

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25289096

研究課題名(和文)電気インピーダンス測定によるナノ界面空間の静的・動的構造の解明

研究課題名(英文) Study on static and dynamic structure in nano-interfacial space by electrical impedance spectroscopy

研究代表者

山本 貴富喜 (Yamamoto, Takatoki)

東京工業大学・工学院・准教授

研究者番号：20322688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：電気インピーダンス計測によりナノ流路内のイオン分布と輸送現象を評価した。その結果、流れがある場合、流れが無い状態に対して電気二重層の厚さが薄くなるという結果を得ることが出来た。さらに、電気二重層がオーバーラップする程に細いナノ流路内では、表面電荷を打ち消すカウンターイオンでナノ流路内が占められていると考えられ、Grahameの式で見積もった表面電荷量をDebye-Huckel-Onsager式にフィードバックして抵抗値に換算したところ、ナノ流路表面の表面電荷に制限された抵抗値が得られ、低濃度側における電気二重層のオーバーラップ状態の抵抗値と非常に良く一致することを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：The nanospace should be partially or totally filled with an electric double layer at the interface between solid and liquid. Electrical impedance spectroscopy was used to comprehensively investigate how the ionic concentration and the volume of the nanospace influenced by the electrical properties of various ionic solutions in a nanochannel. The electrokinetic properties and the thickness of the electric double layer in the nanospace were determined to be dependent on the hydration diameter, mobility, and ionic strength of the various ion species. The electric double layer overlaps under particular conditions, such as with sufficiently narrow channels, and the qualitative properties of this were consistent with the Debye-Huckel-Onsager equation.

研究分野：Nanofluids

キーワード：Microfluidics Lab-on-a-chip MEMS NEMS Bionanotechnology Single-molecule

1. 研究開始当初の背景

化学やライフサイエンスなどの様々な合成や分析の過程において、クロマトグラフィーに代表される分子の分離操作が基盤技術として広く用いられている。ただし、従来法は分子が分離担体中を移動しながら吸着と脱離を繰り返す確率過程での移動度の違いで分離するため、膨大な時間を費やして分離条件の最適化をしても、移動度が近い分子同士を分離することは困難である。また、分離能を良くするにはより長い分離長と必然的により多量のサンプルが必要となる。従って、例えば細胞1個の中にある生体分子を調べるような極微量サンプルに対して、現在の分離技術は全く太刀打ちできない。

このような積年の課題を解決するため、我々は1分子ソーターの実現を目指している。すなわち、確率過程に依存しない1分子測定と1分子操作を組み合わせ、1分子ずつ検出、分離、回収することで確率的曖昧さの無い1分子レベルの分解能と精度を得ようというものである。我々はこれまで、幅や高さが数10nmのナノ流路に測定電極や分離電極を配置しておけば、ナノ流路を流れてくる生体分子を1分子ずつ電気的に測定しながら分離・回収することが可能であることを見出し、世界初の1分子ソーターの原理的な実証に成功した。

ところでナノ流路では、流路幅が壁面-溶液界面の電気二重層の厚さと同程度となるため、内部のイオン分布や電界下の輸送現象はバルクのそれとは異なっていると予想される。ナノ流路での電気測定や解析ではこの点が考慮されるべきであるが、ナノ流路内の電気二重層やイオン分布を直接測定した例は無く、最近、我々のデバイスが直接測定に最適なフォーマットであることを見出し、プリミティブではあるが世界初の直接測定データの取得に成功している。

2. 研究の目的

ナノ流路内での電気インピーダンス測定により、流路横断方向のイオン分布や、電界中のイオンの移動度および輸送現象を直接測定し、電気二重層におけるイオン分布を与える Poisson-Boltzmann 式を用いて測定値を評価することにより、イオン分布や電界中のイオンの輸送現象を明らかとする。特に、ナノ流路の内部空間が全て電気二重層となる場合、流路内部のポテンシャルに応じてカチオンあるいはアニオンのいずれか一方が支配的になる。このような電気的中性条件から逸脱した環境とバルクとの違いを明らかとする。さらに、ナノ界面空間の特徴を取り入れた電気的等価回路モデルを作成し、測定値から狙ったサンプルの信号のみを取り出す解析精度の向上を図る。

3. 研究の方法

まず、測定用のナノ流体デバイスを作製する。次に、ナノ流路内における電気二重層などのイオン分布や電界印加時のイオンの移動度などの物理特性を、流路幅やイオン濃度を変えながら電気インピーダンス測定により直接測定し、バルクの状態とどのように異なるかを実験的に明らかにする。特に、流路フォーマットの特徴である「流れの有無」が、内部のイオン分布等に与える影響を明らかにする。さらに、得られたナノ流路の特徴を反映した解析モデルによって、電気インピーダンスの測定値から電気二重層などのナノ流路内の構造に由来する成分を除去し、測定サンプルに由来する成分のみを高精度に分離する解析手法を確立する。得られた成果によって、我々が開発を進めるナノ流路内での1分子センシングにおける感度や精度の向上を実証し、研究をまとめる。

