



解説

ナノスコピックプラズマプロセスによるバイオデバイス構築

平田孝道, 畠山力三¹⁾, 金子俊郎¹⁾, 岡田 健¹⁾,
秋谷昌宏, 島谷祐一, 一木隆範²⁾, 赤木貴則²⁾

武蔵工業大学工学部生体医工学科, ¹⁾東北大学大学院工学研究科電子工学専攻,

²⁾東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻/東京大学ナノバイオ・インテグレーション研究拠点

(原稿受付: 2007年4月25日)

近年における“ナノテクノロジー”および“バイオテクノロジー”の進歩には著しいものがあり, 原子・分子単位の制御を基本とした新体系が構築されつつある. 特に次世代バイオデバイスとして注目されている μ TAS や Lab-on-a-chip 等のバイオマイクロシステムおよび生体埋め込み・融合型マン・マシーンインターフェースの実現には, ナノテクノロジー・バイオテクノロジー・メディカルサイエンスを横断する学際性・多面性を有する分野の開拓, すなわち工学-医学の連携・融合が必須条件である. ここでは, 物理的制御性のみならず化学反応性にも優れているプラズマ理工学的手法を駆使した先端研究の一例として, 電解質プラズマを利用した DNA 内包カーボンナノチューブの創製, カーボンナノチューブを用いたバイオナノセンサ (ビタミン-タンパク質および抗原-抗体センサ) の開発, 生体脳-機械インターフェース (Brain-Machine Interface, BMI) に着目した末梢神経埋め込み用電極の開発, 走査型マイクロプラズマジェット装置を用いたバイオデバイス作製に関する研究成果の事例について紹介する.

Keywords:

nanoscopic plasma process, nanocarbon, deoxyribonucleic acid (DNA), brain-machine interface (BMI), biochip, bio-nanosensor, electrolyte plasma

1. はじめに

プラズマ科学の分野においては, 多様な中性原子・分子, イオン種, 活性種 (ラジカル) が混在するプラズマ中および固体との界面での物理機構・化学反応性や, 原子・分子レベルからナノ, ミクロンスケールに亘る幅広い制御性を活用した, プラズマを母体とする物質・材料創製の研究に多くの興味が注がれてから久しい[1]. これらプラズマ科学のキーワードと密接にかかわる特異な物理現象を理解すると, 豊富な挑戦的課題を有するナノスケールの未踏領域世界が拓けるものと考えられているものが「ナノテクノロジー」である. これは, 主に物理的手法でバルク固体を分割して微細化を推進する“トップダウン方式”と, 主に化学的手法で原子・分子を組み上げて集合させる“ボトムアップ方式”の双方の利点を融合させることにより, 一層の発展が期待されている科学・技術分野である.

後者の自己組織化プロセスを利用するボトムアップ方式の好例として衆目の興味を集め, 物理, 化学, 生物を始め, 工学, 医学等の応用を含む様々な分野で現在活発に研究されているのがナノカーボンである. その代表的なものとして, 60個の炭素原子から成る直径 1 nm 弱の球状分子 C_{60} を主とする炭素同素体フラーレン[2, 3]と, 6個の炭素原子が作る六員環が網目状に配列し, 螺旋を巻きながら円筒状 (直径数 nm~数 10 nm, 長さ数 10 nm~数 mm) になった

構造のカーボンナノチューブ[4, 5]がある. これらを合成するのに, プラズマが介在するレーザーアブレーション法, アーク放電法, プラズマ化学気相堆積 (CVD) 法が用いられているのは興味深い. 一方, やはり近年の最先端技術開発研究課題の柱ともいえる「バイオテクノロジー」が扱う対象の代表として, DNA, ペプチド, タンパク質等の生体高分子がある. これらはスケールの丁度上記のナノカーボンと同範囲にあるので, いわゆるナノ-バイオ融合研究に好適なナノ物質・材料と考えることができる. プラズマのバイオ応用研究としては近年, 有害物質分解および殺菌・滅菌を皮切りに, ポリエチレン表面および極細チューブ内面の撥水性・親水性処理等に見られるように, 医学分野への領域拡大・展開が急速に進んでいるという現状がある.

以上の背景を鑑みながら筆者らは, 従来のミクロスコピック領域よりも微小な 1 nm 近傍領域における量子効果の顕在化も意図して, プラズマを利用した電気・磁気・光学・生体的新機能創出のナノ構造創成・制御法, すなわち「ナノスコピックプラズマプロセス」を提唱し, プラズマ科学・物質科学・生命科学の分野が交差する学際領域上の新展開と位置づけ研究を推進している. 特にナノ-バイオ (あるいは生命と物質の) 融合を意識した場合には, 気体プラズマ中に加えて液体プラズマ中および気液プラズマ

Construction of Bio-Devices Based on Nanoscopic Plasma Processes

HIRATA Takamichi, HATAKEYAMA Rikizo, KANEKO Toshiro, OKADA Takeru, AKIYA Masahiro, SHIMATANI Yuichi, ICHIKI Takanori

and AKAGI Takanori

corresponding author's e-mail: hirata@dev.ec.musashi-tech.ac.jp

界面におけるナノスコピックプラズマプロセスを活用して、MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems) 技術に伴うバイオデバイス構築を経てバイオナノシステム創成へと至ることを最終目標としている。ここで、具体的な基本となる各プラズマプロセスとそのバイオ・医療応用例を具体的に以下に簡単に列挙・説明する。

(1) 液体プラズマ (ウェットプロセス)

(a) ハードプロセス：ストリーマ・アーク放電プラズマ、レーザーアブレーションプラズマによる単原子ナノ粒子合成や異原子・分子内包ナノカーボン創製（高感度バイオセンシングや機能性ベクター等のバイオテクノロジーおよびナノメディシンへの応用）。

(b) ソフトプロセス：弱電離電解質プラズマによるコロイドや生体高分子内包ナノカーボン創製、および完全電離電解質プラズマによるイオン液体内包ナノカーボン創製（高感度バイオセンシングや機能性ベクター等のバイオテクノロジーおよびナノメディシンへの応用）。

(2) 気体プラズマ (ドライプロセス)

低気圧・大気圧グロー放電、高気圧アーク放電プラズマ、マイクロプラズマジェットによる生体機能性ナノ粒子やナノカーボン合成、およびナノバイオ物質・材料の表面修飾・改質・固定・生体適合化（脳・神経微小電極、バイオチップ、細胞工学、マイクロ流体デバイス等のバイオテクノロジーおよびナノメディシンへの応用）。

