

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2015～2016
課題番号：15K17450
研究課題名(和文) ナノ構造体を用いたピコワット熱量センサ

研究課題名(英文) Picowatt thermal sensor using nanostructure

研究代表者
猪股 直生 (Inomata, Naoki)
東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：40712823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：VOxの加工方法を確立し、実際にVOxの任意形状機械振動子を作製し、その共振周波数温度係数(TCRF)とQ値を評価した(-1308ppm/K, 約500程度)。高感度化に重要な高いTCRFを得るために、Si薄膜による両もち梁の共振熱センサを有するチップ型計測デバイスを作製し、評価した(TCRF:1900ppm/K, 熱分解:79uK&1.90nW)。単一褐色脂肪細胞の熱計測にも成功した。また、VOxサーミスタによる熱計測デバイスも作製し、評価した(熱分解能:0.3mK/Hz)。グルコースとコレステロールによる発熱反応の検知に成功し、各々の濃度分解能は各々30, 15uM/Hzであった。

研究成果の概要(英文)：The fabrication process of VOx mechanical resonators was established: then, the VOx resonator was fabricated and evaluated the temperature coefficient of resonant frequency (TCRF) and Q factor (TCRF:-1308 ppm/K, Q: approximately 500). To obtain the high TCRF which is important parameter for high thermal sensitivity, a microfluidic chip thermal detection device having Si double-supported resonator was fabricated and evaluated (TCRF: 1900 ppm/K, thermal resolution: 79uK&1.90nW). The thermal measurements of a brown fat cell was succeeded using this device. Also, the thermal detection device using a VOx microthermistor was fabricated and evaluated (thermal resolution: 0.3mK/ Hz). The device could detect the heat generation of glucose and cholesterol solutions. The minimum detectable concentration was 30, 15uM/ Hz in glucose and cholesterol, respectively.

研究分野：マイクロナノ電気機械工学

キーワード：熱センサ 酸化バナジウム MEMS 機械振動子

1. 研究開始当初の背景

近年、医薬品分野において、動物実験の代替案として細胞を用いた方法が提案されている。その方法には、倫理的な問題をクリアすることももちろん、「ヒトの細胞を使用することで直接人間に対する効能を評価ができる」「任意の実験環境を設定しやすい」「経費や時間の短縮できる」といった利点がある。医薬品分野にて評価される項目は「細胞の正常/異常」である。創薬分野では新規薬品の効能を評価する際に、医学分野では特に再生医療において iPS・ES 細胞の問題点と言われている細胞のがん化や異常を発見する際に、細胞を用いた評価方法が大きく貢献することが期待される。異常細胞は通常細胞と比較して明らかに発熱量が増大する傾向にある。細胞のがん化や、インフルエンザウイルス感染により細胞の温度が上昇することも報告されている。つまり、細胞の異常はその発熱をモニタリングすることによって発見が可能であり、細胞一つ単位でそれを行うことで異常が生じる過程の詳細なメカニズムの解明につながる。さらに、細胞一つでモニタリングすることで、異常細胞の発見や分別に要する時間の大幅な短縮が可能になる。一般的なバルク計測は技術として確立している半面、集団細胞群での平均的なデータしか取得できない、培養する必要があるため結果が出るまでに時間を要するといった問題がある。単一細胞レベルの熱計測に関する報告はいくつかあるものの、各手法において各々長所短所があり、その熱分解能は最小で 25 nW と単一細胞の発熱に対して十分ではなかった

2. 研究の目的

研究代表者はこれまで高感度熱計測デバイスを開発し、単一褐色細胞用の熱量計測に成功した。本研究では、さらに発熱量の小さい一般細胞の発熱を計測し、正常、不活性、異常といった細胞の活性状態を単一細胞レベルで定量的に評価することを目指し、可能であればピコワット($p(10^{-12}W)$)の熱分解を持つ超高感度熱計測デバイスの開発を目的とする。本研究で提案するデバイスが実現すれば、単一細胞単位での熱計測を通して、異常(ウイルス感染やがん化)の評価を定量的に行うことで、細胞異常の詳細なメカニズムが解明できる。さらにそれらの発見、分別の効率化が可能になり、パンデミック時に迅速な対応が求められる創薬や iPS, ES 細胞を用いる再生医療をはじめとする医薬品分野での大きな寄与が期待できる。

