど、その特定の結合エネルギーに対応する光電子の数が多いことを意味し、これにより基板表面の化学結合状態が確認できる。図 4 から、NH_2/NH_{3+}のピークが観察されており、表面処理によってアミノ基が導入されたことが確認できた。これにより、表面処理の有効性を確認した。そして、ホスホン酸処理した基板に抗原 OVA を修飾した上で抗体 anti-OVA IgG の生体分子溶液を導入して、15 min 間を反応させた後、基板表面の酸素（O）、炭素（C）、窒素（N）元

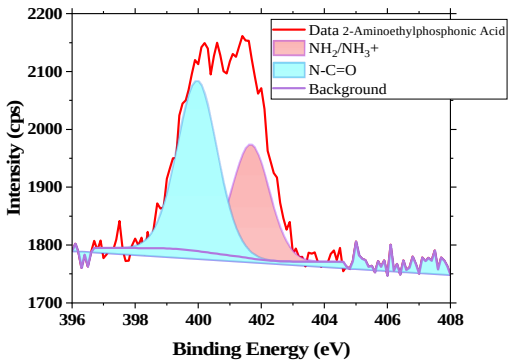

図 4 ホスホン酸処理した基板表面を測定して得られたスペクトル（官能基成分を分析）

素の強度変化を測定した(図 5)。図 5 の測定結果から、生体分子の付着によって、生体分子を構成する元素の強度が大幅に増加したことが確認できた。

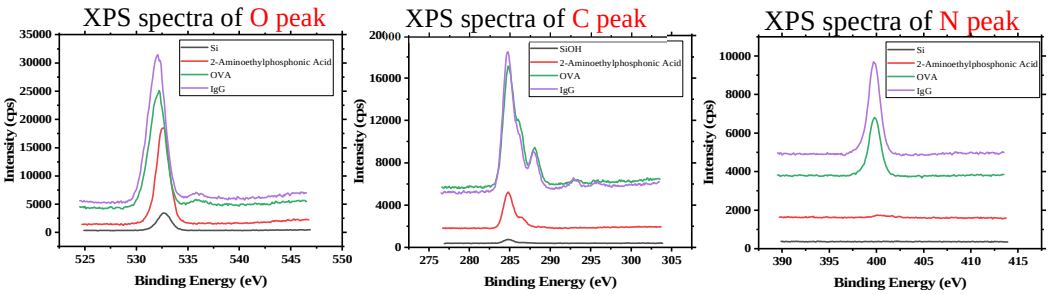

図 5 ホスホン酸処理前後、および OVA 分子と IgG 分子付着後の基板表面における酸素（O）、炭素（C）、窒素（N）元素の密度変化測定結果

(3) インフルエンザウイルス抗原 HA1 の検出

インフルエンザウイルス抗原 HA1 を特異的に検出するため、図 6 に示すように検出実験を設計した。まず、無機材料である SiNW 表面に有機生体分子を修飾するため、ホスホン酸処理を行い、SiNW 表面にアミノ基の自己組織化単分子膜を形成した。その後、抗原 HA1 を特異的に検出するため、アクセプターとして濃度 100 nM の anti-HA1　IgG を SiNW 表面に導入して修飾した。非特異的な結合部位をブロックするために、濃度 1 μM のウシ血清アルブミン(BSA)を使用した。続いて、非特異性を検証するため、濃度 1 μM の卵白アルブミン（OVA）溶液を導入して、センサの電流変化があるかを確認した。その後、濃度 1 aM から 100 nM の抗原 HA1 を低濃度から高濃度の順にセンサ表面に導入して、15 分間反応させ、電流をモニタリングすることで HA1 の検出実験を行った。15 分間の電流モニタリングを測定後、各溶液中の最後 100 s の電流の平均値を計算して、OVA 溶液中の電流を基準として、HA1 の各溶液中のセンサ抵抗率と電流変化率を算出した。