本稿では紙面に限られているので、「医学・工学融合」指向の新領域開拓および応用展開が期待できるナノスコピックプラズマプロセスによるバイオデバイス構築の一例として、電解質プラズマを利用したナノ・バイオ融合のDNA内包カーボンナノチューブの創製とその評価・分析、プラズマアクティベーション法等によるナノカーボン（主として、カーボンナノチューブ）を用いたバイオナノセンサの試作と評価、半導体（プラズマ）プロセス技術とマイクロマシニング (MEMS) 技術を駆使して作製した神経再生型電極による生体信号伝達、ならびに走査型マイクロプラズマジェット法によるバイオチップの高機能化と、その流体デバイスや細胞培養応用について述べる。

畠山力三(東北大学大学院工学研究科電子工学専攻・教授)

平田孝道(武蔵工業大学工学部生体医工学科・准教授)

2. ナノスコピックプラズマプロセスによるバイオデバイス構築

2.1 電解質プラズマを利用したDNA内包カーボンナノチューブの創製

生体高分子の一つであるDNAは4種類の塩基分子から構成され、それぞれが固有の電子状態を持っているため[6]、塩基配列によって様々なバンドギャップを持つ半導体になり得ることや[7]、DNAをテンプレート（鋳型）として用いることでナノ細線や量子ドット等の量子効果を利用した新規デバイスの構築が期待されることから[8]、多くの研究が行われている。一方、カーボンナノチューブ

(CNTs)に代表されるナノカーบอนは、多様な電氣的・物理的・化学的特性を有することに起因して、新機能性材料開発の観点から盛んに研究が進められている[9]。これらのCNTsとDNAはともにナノスケールの特異的性質を有する物質であり、これらを会合させることで、これまでにない超微細、超高速、超高感度のデバイス構築等の様々な応用が期待できる。ここでは、ナノ・マイクロスケールまでの幅広いプロセス制御性を秘めている気相中のプラズマ理工学的手法[10]をDNAが安定に存在できる溶液中に適用し、新機能性バイオデバイス構築のbuilding blockとして期待されるDNAを内包したCNTsを創製する手法[11, 12]について述べる。

DNAは、分子内に存在するリン酸基のため溶液中において多価負イオンとして振る舞う。このようなイオンを含む溶液は一般に電解質溶液と呼ばれ、1920年代にデバイとヒュッケルによって電解質溶液のイオン挙動に関する理論が構築され[13]、その後、気体プラズマ理論へ発展した歴史的経緯がある。したがってここで、電解質溶液を“電解質プラズマ”と定義し、気体プラズマとの比較を行ってみた(表1)。電解質プラズマは荷電粒子（電解質）と中性粒子（溶媒）から構成され準中性であることから、気体プラズマと同様に扱うことができる。一方で電解質プラズマは液体であるため、密度が非常に高く、温度が低いことに起因して、デバイ長がナノメートルオーダーと極端に短いことが特徴であり、また高密度であることから従来の気体プラズマとは異なる物理的・化学的反応が期待でき、新物質創製に大きな可能性を秘めていると考えることができる。

図1に電解質プラズマを利用した実験装置図を示す。電解質プラズマ(DNA水溶液)中にアルミニウム製アノードおよびカソード電極を挿入し、アノード表面には予め開端処理したCNTsを塗付しておく。電極間隔は1mmであり、電極には直流電圧 V_{DC} および高周波電圧 V_{RF} を独立に印加することができる。DNAは溶液中で負イオンとして存在するので、直流電場を印加することでアノードへのDNA負イオン照射を行うことができる。また、高周波電場を印加すると、溶液中で糸玉形状を呈しているDNAが分子内分極と高周波電場との相互作用で伸長することがわかっており[14]、伸長したDNAをCNTsに照射することでDNAの内包効率が向上することが期待できる。なお、直流電場を印加した場合には、シース電場の効果によりCNTsが電場に沿って配向するため[10]、DNAとCNTsの先端開口部はともに対峙した位置関係になり、DNAが挿入されやすい状態になっている。

表1 気体プラズマと電解質プラズマの比較。

	気体プラズマ ^a	電解質プラズマ ^b
構成種	電子, 正イオン, 中性粒子	正負イオン, 中性粒子
電荷	準中性	準中性
温度 T	~3.0 eV	0.025 eV (300 K)
密度 n	~ 10^{10} cm^{-3}	~ 10^{15} cm^{-3}
デバイ長 λ_D	~0.13 mm	~11 nm

^a 典型的な直流放電プラズマの場合。

^b DNA濃度が 10^{-5} mol/l の場合。

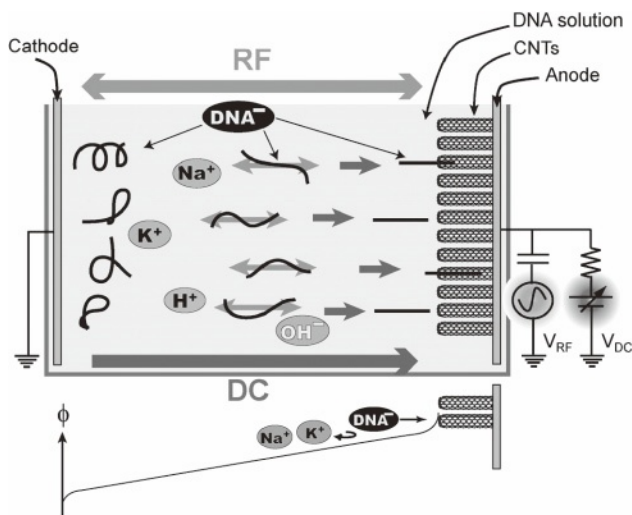


図1 電解質プラズマを利用したDNA負イオン照射実験装置図および電解質プラズマ中の電位 ϕ 分布モデル図。

本研究で用いたDNAは全て1重螺旋の合成DNAであり、塩基（例えばアデニン）の頭文字と塩基数を表す添字を用いて A_x と表記する。

まずは、260 nm付近の吸光スペクトルピーク変化を測定することによりDNA水溶液濃度変化を算定し、基板へのDNA負イオン照射量を調べた。図2にDNA水溶液濃度 c の直流電場印加時間 t 依存性を示す。時間経過 t とともにDNA水溶液濃度が減少しており、その減少量、すなわち基板への照射量は V_{DC} の増加とともに増加していることがわかる。これらの結果より、DNA負イオン照射量は t と V_{DC} で制御できることが明らかになった。次に、印加する電場を変化させてCNTsにDNA負イオン照射を行い、そのCNTsをラマン分光法により解析した結果を図3に示す。ここでは、CNTsの径方向の伸縮モードであるRadial Breathing Mode (RBM) 領域に注目し、そのときのスペクトル形状の変化からDNAの内包について議論する。図中の"Pristine"は電場を印加していない場合の結果である。"RF"は高周波電場のみを印加していることを示しており、DNA負イオンは溶液中で伸長されているが能動的なイオン照射は行われていないため、"Pristine"のスペクトルと比較して大きな変化は見られない。一方、"DC"は直流電場のみを印加していることを示しており、溶液中で糸玉形状