3. 研究の方法

高感度熱量センサの設計、作製、評価、応用を行う。本センサは、試料から共振型センサへ流入した熱量によるセンサの温度上昇、それに伴う共振周波数変化を元にして熱量を計測する。センサのサイズが小さいほど、流入熱に対する温度変化が大きくなり、高感

度化できる。このセンサの材料としてナノ材料である酸化バナジウム(VO_x)を用いることで、これまでと同じサイズの Si 共振型熱センサよりも感度が 2 桁上昇することが期待できる(1)。

当時、平面上に VO_x を加工する方法は確立されつつあったが、振動子等の任意形状の浮遊構造に加工する研究は報告されていなかった。浮遊構造にするためには犠牲層が必要になり、 VO_x はダメージを受けず、特定の物質に対してのみエッチングできる材料を使用する必要がある。その最適な材料の組み合わせ、加工方法を確立する。また、高感度熱センシングにおいて、試料からセンサへの熱流過程における熱損失を低減する必要がある。研究代表者らは従来研究を踏襲して、マイクロ流体チップ内を用いて、真空領域内に熱センサを、マイクロ流路内に試料台を設けることで、液中試料の発熱を高効率でセンサに伝達するシステムを用いる。このマイクロ流体チップに、 VO_x 振動子を組み込むことを検討する(図 1)。

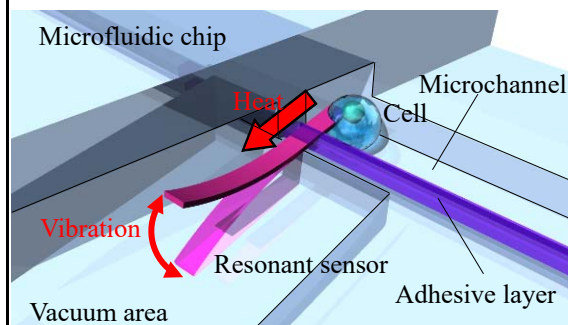


図 1. デバイスの概念図

4. 研究成果

(1) デバイス作製方法の確立

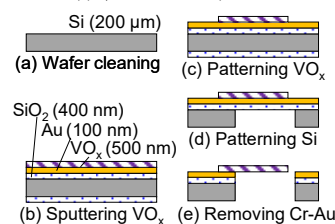


図 2 VO_x 振動子の作製プロセス

任意厚さのシリコン(Si)基板上に、犠牲層を製膜し、その上に酸化バナジウム(VO_x)を製膜した(図 2(a)(b))。フォトリソグラフィと CF_4/O_2 プラズマエッチングを用いて、 VO_x を振動子形状にパターニングした(図 2(c))。その後、振動子形状下の Si 基板を反応性イオンエッチングにより除去し(図 2(d))、ウェットエッチングにより犠牲層を除去し、超臨界 CO_2 を用いて乾燥させた(図 2(e))。犠牲層は各々 Au と SiO_2 を用いた手法に成功した。作製した VO_x 振動子の SEM 画像を図 3 に示す。

