

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：32407

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01420

研究課題名(和文) 送液ポンプを集積化した無線駆動型高周波水晶振動子バイオセンサの開発

研究課題名(英文) High-Frequency Wireless Quartz Crystal Microbalance Biosensor Integrated with Feed Pump into a Single Chip

研究代表者

加藤 史仁 (Kato, Fumihito)

日本工業大学・基幹工学部・准教授

研究者番号：70780170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：微細パタン転写技術を用いてシリコン樹脂製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップを開発し、水晶表面に非特異吸着したプロテインAをレセプタとして、免疫グロブリンGの捕捉と解離を連続的に行い、バイオセンサとしての有用性を示した。センサチップに逆止弁を形成し、圧電素子を組み合わせることで、センサチップと送液機構の集積化デバイスを開発し送液に成功した。センサチップとの直接接合による集積化を想定した磁性流体シール型スラスト軸受け内蔵小型ポンプを提案し、磁性流体が剥離することなく送液可能な革新的ポンプを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した“シリコン樹脂製の無線駆動水晶振動子バイオセンサチップ”は、従来の3層基板(Glass/Si/Glass)を用いて製作するチップでは困難であった『水晶振動子を微細流路中に装填し常温でパッケージする』ことを可能にし、タンパク質捕捉実験を通じて、バイオセンサとしての有用性を示したことは、学術的に意義があると考えられる。また、本研究で開発した“圧電素子とセンサチップを組み合わせた送液機構集積型デバイス”と、“磁性流体をシール材とするスラスト軸受けを内蔵した小型ポンプ”は、既存の水晶振動子バイオセンサシステムの小型化に大きく貢献しうる要素技術であり、社会的に意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The wireless quartz crystal microbalance biosensor chip made of silicone by using pattern transfer technology was developed. And then, using the protein A non-specifically adsorbed on the quartz crystal surfaces as the receptor, the immunoglobulin G was continuously captured and dissociated, and its usefulness as a biosensor was demonstrated. According to combining the sensor chip, which has the check valves formed in the microchannel, and the piezoelectric element, the sensor chip and the liquid supply mechanism were integrated, and then feeding the pure water by the integrated device was successful. I proposed the small-sized pump with built-in magnetic fluid seal thrust bearing, which is designed for integration by directly bonding with the sensor chip, and then developed the innovative pump that can transfer the liquid without the magnetic fluid seal peeling.

研究分野：医用システム

キーワード：バイオセンサ 小型ポンプ 集積化 水晶振動子 無線駆動 ナノインプリント 磁性流体シール 直接接合

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌やアルツハイマー病などの重大な疾患の早期発見や免疫治療薬の創薬における有効なツールの1つに、水晶振動子バイオセンサがある。申請者は、既存の水晶振動子バイオセンサに半導体微細加工技術を適用し、高感度化(高周波化)に取り組み、世界最高周波数(500MHz以上)で発振する無線駆動型高周波水晶振動子バイオセンサチップを開発した。

このセンサチップを使用した分析では、既製品の大型送液ポンプを使用するため、センサチップは小型(20mm×5mm×0.7mm)であるが、分析システム全体は大規模となり、操作も煩雑である。そのため、患者の傍らや医療現場において、簡便かつ迅速な検査・診断を可能にする小型で高感度な分析システムが求められている。

2. 研究の目的

本研究では、無線駆動型高周波水晶振動子バイオセンサチップと送液機構を集積化した小型医用分析システムの実現を目指し、その要素技術を構築する。小型医用分析システムを実現することで、使用場所やオペレータのスキルに依存しない分析が可能となることから、患者が横たわるベッドの傍らや自宅で、誰もが簡便かつ迅速に高感度な検査・診断が行えるようになる。

3. 研究の方法

(1) シリコン樹脂(Poly(dimethylsiloxane)(PDMS))を使用して、ナノインプリントリソグラフィにより、無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップを試作する。また、製作したセンサチップを使用し、タンパク質の捕捉実験を通じて、バイオセンサとしての有用性を評価する。

(2) 製作したセンサチップに改良を加え、微細流路の途中に、溶液を溜めるチャンバ部と逆止弁を形成した新規センサチップを試作し、バイモルフ型圧電素子を組み合わせることで、送液機構を集積化した無線駆動水晶振動子バイオセンサチップを開発する。