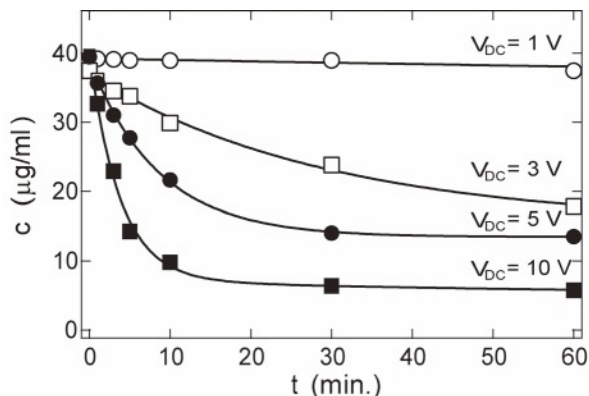


図2 DNA水溶液濃度 c の直流電場印加時間 t 依存性。

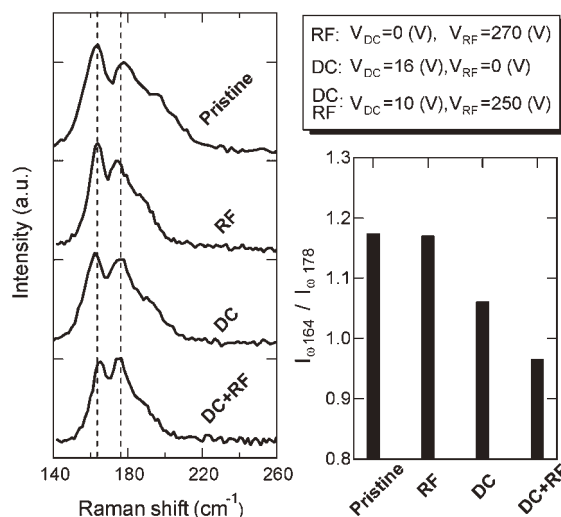


図3 DNA負イオン照射後のCNTsのラマンスペクトル。A₁₅, $t = 10$ min.

を有しているDNA負イオンをその形状を維持して照射した結果である。この場合には、図中点線で示した164 cm^{-1} 、178 cm^{-1} の波数においてスペクトル強度の変化が観測されており、それぞれのピーク強度の比(I_{164}/I_{178})をとることで、"Pristine"との差異が明確にわかる。さらに"DC+RF"は、直流電場と高周波電場を重畳印加していることを示しており、この場合に I_{164}/I_{178} の"Pristine"に対する変化量が最も大きくなっていることがわかる。すなわち、伸長されたDNA負イオンを能動的にCNTsへ照射することにより、DNAがCNTs内部に効率よく内包されたことを意味している。また、DNAの塩基数や塩基の種類を変化させることでラマンスペクトルに変化が観測され、内包効率に差異が生じることもわかっている[15, 16]。

図4に透過型電子顕微鏡によって観察したDNA負イオン照射後のCNTs像を示す。2本のCNTs内部に、それぞれ2本と3本の1次元構造物質が内包されていることがわかる。この物質の長さは用いたDNAであるA₁₅ (~5 nm)

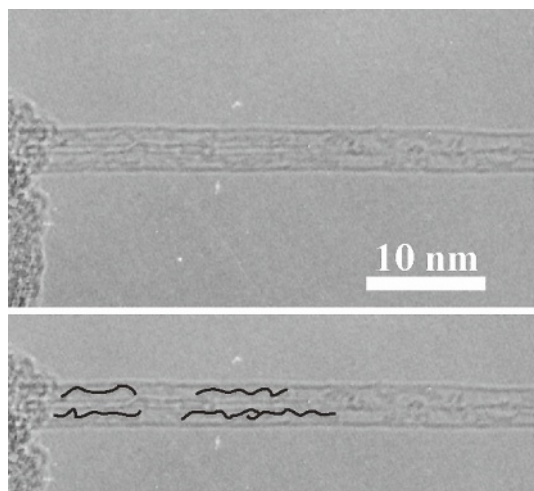


図4 CNTsに内包したDNAの透過型電子顕微鏡像。内包の様子を模式的に図中黒線で示してある。A₁₅, $V_{DC} = 10$ V, $V_{RF} = 150$ V, $t = 10$ min.

とほぼ同一であるため、CNTs内部にDNAが内包されていることを裏づけている。

本研究において、DNA水溶液を電解質プラズマと捉え、溶液中におけるDNA負イオン照射を行うことによってDNA内包CNTsの創製に初めて成功した。このDNA内包CNTsは、ナノスケールで局所的にCNTsの電気的特性を変化させることが可能であるため、新機能性バイオナノデバイス構築等への応用上、大きな可能性を有している。

金子俊郎(東北大学大学院工学研究科電子工学専攻・准教授)

岡田 健(同・日本学術振興会特別研究員)

畠山力三(同・教授)