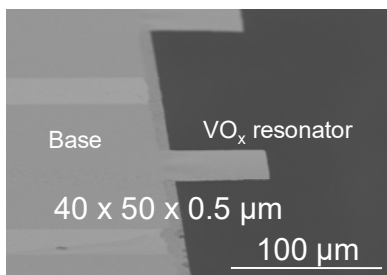


図3 作製されたデバイスの電子顕微鏡像

(2)デバイスの評価

作製した VOx 振動子の共振周波数と Q 値の温度依存性を評価した。振動子を真空チャンバに入れ、加振は圧電アクチュエータ、温度制御はペルチェ素子を用いて行った。振動スペクトルはレーザドップラ振動計とロックインアンプを用いて取得した。この時の真空度は約 4Pa であった。振動子の共振周波数と Q 値を室温～100℃の温度範囲で計測した(図 4)。共振周波数は温度上昇につれて 1308ppm/K の割合で減少し、ヒステリシスは観察されなかった。Q 値も温度上昇につれて若干(2.5%/K)ほど減少したが、大きなヒステリシスはなかった。VOx 片持ち梁振動子の共振周波数温度係数-1308ppm/K は、Si のそれ(-34.9ppm/K)と比較すると 37 倍大きく、高感度化の可能性を示すことができた。ただし Q 値に関しては絶対値自体が 500 程度と大きくはなかった。熱機械ノイズを元に VOx 振動子の熱分解能を算出すると、1.69mK/√Hz, 4.3nW/√Hz となった。これは同一サイズ同一測定環境の Si 振動子のそれら(2.56mK/√Hz, 143nW/√Hz)よりも優れた値であった。

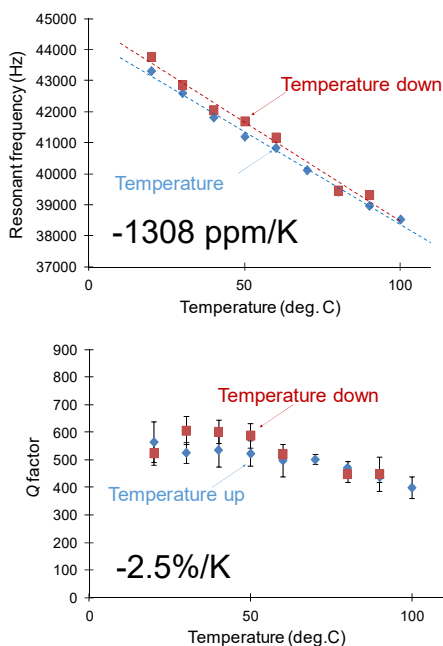


図4.VOx 振動子の共振周波数と Q 値の温度依存性

(3)VOx 振動子のマイクロ流体チップ内封入

VOx 振動子とガラス製マイクロ流体チップの接合はポリマーを接着層として用いることで可能と当初は計画していた。しかし、振動子を固定する領域の面積が小さく、また、この面積を大きくすると試料センサ間の伝熱効率が下がるため、この計画を非常に困難であることが判明した。そのため、下記の通り、計画を変更し、各々に関して記述する。

(4) VOx マイクロサーミスタを用いたマイクロ流体チップ型熱計測デバイス

このデバイスは、マイクロ流路型の熱計測デバイスとして一般的である SiN 薄膜浮遊構造上に VOx マイクロサーミスタを作製し、フォトリソで流路を作製したものである。同一流路中に 2 つの VOx サーミスタを設け、一方の上にはのみ酵素を含ませたシリカゲルを設置する。他方は参照センサであり、シリカゲルを有するセンサの信号と差分をとるブリッジ回路を構成することでバックグラウンドノイズを除去する。デバイスの概念図を図 5 に、微細加工技術を用いて作製したデバイスの SEM 像を図 6 に示す。

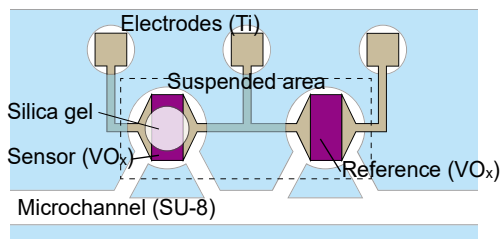


図 5. VOx サーミスタ型デバイスの概念図

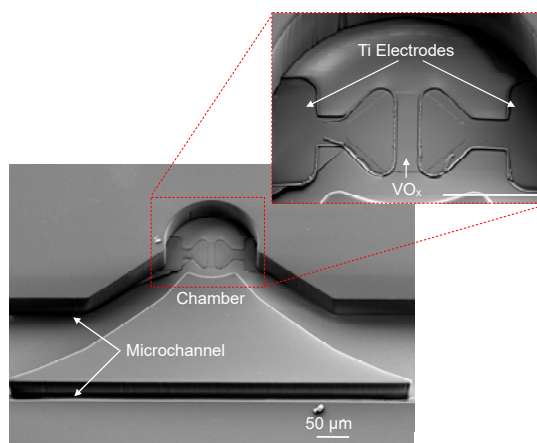


図 6. 作製した VOx サーミスタ型デバイスの SEM 像

このサーミスタの電気抵抗温度係数を計測したところ、20-45℃で-1.3%/K、45-80℃で-0.8%/K であった。また、室温でデバイスの出力信号を得、FFT で各周波数におけるノイズの大きさを解析すると 1.7mV/√Hz であり、理論的な熱分解能は 0.30 mK/√Hz となった。

