

研究報告書

「ナノ空間での電気二重層制御を利用した一分子電気インピーダンス測定法の創成」

研究期間：平成 20 年 11 月～平成 24 年 3 月

研究者：山本 貴富喜

1. 研究のねらい

断面のサイズがナノメートルのオーダーとなる流路構造(ナノ流路)では、内部空間のほとんどが固液界面となるため、内部のイオン分布や物質輸送が界面に支配される、いわばナノ界面空間とみなすことが出来る。特に、流路幅がナノオーダーとなると、界面の電気二重層がオーバーラップするため、実質的に電気二重層が消失するような場が形成されることが考えられる。そこで本研究では、電気二重層の消失効果を電気インピーダンス分光により明らかとしつつ、その効果を合目的に利用して超高感度の液中電気測定系を実現し、生体高分子を 1 分子レベルで検出するような電氣的 1 分子測定法の実現を目的としている。1 分子測定のキラーアプリケーションとして、1 分子レベルで分子の分離・分画を実現する 1 分子ソーターを提案し、その実証も目指す。

2. 研究成果

図 1 に示すように、流路幅がナノメートルのオーダーとなるナノ流路では、流路幅が狭くなるに伴い流路壁面と内部の液体との界面に形成される電気二重層がオーバーラップするようになる。その結果、流路内部では電気二重層が実質的に消失するため、電気二重層に由来する巨大なキャパシタンス(電気回路的にはコンデンサー)を取り除くことが可能となり、従来のマクロな測定系では実現不可能であった超高感度の電流測定が可能となる。

本研究ではこのようなコンセプトの実証のため、まずナノ流路とナノ電極から構成されるナノ流体でバイスの作製方法に取り組んだ。その結果、Focused Ion Beam(FIB)を利用する方法、および、FIB 加工では実現が難しい複雑形状のナノ流路+ナノ電極ネットワークを実現するための電子ビーム描画とドライエッチングを組み合わせた作製法、2 種類のナノ流体デバイスの作製方法を開発した。さらに流路ネットワークの 3 次元化と、より高精度の電流測定を目指し、ダマスクプロセス(電極を埋め込むことにより表面をフラット化しつつ電極パターンを形成する手法)を適用し、図 2 に示すような埋め込み型ナノ電極によるナノ流体デバイスの形成に成功した。

一方、閉じたナノ流路を形成するためには、上記で作製したナノ流路の凹

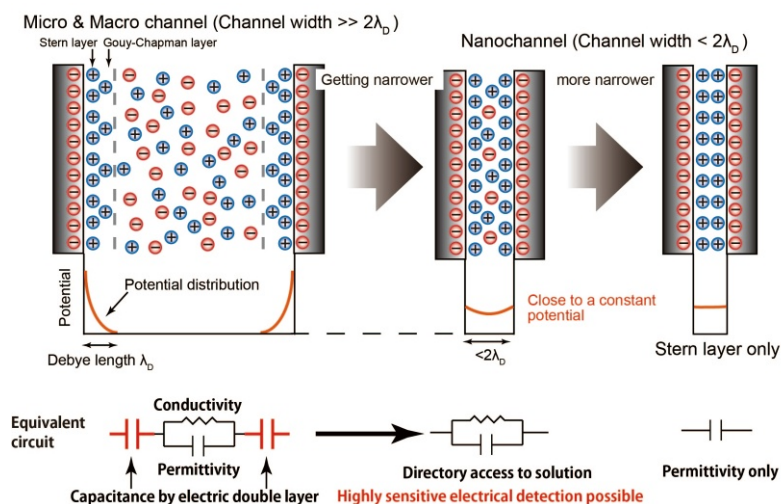


図 1 ナノ流路内における電気二重層

構造に蓋をする必要がある。ただし、接着剤や熱融着を利用する従来法ではナノ流路の溝が埋まってしまうため不適である。そこで、熱も接着剤も利用しない新しい接着法として、波長 172nm の真空紫外光照射により、表面励起したシリコン樹脂と SiO_2 間に形成されるシロキサン結合(-O-Si-O-)を利用した固体間直接接着法を開発し、わずか数 10nm のナノ構造を表面に持つ基板間で、ナノ構造を破壊することなく接合する手法を実現した(国際特許を含む複数特許出願済)。

