

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：17104
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23700579
 研究課題名(和文) 電界駆動型流体トランジスタによる高速スイッチング式遺伝子センシングシステムの研究
 研究課題名(英文) The study of Gene-sensing systems with High speed switching by electro-fluid transistors
 研究代表者
 坂本 憲児 (Sakamoto Kenji)
 九州工業大学・マイクロ化総合技術センター・助教
 研究者番号：10379290

研究成果の概要 (和文)：

本研究では遺伝子解析ツールとして注目されている遺伝子トランジスタを発展させる研究を行った。簡便で迅速で安価な遺伝子解析ツールにする事を目的とし、電気浸透流型ポンプと新規に考案しているゲート機構を集積化したポンプ-ゲート-センサ集積化デバイスの研究を行い、遺伝子トランジスタによる迅速な解析システムの研究を行った。

研究成果の概要 (英文)：

In this work, I developed the study of the gene-sensing system with a gene-transistor. For the simple and easy and quick sensing system, I study the pump - gate - sensor integration device which was applied an electroosmotic flow type pump and the electro-gate devices with the high speed switching system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：検査・診断システム、マイクロセンサー、マイクロ流、個別化医療

1. 研究開始当初の背景

個人の体質による個別治療（テーラーメイド医療）を実現するためには、体質に関わるSNPsなどの特定遺伝子配列を臨床現場で迅速に診断する必要がある。解析装置は一台数千万円～一億円と高額であり、解析には時間がかかり、専門の医療・研究機関でしか使うことはできない。遺伝子の配列解析を臨床現場で迅速に行うためには、簡便で迅速で安価な遺伝子解析のツールが望まれている。遺伝子トランジスタはゲート面に固定化した一本鎖遺伝子の相補的反応を電気化学的に検出する簡便な遺伝子センサである。CMOS プロセスを用いて大量にアレイ化す

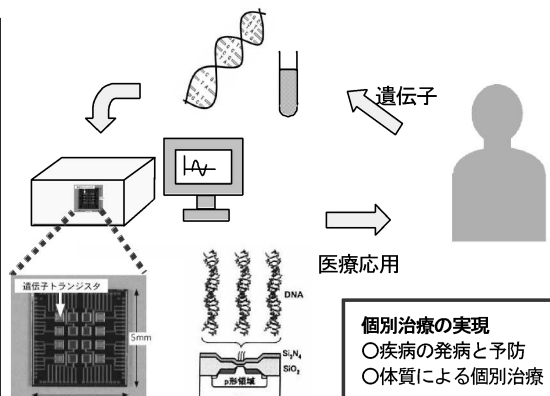


図1 遺伝子解析の医療応用
 (遺伝子トランジスタ部参考：NIMS NOW 2005, Vol.5 No.4 April)

ることが可能となれば、数十万～数百万単位の同時並列解析が実現できる。迅速な解析を行える新たな遺伝子解析ツールとして注目されている(1) (図1)。

しかし遺伝子トランジスタを用いた解析には、試薬(塩基)や洗浄液を交互に流すための大型のポンプを外部に設け制御する必要があり、装置システムの小型化や操作の簡単化を阻む要因となっている。また解析に必要な試薬量はトランジスタのゲート部に極微量を流せば十分であるが、試薬の拡散のため完全に置換するのに時間がかかる。解析の簡便性をあげるには①ポンプとセンサを一体化し連動して測定するシステムが必要であり、迅速な遺伝子解析を目指すには②試薬置換および解析の高速化が課題であり、さらに装置の普及性を上げるためには③生産性を向上させ安価にしなければならない、といった課題がある。

私はこの課題に対する解決策として、ポンプを小型化し遺伝子トランジスタと一体化形成することを目標とし、センシングシステムの小型化の研究を進めてきた。また生産性を考慮し、CMOSプロセスに適したモノリシック製造法を用いた研究を行っていた。