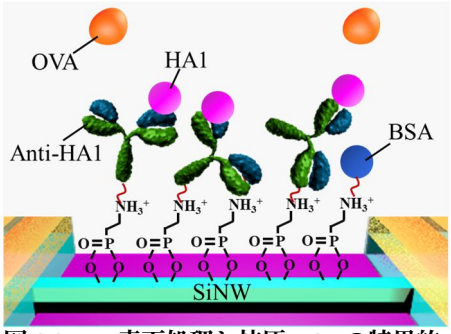

図 6 SiNW 表面処理と抗原 HA1 の特異的検出イメージ図

検出に用いた SiNW の SEM 観察画像、各濃度の生体分子溶液中の電流モニタリング結果、および HA1 濃度に対する抵抗変化率の依存性結果は図 7 に示す。ここでは、幅 29 nm の SiNW センサを使用した。緩衝液 DPBS（pH7.4）溶液中での電流測定により、基準電流を確認した。濃度 100 nM の anti-H1 を SiNW 表面に修飾すると、anti-H1 の付着によりセンサの電流は大幅に減少した。次に BSA 溶液を反応させた結果、電流の減少を確認した。これは BSA 分子によってアミノ基がブロッキングされたためと考えられる。続いて、コントロール実験では、濃度 1 μM の OVA を導入したところ、電流が若干減少した。OVA 溶液（1 μM）中で電流が減少した原因は、アミノ基が完全にブロッキングされていない可能性があると考えられる。その後、ターゲットである HA1 溶液を低濃度から順番に導入し、HA1 濃度の増加に伴って電流の連続的な減少が確認できた。電流モニタリング結果から算出した抵抗・電流変化率の HA1 濃度依存性を図 7(c)に示す。HA1 濃度 1 aM の溶液中では約 10%の抵抗変化率が得られ、濃度の増加に伴って抵抗変化率が連続的に増加し、濃度 100 nM の溶液中では約 55%まで増加した。この実験結果から、低濃度の HA1 の検出を確認した。

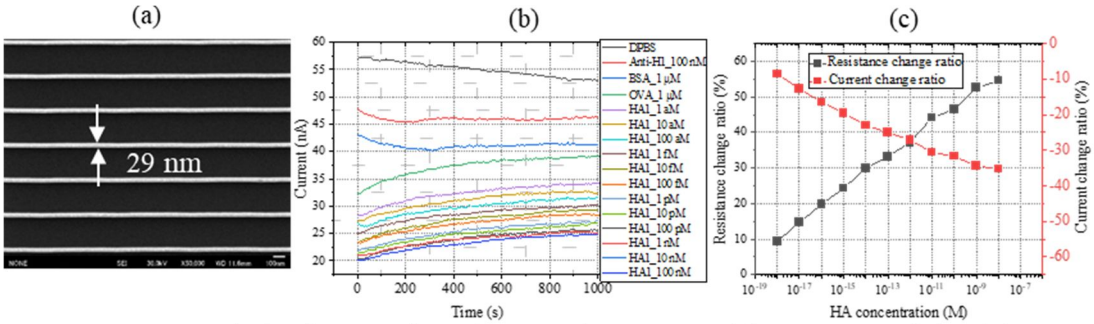

図 7 (a) SiNW の SEM 観察画像；(b)生体分子検出の電流モニタリング結果； (c)HA1 濃度の増加に伴うセンサの抵抗・電流変化率

謝辞: 本研究は、科研費のご支援の他に、文部科学省「マテリアル先端リサーチインフラ」事業の「東京大学微細加工拠点」（課題番号 JPMXP1222UT1054, JPMXP1223UT1017）も利用して実施しました。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計3件（うち査読付論文　3件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　1件）

１．著者名 Zhang Hui、Qiu Yawei、Osawa Fumiya、Itabashi Meiko、Ohshima Noriyasu、Kajisa Taira、Sakata Toshiya、Izumi Takashi、Sone Hayato	４．巻 15
２．論文標題 Estimation of the Depletion Layer Thickness in Silicon Nanowire-Based Biosensors from Attomolar-Level Biomolecular Detection	５．発行年 2023年
３．雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	６．最初と最後の頁 19892-19903
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsami.3c00202	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 －

１．著者名 Hui Zhang, Mayuna Abe, Fumiya Osawa, Yawei Qiu, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi, and Hayato Sone	４．巻 63
２．論文標題 The possibility of ultrasensitive detection of biomolecules using silicon nanowire biosensor with structural optimization	５．発行年 2024年
３．雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	６．最初と最後の頁 03SP85 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ad2b19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 Hui Zhang, Fumiya Osawa, Haru Okamoto, Yawei Qiu, Zhiheng Liu, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi, and Hayato Sone	４．巻 8
２．論文標題 Anti-influenza A H1N1 Hemagglutinin Monoclonal Antibody Using Silicon Nanowire Field Effect Biosensors	５．発行年 2025年
３．雑誌名 ACS Applied Bio Materials	６．最初と最後の頁 1038-1049
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsabm.4c01263	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11件（うち招待講演　1件／うち国際学会　5件）

