

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：82108

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23685017

研究課題名(和文) 超高感度ピエゾ抵抗膜型素子の多様性DNA被覆によるファジー嗅覚センサーの開発

研究課題名(英文) Development of fuzzy olfaction system based on DNA-functionalized highly sensitive piezoresistive membrane-type sensor

研究代表者

吉川 元起 (Yoshikawa, Genki)

独立行政法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトニクス研究拠点・独立研究者

研究者番号：70401172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 21,600,000円、(間接経費) 6,480,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚センサーの実現に向けて、センサー素子、標的分子を捕捉する受容体層の被覆方法、および測定システムを最適化した。センサー素子の2次元配列化に成功し、従来型の100倍以上という大幅な感度向上を実現した。標準手法と互換性のある両面被覆法を確立し、これまで特殊な装置や技術が必要であった被覆工程を、誰でも素手で簡単に行う事が可能になっただけでなく、被覆膜の再現性や品質が飛躍的に向上した。また、USBだけで駆動・測定が可能なシステムを作製し、リアルタイムでニオイの識別に成功した。さらに呼気によるガン診断の実証にも成功し、MSSという新たなセンサー素子を元にした嗅覚センサーの可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：To realize an olfaction sensor based on a piezoresistive nanomechanical membrane-type surface stress sensor (MSS), comprehensive optimization was performed on a sensing element, a coating method of a receptor layer, and a measurement system. A sensor chip having a two dimensional array with more than 100 times higher sensitivity compared to a conventional sensor was designed and fabricated. For the coating method, the double-side coating which is compatible with standard protocols was established. This allows anybody to perform coating procedure without any specialized device or technique. It also significantly improved the reproducibility and quality of coating layers. Moreover, a compact USB-powered/operated system was developed, and the real-time identification of smells was demonstrated. Furthermore, the cancer diagnostics through breath analysis was successfully performed, demonstrating the high potential of the olfaction sensor based on the MSS platform.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：嗅覚センサー ナノメカニカルセンサー MSS マイクロ・ナノデバイス

1. 研究開始当初の背景

(1) これまでに、様々なタイプのガスセンサーが開発されてきた。このうち、半導体式センサーや接触燃焼式センサーなど既に実用化されているものは、一酸化炭素や可燃性ガスといった特定のガス成分をピンポイントで検出するものである。これに対し、人間や犬の嗅覚は、多成分の混合による多種多様な「ニオイ」や、大気中の爆薬や麻薬などの微量成分を識別・検出することが可能である。このような嗅覚を模した汎用のガスセンサーは、水晶振動子 (QCM) や表面プラズモン共鳴 (SPR) などを利用して精力的に研究されている。しかしながら、生物の嗅覚において重要な「ニオイのパターン認識」を実現するためには、多チャンネル化が必須である。QCM や SPR では、センサー素子間の干渉や、レーザー関連装置の複雑さなどの問題が有るため、装置の多チャンネル化や小型化が原理的に困難であり、実用化には至っていない。そのため現在でも、空港での爆薬や麻薬の水際対策や、犯罪捜査における犯人の追跡といった重要な場面でも、依然として不安定な要因の多い犬の嗅覚に頼っているのが現状である。

(2) 近年開発されたカンチレバーアレイセンサーは、QCM や SPR に大幅に凌駕する感度を有しており、様々な分野で汎用センサーとして応用が期待されている。このセンサーは以下の原理で動作する:「カンチレバーの表面に受容体層を被覆しておき、標的分子が吸着した際に生じる表面応力によってカンチレバーがたわむ。このたわみ量を測定することで、定量的な検出が可能となる」。しかしながら、従来のレーザーによってたわみを読み取る方式では、QCM や SPR と同様に小型化や多数配列化が困難であり、やはり実用化の目処が立っていない。これらの問題を解決する最も有効な手法の一つが、ピエゾ抵抗カンチレバーである。これは、カンチレバーに埋め込まれた (自己検知型) ピエゾ抵抗の抵抗値変化として、表面応力を電気的に読み取る手法である。小型・集積・多チャンネル化、レーザーの位置合わせや反射金属膜が不要、安価など、多くの利点を有するこのピエゾ抵抗カンチレバーの一番の問題点は、その感度の低さにあった。これまで世界各国の研究機関で様々な改良が試みられてきたが、数 10% から高々数倍の感度向上が報告されているに過ぎなかった。