平成22年度までの成果として、シリコンウエハ上にCMOSプロセスに適した手法を用いて電気浸透流タイプのマイクロポンプを試作した(2)。電気浸透流はガラスなどのシリカ面と液体の界面に生じる電気二重層に電圧を印加することで液体の流動が生じる現象である。壁面が多く生じる構造が望ましく申請者はSiウエハ上にCMOS工程の微細加工技術を用いて壁面の多いポンプ構造体を形成し、全長3mmの電気浸透流型マイクロポンプを試作しポンプ駆動に成功している。このプロセスは、既存のCMOS製造ラインに深堀エッチングを加えることにより大量生産可能なプロセス工程となっている。またこの工程を元にポンプ製作プロセスとセンサ製作プロセスを融合した新しいpre-CMOS MEMS工程を考案し特許出願中である(3)。また考案したプロセスの検証例の第一段階として、pHセンサの試作を行った。試作したpHセンサの場合、試薬2種、洗浄液1種、廃液口を持つ構造になり、それぞれの試薬貯めから電気浸透流ポンプにより送液し、センシング部でpH測定を行う構造となっている。この試作センサの成果を次のステップである遺伝子センサへ繋げ、さらに微細化を行いポンプ集積化遺伝子トランジスタの試作研究を進めていた。

参考:(1) Toshiya Sakata and Yuji Miyahara, DNA sequencing based on intrinsic molecular charges, *Angewandte Chemie International Edition*, 45, 2225-2228 (2006)

(2) 第20回化学とマイクロ・ナノシステム研究会紀要、平成22年電気学会全国大会紀要
(3) 「解析装置及び解析装置の製造方法」、特願2010-126335

2. 研究の目的

本研究の最終目標は簡便で迅速で安価な遺伝子解析のツールの開発である。①簡便さを実現するためにマイクロポンプを集積化したセンサデバイスを試作検討し、センシングシステムの研究を行ってきた。また②安価を実現するためにpre-CMOS MEMS工程を考案し大量アレイ化製作が可能になりつつある。残る課題は③迅速さを実現するための試薬置換時間および解析時間の高速化である。

センシングのためにはセンサ面を目的の試薬で満たしてセンシングを行う。センサ面への各試薬の送液口にはバルブ機能がなく、拡散の影響が大きいため試薬は混在しやすい状態になる。現在のシステムでは大量に目的試薬を流し置換する送液法を行っている。したがってこの手法ではセンサ面が試薬の混在なく満たされるまで数分間の時間がかかり解析時間の遅延に繋がる。また拡散は約10 μ m範囲を1秒以下の速度で進んでしまうため、デバイスの微小化が進むにつれてこの問題は解決できなくなる。

本研究期間では、センシングシステムに新たな電気駆動型バルブ機能を研究し集積化する事で、高速な液体スイッチング送液を実現する。また電気浸透流ポンプと組み合わせることで極微量の液量制御が可能となり、デバイス全体のサイズをこれまで以上に縮小する事も可能になり生産性も向上する。さらに高速な解析システムにするために、送液スイッチング回路をセンサチップに組み込みデバイス内部で送液制御を行い簡便さを向上させる。電気駆動によるゲートポンプ機能、スイッチング機能を組み合わせた高速な送液制御、それらを組み合わせたセンシングシステムの確立により、4種の塩基試薬での解析をわずか2~3秒以内に行う画期的な解析システムの構築を目指す。

3. 研究の方法

本研究計画では電気駆動によるポンプバルブ機能、スイッチング機能を組み合わせた高速な送液機能、それらを組み合わせたセンシングシステムを確立し、迅速な解析システムの構築を行う。この研究を進める上で重要なポイントは迅速なスイッチング式極微量送液技術、およびそれを用いた連動型センシングシステムの確立である。そのため下記の研究目標を掲げ2年間の期間で研究を進めた。

1. 試薬の高速スイッチング手法の確立

1-1 電気駆動型バルブ機能の原理試作

1-2. 電気駆動型バルブ機能による極微量送

液制御法の構築

2. 連動型遺伝子センシングシステム化技術の開発

平成 23 年度上半期計画

1. 試薬の高速スイッチング手法の確立

1-1. 電気駆動型バルブ機能の原理試作

電気駆動型バルブは流路後方からの圧力制御と他流路からの送液制御により実現する。圧力を加える機構は申請者がすでに研究している電気浸透流型ポンプを用いる。また複数サンプル溶液の流動制御を研究する。

