

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：17104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25750187

研究課題名(和文)電界駆動型流体トランジスタを用いた高速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 High speed Gene-sensing systems 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・准教授

研究者番号：10379290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

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の研究を進展させ、簡便で迅速で安価な遺伝子解析ツールにする研究を行った。本研究期間中に、ポンプバルブ機能を組み合わせた流体素子の研究を行い、高速スイッチング機能を持った送液制御系の研究を行った。また、送液システムと遺伝子トランジスタと組み合わせるために、集積化プロセスを構築した。

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 studied the flow system with high-speed switching function. And I studied the integration process of the gene-transistor and the flow system.

研究分野：総合領域

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。現在主流の解析装置は一台数千円～一億円と高額であり専門の医療・研究機関でしか使うことはできない。また装置が複雑で解析には時間がかかる問題がある。遺伝子の配列情報を臨床利用するためには、簡便・迅速・安価な遺伝子解析のツールが必要である（図1）。

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)

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生産性を向上させ安価にしなければならない。

申請者はこれまでに、小型化したポンプと遺伝子トランジスタを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、シリコンを用いたCMOSプロセスに適したモノリシック製造法を用いて研究を行ってきた。平成24年度前期までの研究成果として、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する研究を行った。(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。界面の多くなる構造が高性能なポンプになるため、Siウエハ上にCMOS工程の微細加工技術と深堀エッチングを用いて壁面の多い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た。これは独自に考案したプロセスでCMOSプロセスの大量生産性を損なうことのないpre-CMOS MEMS工程となっており、CMOSラインに沿って大量生産可能なプロセスとなっている。(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(マ

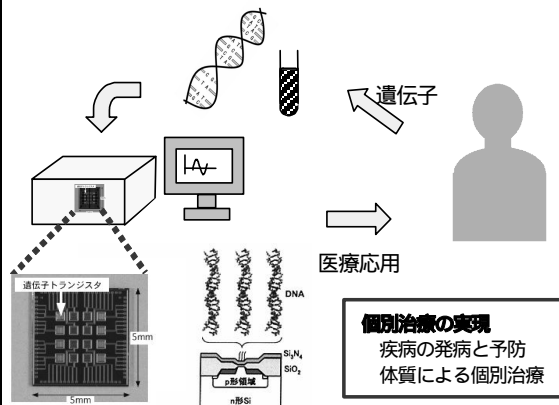


図1 遺伝子解析の医療応用

(遺伝子トランジスタ部参考: NIMS NOW 2005, Vol.5 No.4 April)

クロモデル)の試作を行った。試作したpHセンサの場合、異なるpHの試薬2種の試薬貯めと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測定を行うことに成功した。(4)

また複数試薬の送液手法をさらに拡張し、6種のポンプと遺伝子センシングのExtended Gate方式を用いた試作デバイスを作製し、DNAハイブリダイゼーション実験を行った。この実験では、拡散のため試薬のスイッチング時間が長時間になる問題が明らかになった。そこで迅速な送液制御を実現するため電界駆動型流体トランジスタを考案し、デバイス内に電気駆動の極小バルブを構築する研究を行った。これは電圧印加により液体の界面張力を変調させる原理(EWOD(electrowetting on dielectric))を応用した流体ゲートを作り、電気浸透流ポンプによる送液圧力とキャピラリ送液構造を組み合わせることで極微量の送液制御を可能にする流体デバイス素子である。試作デバイスを作製し駆動実験を行った結果、流路内の極小空間で電圧印加を行うと電気分解による気体が発生しやすい事が判明した。

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

(4) 電気学会論文誌E(センサ・マイクロマシン部門誌) Vol.132 No.42012

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。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し、センシングシステムの研究を行った。また 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。

高速化の鍵となるのはセンシング時に複数試薬の切り替えを高速に行うバルブ機能と微量送液制御である。申請者が考案している電界駆動型流体トランジスタは EWOD の原理と電気浸透流を用いた電気駆動による極微量送液制御バルブである。原理的にはミリ秒単位的高速制御とピコリットル単位の微量送液が可能な流体素子である。微細構造で形成可能なためデバイスサイズ縮小化が可能になり生産性も向上する。しかしこのバルブ機能には EWOD を発生させる高電圧印加が必要になり、流路内の極小空間では電気分解による気泡の発生を伴う。この問題を回避する新たなメカニズムが必要になっている。本研究期間ではこれを気泡バルブ発生機構として利用し、バルブ機能と微量送液制御を実現するとともに、4種の塩基を用いた遺伝子解析1サイクルをわずか 10 秒以内に行う画期的な解析システムの構築を行う。

