

平成 28年 5月 20日

プログラム名：進化を超える極微量物質の超迅速多項目センシングシステム

PM名：宮田 令子

プロジェクト名：ナノ・マイクロポアを用いた InSECT システムの開発

課題番号： 2014-PM09-04-01

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 27 年度

研究開発課題名：

ナノ・マイクロポアを用いた InSECT システムの開発

研究開発機関名：

大阪大学

研究開発責任者

川合 知二

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

本年度では、大気中に浮遊する PM2.5 及び細菌・ウイルスの捕捉・分離・濃縮から検出までを、感度 100 粒子・分子、検査時間 15 分以内で完了できるマイクロポアセンサーデバイスを開発することを目的とした。以下に、実施する各研究開発項目について詳述する。

- ・ **ナノピラー・マイクロピラーアレイを用いた PM2.5 及び細菌の捕捉**
マイクロポアアレイ及びナノ・マイクロピラーを用いて PM2.5 及び細菌の捕捉・分離・濃縮を実証する。
- ・ **マイクロ・ナノポアセンサによる PM2.5、細菌及びウイルスのサイズ・形状・数の計測**
PM2.5、細菌及びウイルスのサイズ・形状・数を検出するためのマイクロ・ナノポア技術を開発する。
- ・ **InSECT デバイスのプロトタイプ試作**
上記の捕捉技術とマイクロポア計測技術を融合した InSECT-PM2.5 及び InSECT-細菌・ウイルスのプロトタイプデバイスを試作する。
- ・ **パターン認識による粒子同定**
マイクロ・ナノポア検出部出力波形から、粒子のサイズ・数を定性的に認識する分類技術・クラスタリング技術及びそれらのアルゴリズム・プログラムを開発する。
- ・ **量産型 InSECT デバイス開発に向けた基礎研究**
東芝が中心となって実施する InSECT-細菌・ウイルスデバイス及び InSECT-PM2.5 デバイスの量産化・モジュール化・量産用試作及び製品化の過程において必要となる基礎研究を実施する。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

マイクロ・ナノポア技術開発では、低アスペクト比マイクロポアを用いて PM2.5、細菌類及び無害化ウイルスのサイズ及び数だけでなく、その形状測定も実施し、パターン認識技術を活用することで、1 粒子測定により得られた電流波形データから、細菌の形状を定性的に認識する分類技術を創成することに成功した。さらに、ポア内壁を Au で被覆した構造を構築し、当該 Au 表面上に認識分子を吸着させる手法を開発した上で、これを用いて細菌及びウイルスの 1 粒子検出に成功した。これらは当初の想定以上の成果である。また、マイクロポアアレイ/マイクロ流路/マイクロポア融合デバイスを作製し、これを用いて大気中に浮遊するマイクロ粒子の捕捉からポア検出までの一貫したデバイス動作を実証した。さらに、マイクロ・ナノピラーアレイを用いて、PM2.5 や細菌のサイズ分離及び選択的濃縮を実証した。以上のように、一部想定以上の成果も得られており、研究は順調に進捗している。

2-2 成果

- **ナノピラー・マイクロポアアレイを用いた PM2.5、細菌及びウイルスの捕捉**

マイクロピラーの幾何学的な配置による粒子の泳動制御を応用した PM2.5 のサイズ分離用マイクロ流路デバイスの作製及びその動作の実証を行った。

- **マイクロ・ナノポアセンサによる PM2.5、細菌及びウイルスのサイズ・数の計測**

SiN メンブレン中に作製した低アスペクト比マイクロ・ナノポア構造を用いて、PM2.5、細菌及びウイルスの 1 粒子検出を実施し、得られた電流波形データから、細菌の形状を定性的に認識することに成功した。また、SiN ポアの内壁を Au で被覆した構造を作製し、当該 Au 表面上に、特定のウイルスや細菌と選択的に相互作用するペプチド及び糖鎖を固定する技術を開発し、これを用いて大腸菌や無害化インフルエンザウイルスの 1 粒子検出に成功した。

- **InSECT デバイスのプロトタイプ試作**

粒子捕捉用マイクロポアアレイ、電気泳動用マイクロ流路及び粒子検出用低アスペクト比マイクロポアで構成されたモノリシックな固体センサチップを開発し、これを用いて大気中の微粒子の捕捉から検出までの一貫した動作を実証することに成功した。さらに、当該チップが実装可能な小型装置を開発した。