4. 研究成果

測定デバイスを作製し、電気インピーダンスによる直接測定からナノ流路内のイオン分布と輸送現象を評価した。デバイスは、当初計画の通り、4大学コンソーシアム(東大、東工大、早稲田大、慶応大)で共同運用している MEMS 加工装置群を利用して作製した。電気インピーダンス測定に関しては、研究が予定よりも大幅に進み、H26年度とH27年度に実施予定であった、様々なイオン種を用いた測定と、「流れがある」状態での測定にも踏み込んだ。

具体的には、過去の研究例が多く、参照データが豊富な KCl 溶液をサンプル溶液として用い、KCl 濃度を 1nM ~ 1M の範囲で変化させつつ、電極ギャップ(流路幅)がそれぞれ数10nm ~ 1 μ m のナノ流路で電気インピーダンスを測定した(測定周波数は DC ~ 10MHz)。さらに、同様の実験を流れがある状態でも実施し、流れの有無がナノ流路内のイオン分布に与える影響も調べた。その結果、静的な状態におけるイオン濃度が電気二重層の厚さに与える影響を明らかとした上で、かつ、流れがあると連続的にキャリアイオンが供給されるため、長期連続的な測定が可能となること、及び「流れが無い」状態に対して電気二重層の厚さが薄くなるという結果を得ることが出来た。

一方、イオン半径や水和半径の影響に関しては、KCl, NaCl, LiCl, MgCl₂, AlCl₃ などのイオン半径や水和半径、および価数の異なる様々なイオンを網羅的に測定し、水和半径や価数が電気二重層の厚みに与える影響、およびナノ流路内の導電率や誘電率に与える影響を網羅的に評価し、その基礎現象を明らかとした。その結果、10⁻⁵M 付近の濃度を境にして、高濃度側と低濃度側で異なるトレンドを示すことが明らかとなった。10⁻⁵M 以上の高濃度側における溶液抵抗の実測値は、抵抗値の高い順に LiCl > NaCl > MgCl₂ > KCl > AlCl₃

の順番であった。この結果は Debye-Huckel-Onsager 式により求めた理論値と良い一致を示すことを明らかとした。

さらに電気二重層がオーバーラップする程に細いナノ流路内では、流路表面からの強い静電的拘束や壁面に衝突するなどにより拡散が制限されるため、バルクに比べて高い粘度を示すことが予想される。本測定における低濃度側がこの条件に当たり、例えば、519nm 幅の流路に対し 77nm 幅の流路では、 K^+ の粘度は約 2.5 倍、 Al^{3+} に関しては約 3 倍の粘度を示した。すなわち、低濃度側の抵抗値は、ナノ界面空間特有の粘度変化によるものであることが明らかとなった。さらに低濃度側では内部空間が電気二重層で占められるので、程度の差こそあれ表面電荷を打ち消すカウンターイオン(この場合はカチオン)でナノ流路内が占められていると考えられ、Grahame の式で見積もった表面電荷量を Debye-Huckel-Onsager 式にフィードバックして抵抗値に換算したところ、ナノ流路表面の表面電荷に制限された抵抗値が得られ、低濃度側における電気二重層のオーバーラップ状態の抵抗値と非常に良く一致することを明らかとした。以上、静電力だけでなく流体の流れ場の影響まで含めたイオン分布構造まで踏み込んで明らかとすることに成功した。

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 8 件)

茂木 克雄, 林田 佳, 本田 文江, 山本 貴富喜, 超高感度センシングに向けたイオン枯渇領域の制御によるウイルス濃縮デバイスの開発, 電気学会論文誌 E, 査読有, Vol.136, 2016, pp.363-369

Lu Yang, Takatoki Yamamoto, Quantification of Virus Particles Using Nanopore-Based Resistive-Pulse Sensing Techniques, *Frontiers in Microbiology*, 査読有, Vol.7, 2016, Article 1500.

Katsuo Mogi, Kenshiro Sakata, Yuki Hashimoto and Takatoki Yamamoto, A Novel Fabrication Technique for Liquid-Tight Microchannels by Combination of a Paraffin Polymer and a Photo-Curable Silicone Elastomer, *Materials*, 査読有, Vol.9, 2016, pp.621-629.

山本 貴富喜, ナノ流路を活用した電気インピーダンス分光による 1 分子計測と応用, 分析化学, 査読有, Vol.64, 2015, pp.431-440

Ryuji Hatsuki, Ayae Honda, Masayuki

Kajitani, Takatoki Yamamoto, Nonlinear electrical impedance spectroscopy of viruses using very high electric fields created by nanogap electrodes, *Frontiers in Microbiology*, 査読有, Vol.6, 2015, Article 940.