次に作製したデバイスに対して、濃度の異なるグルコース溶液とコレステロール溶液

を流し、温度変化を電圧変化としてモニタリングした。出力信号は 1000 倍増幅した。2.0mM, 5.0mM, 8.0mM のコレステロール溶液と DI 水を各々流した際の出力行号の変化を観察した(図 7, 8)。なお、各々の溶液を流入後(次の溶液流入前)は DI 水でマイクロ流路の洗浄を行った。コレステロール、グルコースの各濃度において、濃度が大きいほど、出力信号の増加速度が速かった(図 8,9)。特にグルコースに着目すると、本デバイスは血中濃度 (90-200mg/dL) のみならず、尿中 (2-200mg/dL) のグルコースも推定可能であることがわかる(図 10)。図 7 において観察された最大電圧とノイズを元に濃度分解能を算出するとコレステロールで $30 \mu\text{M}/\sqrt{\text{Hz}}$ 、グルコース $15 \mu\text{M}/\sqrt{\text{Hz}}$ に相当する。

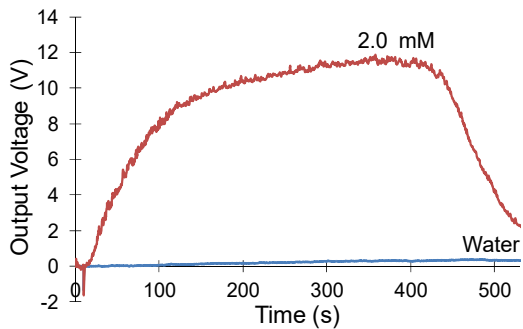


図 7. 2.0m コレステロール溶液を用いた長時間観察結果

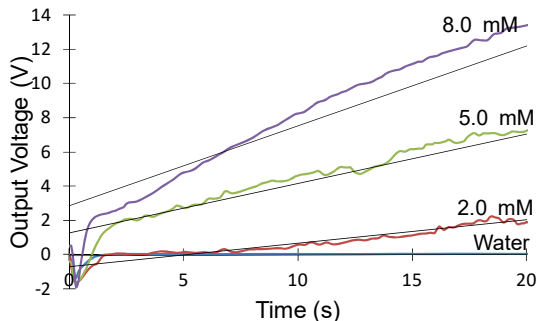


図 8. 各コレステロール濃度における計測結果

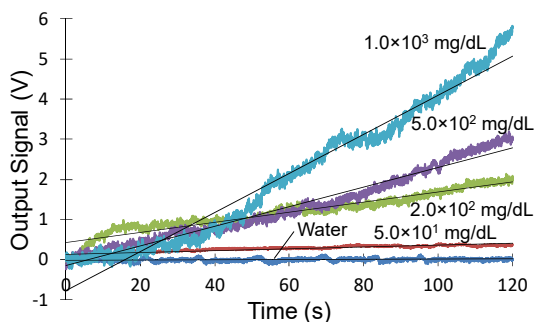


図 9. 各グルコース濃度による計測結果

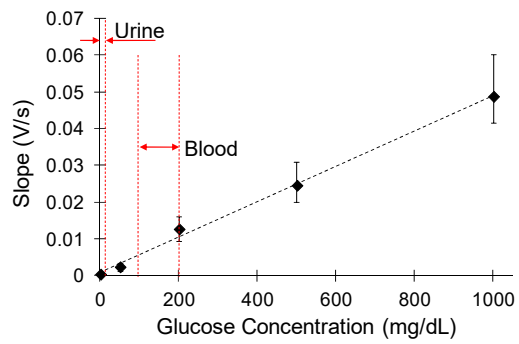


図 10. グルコース濃度と出力信号(V/s)の関係

(5) Si 両もち梁振動子を用いたマイクロ流体チップ型熱計測デバイス