(3) PDMSと直接的に接合可能な樹脂材料を使用して、3Dプリンタにより部品を製作し、小型ポンプを試作する。本ポンプは、送液ロータとステータの間に、スラスト軸受けを取り付け、スラスト軸受け内部への溶液進入や軸受けから溶液への摩擦粉混入を防ぐ目的で、磁性流体シール機構を採用する。

(4) 3Dプリンタの材料として広く使用されている樹脂のABSやアクリルに加えて、ポリカーボネートやポリスチレン、ポリ塩化ビニルに対して、大気プラズマ処理技術を用いて、PDMS基板と直接的に接合可能な条件を見出す。

4. 研究成果

(1) PDMS製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップを開発した(Fig.1)。本センサチップは、永久膜用ネガ型レジスト(SU-8, 日本化薬社)で製作した樹脂モールドを使用して、ナノインプリントリソグラフィによって製作した(Fig.2)。従来の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップは、水晶振動子を微細流路中に装填した後、陽極接合で封止していた。その結果、350-450℃の加熱が必要となるため、水晶振動子の表面に、高温で変性するレセプタ材料(生体分子材料など)を前もって固定化しておくことができなかつた。しかし、本プロセスを用いることで、常温における水晶振動子の封止が可能となるため、従来の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップの課題を改善できた。

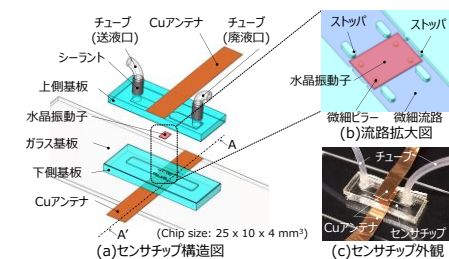


Fig. 1 PDMS製無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップ

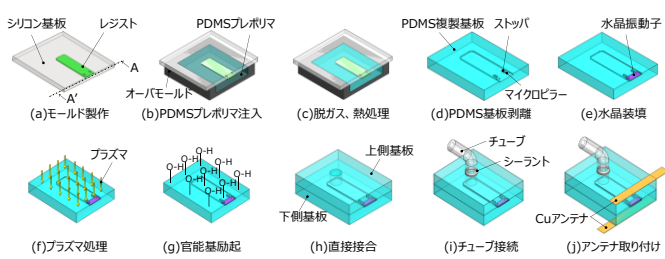


Fig. 2 ナノインプリントリソグラフィによる無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップ製作プロセス

製作したセンサチップを使用して、バイオセンサとしての有用性を評価した。微細流路中に濃度 0.1mg/ml のプロテイン A (SPA) 溶液を注入することで、水晶表面に SPA を非特異吸着し、その後、濃度 10mg/ml の牛血清アルブミン溶液 (BSA) を注入しブロッキングした。純水を送液することで洗浄しつつ共振周波数を計測した。安定してベースラインが得られた後、タンパク質の捕捉・解離実験を行った。濃度 10 μg/ml のウサギ免疫グロブリン G (R-IgG) 溶液を注入すると共振周波数は変化し、その後、純水の送液による洗浄を行ってもベースラインに戻ることはなかつた。つまり、非特異吸着した SPA

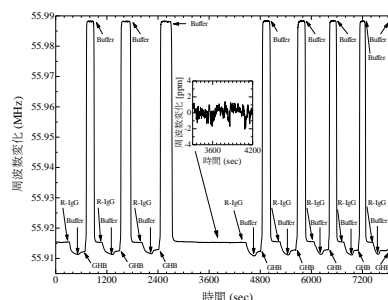


Fig. 3 SPAを介したR-IgGの捕捉・解離実験

をレセプタとして、R-IgG を特異的に捕捉できたことを示している。その後、グリシン塩酸緩衝溶液 (GHB) を送液し、SPA と R-IgG の特異的結合を解離し、純水の送液により洗浄すると、共振周波数は、ベースラインへと戻った。こうした一連の捕捉・解離反応を連続的に 8 回実施し (Fig. 3)、反応曲線と解離曲線から、親和性パラメータ (反応定数、解離定数、平衡定数) を同定し、先行研究結果と比較したところ、同等の結果が得られた。これは、開発した PDMS 製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップが、生体分子反応をリアルタイムかつ非標識に測定可能であることを示している。本成果は、投稿論文 (F. Kato *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* 57, 07LD14 (2018)) で発表した。また、Fig. 1-Fig. 3 は、当該論文に掲載した内容を含む。