- **パターン認識による粒子同定**

各種粒径を有する粒子に関するマイクロポア出力波高分布を予め学習し、それらを基に未知の粒径分布を有する粒子群の粒径個数分布を推定する手法を開発し、これを用いて実験データに関してパルス波形の各種サンプリング周波数に関して 3~10% 程度の誤差内での推定に成功した。

- **パターン認識による細菌・ウイルス同定**

形状が類似している大腸菌と枯草菌を対象に、マイクロポア出力パルス波形の特徴パラメータ抽出を行う手法を開発した。さらに、大腸菌、枯草菌それぞれについてこれらの特徴パラメータ群の確率分布関数を予め学習し、それらを基に大腸菌と枯草菌の混合物に含まれる両菌の個数分布を推定する手法を開発し、これを用いて実験データに関してパルス波形の各種サンプリング周波数に関して 9~10% 程度の誤差内での推定に成功した。平行して機械学習手法を用いて、大腸菌と枯草菌に関するマイクロポア出力パルス波形の特徴パラメータ群に基づき、個々の出力パルス毎に大腸菌か枯草菌かを識別した。その結果、83.5% 程度の精度で両菌を識別することに成功した。

- **パターン認識による分子同定**

7 種類の酸化物半導体センサを用いてアセトアルデヒド、ピロール、ノナナール、ベンズアルデヒドの何れかの有機化合物低分子ガスを測定した電圧信号波形から、各種分子の種類識別とガス濃度推定を行う機械学習手法を検討した。実際の測定条件で得たデータに検討手法を適用した結果、98.6% の精度で分子識別と 15% 程度の対数スケール上での濃度推定に成功した。

・量産型 InSECT デバイス開発に向けた基礎研究

InSECT の量産化・モジュール化・量産用試作に向けて、分子認識ポアの堅牢性評価を実施した。パッケージング工程における高温環境を想定して Au ポア内壁の変質の有無を調べた結果、300°C以上の温度下では Au 表面の構造が変化することを確認した。

2-3 新たな課題など

ポアデバイスの堅牢性評価を通じて、量産化プロセスに耐えるマイクロ・ナノポア構造開発の必要性が確認された。この新たな課題の解決に向けて、今後、現在の Au-チオール結合を応用した分子固定化法に代わる新しい認識分子の固定手法を開発し、量産化プロセスに耐える認識分子ポア構造の構築を目指す。

3. アウトリーチ活動報告

産研テクノサロン(2015/7/31)にて、ImPACT での研究開発内容について活動報告を行った。

Nano tech Japan 2016 にて、InSECT システムの研究開発内容について活動報告を行った。

II 特許・論文・対外発表等データ

1. データ集計

特許				他の産業財産権合計（商標、意匠など）			
出願件数		登録件数		出願件数		登録件数	
国内	海外	国内	海外	国内	海外	国内	海外
3	0	0	0	0	0	0	0

会議発表（総数）			（国際会議発表分）			（国内会議発表分）		
発表数	発表数の内、査読有	発表数の内、招待	発表数	発表数の内、査読有	発表数の内、招待	発表数	発表数の内、査読有	発表数の内、招待
			5	3	2	7	5	2

※ 発表数は、招待講演、口頭発表、ポスター発表の合計を記載してください。

論文数（総数）		（外国誌分）		（国内誌分）	
発表数	内、査読有	発表数	内、査読有	発表数	内、査読有
2	2	2	2	0	0

※ 原著論文、Proceedings、総説などを含む

表彰件数	0
------	---

書籍出版件数	0
--------	---

報道件数	0
------	---

アウトリーチ件数	2
----------	---

2. 特許・論文・対外発表等データ等一覧

2-1 産業財産権（特許、実用新案、商標、意匠など）

（別紙【様式 506-1】実施状況報告(成果別紙)を参照）

1. 出願日：平成 27 年 2 月 19 日（特願 2015-254398 号）・発明者：鷺尾隆、石井陽、谷口正輝、筒井真楠、横田一道 『細菌の種類と数を検出する装置、ならびに細菌の種類と数を識別する方法』・出願人：大阪大学
2. 出願日：平成 27 年 11 月 30 日（特願 2015-233120 号）・発明者：筒井真楠、谷口正輝、川合知二、土井謙太郎、川野 聡恭、田中 頌二 『サンプル検出用デバイス、サンプル検出装置及びイオン電流の検出方法』・出願人：大阪大学
3. 出願日：平成 27 年 4 月 6 日（特願 2015-077776 号）・発明者：筒井真楠、横田一道、谷口正輝、川合知二 『浮遊微粒子検出用ナノセンサ』・出願人：大阪大学