平成 23 年度下半期～24 年度上半期計画

1-2. 電気駆動型バルブによる極微量送液制御法の構築

前期に研究した電気駆動型バルブと組み合わせ適量の試薬をセンサ部に流す送液制御法について研究する。電気駆動型流体ゲートのスイッチングと試薬流体の挙動をシミュレーションにより算出し、送液を最短時間で行う手法を検討する。本研究ではセンシング面として計画している $100\ \mu\text{m}$ 平方面積を置換するのに十分な液量 (約 1nL) を 1 秒以内に送液することを目標とする。この送液の高性能化には回路によるスイッチング制御が必要となる。シミュレーションの結果を元に制御系を構築しスイッチング機能の実験を行う。

平成 24 年度下半期計画

2. 連動型遺伝子センシングシステム化技術の開発

上記電気駆動型バルブと、スイッチング機能とセンサ部を一体型で作製し (図 2)、同一バッテリーでの駆動を行う。また回路制御により 4 種の塩基試薬と洗浄液を遺伝子トランジスタにセンシングに適した順序で流し、さらにセンシングでの電気反応を検出するセンシング総合システムを検証する。本研究では送液開始から 4 種の塩基で各一回の解析を 2~3 秒以内で終了する事を目指す。またシステムが完成した段階で実験用に塩基を配列したサンプルを用いて解析実験を行う。

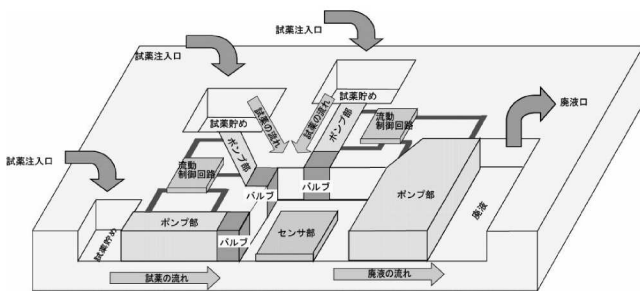


図 2 : 連動型センシングシステム化 (イメージ図)

4. 研究成果

まず「試薬の高速スイッチング手法の確立」として電気駆動型バルブの原理動作確認用試作を行った。電圧を加える事で起こる液体の圧力変化を確認するデバイスを作製し実験を行った。その後本研究で提案している電気駆動型バルブの評価デバイスを作製した。Si 素材の上に作製したマイクロ流体デバイス上に、微細加工により電気浸透流型デバイスを複数試作して実験 (図 3) を行った結果、極小空間での電圧印加では電気分解による気体が発生しやすい事が判明した。そのため気体の発生を抑えるために低電圧で駆動可能なポンプ-バルブデバイスを集積化する事にした。

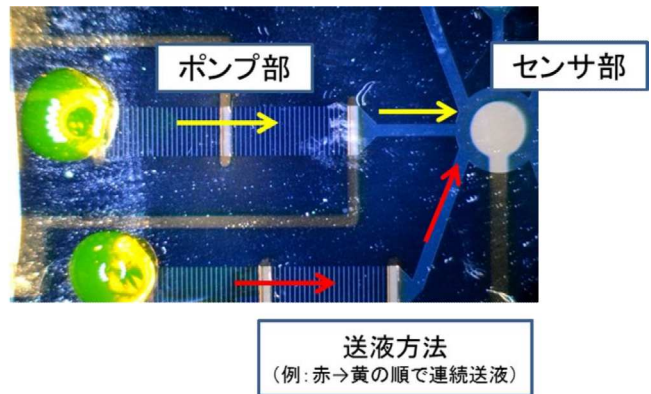


図 3 : 試作デバイスの流動制御実験

この結果を受けて「連動型遺伝子センシングシステム化技術の開発」の研究を進め、遺伝子解析で行われているサンプル溶液、薬液のサンプリング手法を模擬した微量送液ポンプ集積型遺伝子センサ (Extended gate 方式) を作製し、東京医科歯科大学の宮原教授の実験室で流動制御実験およびハイブリダイゼーション実験を行った (図 4, 5)。この実験により、デバイスの耐久性、駆動電圧の電圧量、サンプル溶液の送液の時間などの課題が新たに分かった。