3. 研究の方法

本研究計画では高速スイッチング機能を持った送液制御系と遺伝子トランジスタを組み合わせ、迅速な遺伝子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電界駆動型流体トランジスタを用いたポンプ・バルブ機能とその素子を複数制御して行う高速スイッチング式送液技術の確立、およびトランジスタを組み合わせた連動型センシングシステム化技術の開発である。そのために下記の研究目標を掲げ3年間の期間で研究を進めた。

1. 高速スイッチング式送液技術の確立

1-1. 電界駆動型流体トランジスタ試作

1-2. 複数素子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 25 年度計画

1. 高速スイッチング式送液技術の確立

1-1. 電界駆動型流体トランジスタ試作

電界駆動型流体ゲートはゲート部に疎水膜を用いて作製する。流路内の液体は疎水性親水性界面で液体は止まる。この性能を用いパターンニングした疎水性膜を用いてノーマークローズのゲートを形成する。流動を起こすために EWOD の原理を用いてゲート電圧を加えることにより液体の界面張力を変調させる。さらに試薬側(ソース)から圧力を加えることで界面を形状変化させ、液体先端が

キャピラリ部に到達した際に毛細管力で送液方向(ドレイン)へ試薬を取り出す。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。さらに疎水膜に関して、申請者はこれまでにマイクロピラー構造体と成膜技術を用いた疎水膜加工の予備実験を進めている。またこれまでの研究で問題となっている気泡発生は、気液界面発生機構として利用する。本デバイスでは気液界面の張力を制御しゲート機能を発生させているが、ゲート部に低電圧駆動で EWOD の効果が発生する機構を作ると共に、電圧を一時的に上げる事で気泡バルブを発生させ送液を止める働きを持たせる。また発生した気泡は疎水膜のマイクロピラー構造体の底面部に形成するバイパス排気構造により排気し、繰り返し送液可能なデバイスにする。低電圧駆動は微細化により実現し、駆動電圧 1V 以下でゲートオープン・クローズ状態の制御を目指す。トランジスタと同様にゲート電圧と液体圧力により流量を制御することができるため、最小 100pL の液量を制御して高速に流すことが可能になると考えている。先行研究成果の電気浸透流ポンプと疎水膜を併用し、新たに気泡による気液界面発生機構と界面制御法を研究し、画期的な流体素子である電界駆動型流体トランジスタを用いた流動制御を研究する。

平成 26 年度計画

1-2. 複数素子による極微量送液制御法の構築

複数の電気駆動型流体トランジスタとスイッチング制御回路と組み合わせ、適量の試薬を順次センサ部に流す送液制御法について研究する。電圧駆動型流体ゲートの駆動とスイッチング制御による試薬流体の挙動をシミュレーションにより算出し、スイッチング式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 μm 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。この送液の高速・高性能化にはスイッチング回路シミュレーションと流動シミュレーションが不可欠であり、この結果を元に制御系回路を構築する。またこのスイッチング制御回路も CMOS プロセスで製作可能な回路にする事で、センサ部形成時に同時作製を行いデバイスへの集積化を行う。

平成 27 年度計画

2. 連動型遺伝子センシングシステム化技術の開発

上記電界駆動型流体トランジスタを用いた高速試薬スイッチング機能と遺伝子トランジスタを一体型で作製し(図 2) 同一バッテリでの低電圧駆動(目標 1.5V)を行う。また回路制御により 4 種の塩基試薬と洗浄液

をセンシングに適した順序で流し、さらに遺伝子トランジスタでの電気反応を検出する連動型センシング総合システムの検証を行う。本研究では送液開始から4種の塩基での解析を10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塩基解析実験を行い、実用可能な測定ツールにまで本研究デバイス性能を向上させる。

