

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月22日現在

機関番号：34406

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22760306

研究課題名（和文）ヘルスケア用免疫センサーの開発

研究課題名（英文）Development of immunosensors for healthcare

研究代表者

小池 一步（KOIKE KAZUTO）

大阪工業大学・工学部・准教授

研究者番号：40351457

研究成果の概要（和文）：酸化亜鉛系の溶液ゲート電界効果トランジスターを用いたラベルフリーの免疫センサーを試作した。当該センサーは Ta_2O_5 溶液ゲート表面にアプタマー分子を修飾しており、ヒト血清由来の免疫グロブリン G に対して高い感度と応答性を示した。

研究成果の概要（英文）：A prototype label-free immunosensor based on a ZnO solution-gate field-effect transistor with an aptamer-modified Ta_2O_5 gate surface was developed. The sensor showed a sensitive and rapid response to human immunoglobulin G.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：薄膜成長と新機能デバイス応用

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：酸化亜鉛，五酸化タンタル，溶液ゲートトランジスター，pHセンサー，アプタマー，免疫グロブリン，免疫センサー

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病を煩う患者の数が増加している今日、生活者自身が健康状態を管理する必要性が増している。その中で、少量の血液で簡便かつ正確に健康指標マーカーを検出する使い捨てタイプのバイオセンサーに注目が集まっている。研究代表者は、2006～2008年に科研費若手研究（B）の研究代表者として、生体適合性に優れた酸化亜鉛（ZnO）を用いて血中の糖を検出するバイオセンサーの開発に従事した。そこで得た ZnO の成膜、溶液ゲート電界効果トランジスター（SGFET）の微細加工、タンパク質固定化の技術を活かして、本研究課題である FET

タイプの免疫センサーの開発に着手した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、血液・リンパ液中に含まれる健康指標マーカーである免疫グロブリン G（IgG）を高速・高感度に検出する免疫センサーを開発することである。当該センサーは生体・環境調和性の高い Ta_2O_5/ZnO ヘテロ構造膜を用いた SGFET（トランスデューサ部）とヒト血清由来の免疫グロブリン G（IgG）と特異結合する核酸分子アプタマー（分子識別部）より構成される。

3. 研究の方法

以下の手順で研究を実施した.

(1)高周波マグネトロンスパッタ装置を用いてガラス基板上に多結晶 Ta_2O_5/ZnO ヘテロ構造膜を作製する. 成膜時に供給する酸素とアルゴンガスの流量や基板温度ならびにチャンバー内の圧力を最適化して, 高品質な膜を形成する.

(2)伝導層である ZnO 膜と絶縁層である Ta_2O_5 膜の厚みをそれぞれ最適化する. ZnO 膜に n 型不純物であるインジウム (In) をドーピングして伝導性を得る. Ta_2O_5 膜の絶縁性と電解液に対するエッチング耐性を調べ, 溶液ゲート材料としての適性を調べる.

(3)作製したヘテロ構造膜に対して, プラズマエッチングとフォトリソグラフィを組み合わせて, SGFET 素子を加工する. ここで, ソースとドレイン電極の保護膜にはネガ型のエポキシ系レジスト SU-8 を採用する. また, 大きな伝達コンダクタンスを得るために, 素子の微細化と電極の接触抵抗低減を図る.

(4)作製した SGFET 素子の電流-電圧特性および pH 検出特性を調べ, 免疫センサーへの展開を図る.

(5)溶液ゲート表面にアミノシラン分子を固定化し, 末端のアミノ基にヒト血清由来の IgG 抗体と特異結合する核酸分子アプタマーを架橋法で固定化する. アプタマーの分子量は IgG 抗体の約 1/20 と小さいため, 検出対象である IgG 抗体が溶液とゲート絶縁膜の界面に形成される電気二重層内で結合する. その結果, 高い検出感度と応答性が期待できる.

(6)試作したセンサー素子 (図 1) の動作特性を調べ, IgG 抗体に対する感度や応答性を調べる.