2.2 ナノカーボンを用いたバイオナノセンサ

現在、単層カーボンナノチューブ(Single-Walled Carbon Nanotubes, SWNTs)および多層カーボンナノチューブ(Multi-Walled Carbon Nanotubes, MWNTs)に代表されるナノカーボン類の基礎および応用に関する研究は、国内外の大学や民間研究所の化学・固体物理・ナノ材料分野で盛んに行われている。しかし、プラズマ科学、デバイス工学、表面・界面化学、生体分子学等の学際的分野を包括的に駆使した研究は、国内外における実施報告例がほとんどないというのが現状である。特にSWNTsおよびMWNTsを駆使したバイオセンサの開発は[17-20]、ナノ・バイオテクノロジー・メディカルサイエンスを横断する多面性機能を必須とする次世代ハイブリッドセンサや、生体埋め込み・融合型マン・マシンインターフェースの実現性を高めている。シリコンを主とする無機物系材料は、固体、液体、気体における熱・化学的安定性と制御性が良く、高い信頼性が得られるが、原子・分子単位的设计性、柔軟性、ならびに生体適合性に乏しい。近年の有機合成分野における分子を基本単位とする新機能性物質の創製とそれら代替物質による新概念の構築が加速的に展開されている。以上の背景から、ナノカーボンベースのバイオナノデバイス創製およびそれらの生体適合化に関する開発技術を確立することは、日本におけるバイオナノテクノロジー産業の現状を活性化して国際競争力強化に直結する新産業創出のキープointと成り得ると考えている。ここでは、SWNTsを主体としたバイオナノセンサ開発の一例として、ビタミン・タンパク質センサの試作・評価、ならびにプラズマイオン照射法を用いたSWNTsの化学修飾処理法(プラズマアクティベーション法)による化学修飾ナノチューブの形成実験と評価事例(抗原-抗体センサの試作・評価)について述べる。

2.2.1 ビタミン・タンパク質センサの開発

はじめに、糖タンパク質の一つであるアビジンと特異的な結合を有するビオチン(ビタミンB₇)を用いたビタミン・タンパク質センサの作製および特性評価について述べる[21]。アビジン-ビオチン結合は、抗原抗体反応の100万倍以上も強く、ほとんど不可逆的結合であるため、免疫研究用や癌検査用試薬に適用されている。実験は、ポリエチレングリコール(poly[ethylene glycol], PEG)をグラフト処理(グラフト:「接ぎ木」や「結合」という意味であり、化学

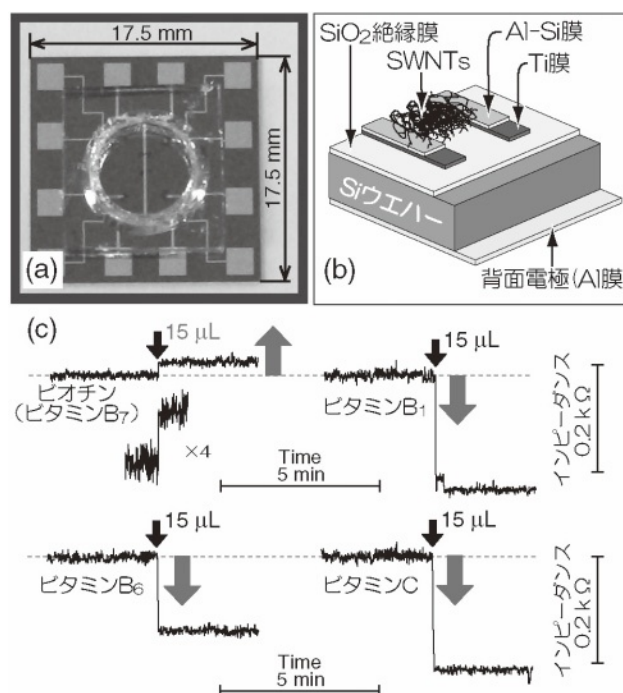


図5 (a)バイオナノセンサチップ写真、(b)電極構造、(c) ビオチンおよび他のビタミン(B₁, B₆, C)を注入した場合の電極間インピーダンスの時間変化。

的な作用を利用して物質表面に新たな機能を付与(重合)する方法)したSWNTs(PEG-SWNTs)と、カルボキシル基を修飾したSWNTs(COOH-SWNTs)を混合したものを、図5(a),(b)に示すマルチチャンネル型FET(Field-Effect Transistor)基板(外寸:17.5×17.5 mm, SiO₂薄膜[膜厚:290 nm]上にTi/Al-Si電極[膜厚:250 nm, ソース・ドレイン電極間距離:1, 5, 10, 50 μm]を形成)に定着後、ペプチド合成用縮合剤とタンパク質架橋剤を混合した溶液を用いてCOOH-SWNTsにアビジンを固定化させた。図5(c)は、ビオチンおよび他のビタミン類(B₁, B₆, C)を注入した場合の電極(1 μmを使用)間インピーダンスの時間変化を示したものである。ビオチンを注入した場合、アビジン-ビオチン結合に起因したインピーダンスの増加が観測され、他のビタミン類はPEG-SWNTsとCOOH-SWNTsには結合せず、水溶化したビタミンに起因したインピーダンスの減少が観測された。一方、PEG-SWNTs単体を定着させた場合、全てのビタミンにおいてインピーダンスが減少する結果が得られている。特に、蒸留水洗浄を行った場合、インピーダンスがほぼ初期値まで回復することから、ビオチンを含むビタミン類はPEG-SWNTsに直接結合しないものと考えられる。

2.2.2 プラズマアクティベーション法による化学修飾ナノチューブの形成と抗原-抗体センサへの適用

2.2.1節における実験の場合、予め化学修飾(主としてアミノ基修飾)処理を施したDNAまたはタンパク質をSWNTs表面に固定化させるための官能基(主にカルボキシル[COOH]基)形成に、ウェットプロセス法[22,23]による酸化処理を用いている。その他の手法としては、紫外線照射法[24]、プラズマ法[25]等が挙げられるが、ウェット

プロセス法ではセンサ周辺および電極の腐食や浸食、紫外線照射では深部までの照射が困難である、等の問題点がある。以上の背景より、ウェットプロセス法よりも領域選択性かつ制御性に優れているプラズマイオン照射法を用いたSWNTsの酸化処理、つまり“プラズマアクティベーション”法による官能基の形成実験ならびに評価・分析を行った[26]。

実験は、PEG-SWNTsをセンサチップ上の電極間に塗布・架橋させた後、マグネトロン型プラズマ発生装置（周波数：50 Hz、電圧・電力：1 kV・20 W）を用いてプラズマイオン照射処理を行った。プラズマ発生用導入ガス種および圧力は大気（主：N₂：78.08 %、O₂：20.95 %）および10 Paであり、照射時間は15 minである。XPS（X線光電子分光）による組成分析の結果、図6(a)に示す未処理のPEG-SWNTsの場合にはC-1sおよびカルボニル（C=O）基に相当する結合エネルギーのスペクトルピーク（284.5および286.5 eV）のみが観測されているが、図6(b)のウェットプロセス法および図6(c)のプラズマアクティベーション法による処理を施した場合にはCOOH基に相当するピーク（288.5 eV）も観測されている。特に、プラズマアクティベーション処理におけるCOOH基の全ピーク面積に対する割合は、イオン照射前（0.35 %）に比べて34倍（11.85 %）に増加していることが判明している。