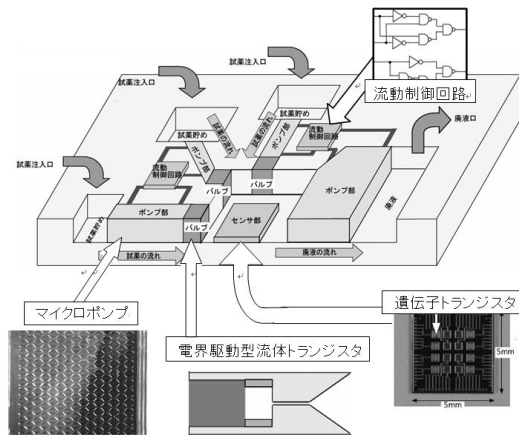


図2 連動型遺伝子センシングシステムの要素技術

4. 研究成果

まず「高速スイッチング式送液技術の確立」として「電界駆動型流体トランジスタ試作」を行なった。原理検証用の実デバイスサイズの10mm角の作製を行った。平成25年度以前に研究を行った駆動ポンプのマクロモデルと異なり、10mm角のマイクロモデルではポンプ構造体のエッチングプロセスが異なる。そのためポンプ構造体のエッチングプロセスの条件出しを行った。これにより、ポンプ構造体またバルブ機構を持つ疎水性領域の作製プロセスを確立した。さらにマイクロモデルに形成するために、電極パターニングの方法を検討し、ウェットエッチングプロセスで、最少線幅10 μm の電極形成を可能にした。これら二つのプロセスを組み合わせる際には、深堀エッチング構造体の中にAu(金)材料で配線を行う必要があるが、配線の断線を避けるためプロセス条件の選定を行い、約60度テーパ形状のエッチング表面に断線なく配線できるプロセスを構築した。(図3)

作製した電界駆動型流体トランジスタ試作チップを用いて、流動の確認を行った。考案している電界駆動型流体トランジスタでは、疎水膜上でEWOD(Electro Wetting dielectric)の原理を用いて界面張力を変調させると共に、気泡を瞬間的に発生させバルブとして用いる。この機構(電界駆動型ゲート)

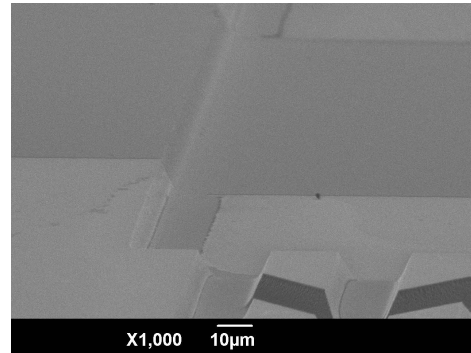


図3 テーパー形状部へのAu配線

と電気浸透流ポンプを組み合わせることで微量の送液制御を行う流体デバイスを考案しており、まずはゲート部の研究を進めた。本研究での一次試作チップでは、疎水性が強くなってしまった。これによりゲート機能を果たせなかった。研究を進めた結果、疎水性機能でのバルブ性能は、ポンプ駆動力が低い制御が難しい事が分かった。そのため、疎水機構を排除し気泡バルブ発生機構のみの方法でバルブ機能と微量送液制御を実現する方法を検討した。研究を進めた結果、バルブ発生機構に5.0V以上の印加を行う事によりバルブが発生し、送液を止める事が可能になった(図4)。またその後、印加を停止すると背圧により流動が起こり、さらにポンプ部へ2.0V以上の印加により、再び流動させる事に成功した。

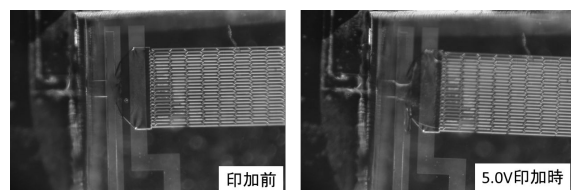


図4 バルブ発生による送液停止機構

電界駆動型流体トランジスタ試作と共に「複数素子による極微量送液制御法の構築」を進めた。まずは市販の回路を元に、時間制御による送液制御を検討し回路システムを構築した。この回路システムを適用するために、印加電圧方法を試作チップに対して制御方法を検討した結果、気泡バルブ発生機構を用いた流動停止に、最速で約1分の時間(9V印加時)が必要であった。印加電圧が高い事、またバルブ駆動時間に時間がかかる事より、バルブ発生型ゲート機構での秒単位の流動制御には、電界駆動型流体トランジスタの改良が必要である事が分かった。そのためバルブ機構

の電極構造の改良および、ポンプ圧力の向上のため、再設計を進めている。

また、「連動型遺伝子センシングシステム化技術の開発」のために、プロセスの構築を行った。

本研究では、電界駆動型流体トランジスタ部の作製と駆動回路の作製が重要な課題である。この二つの課題の内、駆動回路のプロセス工程の検討は、プロセスフローの構築を行い、作製されるデバイスの電気的特性の調整を行った。これにより、一般的な回路設計が可能な程度まで電気特性を調整する事に成功した。

またこの工程を私の考案した Pre-CMOS 工程へ適用するために、ボッシュプロセスによる深堀工程を行ったエッチング面の平坦化処理について研究を進めた。深堀エッチングの条件出しを行い、平坦性の最適化プロセスを調査し、底面部に微細加工プロセスが可能になった。これにより CMOS-MEMS 融合工程が可能になった。

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0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

無し

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・准教授

研究者番号：10379290