さらに真空紫外光の過剰照射により、ジメチルシリコンが SiO_2 化(ガラス化)するメカニズムを解明すると共に、ガラス化に伴う

親水性向上によってナノ流路内に毛管現象で送液する手法の開発にも成功した。本手法は、ナノ流体デバイスの基板材料である石英を通して内部のナノ流路表面をクリーニングすると共に再親水化が可能であることも、作製困難なナノ流体デバイスの再利用の観点から重要な手法となることも明らかとなった。

以上のナノ流体デバイス作製法により、1 分子の電気的検出を試みた。まず、流路断面が生体分子 1 分子サイズとなるナノ流路には、分子は 1 度に 1 分子ずつしか流れ入ることが出来ないことを実証し、さらにナノ流路を挟み込むように配置したナノギャップ電極間を流れる電流測定から図 3 に示すように 1 分子の電気的な検出にも成功した。次に、誘電泳動や電気泳動を組み合わせた電気的 1 分子操作と 1 分子測定を組み合わせ、単一の分子を 1 分子ずつ個別に分離・回収するような 1 分子ソーターの実現を目指し、図 4 に示すようなナノ流路とナノ電極から構成される入口が 1 つで出口が 3 つのナノ流体デバイスを作製した。本デバイスは、センシング電極からのフィードバックで操作電極を制御することにより、1 本の流路から 3 つの出口を選択出来る構成となっている。分子量が異なる 3 種類の DNA の混合溶液をサンプル溶液として用い、分子量毎に 3 つの出口に回収するソーティング操作を行ったところ、98%以上の確度で 1 分子ずつソーティングすることに成功し、世界初の 1 分子ソーターの実証に成功した(国内特許出願済み、国際特許出願)。