(2) PDMS 製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップの製作方法に改良を加えて、送液機構を集積化したセンサチップを開発した (Fig. 4)。微細流路の途中に、円形の溶液溜めチャンバ部を形成し、その上部にバイモルフ型圧電素子をシリコンシーラントで固定した。また、微細流路の途中二箇所逆止弁を形成した。バイモルフ型圧電素子を 20Hz で駆動することで、送液口から廃液口へと純水を送液することに成功した。溶液溜めチャンバ部中において、気泡が含まれた状態にあると送液されなかったため、前もって溶液溜めチャンバ部中に純水を満たし、送液実験を実施したところ、問題無く純水の送液が行えた。しかし、流速が安定しない課題が明確となったことから、今後、逆止弁の構造や圧電素子の形状に関する検討が必要と考える。本成果は、国際会議 (F. Kato *et al.*, *Proceedings of the 28th Anniversary World Congress on Biosensors*, P3.072) で発表した。また、Fig. 4 は、当該予稿に掲載した内容を含む。

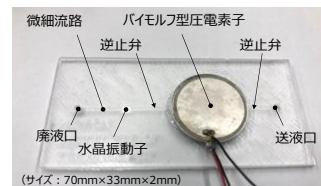


Fig.4 送液機構集積化無線駆動水晶振動子バイオセンサチップ

(3) 開発したセンサチップの基材が PDMS であることに着目し、接着剤等の接合媒体を必要とせず PDMS と直接接合が可能とされる樹脂材料 (アクリル) を用いて、電磁駆動小型ポンプを開発した。本小型ポンプを構成する送液ロータ、ステータは、3D プリンタを使用して製作した。送液ロータとステータとの間に設置したスラスト軸受けは、磁性流体を用いたシール機構を採用している。Fig. 5 は、小型ポンプ外観と内部構造、磁性流体シール機構を示している。Fig. 6 は、製作した小型ポンプの外観である。送液ロータ回転速度 500min^{-1} における流量は、 $2\text{ml}/\text{min}$ であり、生体分子反応をリアルタイムに計測するうえで十分な流量を得た。また、この時、磁性流体が剥離することなく、溶液がスラスト軸受け内部へ進入することもなかった。回転速度 $600\text{--}1000\text{min}^{-1}$ では、スラスト軸受け内部への溶液進入を生じたが、磁性流体が剥離することはなかった。この問題については、磁性流体を保持するリングネオジム磁石間距離の縮小や磁性流体を保持する面積の拡大で改善できるものと考えられる。Fig. 7 は、送液ロータ回転速度と廃液口における圧力の関係を示している。回転速度が増加するにつれて、圧力は線形に増加しており、特異点等を含むことなく、良好な送液が可能である。このように、磁性流体シール機構を用いたスラスト軸受けを内蔵する小型ポンプは、本研究推進者の知る限り、例を見ない。PDMS 製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップとの直接接合による集積化を通じて、今後、小型医用分析システム実現に大きく貢献するものと考えられる。本成果は、投稿論文 (F. Kato *et al.*, *Sensor. Mater.* 31, 3173 (2019)) で発表した。また、Fig. 5-Fig. 7 は、当該論文に掲載した内容を含む。