本送液方式によるサンプル溶液 (ハイブリダイゼーション実験ではリン酸緩衝液) のスイッチングは時間がかかる問題が生じた。これはリン酸緩衝液が気泡の発生がしやすいサンプル溶液であった事が原因になっている。気泡発生を抑えるためにさらに低電圧駆動に切り替えたことで、長時間の電圧印加になり気泡の発生が生じた。このため送液制御法の見直しが必要になった。

また遺伝子解析のための送液データとその測定結果の解析から、目に見えないレベルで発生している電気分解の気泡が、遺伝子トランジスタがノイズとして拾う問題が判明した。このため閾値を用いる事で測定データの取得を行う方法を検討した。

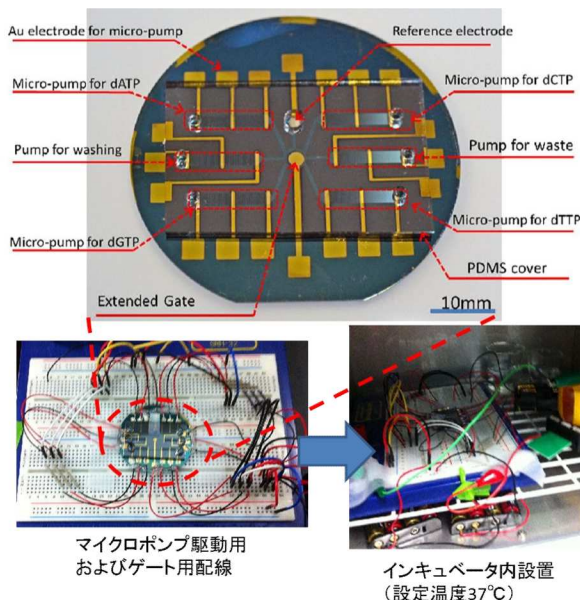


図4：試作デバイスを用いたハイブリダイゼーション実験



図5：ハイブリダイゼーション実験結果

さらにハイブリダイゼーション実験におけるセンサ表面の洗浄工程が長時間必要であることが分かり、それに伴いデバイス電極の劣化が生じた。この問題を解決するために電極表面にガラス層のコーティング（SOG 層コーティング）を行う方法を検討した。その結果 SOG 層の 200nm 程度の堆積により、電極の劣化を防ぎかつ電気浸透流ポンプの性能に影響を及ぼさない事が分かり、プロセスへの追加を行った。

本研究の成果として得られたマイクロポンプを用いた低電圧流体制御法、および微小空間での気泡発生対策、ガラス層コーティング法に関して、引き続き研究を進めている。また本デバイスを元にした送液システムのスイッチング回路の設計も同時に進めており、連動型センシングシステムの構築を進めている。

これらの研究成果は第 28 回および第 29 回センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウムにて発表を行った。また研究成果をまとめ論文とし、学術雑誌電気学会論文誌 E に掲載された。

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 1 件)

- ① 坂本憲児, 石野祥太郎, 宮原裕二, 三宅亮, マイクロポンプ-センサー体集積化デバイスの試作, 電気学会論文誌 E (センサ・マイクロマシン部門誌), 査読有 Vol.132(2012), No. 4, pp.86-90, DOI: 10.1541/ieejjsms132.86

〔学会発表〕(計 2 件)

- ① 坂本憲児, 石野祥太郎, 三宅亮, 宮原裕二, マイクロポンプ-pH センサー体集積化デバイスの試作評価, 第 28 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2012 年 9 月 26 日, 東京・タワーホール船堀
- ② 坂本憲児, 宮原裕二, 三宅亮, 遺伝子センサ集積型マルチマイクロポンプの試作, 第 29 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2012 年 10 月 22 日~2012 年 10 月 24 日, 福岡, 北九州国際会議場および西日本総合展示場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 憲児 (Sakamoto Kenji)

九州工業大学・マイクロ化総合技術センタ

ー・助教

研究者番号：10379290