(3) これに対し、カンチレバーセンサーの動作原理に遡り、解析計算、および有限要素解析によるシミュレーションを組み合わせた網羅的な構造最適化を行うことで、カンチレバーの常識を覆す構造を持ち、100 倍以上の感度を有する、ピエゾ抵抗膜型表面応力センサー (MSS) の開発に成功し、実験的にもその高い性能を実証した。MSS であれば、嗅覚センサーに必要とされる全ての要素を備えているため、受容体層と呼ばれる標的分子が吸着する層を最適化することによって、実用レベ

ルの嗅覚センサーを実現することができる。

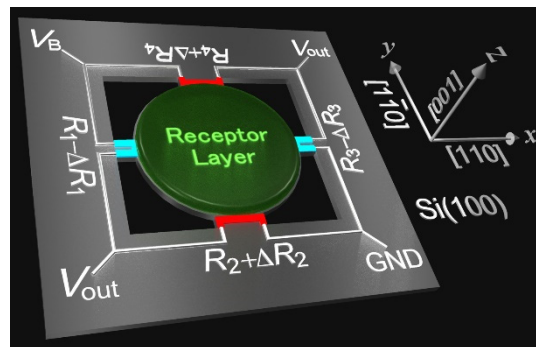


図1 MSSの模式図。標的分子の吸着によって、中央円形のメンブレンに印加される表面応力は、周囲4つの細幅部に埋め込まれたピエゾ抵抗によって、電気的な信号として効率よく読み取ることが可能。

2. 研究の目的

本研究では、小型・低コスト・多チャンネル化などが可能である MSS に着目する。まず、これを二次元アレイ化し、多チャンネル化の可能性を実証することを目指す。さらに、センサー素子の構成要素を最適化することにより、更なる感度の向上も試みる。こうして最適化された MSS の、センサー素子表面を、様々な機能性受容体層によって被覆することで、分子レベルで制御された多様な受容体層をもつ超高感度多チャンネルセンサーを作製する。これにより、人間や犬の嗅覚と同様に、多種多様な「ニオイ」をパターン認識によって識別する「ファジー嗅覚センサー」の実現を目指す。

3. 研究の方法

(1) EPFL (スイス) の MEMS/NEMS チームとの共同研究で実際に作製した、MSS 一次元アレイチップをテンプレートにして、MSS の二次元アレイ化を試みる。従来のカンチレバーセンサーでは、表面応力の等方性によって、ほぼ全領域でシグナルがゼロになってしまうのに対し、MSS では、表面応力による中央円形メンブレンのたわみが、端に接続されたピエゾ抵抗レバーに一軸性応力として印加されるため、飛躍的な感度向上が得られる。このように MSS は、検出の際に、表面応力によるセンサー素子の微小変形を伴う。そのため、MSS の更なる高感度化と二次元アレイ化に当たっては、有限要素解析と 3D ホログラフィック顕微鏡を用いて、チップ構造全体の最適化を行う。

(2) MSS 二次元アレイセンサーを用いて、受容体の被覆方法を検討する。MSS などの分子検出センサーでは、再現性の確保が重要課題となるが、その鍵を握るのが、最も再現性を得るのが困難な受容体層の被覆方法の確立である。そのため、十分な感度を保ちながら、実用に耐えうる再現性を確保できる被覆方法を、将来的な実用化までを視野に入れて多角的に検討する。

(3) こうして受容体層を含めて完成されたセ

ンサー素子を用いて、モバイルデバイスへの応用可能性を探る。この際、システム全体の小型化と同時に、一般的に処理能力に制限のあるモバイル機器でも解析可能なアルゴリズムの検討を試みる。