共振型熱センサの高感度化において、共振周波数温度係数を上昇させることが 1 つの改善案である。ここでは Si の形状を片持ち梁から両持ち梁にすることで共振周波数温度係数を上昇させることを述べる。振動子の形状を両もち梁にすることで熱応力による共振周波数変化が大きくなる(2)。そこで従来の Si 片持ち梁振動子を用いたマイクロ流体チップ型熱計測デバイスを発展させ、振動子を両もち梁に変更したデバイスを検討した(図 11)。作製方法は文献(3)に記載された手順と同様である。

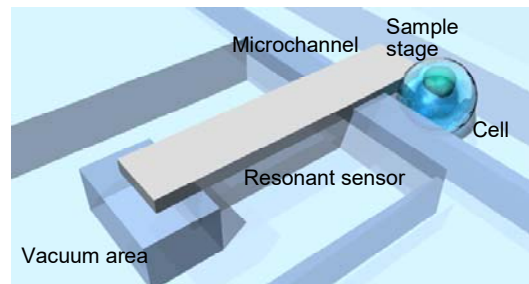


図 11. Si 両もち梁共振熱センサを用いたマイクロ流体チップ型熱計測デバイスの概念図

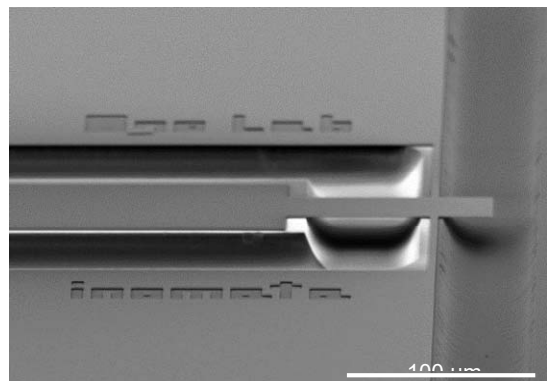


図 12. 作製されたデバイスの SEM 像

この Si 両もち梁振動子デバイスの共振周波数温度係数を測定した。振動子を真空チャンバに入れ、加振は圧電アクチュエータ、温度制御はペルチェ素子を用いて行った。振動スペクトルはレーザドップラ振動計とロックインアンプを用いて取得した。この時の真空

度は約 4Pa であった。振動子の共振周波数と Q 値を 20-80°C の温度範囲で計測した。共振周波数変化が線形となる 30-60°C の範囲における共振周波数温度係数は -1900ppm/K となった(図 13)。自励発振させ、短期の周波数揺らぎを計測すると、0.15ppm であった。これらの結果を元に温度熱分可能を算出すると、79 μ K, 1.9nW となり、Si 片持ち梁の温度分解能 0.68mK より優れていることがわかる。この両もち梁型デバイスを用いて単一褐色脂肪細胞の熱計測を行ったところ、ノルエピネフリン刺激なしの状態ではパルス状の急峻な温度上昇が定期的に観察された一方、不活性化させたものからはそのような信号は観察されなかった(図 14)。

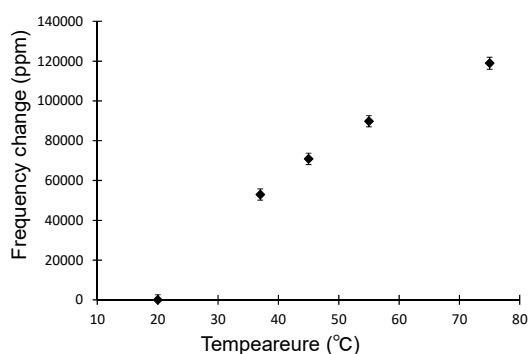


図 13. 共振周波数の温度依存性

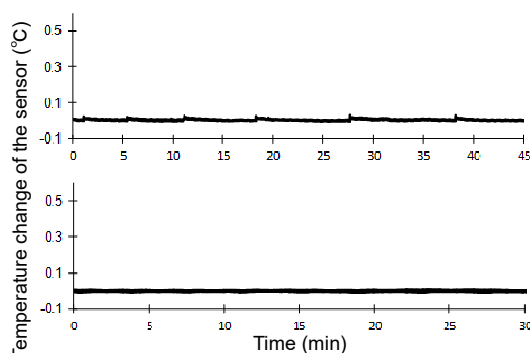


図 14. 単一褐色脂肪細胞の熱計測(上:通常状態, 下:不活性化させた状態)