2-2 会議発表

■招待講演（国際会議）

●1

筒井真楠、Single-molecule sequencing using nanopores and nanoelectrodes、8th Asian Consortium on Computational Materials Science、National Taiwan University、2015 年 6 月 16 日

●2

筒井真楠、Single-molecule sequencing using nanopores and nanoelectrodes、NCTU-Seminar、National Chiao Tung University、2015 年 6 月 17 日

■招待講演（国内会議）

●1

筒井真楠、ナノポアセンシング法の開発とその応用展開、名古屋大学 IGER Seminar、名古屋大学、2015 年 5 月 21 日

●2

筒井真楠、NI-PXI システムを応用した 1 分子 DNA 電流計測システムの開発、NI Days 2015、品川コンファレンスセンター、2015 年 10 月 30 日

■口頭発表（国際会議）

●1

* Tomoji Kawai、Design Strategy of Metal Oxide Nanowires、Pacifichem 2015、ハワイ、2015 年 12 月 17 日

●2

* Kazumichi Yokota, Makusu Tsutsui, Takahito Ohshiro, Masateru Taniguchi, Tomoji Kawai, Electrical detection of single DNA molecules by electrode-embedded nanopore devices, Pacificchem 2015、ハワイ、2015年12月17日

●3

* Makusu Tsutsui, Akihide Arima, Kazumichi Yokota, Masateru Taniguchi, and Tomoji Kawai, Low-aspect-ratio micropore sensors: possibilities and limitations, Pacificchem 2015、ハワイ、2015年12月15日

■口頭発表（国内会議）

●1

* 谷口正輝、横田一道、筒井真楠、鷲尾隆、川合知二、ナノバイオデバイスと機械学習の融合による細菌・ウイルス識別、日本化学会第96春季年会、京都、2016年3月24日

●2

* 筒井真楠、横田一道、谷口正輝、川合知二、低アスペクト比マイクロポアにおけるイオン電流応答の粒子通過位置依存性、応用物理学会、名古屋国際会議場、2015年9月15日

●3

* 横田一道、微小物体情報検出からの新たな利用分野の開拓、第76回産研テクノサロン、大阪大学、2015年7月31日

●4

* 横田一道、Lee Steven、筒井真楠、谷口正輝、川合知二、近接複数ナノポアのイオン電流評価、応用物理学会、東京工業大学、2016年3月19日

■ポスター発表（国際会議）

該当なし

■ポスター発表（国内会議）

●1

* 筒井真楠、横田一道、谷口正輝、川合知二、四重極マイクロポアによる微粒子通過位置制御、第63回応用物理学会春季学術講演会、東京工業大学、2016年3月20日

2-3 論文 (Proceedings、総説を含む) (* : 査読有)

■論文 (Proceedings、総説を含む) (外国誌)

●1

Particle Trajectory-Dependent Ionic Current Blockade in Low-Aspect-Ratio Pores

Makusu Tsutsui, Yuhui He, Kazumichi Yokota, Akihide Arima, Sadato Hongo, Masateru Taniguchi, Takashi Washio, and Tomoji Kawai

ACS Nano 10 (2015) 803-809.

●2

High thermopower of mechanically stretched single-molecule junctions

Makusu Tsutsui, Takanori Morikawa, Yuhui He, Akihide Arima, and Masateru Taniguchi

Sci. Rep. 5 (2015) 11519.

■論文 (Proceedings、総説を含む) (国内誌)

該当なし

2-4 表彰

該当なし

2-7 出版

該当なし

2-8 報道（放送、新聞、雑誌等）

該当なし

2-9 アウトリーチ

●1

2016年・1月27-29日、InSECTシステムの研究開発内容の紹介、東京ビッグサイト・nano tech 2016、参加者数 48,514名

●2

2015年・7月31日、微小物体情報検出からの新たな利用分野の開拓、InSECTシステムの研究開発内容の紹介、大阪梅田まちラボセミナールーム・第76回産研テクノサロン、参加者数 50名