さらに、生体物質を用いた実験を行った。対象物質は、牛血清アルブミン（BSA）と抗BSA（anti-BSA）抗体を用いた。図7は処理条件（未処理、ウェットプロセス法およびプラズマアクティベーション法）を変えたPEG-SWNTsを用いた場合のanti-BSA滴下後の電極間インピーダンスの時間変化を表したものである。未処理状態（図7(a)）の場合、バッファ溶液（緩衝液とも呼ばれ、濃度や組成が多少変化してもpHが変化しない性質を有する溶液）中の

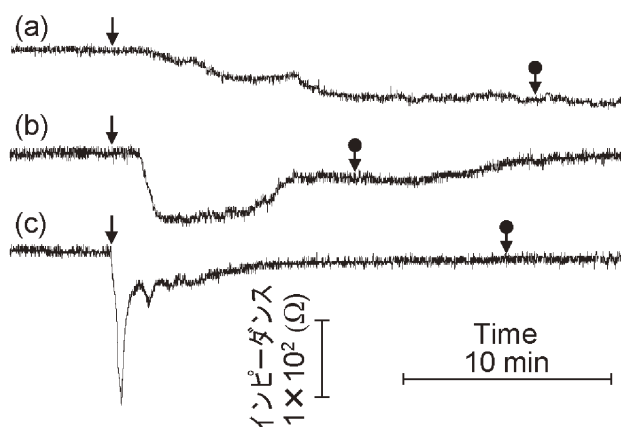


図7 anti-BSA滴下後のインピーダンス時間変化。(a)無処理、(b)ウェットプロセス法、(c)プラズマアクティベーション法。

BSAは負に帯電するため、インピーダンスは緩やかに減少する。一方、ウェットプロセス法（図7(b)）では、BSAを注入してから約1分後にインピーダンスが減少し、6～7分で安定状態に到達するのに対して、プラズマアクティベーション法（図7(c)）はBSAを注入してから1分以内に減少し、即座に安定状態に到達する傾向が観察された。以上の結果より、SWNTsを主体としたバイオナノセンサは大いなる可能性を持っているが、低温度（室温）におけるチップ上への直接成長ならびにバンドル化したSWNTsの分散化等はまだ問題点があるため、プラズマ条件を含めたさらなる工夫が必要であるといえる。

平田孝道(武蔵工業大学工学部生体医工学科・准教授)

秋谷昌宏(同・教授)

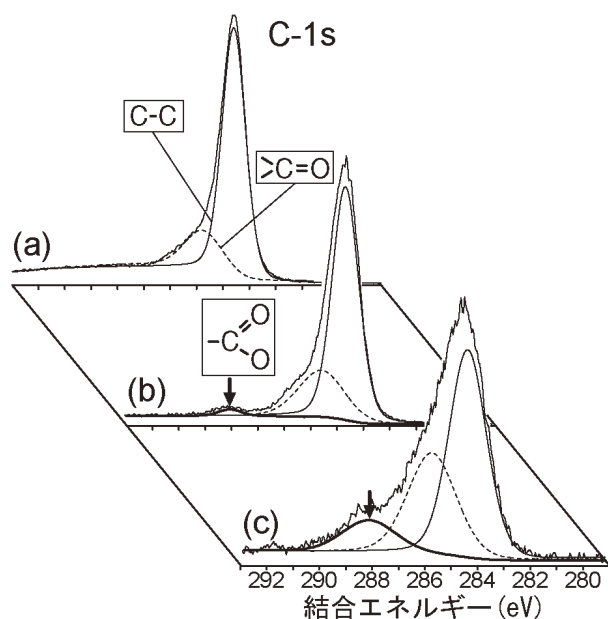


図6 XPSによる分析結果。(a) 処理前、(b) ウェットプロセス法、(c) プラズマアクティベーション法。

2.3 神経再生型電極による Brain-Machine Interface

この数年、Brain-Machine Interface (BMI) という言葉をよく見聞するようになった。BMIは生体の脳・神経系と人工の機械等を結びつける技術のことである。例えば自分の思ったとおりに動かせるロボット義手、光センサの出力を実際の感覚として知覚させる人工視覚等への応用が期待されている[27]。

BMIには脳波や筋電を体表面に貼付けた電極で記録し利用する方法もあるが、得られる情報の量や精度に限界がある。神経細胞が発する信号をより詳細に捉え、あるいはより細かな信号を神経系に送り込むには、多チャンネルの微小電極アレイを直接脳や末梢神経に埋め込む必要がある。近年の微細加工技術の発達はそのような電極の製作を可能にし、BMIの可能性を進める大きな一因となっている。本稿では我々が現在開発中の末梢神経埋め込み用BMI電極である、シーブ（Sieve）電極について紹介する。

2.3.1 シーブ電極

シーブ電極（図8）は神経再生型電極ともいう。ポリイミド樹脂（フレキシブルプリント基板等に用いられる樹脂で、高強度で絶縁性にすぐれている）製の細長いフィルムの先端部に直径数μmの微小孔を多数開け、孔の周囲をリング状の金属電極とした微小電極アレイである。各リング

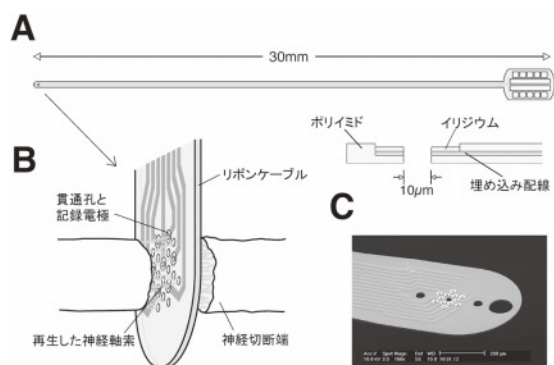


図8 シーブ電極のしくみと構造。

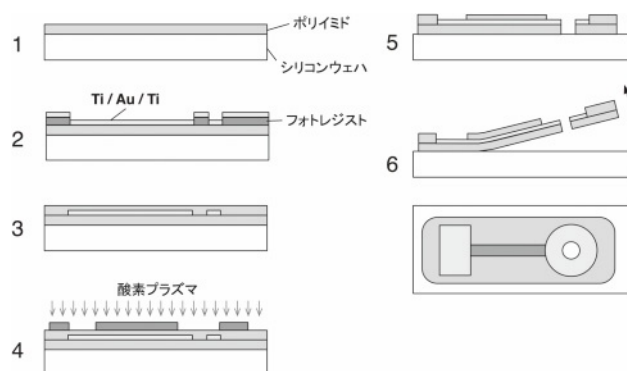


図9 シーブ電極の製造方法。

から後端の接続パッドまでは埋め込み配線が延びている。末梢神経を一旦切断してから電極を挟んでつなぎ合わせると、切断した神経の中枢側から孔を通して神経線維が再生し末梢側につながる(図8B)。この再生した神経線維から活動電位を記録し、あるいは逆に神経線維を電気刺激する[28]。