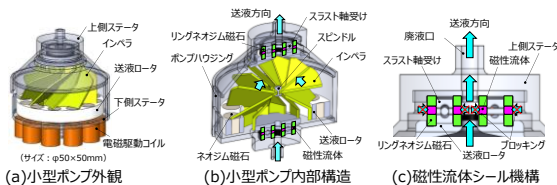


Fig.5 磁性流体シール型スラスト軸受け内蔵電磁駆動小型ポンプ

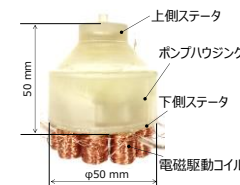


Fig.6 製作した小型ポンプ外観

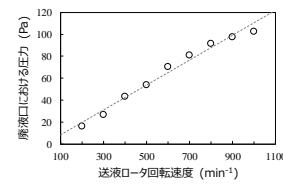


Fig.7 ロータ回転速度と廃液口圧力の関係

(4) 3D プリンタの材料として広く使用される ABS やアクリルと加工が容易で安価なポリカーボネートやポリスチレン、ポリ塩化ビニルの計 5 種類の樹脂基板と PDMS 基板の直接接合を可能にする表面処理条件を見出した。プラズマクリーナ (PDC-001, Harrick Plasma 社) を用いて、各基板に対して大気プラズマを照射することで表面に官能基が励起し、基板同士を貼り合わせると水素結合する。各樹脂の軟化開始温度よりも低温で加熱することで脱水反応を促し、酸素原子を介した共有結合を得る。こうしたプロセスにより、PDMS 基板と 5 種類の樹脂基板との直接接合が可能となった。直接接合試験片に対して、剥離試験を行ったが、接合界面での剥離はなかった (Fig. 8)。引張り強度を次第に増加させた際、PDMS 基板 (厚さ 0.8mm) が接合されていない部分で破断を生じた。本結果は、PDMS 基板と 3D プリンタで製作した樹脂部品の直接接合が可能であることを示唆している。PDMS 製の無線駆動型水晶振動子バイオセンサチップと 3D プリンタで製作した磁性流体シール型スラスト軸受け内蔵電磁駆動小型ポンプを直接接合によって集積化することで、小型医用分析システムの実現に大きく貢献するものと考えられる。

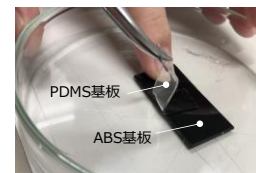


Fig.8 PDMS基板とABS基板の剥離試験

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kato Fumihito, Oshida Naoya, Sato Yu, Masumoto Noriyasu, Zhang Xiaoyou	4. 巻 31
2. 論文標題 Electromagnetically Driven Micropump with Magnetic-fluid-sealed Thrust Bearing Contributing to Miniaturization of Medical Analytical Sensor Systems	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 3173 ~ 3188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2019.2437	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 Kato Fumihito, Noguchi Hiroyuki, Kodaka Yukinari, Oshida Naoya, Ogi Hirotsugu	4. 巻 57
2. 論文標題 Wireless poly(dimethylsiloxane) quartz-crystal-microbalance biosensor chip fabricated by nanoimprint lithography for micropump integration aiming at application in lab-on-a-chip	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 07LD14-1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/JJAP.57.07LD14	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Yu Sato, Noriyasu Masumoto, Fumihito Kato, Hirotsugu Ogi
2. 発表標題 Fundamental study on optimization of microchannel structure with respect to wireless PDMS-QCM biosensor
3. 学会等名 The 40th Symposium on UltraSonic Electronics (USE2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumiya Kawashima, Noriyasu Masumoto, Fumihito Kato
2. 発表標題 Optimum arrangement of micro-pillars and sidewalls for wireless PDMS-QCM biosensor chip
3. 学会等名 6th International Conference on Bio-Sensing Technology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Oshida, Noriyasu Masumoto, Fumihito Kato, Zhang Xiaoyou
2. 発表標題 Electromagnetic Drive Micropump Having Thrust Ball Bearing with Magnetic Fluid Seal for Biomedical Applications
3. 学会等名 The 1st Emerging Technologies in Mechanical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 押田 直也, 増本 憲泰, 加藤 史仁, 張 暁友
2. 発表標題 PDMS-QCMチップとの集積を想定した磁性流体シール型電磁駆動ポンプの開発
3. 学会等名 第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 押田 直也, 増本 憲泰, 加藤 史仁, 張 暁友
2. 発表標題 磁性流体シール型スラスト軸受けを用いた電磁駆動小型ポンプの開発
3. 学会等名 2018年 第65回 応用物理学会 春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小高 廉斉, 酒井 悠希, 有賀 峻, 小塚 俊哉, 野口 裕之, 加藤 史仁, 荻 博次
2. 発表標題 ポリジメチルシロキサンを用いたナノインプリント技術による無線・無電極水晶振動子バイオセンサチップの開発
3. 学会等名 第34回 「センサ・マイクロマシンと応用システム」 シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Fumihito Kato, Hiroyuki Noguchi, Jun Kishinami, Chihaya Kimura, Taichi Kobayashi, Takumi Kobayashi, Keita Komori, Hirotsugu Ogi
2. 発表標題 Sequential Detection of Immunoglobulin G via Nonspecific Adsorbed Staphylococcal Protein A Using PDMS Quartz Crystal Microbalance Sensor
3. 学会等名 The 38th Symposium on UltraSonic Electronics (USE2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Oshida, Noriyasu Masumoto, Fumihito Kato, Zhang Xiaoyou, Hirotsugu Ogi
2. 発表標題 Fundamental Study of Magnetic Drive Micropump for Integration of Quartz Crystal Microbalance Sensor
3. 学会等名 The 38th Symposium on UltraSonic Electronics (USE2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究者情報データベース 研究者情報 研究業績 https://www.nit.ac.jp/gakka/subject/kyoin6/me_katou.html</p>
--

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