Katsuo Mogi, Yuki Hashimoto, Takeshi Tsukahara, Motoki Terano, Masahiko Yoshino, Takatoki Yamamoto, Nanometer-level high-accuracy molding using a photo-curable silicone elastomer by suppressing thermal shrinkage, *RSC Advances*, 査読有, Vol.5, 2015, pp.10172-10177.

Yuki Hashimoto, Katsuo Mogi, Takatoki Yamamoto, Nanoscale three-dimensional optical visualization method for a deformation of elastomer printing plate to realize soft nanoprinting technology, *Surface and Interface Analyses*, 査読有, Vol.47, 2015, pp.723-727.

Porpin Pungetmongkol, Katsuo Mogi, Takatoki Yamamoto, Direct Evaluation of the Electrokinetic Properties of Electrolytes in a Nanochannel using Electrical Impedance Spectroscopy, *Israel Journal of Chemistry*, 査読有, Vol.54, 2014, pp.1607-1614

[学会発表](計 13 件)

山本 貴富喜, "真空紫外光によるシリコンインクのカラス化によるモスアイ構造の作製", 第 30 回先端光量子科学アライアンスセミナー「ナノ・マイクロファブリケーションを活用した光科学の展開」シンポジウム, 日吉, 3/17, 2016

山本 貴富喜, "レーザー描画装置とナノインプリント装置の活用事例, 4 大学ナノ・マイクロファブリケーションコンソーシアム・シンポジウム", 新川崎・創造のもり 3/29, 2016

山本 貴富喜, "ウイルスセンシング技術が先導するイノベーション", ナノ茶論, 新川崎・創造のもり, 9/17, 2016

Takatoki Yamamoto, "Evaluation of a novel UV-curable PDMS for nanoscaled molding", International Workshop on Extended-nano Fluidics, Tokyo, Mar.26, 2015

Takatoki Yamamoto, Katsuo Mogi, "Evaluation of a novel UV-curable PDMS

for nanoscaled molding”, International Workshop on Extended-nano Fluidics, Tokyo, Mar.26, 2015

Katsuo Mogi, Yuki Hashimoto, Takatoki Yamamoto, “Nano-pattern Molding Technique Using Photo-curable Silicone Elastomer”, 15th INTERNATIONAL CONFERENCE ON NANOTECHNOLOGY, ROME, ITALY, JULY 27 - 30, 2015.

Ryuji Hatsuki, Ayae Honda, Masayuki Kajitani, Takatoki Yamamoto, “Electrical single virus detection using transimpedance circuit integrated nanofluidic chip”, Pacificchem 2015, Hawaii, USA, Dec. 15 - 20, 2015.

Porpin Pungetmongkol, Katsuo Mogi, Takatoki Yamamoto, “Conformation dependent non-linear impedance response of DNA in nanofluidic device”, 15th INTERNATIONAL CONFERENCE ON NANOTECHNOLOGY, ROME, ITALY, JULY 27 - 30, 2015.

Porpin Pungetmongkol, Katsuo Mogi, Takatoki Yamamoto, “Non-linear Electrical Impedance Spectroscopy of DNA in Nanogap Electrode, ISMM 2015, Kyoto, June 8-10, 2015.

Hiroki Mori, Ryuji Hatsuki, Takatoki Yamamoto, “Velocity Dependent Structure of Electric Double Layer by Electrical Impedance Spectroscopy in Nanochannel”, 12th International Conference on Nanochannels, Microchannels, and Minichannels (ICNMM2014), Chicago, US, August 3 - 7, 2014.

羽月 竜治, 梶谷 雅之, 本田 文絵, 山本 貴富喜, ナノギャップ電極間インピーダンス測定によるウィルスセンシング, 第 30 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 仙台, 11月5 - 7日, 2013.

山本 貴富喜, ナノ空間を利用した電気インピーダンス測定による網羅的ウィルスセンシング, 第 29 回日本環境感染学会総会, 東京, 2月14 - 15日, 2014.

Porpin Pungetmongkol, Ryuji Hatsuki, Takatoki Yamamoto, ELECTRICAL EVALUATION OF HYDRATED DIAMETER DEPENDENT THICKNESS OF ELECTRIC DOUBLE LAYER IN NANOCANNEL, The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Barcelona, Spain, Jun 16-20, 2013.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 貴富喜 (YAMAMOTO, Takatoki)
東京工業大学・工学院・准教授
研究者番号：20322688

(2) 研究分担者

()
研究者番号：

(3) 連携研究者

藤井 輝夫 (FUJII Teruo)
東京大学・生産技術研究所・教授
研究者番号：30251474

高井 まどか (TAKAI Madoka)
東京大学・工学研究科・教授
研究者番号：40287975

福場 辰洋 (FUKUBA Tastuhiro)
独立行政法人海洋研究開発機構・海洋工学センター・技術研究主任
研究者番号：80401272

茂木 克雄 (MOGI Katsuo)
東京工業大学・工学院・研究員
研究者番号：20610950

(4) 研究協力者

()