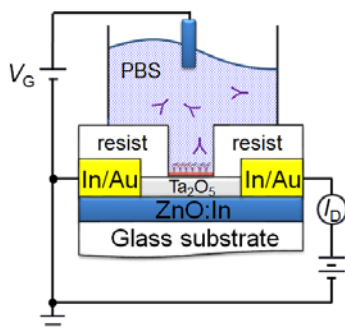


図 1 ZnO 系 SGFET を用いた IgG 免疫センサーの模式断面図と測定セットアップ. 溶液ゲート表面に IgG アプタマーを固定化.

4. 研究成果

以下に研究成果を時系列で述べる.

(1)膜への損傷が抑えられる対向ターゲットスパッタ法を採用し, 酸素とアルゴンガスの流量およびチャンバー内圧力を最適化して, $300^{\circ}C$ 加熱したガラス基板上へ $Ta_2O_5/ZnO:In$ を連続成膜した. 膜に対してX線回折測定を行ったところ, c 軸配向した多結晶の $ZnO:In$ 膜の上に非晶質の Ta_2O_5 膜が形成されていることが判った.

(2) $ZnO:In$ 膜と Ta_2O_5 膜の厚みを最適化し, それぞれ35 nmと6nmとした. Ta_2O_5 膜については, リン酸緩衝溶液に長時間浸してもエッチングされず, 絶縁性を保つことが確かめられた.

(3) $Ta_2O_5/ZnO:In$ ヘテロ構造膜をSGFET素子へ微細加工した. $ZnO:In$ 伝導層に直接ドレインとソース電極を形成することで, 低い接触抵抗を得た. また, ゲート長を $25\mu m$ に狭めることで, 1mA以上のドレイン電流と2mS以上の相互コンダクタンスを得た.

(4)作製したSGFET素子のドレイン電流とゲート電圧の関係を調べたところ, ヒステリシス幅は100mV以下, ゲートリーク電流は1nA以下, 1時間動作時の電流ドリフトは $3\mu A$ 以下で, 実用レベルに近いことが判った.

(5) Ta_2O_5 溶液ゲート表面へIgG抗体と特異結合する核酸分子アプタマーを固定化するプロセスを開発した (図2). アプタマーはグルタルアルデヒドで架橋できるように設計した特注品を用いた. また, アプタマーと未結合のアルデヒド基はグリシンを用いて不活性化した.

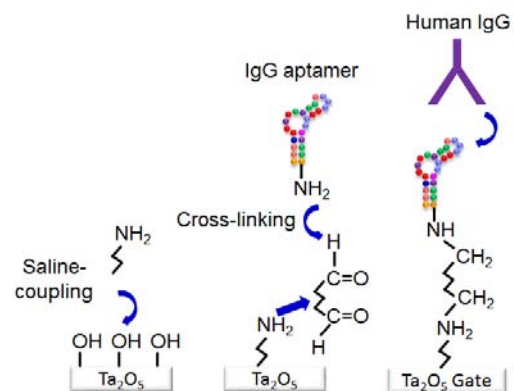


図 2 アプタマーの固定化プロセス

(6)試作したセンサー素子をリン酸緩衝溶液に浸漬させて, ドレイン電圧とゲート電圧を印加した状態で, IgG濃度を $0\sim 2.8\mu mol/L$ まで段階的に変化させた. その結果, 濃度が変化