１．発表者名 邱 亜威，新井 出海，板橋 芽比子，大澤 郁弥，大嶋 紀安，和泉 孝志，張 慧，曾根 逸人
２．発表標題 電子線描画法を用いた超高感度 Siナノワイヤバイオセンサの作製と特性評価
３．学会等名 量子生命科学先端フォーラム 2021冬の研究会
４．発表年 2021年

１．発表者名
新井 出海，邱 亜威，板橋 芽比子，大澤 郁弥，大嶋 紀安，和泉 孝志，張 慧，曾根 逸人

２．発表標題
高感度Siナノワイヤバイオセンサ作製のための最適なドーピング濃度の探求

３．学会等名
量子生命科学先端フォーラム 2021冬の研究会

４．発表年
2021年

１．発表者名
Hui Zhang, Yawei Qiu, Fumiya Osawa, Meiko Itabashi, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi, Hayato Sone

２．発表標題
Investigation of Thinning Effect on Sensitivity of Silicon Nanowire Biosensor for Ultra-Sensitive and Specific Biomolecule Detection

３．学会等名
35th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2022)（国際学会）

４．発表年
2022年

１．発表者名
張慧，邱亜威，板橋芽比子，大澤郁弥，大嶋紀安，坂田利弥，和泉孝志，加治佐平，曾根逸人

２．発表標題
Siナノワイヤバイオセンサの細線化による生体分子の高感度・特異的検出の実現

３．学会等名
量子生命科学先端フォーラム 2022冬の研究会

４．発表年
2022年

１．発表者名
板橋芽比子，邱亜威，大澤郁弥，大嶋紀安，和泉孝志，張慧，曾根逸人

２．発表標題
電子線描画法によるp型およびn型SiNWの作製とFET特性評価

３．学会等名
量子生命科学先端フォーラム 2022冬の研究会

４．発表年
2022年

１．発表者名
張慧，邱亜威，大澤郁弥，大嶋紀安，加治佐平，坂田利弥，和泉孝志，曾根逸人

２．発表標題
Siナノワイヤバイオセンサ空乏領域の推測による高感度化要因の解明

３．学会等名
第84回応用物理学会秋季学術講演会

４．発表年
2023年

１．発表者名
大澤郁弥，張慧，邱亜威，板橋芽比子，大嶋紀安，加治佐平，坂田利弥，和泉孝志，曾根逸人

２．発表標題
Siナノワイヤバイオセンサ電気特性と検出感度の幅及び極性依存性

３．学会等名
第84回応用物理学会秋季学術講演会

４．発表年
2023年

１．発表者名
Hui Zhang, Mayuna Abe, Fumiya Osawa, Yawei Qiu, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi and Hayato Sone

２．発表標題
The Possibility of Ultrasensitive Detection of Biomolecules using Silicon Nanowire Biosensor with Structural Optimization

３．学会等名
36th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2023)（国際学会）

４．発表年
2023年

１．発表者名
Hui Zhang, Fumiya Osawa, Haru Okamoto, Yawei Qiu, Zhiheng Liu, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi, and Hayato Sone

２．発表標題
Ultrasensitive Specific Detection of Anti-influenza A H1N1 Hemagglutinin Monoclonal Antibody Using Silicon Nanowire Field Effect Biosensors

３．学会等名
37th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2024)（国際学会）

４．発表年
2024年

１．発表者名
Hui Zhang, Fumiya Osawa, Yawei Qiu, Haru Okamoto, Zhiheng Liu, Noriyasu Ohshima, Taira Kajisa, Toshiya Sakata, Takashi Izumi, and Hayato Sone

２．発表標題
Design and Development of Silicon Nanowire Biosensor with Enhanced Sensitivity and Specificity for Biomolecule Detection

３．学会等名
Gunma International Symposium 2025 on Biomolecular Science and Membrane Application (GIS2025)（招待講演）（国際学会）

４．発表年
2025年

１．発表者名
Fumiya Osawa, Hui Zhang, Yawei Qiu, Noriyasu Ohshima, Toshiya Sakata, Taira Kajisa, Takashi Izumi, and Hayato Sone

２．発表標題
Enhancing Detection Sensitivity of Si Nanowire Biosensor Through Controlled Channel Impurity Concentrations

３．学会等名
Gunma International Symposium 2025 on Biomolecular Science and Membrane Application (GIS2025)（国際学会）

４．発表年
2025年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕
https://researchmap.jp/huizhang
http://nano-bio.ei.st.gunma-u.ac.jp/

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
研究協力者	曾根　逸人 (Sone Hayato)		

6．研究組織（つづき）

	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
研究協力者	大嶋　紀安 (Ohshima Noriyasu)		
研究協力者	和泉　孝志 (Izumi Takashi)		

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関