

「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」  
平成 22 年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告
----------------

野地 博行

東京大学工学系研究科 教授

生体分子 1 分子デジタル計数デバイスの開発

## §1. 研究実施体制

(1) 「デジタル計数法開発」グループ

① 研究代表者：野地 博行（東京大学工学系研究科、教授）

② 研究項目

- ・ドロップレット型超微小溶液チャンバーアレイの開発
- ・デジタル計数法およびデジタル ELISA 法の開発
- ・ナノロッド粒子の回転拡散運動イメージング技術の開発

(2) 「デジタル計数用 CMOS システム開発」グループ

① 主たる共同研究者：笹川 清隆（奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科、  
助教）

② 研究項目

- ・蛍光計測用 CMOS センサシステムの開発

## § 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

### (1)「デジタル計数法開発」グループ

#### ・Droplet 型超微小溶液チャンバーアレイの開発

CREST 藤井プロジェクトとの共同研究でエレクトロアクティブアレイ技術を導入した。これによってビーズあたりの捕捉効率を DEP によって 10%から 90%に向上させた。

#### ・デジタル計数法およびデジタル ELISA 法の開発

モデル反応として biotin と streptavidin の特異的結合反応を用いてデジタル計数法の基本プロトコルを確立した。 $\beta$ -galactosidase でラベルされた streptavidin のデジタル計数を行った結果、20 zM という極めて高感度のデジタル計数法が確立され、本手法の有効性を証明した(特許出願済)。

#### ・ナノロッド粒子の回転拡散運動イメージング技術の確立

DNA を介して金ナノロッドを多数ガラス表面に結合させ、その回転拡散の様子を高速度計測した。その結果、インフルエンザウイルスと同等の大きさを持つビーズの結合に伴う回転拡散速度の大幅な変化の検出に成功した。

### (2)「デジタル計数用 CMOS システム開発」グループ

#### ・蛍光計測用 CMOS センサシステムの開発

マイクロチャンバアレイを統合した CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor)イメージセンサを開発し、蛍光計数用 CMOS センサシステムの試作を行った。マイクロチャンバは高アスペクト比の微小開口アレイであり、各開口の位置は画素位置に対応している。この構造により、励起光の除去および、フィルタを設計波長通りに利用するための入射角制限を実現した。

CMOS イメージセンサは、2-poly 4-metal 標準 CMOS プロセスを用いて作製した。緑色蛍光検出のため、センサ上に誘電体多層膜フィルタ(波長透過 $>500$  nm)を張り合わせた。さらに、60  $\mu$ m 厚 Si 基板を画素アレイ上に搭載し、Deep Reactive Ion Etching プロセスにより、4  $\mu$ m 径の貫通孔を 15  $\mu$ m 間隔で開け、マイクロチャンバアレイを形成した。(図1)

試作したセンサ上に黄色蛍光ビーズを分散させ、入射角 45° で励起光(波長 470 nm)を照射した。蛍光ビーズの蛍光顕微鏡観察像、および、イメージセンサによる検出像、両者を重畳した像を図2に示す。チャンバアレイの孔に対応する点の明暗に高い相関が見られ、CMOS センサ画素による捕獲された蛍光ビーズのデジタル検出に成功した。

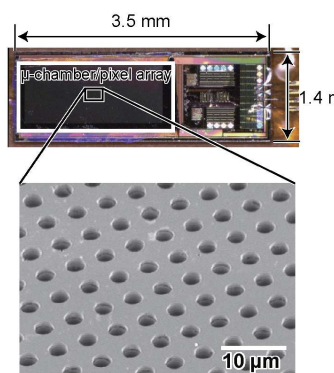


図 1. マイクロチャンバ搭載イメージセンサ

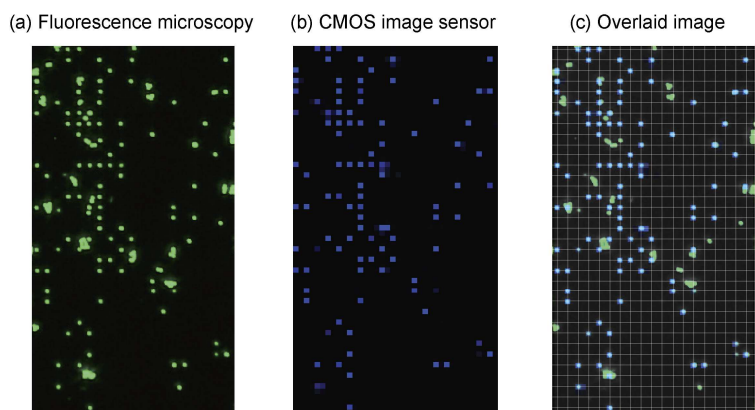


図 2. センサ上に分散した蛍光ビーズ観察像 (a) 蛍光顕微鏡像, (b) CMOS イメージセンサ像, (c) 重ね合わせ像。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

- 論文詳細情報

1. Yoshimi Matsumoto, Kohei Hayama, Shouichi Sakakihara, Kunihiko Nishino, Hiroyuki Noji, Ryota Iino, Akihito Yamaguchi. “Evaluation of multidrug efflux pump inhibitors by a new method using microfluidic channels”, *PLoS ONE*, 6, e18547, 2011 (DOI:10.1371/journal.pone.0018547).
2. Kiyotaka Sasagawa, Keisuke Ando<sup>1</sup>, Takuma Kobayashi, Toshihiko Noda, Takashi Tokuda, Soo Hyeon Kim, Ryota Iino, Hiroyuki Noji, and Jun Ohta, “Complementary Metal–Oxide–Semiconductor Image Sensor with Microchamber Array for Fluorescent Bead Counting”, *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 51, 02BL01, 2012 (DOI: 10.1143/JJAP.51.02BL01).

#### (3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)