シーブ電極は一般的なフォトリソグラフィーの技術を用いて作ることができる(図9)。すなわちシリコンウェーハ上にポリイミド層をスピン塗布し、その上に金属パターンを蒸着する(1,2)。再度ポリイミドを塗布する(3)。リング部外周をフォトレジストでマスクし、これにRIE(Reactive Ion Etching: 反応性イオンエッチング)で酸素プラズマを照射してポリイミドをドライエッチする(4)。この処理によってリング部では金属面が露出し、さらにその中央部には貫通孔ができあがる(5)。

2.3.2 電極の埋め込みと神経活動電位の記録

我々はシーブ電極をラットの末梢神経に埋め込み、神経の活動電位を長期にわたり記録することに成功している[29]。図10は耳介内側の感覚毛を支配する後耳介神経に電極を埋め込む場合を示している。この神経は耳に風を吹き付ける Air-puff 刺激等に反応して興奮する。埋め込み手術では、神経を露出して切断し、その両切断端を電極両面に取り付けたガイドチューブに挿入して手術糸で向かい合わせに固定する(図10A)。電極後端はコネクタに接続し、それを頭骨に固定して皮膚の外に露出させる。手術後、神経線維がシーブ孔を通して再生し耳介感覚毛を再び神経支配するまでには約40日かかる。図10Bはシーブ電極で記録した、再生後の後耳介神経の Air-puff 刺激に対する応答である。電極の単一チャンネル、すなわち一つの記録リングから一本の神経線維の活動電位が記録できている。我々はまた、埋め込んだシーブ電極を刺激電極として用い、ラットに人工的な感覚を生じさせることにも成功している。シーブ電極を通して再生した後耳介神経にパルス電流を流して電気刺激すると、ラットは耳をピクつかせたり、前肢で耳を掻いたりする行動を示す。これは耳を不意に Air-puff 刺激したときなどにみられる耳介反射と同様の行動で、電気刺激によって人工感覚が生じたことを示すものである。

2.3.3 BMI 電極の今後

シーブ電極に限らず現在用いられている金属電極アレイ

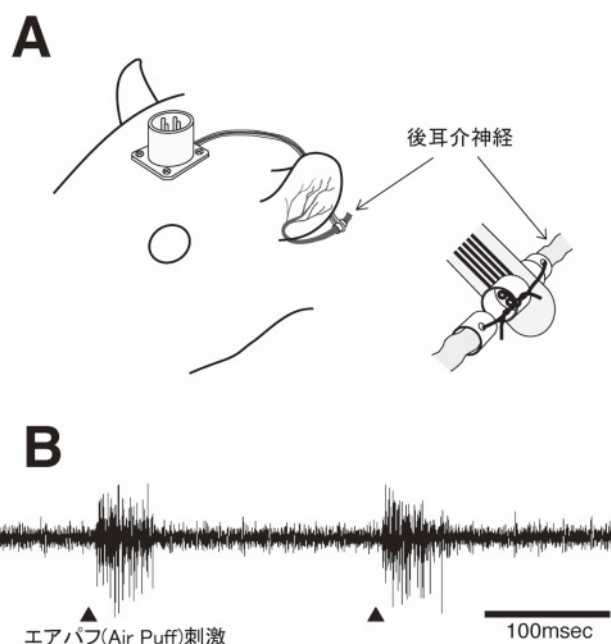


図10 (A)後耳介神経への電極埋め込み手術と、(B)再生した感覚神経線維からの活動電位記録。

は、記録/刺激が可能な期間がもって数年で、人間への本格的適用はまだ難しい。電極の寿命を短くする一番の原因は、電極の材質が抱える侵襲性および生体非適合性であろう。すなわち金属等の固い材質は外力がかかった場合、神経細胞を圧迫して死滅させてしまうこと、金属表面にタンパク質の吸着等が生じて電極の性能を劣化させることなどが考えられる。

このような問題を解決するブレークスルーになるのではないかと期待しているのがカーボンナノチューブ(CNTs)である。CNTsは丈夫かつしなやかな導電性材料で、生体適合性にもすぐれている。すでにCNTsを敷いたマットの上で神経細胞を培養すると良好に成長するという研究や、CNTsを介して神経細胞に通電することに成功したという報告がある。CNTsで神経の活動を記録したという例はまだ聞かないが、ナノスコピックプラズマプロセスを駆使して創製される生体機能性CNTsをうまく神経系に織り込むことができれば、それも可能ではないだろうか。近い将来、CNTsを人工神経のように用いた、理想的なBMI

が実現するかもしれない。

島谷祐一(武蔵工業大学工学部生体医工学科・准教授)

2.4 マイクロプラズマのバイオチップへの応用

近年、医療やバイオテクノロジーの分野における微細加工技術の応用展開として、化学・生化学分析装置を小型化する μ TASやLab-on-a-chipといったバイオマイクロシステム技術の研究が盛んである。この分野では、バイオデバイス材料としてPDMS（ポリジメチルシロキサン）と呼ばれるシリコン樹脂が特に試作研究用途で広く用いられている。その理由は、この材料がソフトリソグラフィーにより低コストで精密成形が可能なこと、多くの化学薬品やpH環境に対する優れた耐性、紫外-可視光領域での良好な光透過性、ガス透過性や生体無毒性等である。核酸、タンパク質、さらに細胞の分析や操作、培養など様々なバイオ応用技術をPDMSデバイス上に集積化させるための研究が行われている。筆者らは、数年来、微小化によるプラズマ技術の新たな展開を目指す「マイクロプラズマ技術」の高付加価値応用を探る目的で、バイオマイクロシステムに代表される高機能マイクロシステム技術分野への応用を研究してきた。本節では、走査型マイクロプラズマジェット装置を用いたPDMS製バイオデバイス作製に関する研究成果の事例を紹介する。