するたびにドレイン電流が急峻に上昇することが判った(図3)。ただし、測定中に電流ドリフトが発生しており、検討課題を残した。

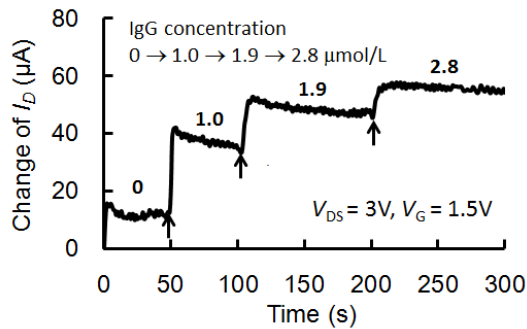


図3 試作した免疫センサーのIgG検出特性

これまでに、ZnO系SGFETを用いたIgGの検出に成功した例はなく、本成果は今後のバイオセンサーの発展に寄与するものである。溶液ゲート表面へのアプタマー固定化プロセスを最適化してより緻密に固定化できれば、さらに低濃度のIgG検出が可能となり、実用デバイスへの展開が促進されると期待される。

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)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① 佐々誠彦, 矢野満明, 前元利彦, 小池一步, 尾形健一, 高性能酸化亜鉛系 FET と酸化物デバイス応用の広がり, 電子情報通信学会誌 Vol. 95-4, 2012, pp. 289~293, 査読有.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009437460>
- ② M. Yano, K. Koike, K. Ogata, T. Nogami, S. Tanabe, S. Sasa, Zinc oxide-based biosensors, Physica Status Solidi c, Vol. 9-7, 2012, pp. 1570-1572, 査読有.
DOI: 10.1002/pssc.201100560
- ③ K. Koike, T. Aoki, R. Fujimoto, S. Sasa, M. Yano, S. Gonda, R. Ishigami, K. Kume, Radiation hardness of single-crystalline zinc oxide films, Physica Status Solidi c, Vol. 9-7, 2012, pp. 1577-1579, 査読有.
DOI: 10.1002/pssc.21100566
- ④ K. Koike, R. Fujimoto, R. Wada, S. Sasa, M. Yano, S. Gonda, R. Ishigami, K. Kume, 8MeV proton irradiation damage and its recovery by annealing on single-crystalline zinc oxide crystal, MRS Symposium Proceedings, Vol. 1432, g10-02, 2012 (12pp), 査読有.
<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid>

=8537855

- ⑤ 矢野満明, 小池一步, 佐々誠彦, 前元利彦, 井上正崇, 酸化亜鉛トランジスターの開発とバイオセンサー応用, 材料, Vol. 60-5, 2011, pp. 447~456, 査読有
DOI: 10.2472/jsms.60.447
- ⑥ 尾形健一, 土橋秀章, 小池一步, 佐々誠彦, 井上正崇, 矢野満明, 水溶液プロセスによる酸化亜鉛ナノロッドの製作とバイオセンサーへの応用, 材料, Vol. 60-11, 2011, pp. 976~982, 査読有.
DOI: 10.2472/jsms.60.976
- ⑦ K. Ogata, H. Dobashi, P. Russel, K. Koike, S. Sasa, M. Inoue, M. Yano, Electric properties of aqueous solution grown ZnO nanorods on Au/Ti/Si substrates, Physica Status Solidi c, Vol. 8, 2011, pp. 522-524, 査読有.
DOI: 10.1002/pssc.201000521
- ⑧ K. Ogata, H. Dobashi, K. Koike, S. Sasa, M. Inoue, M. Yano, Improvement of chemical stability of aqueous solution grown ZnO nanorods by aminosilane modification, Physica Status Solidi c, Vol. 7-6, 2010, pp. 1562-1564, 査読有.
DOI: 10.1002/pssc.200983233
- ⑨ 佐々誠彦, 小池一步, 前元利彦, 矢野満明, 井上正崇, 高性能 ZnO 系 FET の開発 — デバイス応用と高周波特性 —, 電子情報通信学会, 信学技報 IEICE Technical Report ED2009-184, MW2009-167, 2010, pp. 55~60, 査読有.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110008000811>

[学会発表] (計 26 件)