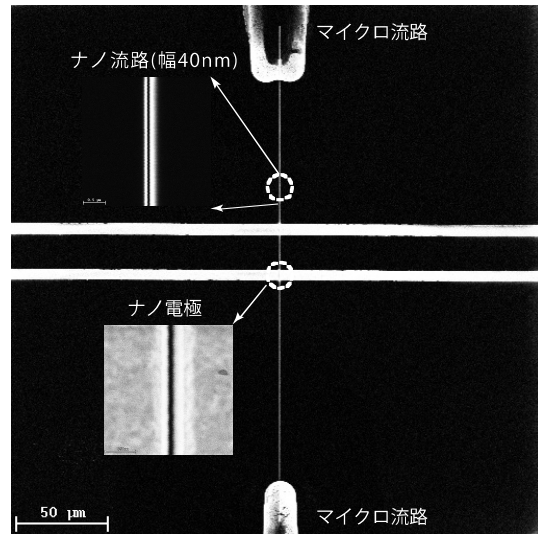


図 2 ナノ流体デバイス

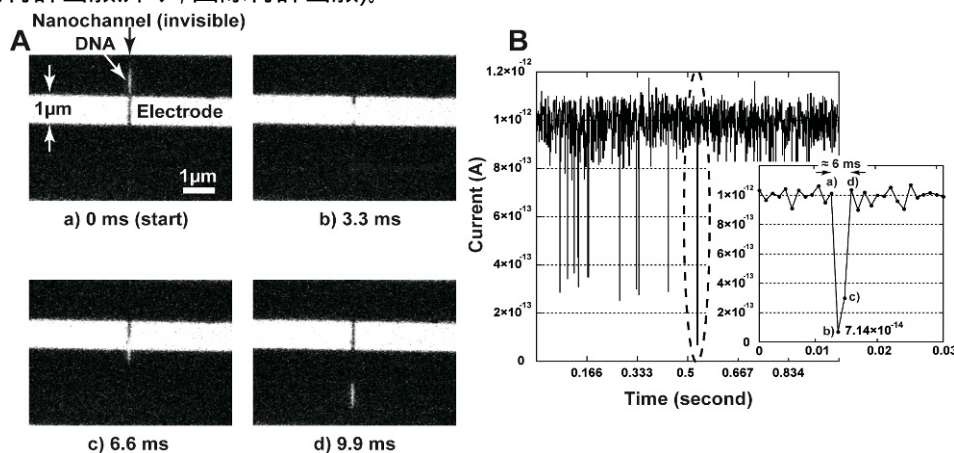


図 3 ナノ流路を流れる 1 分子の電流測定

ところで、以上の1分子センシングでは直流測定を利用しているため、分子量がほぼ同程のサンプルを見分けることが困難であることは研究開始当初から予想されていた。そこで、例えば分子量が同じであっても、その構造に由来する誘電率から分子を同定するような、電気インピーダンス分光による分子検出の検討も行った。電気インピーダンス分光は交流測定であり、誘電率の測定が可能である反面、周波数帯域の拡大に伴いノイズが増大するため直流測定より感度が悪くなる欠点を有する。そこで、1次構造はひも状高分子である生体分子のソフトマテリアルとしての特徴を利用して、通常の電気測定ではタブーとなる高電界印加に伴う誘電泳動力で分子を変形させながら測定する非線形電気インピーダンス分光による高感度化の実証に成功した。

このような非線形測定では電界強度が数 MV/m 以上もの高電界が必要となる。このような高電界をマクロな測定系で実現しようとすると、例えば 1mm のギャップを持つ電極の場合、数 kV 以上もの高電圧印加が必要となり、このような高電圧を高周波で印加することは事実上不可能に近い。ところが電極ギャップが例えば 100nm の電極であれば、印加電圧はわずか 0.1V で良いため、高周波領域まで容易に測定が可能となる。すなわち、ここで提案する非線形電気インピーダンス分光は、ナノ流路系で初めて実用化可能な手法であることも、ナノ流路を合目的に利用する1因である。

デバイスのポータブル化によるオンサイトでの超高感度測定やセンサーとして利用するような応用を開拓しつつ、配線の最小化による低ノイズ化を同時に達成すべく、ナノ流体デバイスチップ上への電気測定回路の集積化も試みた。測定回路としては、オペアンプを用いた電流-電圧変換回路(トランスインピーダンス回路)をチップ上に直接構成した。市販の超低入力バイアス電流のオペアンプと、高精度高抵抗、およびチップ上のリーク電流や寄生容量を考慮した電気配線設計により、1.25インチ角上の石英チップに、ナノ流路と電流測定回路を同時に実現することに成功した。このような無駄な配線を極小化したデザインにより、現在、シールドボックスを使用しないオープンな環境でもバックグラウンドのノイズレベルが数 10fA オーダーで数 100fA 程度の電流測定能を達成している。今後、ガード電極を組み込むことで更なる低ノイズ化の見通しである。本オンチップ電流測定回路は、その他一般的な電気化学センシングやフォトダイオードような光センシングの超高感度化にもそのまま利用可能なものである。このような低価格回路、超小型化、PC 駆動可能な低電力動作、超高感度などの様々な利点を通して、光・電気測定全般の超高感度オンチップ測定への道の開拓も行った。