(4) これらのデバイスを利用して、環境汚染物質の検出や、呼気による医療診断などへの応用可能性を評価する。

#### 4. 研究成果

(1) シリコン微細加工技術によってチップ作製プロセスを最適化することにより、MSS の 2次元配列化に成功した(図2)。さらに、センサー素子の各要素(細幅部の幅と厚み、保護膜の膜厚、ピエゾ抵抗のドーピング深さ、ピエゾ抵抗の負性効果部分)を最適化することにより、更なる高感度を実現し、従来のカンチレバー型センサーと比較して 100 倍以上の高感度化を実現した(図2)。

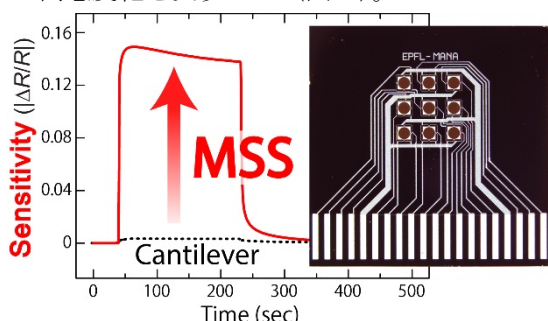


図2 本研究で作製した2次元配列 MSS チップの写真と、従来のカンチレバー型センサーと比較して 100 倍以上の感度の実証実験結果。

(2) 受容体層の被覆方法を多角的に検討した結果、両面被覆法という画期的な方法を見いだすことに成功した。これは図3に示すとおり、バルクシリコン基板部によってセンサー素子部分が囲まれた構造を持った独特の MSS 構造によって実現するものである。従来のカンチレバー構造では、読み取り可能なたわみを得る必要があるため、特殊な装置や技術が必要な片面被覆が必須であった。これに対し、両面被覆法を適用すれば、特殊な装置などを一切使用すること無く、センサーチップを受容体溶液に浸漬するなどの標準的な操作で高品質の受容体層を被覆する事が可能となる。

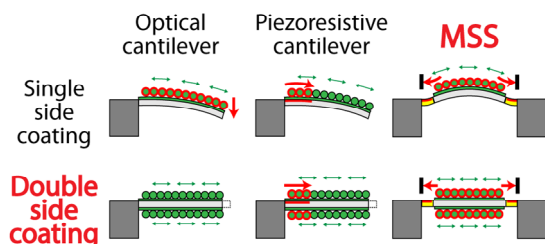


図3 一般的に使用されている光学(レーザー)読み取り型カンチレバーセンサー、ピエゾ抵抗カンチレバーセンサー、および MSS の、片面/両面被覆時のシグナルの様子。赤太線で囲まれた吸着分子がそれぞれ測定可能。



図4 両面被覆法を応用した、特殊な装置を一切使用しない素手によるセンサーチップの被覆・測定の様子。この写真のように 96 穴プレート等を利用した標準プロトコルが適用可能になった。

(3) 測定・被覆システムの総合的最適化を行った。その一例として、図5に示すとおり、USB のみで駆動・測定可能なシステムを作製した。これまで大型冷蔵庫程度のサイズの高額なシステムが必要であったのに対し、同等以上の性能を、手のひらサイズの安価なシステムで実現した。

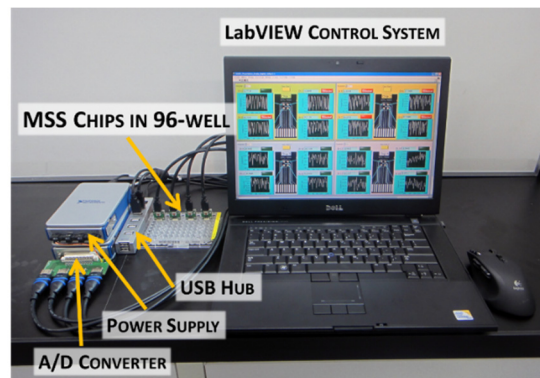


図5 USB のみで駆動・測定可能なシステムの例。受容体層の被覆から測定まで、このセットのみで全て行う事が可能である。このような簡便なシステムであるにも関わらず、従来の大型冷蔵庫ほどのサイズの高額なシステムと比較して、感度や安定性を含め、全ての点において優れた性能を有している。