- ① 田辺慎太郎, 向井和哉, 小池一步, 前元利彦, 佐々誠彦, 矢野満明, 門倉貞夫, 中光豊, 新対向ターゲット式スパッタ法による単結晶 ZnO 薄膜のエピタキシャル成長, 第 73 回応用物理学会学術講演会, 愛媛大学, 2012. 9. 11~14.
- ② K. Koike, R. Fujimoto, R. Wada, S. Sasa, M. Yano, S. Gonda, R. Ishigami, K. Kume, 8MeV proton irradiation and post-annealing effect on single-crystalline zinc oxide crystals, MRS Spring Meeting, San Francisco, USA, G10.2, 2012. 4. 9~13.
- ③ 田辺慎太郎, 向井和哉, 小池一步, 尾形健一, 佐々誠彦, 矢野満明, 酸化亜鉛系イオン感応性電界効果トランジスターの pH 検出特性, 第 59 回応用物理学関係連合講演会, 早稲田大学, 2012. 3. 17.
- ④ 野上隆弘, 田辺慎太郎, 小池一步, 尾形健一, 佐々誠彦, 矢野満明, 多結晶 ZnO/ZnMgO ヘテロ構造を用いた溶液ゲー

ト電界効果トランジスタの pH センシング特性, 日本材料学会半導体エレクトロニクス部門, 平成 23 年度第 1 回研究会, A02, 神戸大学, 2011.11.21

- ⑤ K. Ogata, K. Koike, S. Sasa, M. Inoue, M. Yano, Potentiometric detection of glucose using enzyme-immobilized ZnO nanorod arrays toward integration with field effect transistors, Int. Workshop on Quantum Nanostructures and Nanoelectronics QNN2011, University of Tokyo, 2011.10.3.
- ⑥ M. Yano, K. Koike, K. Ogata, T. Nogami, S. Tanabe, S. Sasa, Zinc oxide-based biosensors, 16th Semiconducting and insulating Materials Conference (SIMC), Stockholm, Sweden, 2011.6.21.
- ⑦ 野上隆弘, 小池一步, 尾形健一, 佐々誠彦, 井上正崇, 矢野満明, 多結晶 ZnO/ZnMgO ヘテロ構造を用いた溶液ゲート電界効果トランジスタのバイオセンシング特性, 第 58 回応用物理学関係連合講演会, 神奈川工科大学, 2011.3.25
- ⑧ 小池一步, 辻久美穂, 野上隆弘, 尾形健一, 佐々誠彦, 井上正崇, 矢野満明, バイオセンサ応用に向けた酸化亜鉛系イオン感応トランジスタの開発, 薄膜材料デバイス研究会 第 7 回研究集会, 奈良 100 年会館, 2010.11.6.
- ⑨ K. Tsuji, T. Nogami, K. Koike, K. Ogata, S. Sasa, M. Inoue, M. Yano, Characteristics of microscale ion-sensitive ZnO/ZnMgO field-effect transistors formed on glass substrates, 29th Electronic Materials Sympo., Shizuoka, 2010.7.14.
- ⑩ K. Tsuji, K. Koike, K. Ogata, S. Sasa, M. Inoue, M. Yano, Micro-fabrication and characterization of an ion-sensitive ZnO-based transistor on a glass substrate, 2010 Int. Meeting for Future of Electron Devices, kansai, kansai University, 2010.5.13.
- ⑪ 辻久美穂, 野上隆弘, 小池一步, 尾形健一, 佐々誠彦, 井上正崇, 矢野満明, ガラス基板上へのイオン感応性酸化亜鉛トランジスタの作製と評価, 日本材料学会半導体エレクトロニクス部門, 平成 22 年度第 1 回研究会, 大阪大学, 2010.5.8.

[図書] (計 1 件)

- ① 小池一步, シーエムシー出版, 酸化亜鉛の最先端技術と将来 (監修: 山本哲也), バイオセンサー, 2011, pp. 181~195.

[その他]
ホームページ等
<http://www.oit.ac.jp/elc/~koike/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池 一步 (KOIKE KAZUTO)
大阪工業大学・工学部・准教授
研究者番号: 40351457