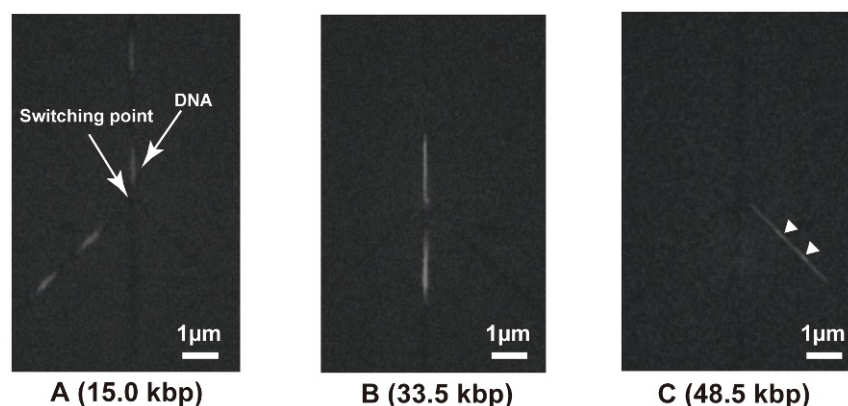


図4 1分子ソーティングの様子

3, 今後の展開

現在, ナノ流路内におけるキャリアイオンの静的・動的分布のデータが出そろい始めている。今後, まずイオン分布の詳細を電気インピーダンス分光で明らかとし, 既に報告されている理論値との比較を行いながらナノ界面空間の構造を明らかとする。まだ非公開の成果として, 熱運動によるゆらぎでイオンが電極間を往復する現象が電氣的に測定出来つつある。このような熱運動を積極的に利用出来るナノ界面空間の特徴を生かした電気測定の高感度化と共に, 熱運動のエネルギーを電気エネルギーに変換するようなエネルギーデバイスへの展開も検討する。さらに, 表面電位を制御することによるナノ流路内での選択的イオン輸送と, ポンプやバルブ機能といったナノ流路における流体制御への応用可能性を検討する。また, 本手法のアプリケーションサイドの研究として, タンパク質の1分子検出やウイルスの1分子検出を進め, 特にエアコンや空気清浄機, あるいはモバイル機器に内蔵出来るようなウイルスセンサーへの展開を進める。

4, 自己評価

研究開始1年目で大学を移転することになり, 予定していた装置群が使用出来なくなる可能性があること, また立ち上げに時間がかかるためしばらく実験が停滞することが予想されたため, 装置が利用出来る間に本研究のゴールに設定していた1分子検出と, さらに将来的なゴールに設定していた1分子ソーターの実証に着手するという, 当初の研究計画とは全く反対のスタートとなったが, 幸いにもDNAを用いた1分子検出と1分子ソーターの実証に成功し, 複数件の特許出願繋がったことは良い判断だったと思っている。その後, デバイス作製に手間取りなかなか測定データが得られなかったことは, 予想通りとはいえ, ファウンダリーなどに外注すればデバイス作製がもっとスムーズに進んだ可能性を考えると手間取り過ぎと反省している。震災の影響で壊れた装置でさらにデバイス作製が遅れたことを考えると, 結果論ではあるが重ねて積極的に外注しておくべきだったかと思う。その反面, デバイス作製が出来なかった時間を利用して進めた真空紫外光による表面・界面の改質技術を, 接着や印刷など今後世の中で求められるであろう加工技術のニーズに上手くマッチさせ, 短期間で特許や共同研究に展開するまでに至ったことは, 本来の研究テーマからは外れてしまったとはいえ, 良い成果に至ったと考えている。

全体的に基礎現象を深く掘り下げる予定の研究が, 各々良い成果には繋がったとはいえ横に広がってしまったことは, 研究マネジメント上の反省点すべき点である。

5, 研究総括の見解

ナノ流路とナノ電極から構成されるデバイスを作製し, 1分子検出に成功するなど独創的なアイデアで行った研究を高く評価したい。1分子レベルで分子の分離・分画を実現する1分子ソーターの作製などの応用面もさることながら, このようなデバイスにおける分子と界面との相互作用に関する基礎的な観点からの研究を展開できれば学術的にもたいへん面白いのではないかと。波及効果の大きな優れた研究と言える。