図11は筆者らが開発した走査型マイクロプラズマジェット装置で、これまでにシリコンウェーハの局所パターン加工、3次元加工等で実績がある[30, 31]。小型のプラズマ源はアルミナ板上に形成した厚さ250 μ mの銅製の平板型アンテナと内径0.9 mmの石英管から構成されている[32]。144 MHz、50 WのVHF電力を供給してArプラズマを発生させ、周囲から反応性ガスSF₆を導入して高密度のエッチャントを局所的に生じることができる。ArとSF₆ガスを用いて発生したプラズマジェットを、シート状のPDMS試料の同一箇所でも数回にわたり繰り返し走査し、PDMSのエッチングを試みると、流路形状がエッチングされた。基板-プラズマ間距離は、700 μ m程度が最適値であり、これはSF₆の解離により生じたフッ素密度の距離依存性に対

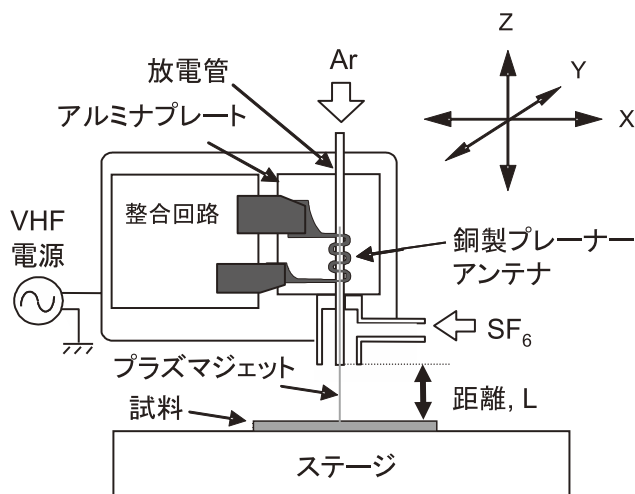


図11 走査型マイクロプラズマジェットエッチャーの概略図。

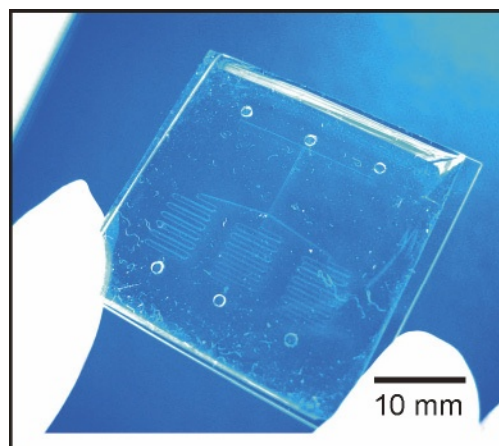


図12 走査型マイクロプラズマジェットエッチャーにより加工したPDMS製マイクロ流体デバイス。

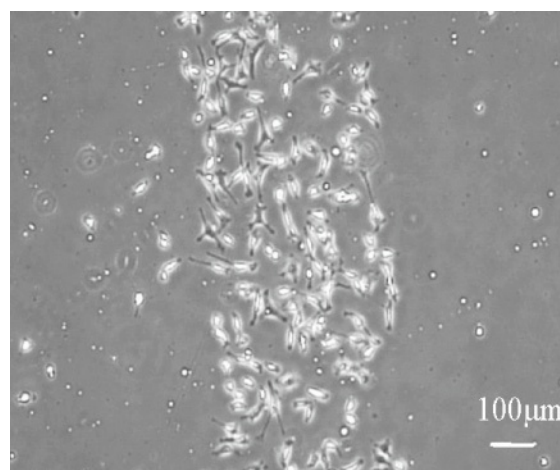


図13 走査型ラジカルジェット装置を用いて局所表面処理を施したPDMS上で1直線上に並んで培養されたHeLa細胞。

応しているものと考えられる。低圧プラズマを用いたRIEでは、エッチング面上にマイクロメートルレベルの大きな荒れが生じることが報告されているが、本装置では数10 nm程度の比較的平滑なエッチングが得られている。理由は明らかでないが、等方性エッチング機構に因るところが大きいと考えられる。このような特徴から、数10 μ mレベルの微細加工には不十分ながら、数100 μ mレベルの加工が要求されるマイクロ流体デバイスの試作ツールとしては有効利用できる可能性があり、図12に示すようにマイクロ流体デバイスの試作への適用も実証されている。

さらに、図11の装置を改造した走査型ラジカルジェット装置を用いてPDMSの局所表面酸化とこれを利用した細胞のパターン化培養を試みた[33, 34]。Arプラズマジェットの下方に小型反応室に配置した酸素ガスを導入して酸素ラジカルを生成し、直径100 μ mのノズルからラジカルをジェット状に噴出した。O₂/Ar系プラズマで生成したジェットを掃引照射することで本来疎水性であるPDMSの表面を局所的に酸化してシリカ層を形成し、親水性を付与できた。局所的な濡れ性の制御により、処理されたPDMS上には、選択的にコラーゲン、フィブロネクチンや

ラミニン等の細胞外マトリックス（多細胞生物の細胞間に存在する超分子複合体で、細胞接着における足場の役割、細胞増殖因子や分化誘導因子の保持等の機能をもつ）成分が吸着し、細胞の位置選択的な培養が可能となる。図13には細線パターン上でのHeLa（ヒト子宮頸がん）細胞の培養の例を示す。

一木隆範（東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻/
東京大学ナノバイオインテグレーション研究拠点・准教授）
赤木貴則（同・助教）

3. おわりに

原子・分子単位での領域選択性および制御性に優れているナノスコピックプラズマプロセスを含む“プラズマ理工学的手法”は、新物質創製およびバイオメディカルへの応用等、生命と物質の融合時代に多角的に適応できる可能性を有している手法であり、化学修飾等の外的構造変化のみならず、内部構造変化を活用する特性改質にも有効であるといえる。特に、MEMSに代表される超微細加工、原子・分子単位での新物質創製、ならびに生体適合性向上のための無機・有機複合化等の技術が要求される次世代ハイブリッドセンサデバイス開発や生体埋め込み・融合型マン・マシーンインターフェースの実現には、重要なキープロセシング法と成り得る。