(4) ガスセンサーとして利用する場合には、高い感度が確認されている各種ポリマー膜をセンサー素子に被覆する必要がある。さらに将来的な実用化を考えた場合、再現性良く大量にチップを被覆可能な技術が必要となる。そこで、様々な被覆方法を検討した結果、スプレーコーティング法が有効であることを見いだした。産業的に標準化されているスプレーコーティングでは、微小液滴を滴下するために比較的大きな流量でガスを流す必要があるため、従来のカンチレバー型ナノメカニカルセンサーでは、ガスでレバーが大きく揺らいでしまい、スプレーコーティングの適用が困難であった。これに対し、MSS では、その自由端を廃した独特の構造により、標準的なスプレーコーティングが適用可能であることを確認した。これにより、ガスセンサーとして、



感度と再現性を、これまでに無い極めて高いレベルで両立することに成功した。

(5) 各構成要素を最適化することによって、総合的な嗅覚センサーシステムの実現を目指した。まず、圧電素子による小型ポンプやWifi通信部を統合することにより、手のひらサイズのオールインワン・ワイヤレス装置が実現した。さらに、計算量を抑えつつもリアルタイム解析が可能であり、遺伝子解析にも利用されている最新のアルゴリズムを導入することにより、処理能力が限られている Android モバイル機によって、ニオイをリアルタイムで判別することに成功した。

(6) これらの装置の実用可能性を探るため、スイスのグループと共同で、実際のガン患者の呼気を、USB のみで駆動する MSS 測定システムでの測定・分析を試みた。その結果、ガン患者と健康な人の呼気に有意な差を確認することに成功した (図6)。

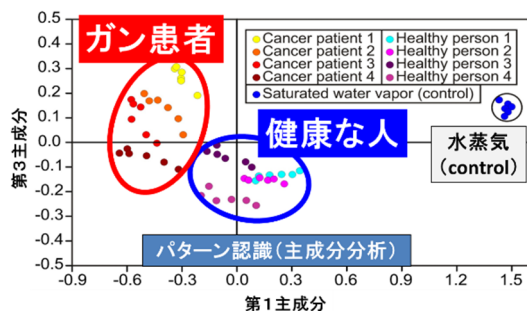


図6 USB 駆動の MSS 測定システムによる呼気診断の実施例。ガン患者と健康な人で、呼気に有意な差を認めることに成功した。

#### 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)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Genki Yoshikawa, Frederic Loizeau, Cory J. Y. Lee, Terunobu Akiyama, Kota Shiba, Sebastian Gautsch, Terunobu Nakayama, Peter Vettiger, Nico F. De Rooij, Masakazu Aono, "Double-Side-Coated Nanomechanical Membrane-Type Surface Stress Sensor (MSS) for One-Chip-One-Channel Setup," *Langmuir* **29**, 7551-7556 (2013) 10.1021/la3046719. 査読有り
- ② Genki Yoshikawa, Terunobu Akiyama, Frederic Loizeau, Kota Shiba, Sebastian Gautsch, Tomonobu Nakayama, Peter Vettiger, Nico F De Rooij, Masakazu Aono,

"Two Dimensional Array of Piezoresistive Nanomechanical Membrane-type Surface Stress Sensor (MSS) with Improved Sensitivity," *Sensors* **12**, 15873-15887 (2012) 10.3390/s121115873. 査読有り

[学会発表] (計50件)