6, 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文) 発表

1. Takatoki Yamamoto, “Single molecular level analysis and processing in nanochannels, <i>Frontiers in Bioscience</i> , accepted (2011)
2. Wataru Okada, Takatoki Yamamoto, “Direct Bonding between Silicone and Glass by Atmospheric-Pressure Surface Modification”, <i>IEEEJ</i> , Vol.131, No.4, pp159-164 (2011)
3. Takatoki Yamamoto, Teruo Fujii, “Nanofluidic Single-molecule Sorting of DNA: A New Concept in Separation and Analysis of Biomolecule”, <i>Nanotechnology</i> , Vol. 21, No. 39, 395502 (2010)
4. Takatoki Yamamoto, “Study on 172-nm Vacuum Ultraviolet Light Surface Modifications of Polydimethylsiloxane for Micro/Nanofluidic applications”, <i>Surface and Interface Analysis</i> , Volume 43, Issue 9, pp.1271–1276 (2010)
5. Takatoki Yamamoto, Sang-Wook Lee, Teruo Fujii, “ Nonlinear Electrical Impedance Measurement Controlling Conformation of DNA”, <i>Journal of Robotics and Mechatronics</i> , Vol.22, No. 5, pp.601-607 (2010)

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 6 件

国際出願番号: PCT/JP2011/000245

発明者: 山本貴富喜

発明の名称: 硬質シリコン樹脂の接着方法, 微細構造を有する基板の接合方法および当該接合方法を利用したマイクロ流体デバイスの製造方法

出願人: 国立大学法人東京工業大学

出願日: 1 月 19 日, 2011 年

国際出願番号: PCT/JP2011/062497

発明者: 山本貴富喜

発明の名称: 流路デバイス及びそれを含むサンプル処理装置

出願人: 科学技術振興機構

出願日: 10 月 3 日, 2011 年

出願番号: 特願 2011-207042

発明者: 山本貴富喜, 他

発明の名称: シリコン系樹脂と非シリコン系樹脂の接着方法

出願人: 国立大学法人東京工業大学

出願日: 9 月 22 日, 2011 年

出願番号: 2010-008956

発明者: 山本貴富喜, 他

発明の名称: 微細構造を有する基板の接合方法および当該接合方法を利用したマイクロ流体デバイスの製造方法

出願人: 国立大学法人東京工業大学

出願日: 1 月 19 日, 2010 年

出願番号:2009-293960
発明者:山本貴富喜, 他
発明の名称:サンプル溶液処理装置
出願人:科学技術振興機構
出願日:12月25日, 2009年

出願番号:2009-274921
発明者:山本貴富喜, 他
発明の名称:サンプル溶液処理装置
出願人:科学技術振興機構
出願日:12月2日, 2009年

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

招待講演

- [1] TakatokiYamamoto, “微細加工技術のバイオデバイスへの応用”, 日本機械学会マイクロ・ナノ加工分科会 第7回技術セミナー (2011, 7/28) 東京
- [2] TakatokiYamamoto, “ナノフルイデックスが目指す究極のバイオセンシング”, 平成23年度北東北ナノメディカルクラスター研究会サマーキャンプ (2011, 8/5～6), 岩手
- [3] TakatokiYamamoto, “Multiphysics simulation to design micro/nanofluidic device for biotechnology applications”, COMSOL conference of Tokyo 2010, (2010, 12/3) Tokyo
- [4] 山本貴富喜, “マイクロ・ナノ流体デバイスのライフサイエンス応用”, 日本機械学会, 実験流体力学 - マイクロ流れ実験の基礎と応用 - (2010, 8/24) 東京
- [5] TakatokiYamamoto, TeruoFujii, “Design using COMSOL for life science application of microfabrication technology”, COMSOL conference of Tokyo 2009, (2009, 12/4) Tokyo

著書

山本貴富喜, “マイクロ・ナノ流体力学”, 森北出版, 2012年発刊予定