



Title	MEMSプロセスを用いたベア水晶内蔵型バイオセンサの開発
Author(s)	加藤, 史仁
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59102
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	加 藤 史 仁
博士の専攻分野の名称	博 士（工学）
学 位 記 番 号	第 2 5 2 3 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科機能創成専攻
学 位 論 文 名	MEMS プロセスを用いたベア水晶内蔵型バイオセンサの開発
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 平尾 雅彦 （副査） 教 授 小林 秀敏 教 授 荒木 勉 准教授 萩 博次

論 文 内 容 の 要 旨

半導体微細加工技術を応用して、電気機械要素を組み込んだ三次元微小構造体をMEMS(Micro-Electromechanical Systems)という。MEMSは、民生機器、自動車、情報通信、医療、バイオなどの幅広い分野において、基幹部品として使用されている。MEMSまた、その技術が、様々なデバイスへ適用される理由として、小型化による高い空間分解能、他のセンサや回路との一体化、バッチ処理による性能ばらつきの低減、一括大量生産による低コスト化といった高付加価値化を実現できることにある。そこで、こうしたMEMS技術による高付加価値化に着目し、生体分子化学の分野において近年集中的に研究されている水晶微小天秤(Quartz Crystal Microbalance (QCM))バイオセンサの高付加価値化および、性能の大幅な改善を目指す。

本研究において、MEMS技術により製作した微小なビラー、および、半円状の側壁を有する微細流路中に、無電極水晶振動子を固定すること無く、支持した状態でパッケージ化した、ワイヤレス駆動を可能とする、RAMNE-Q (Resonance Acoustic Microbalance with Naked-Embedded Quartz)バイオセンサを提案する。このRAMNE-Qは、水晶振動子を拘束せずに支持しているため、その振動はより自由なものとなり、振動エネルギーの漏出を低減できることから、高いQ値を期待できる。その結果、高い信号対雑音比を実現でき、低濃度の検出目的物質の生体分子反応を明確に計測することができる。また、水晶振動子が、剛性ならびに、耐食性の高い基板中にパッケージ化されているため、センサ操作時における水晶の破損の心配が無く、デバイスの洗浄に際しては、流路中へ、洗浄溶液を送液するだけで、水晶振動子の洗浄を完了できる。したがって、半永久的に再利用が可能となり、再アセンブリが不要であることから、再現性の高い計測が可能となる。

今回、5インチMEMSプロセスを用いて、RAMNE-Qチップを製作した。製作したRAMNE-Qの超純水バッファ内における共振スペクトルを測定し、58 MHz振動子の3次モードにおいて、約1500となる高いQ値を得た。RAMNE-Qは、ベア水晶振動子の表面に、タンパク質が、非特異に吸着することに着目したバイオセンサであり、この非特異吸着したタンパク質をレセプタとして、検出目的タンパク質を捕捉する。そこで、バッファ（リン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate Buffered Saline (PBS)) の送液中に、レセプタタンパク質溶液(プロテインA (Staphylococcal Protein A (SPA))やヒト免疫グロブリン(Human Immunoglobulin G (hIgG)))を注入することで、水晶振動子の表面に非特異吸着させ、このレセプタを介して、検出目的タンパク質(hIgGや連鎖球菌プロテインG (Streptococcal Protein G (SPG)))の捕捉実験を行った。まず、バッファ送液中におけるRAMNE-Qの出力信号ばらつき2 ppmから、理論検出感度が、2.7 pM (0.41 ng/ml)となること確認した。続いて行った、非特異吸着したSPA分子を介した、異なる濃度のhIgG溶液に対する一連の捕捉実験では、1 ng/mlの低濃度のhIgG分子の捕捉に成功した。また、親和性を示す熱力学的諸量の算出を行い、観察された、SPA-hIgGの反応が、特異的な結合であることを証明した。さらに、非特異吸着したhIgG分子を介した、SPG分子の捕捉実験を行い、

この時の反応・解離曲線から、SPGの分子量を同定し、実際の分子量と一致することを確認した。

今回の結果は、RAMNE-Qが、高感度な定量測定、および、リアルタイムでの非標識による測定、また、チップ洗浄を含めた一連の処理を高速に実行できる、再利用可能なバイオセンサであることを示している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

半導体微細加工技術を応用して電気機械要素を組み込んだ三次元微小構造体をMEMS(Micro-Electromechanical Systems)という。本研究は、MEMS技術により製作したRAMNE-Q (Resonance Acoustic Microbalance with Naked-Embedded Quartz)バイオセンサを提案するものである。微小なビラーと半円柱状の側壁を有する微細流路中に、無電極水晶振動子を固定することなく支持した状態でパッケージ化し、外部から無線による共振の駆動を可能とする。水晶振動子を音響的に拘束せずに支持しているために自由振動が実現していることから、高いQ値と高精度の共振周波数計測が期待できる。その結果、低濃度の検出目的物質の生体分子反応を精確に計測することができる。また、水晶振動子が、剛性・耐食性の高い基板中にパッケージ化されているため、半永久的に再利用が可能となり、再アセンブリが不要である利点を有する。

試作したRAMNE-Qチップによって超純水バッファ内における共振スペクトルを測定し、58 MHz振動子の3次モードにおいて約1500となる高いQ値を得た。RAMNE-Qは、ベア水晶振動子の表面にタンパク質が非特異的に吸着することを利用するバイオセンサであり、この非特異吸着したタンパク質をレセプタとして検出目的タンパク質を捕捉する。そこで、バッファ（リン酸緩衝生理食塩水）の送液中に、レセプタタンパク質溶液（プロテインA (SPA)）やヒト免疫グロブリン（hIgG）を注入することで、これらを水晶振動子の表面に非特異吸着させ、このレセプタを介して検出目的タンパク質（hIgGや連鎖球菌プロテインG (SPG)）の捕捉実験を行った。まず、バッファ送液中における出力信号ばらつき2 ppmから、理論検出感度が2.7 pM (0.41 ng/ml)となること確認した。続いて、非特異吸着したSPA分子を介した異なる濃度のhIgG溶液に対する一連の捕捉実験において、1 ng/mlの低濃度のhIgG分子の捕捉に成功した。また、親和性を示す熱力学的諸量の算出を行い、観察されたSPA-hIgGの反応が特異的な結合であることを証明した。さらに、非特異吸着したhIgG分子を介したSPG分子の捕捉実験を行い、反応・解離曲線からSPGの分子量を同定して実際の分子量と一致することを確認した。

本研究は、RAMNE-Qがリアルタイムでの非標識による高感度な測定とチップ洗浄を含めた一連の処理を高速に実行できる再利用可能なバイオセンサであることを示している。生体分子化学の分野において新しい指針を提案するものであり、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。