- [1] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Membrane-type Surface Stress Sensor (MSS) as a Practical Sensing Platform," TNT Japan 2014, Trends in NanoTechnology, (Japan, Tokyo, January 30, 2014) *Invited*.
- [2] Genki Yoshikawa, "Development of highly sensitive nanomechanical membrane-type surface stress sensor (MSS)," Award Ceremony of Tsukuba Encouragement Prize, (Japan, Tsukuba, November 26, 2013) *Invited*.
- [3] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Sensors for Medical Applications in Gas and Liquid Phases," Swiss-Japanese Nanoscience Workshop "150 Years Diplomatic Relations Japan-Switzerland", (Japan, Tsukuba, October 9, 2013) *Invited*.
- [4] Genki Yoshikawa, "Possibilities and Challenges of Nanomechanical Sensors ~ towards Medical, Security, and Environmental Applications ~," Seminar of JSAP Kansai branch, (Japan, Suita, October 3, 2013) *Invited*.
- [5] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Membrane-type Surface Stress Sensor," Trends in NanoTechnology (TNT) 2013, (Spain, Seville, September 13, 2013) *Invited (Keynote)*.
- [6] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Membrane-type Surface stress Sensor (MSS) ~ Application to in situ measurements of photo-polymerization ~," Annual Meeting on Photochemistry 2013, (Japan, Matsuyama, September 11, 2013) *Invited*.

- [7] Genki Yoshikawa, "The necessities for the development of nanomechanical sensors: hand calculation and COMSOL," Seminar on microfluidics analysis, (Japan, Tokyo, June 20, 2013) *Invited*.
- [8] Genki Yoshikawa, "Highly Sensitive Nanomechanical Sensor (MSS)," 15th Workshop of The Complex Electronics Function of Molecules for "Bio-compatible Electronics" (No. 181 Committee), (Japan, Tokyo, March 12, 2013) *Invited*.
- [9] Genki Yoshikawa, "Comprehensive Development of Nanomechanical Sensors; MSS," International Workshop on Micro-Probes and Microanalysis, (China, Sanya, February 2, 2013) *Invited*.
- [10] Genki Yoshikawa, "Sensor Revolution - Possibilities of Nanomechanical Sensors (MSS) -," MANA 5th Anniversary Memorial Symposium, (Japan, Tsukuba, October 3, 2012) *Invited*.
- [11] Genki Yoshikawa, "Highly Sensitive Nanomechanical Membrane-type Surface Stress Sensor (MSS)," The Current State and Future Perspectives of Organic Sensors, (Japan, Wako, August 3, 2012) *Invited*.
- [12] Genki Yoshikawa, Terunobu Akiyama, Sebastian Gautsch, Peter Vettiger, "Global challenges and possibilities of nanomechanical sensors; MSS," MANA International Symposium 2012, (Japan, Tsukuba, February 29, 2012) *Invited*.
- [13] Genki Yoshikawa, Terunobu Akiyama, Sebastian Gautsch, Peter Vettiger, Heinrich Rohrer, "Highly sensitive membrane-type surface stress sensor (MSS) and its applications," International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology (ICAMN), (Nepal, Kathmandu, October 22, 2011) *Invited*.

- [14] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Biosensors," Japan-Taiwan Joint Workshop on Nano Biomedical Engineering and Biosensing, (Taiwan, Taichung, July 27, 2011) *Invited*.

〔図書〕 (計 3 件)

- [1] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Sensors and Membrane-type Surface Stress Sensor (MSS) for Medical, Security and Environmental Applications," in *Manipulation of Nanoscale Materials: An Introduction to Nanoarchitectonics*, edited by K. Ariga (RSC Publishing, UK, 2012), pp. 428-448.
- [2] Genki Yoshikawa, "Nanomechanical Membrane-type Surface Stress Sensor (MSS) --- for Medical, Security, and Environmental Applications," in *Expected Materials for the Future* (NTS, Japan, 2012), pp. 53-55.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 5 件)

名称：センサーチップホルダー

発明者：吉川元起、柴弘太

権利者：独立行政法人 物質・材料研究機構

種類：特許

番号：特願 2013-096690

月日：25年5月2日

国内外の別：国内

名称：両面被覆表面応力センサー

発明者：吉川元起、青野正和、中山知信、フレ

デリックロワゾ、秋山照伸、セバスチャンガ

ウチ、ピーターフェッティガー

権利者：独立行政法人 物質・材料研究機構

種類：特許

番号：特願 2012-094299

出願年月日：24年4月17日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ

<http://y-genki.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉川 元起 (YOSHIKAWA, Genki)

(独) 物質・材料研究機構・国際ナノアー  
キテクニクス研究拠点・独立研究者

研究者番号：70401172