本研究では、

- ① VO_x を用いた機械振動子の作製手法を確立し、共振型熱センサとしての性能を評価した。片持ち梁形状の場合、共振周波数温度係数は -1308ppm/°C であった。
- ② VO_x を用いたマイクロサーミスタをマイクロ流体チップ内に設け、生体分子(グルコース, コレステロール)の濃度計測を行った。このデバイスの濃度分解能はコレステロールで 30 μ M/ $\sqrt{\text{Hz}}$, グルコース 15 μ M/ $\sqrt{\text{Hz}}$ に相当し、人の血中だけでなく、尿中のグルコース濃度も検知することも可能な値であった。
- ③ Si 両持ち梁を用いた熱計測デバイスを作製した。その共振周波数温度係数は -1900ppm/K であり、熱分解能は 79 μ K, 1.9nW であった。このデバイスを用いて、単一褐色

脂肪細胞の熱計測を行い、発熱の観察に成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[発表論文] (計 3 件)

- ① N. Inomata, L. Pan, M. Toda, T. Ono, “Temperature-depended mechanical properties of microfabricated vanadium oxide mechanical resonators for thermal sensing”, Japanese journal of applied physics, 55, 37201 (2016)
- ② N. Inomata, L. Pan, Z. Wang, M. Kimura, T. Ono, “Vanadium oxide thermal microsensor integrated in a microfluidic chip for detecting cholesterol and glucose concentration”, Microsystem Technologies (2016)
- ③ N. Inomata, M. Toda and T. Ono, “Highly sensitive thermometer using a vacuum-packed Si resonator in a microfluidic chip for the thermal measurement of single cells”, Lab on a chip, 16, 3597-3603 (2016)

[学会発表] (計 5 件)

- ① 猪股直生, 潘立葆, 戸田雅也, 小野崇人, “酸化バナジウムを用いた共振型マイクロ熱量センサ”, 第 32 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2015 年 10 月 28 日-30 日, 新潟
- ② L. Pan, N. Inomata, Z. Wang, M. kimura, T. Ono, “Biosensor using VO_x microresistance thermometer”, 第 32 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2015 年 10 月 28 日-30 日, 新潟
- ③ N.inomata, L. Pan, Z. Wang, M. Kimura, T. Ono, “Biosensor using vanadium oxide microthermistor”, 28th International microprocesses and nanotechnology conference (MNC2015), 2015 年 11 月 10 日-23 日, 富山
- ④ N.inomata, L. Pan, M. Toda, T. Ono, “Microfabricated vanadium oxide resonant thermal sensor with a high temperature coefficient of resonant frequency”, the 29th IEEE International conference on microelectromechanical systems (MEMS2016), Jan 24th-28th, 2016, Shanghai, China.
- ⑤ N. Inomata, T. Ono, “Geometry dependence of temperature coefficient of resonant frequency for resonant thermal sensors”, 29th International microprocesses and nanotechnology conference (MNC2016), 2016 年 11 月 8 日-11 日, 京都

<引用文献>

- ① A. Holsteen, I. S. Kim, and L. J. Lauhon, Nano Lett. 14, 1898 (2014).
- ② C. Cabuz, Ph.D. Thesis, Graduate School of

Engineering, Tohoku University, Sendai (1994).

- ③ N. Inomata, M. Toda, M. Sato, A. Ishijima, and T. Ono, Appl. Phys. Lett. 100, 154104 (2012).

6. 研究組織

(1)研究代表者

猪股 直生 (INOMATA, Naoki)

東北大学大学院工学研究科・助教

研究者番号：40712823