原子・分子内包の結果、内部構造敏感性を有する新規ナノ構造カーボンナノチューブにおいては、表面および内部の電子状態を大きく制御することができるため、電子の挙動のみならず、生体活動に重要な役割を果たしているイオンの挙動も検出することが可能であるので、多彩な高感度信号計測が可能であるといえる。特に、ナノスケールでの配向により、マルチチャンネル化が可能となるため、バイオデバイス自体の小型化が大いに期待できる点においても大きな意義があると考えている。

一方、従来の生体信号計測で用いる電極（チップ）は、針状電極を局部に設置するために神経との接触面積が小さく、微弱な信号検出に限界がある。それと同時に、電極界面におけるイオン交換反応により表面変化が起こり、長期間の使用において信号検出感度の低下を引き起こす恐れがある。そこで、化学修飾化により生体適合性を向上させたカーボンナノチューブを用いる場合には、生体細胞をナノチューブに付着させるのではなく、ナノオーダーのナノチューブ間に生体細胞が増殖・伸長する可能性があるといえる。また神経再生型電極の場合においては、外部接触型よりも内部融合型に極めて近いため、プラズマによる化学修飾・生体適合化が期待されている。さらに、マイクロプラズマジェットの高機能化による、生命の最小単位である細胞を解析・操作する細胞ナノエンジニアリングへの貢献が望まれている。以上のことより、ナノスコピックプラズマプロセスベースのナノ新物質創製および生体適合性向上を推進することは、半導体プロセス等で培われた計測手段を用いるイオン・ラジカル種の制御と界面における反応過程の詳細分析を並行することにより、さらに進化したバイオデバイスの構築を実現するものと期待している。

平田孝道（武蔵工業大学工学部生体医工学科・准教授）
畠山力三（東北大学大学院工学研究科電子工学専攻・教授）

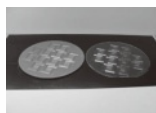
参考文献

- [1] 板谷良平：応用物理 **64**, 526 (1995).
- [2] H.W. Kroto, J.R. Heath, S.C. O'Brien, R.F. Curl and R.E. Smalley, *Nature* **318**, 162 (1985).
- [3] 篠原久典, 斎藤弥八：フラーレンの化学と物理（名古屋大学出版会, 1997）.
- [4] S. Iijima, *Nature* **354**, 56 (1991).
- [5] 斎藤弥八, 坂東俊治：カーボンナノチューブの基礎（コロナ社, 1998）.
- [6] K.H. Yoo, D.H. Ha, J.O. Lee, J.W. Park, J. Kim, H.Y. Lee, T. Kawai and H.T. Choi, *Phys. Rev. Lett.* **87**, 198102 (2001).
- [7] D. Porath, A. Bezryadin, S. Vries and C. Dekker, *Nature* **403**, 635 (2000).
- [8] R.G. Endres, D.L. Cox and R.R.P. Singh, *Rev. Mod. Phys.* **76**, 195 (2004).
- [9] H. Dai, *Acc. Chem. Res.* **35**, 1035 (2002).
- [10] R. Hatakeyama, G.-H. Jeong and T. Hirata, *IEEE Trans. Nanotech.* **3**, 333 (2004).
- [11] T. Okada, T. Kaneko, R. Hatakeyama and K. Tohji, *Chem. Phys. Lett.* **417**, 289 (2005).
- [12] T. Kaneko, T. Okada and R. Hatakeyama, *Contrib. Plasma Phys.* **47**, 57 (2007).
- [13] P. Debye and H. Falkenhagen, *Physikalische Zeitschrift*, **29**, 401 (1928).
- [14] M. Washizu and O. Kurosawa, *IEEE Trans. Ind. Appl.* **26**, 1165 (1990).
- [15] T. Okada, T. Kaneko and R. Hatakeyama, *Jpn. J. Appl. Phys.* **45**, 8335 (2006).
- [16] 畠山力三, 岡田 健, 金子俊郎：機能材料 **26**, 15 (2006).
- [17] S.E. Baker, W. Cai, T.L. Lasseter, K.P. Weidkamp and R. J. Hamers, *Nano Lett.* **2**, 1413 (2002).
- [18] R.J. Chen, S. Bangsaruntip, K.A. Drouvalakis, N.W.S. Kam, M. Shim, Y. Li, W. Kim, P.J. Utz and H. Dai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 4984 (2003).
- [19] M. Rouhanizadeh, T. Tang, C. Li, J. Hwang, C. Zhou and T.K. Hsiai, *Sens. Actuators B* **114**, 788 (2005).
- [20] G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W.U. Wang and C.M. Lieber, *Nat. Biotechnology* **23**, 1294 (2005).
- [21] T. Hirata, S. Amiya, M. Akiya, O. Takei, T. Sakai and R. Hatakeyama, *Appl. Phys. Lett.* **90**, 233106 (2007).
- [22] H. Hiura, T.W. Ebbesen and K. Tanigaki, *Adv. Mater.* **7**, 275 (1995).
- [23] A. Koshio, M. Yudasaka, M. Zhang and S. Iijima, *Nano Lett.* **1**, 361 (2001).
- [24] Y.H. Yan, M.B. Chan-Parka, Q. Zhou, C.M. Li and C.Y. Yue, *Appl. Phys. Lett.* **87**, 213101 (2005).
- [25] Z.N. Utegulov, D.B. Mast, P. He, D. Shi and R.F. Gilland, *J. Appl. Phys.* **97**, 104324 (2005).
- [26] T. Hirata, S. Amiya, M. Akiya, O. Takei, T. Sakai and R. Hatakeyama, *Proc. of the 28th Int. Conf. on Phenomena in Ionized Gases* (ICPIG), Prague, Czech Republic (2007).
- [27] M.A. Lebedev and M. A.L. Nicolelis, *Trends Neurosci.* **29** (9), 536 (2006).
- [28] T. Akin, K. Najafi, R.H. Smoke and R.M. Bradley, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **41**(4), 305 (1994).

- [29] Y. Shimatani, S.A. Nikles, K. Najafi and R.M. Bradley, *Physiol. Behav.* **80**, 309 (2003).
- [30] T. Ideno and T. Ichiki, *Thin Solid Films* **506/507**, 235 (2006).
- [31] H.M.L. Tan, T. Ideno and T. Ichiki, *J. Photopolymer Sci. Technol.* **18**, 237 (2005).
- [32] T. Ichiki, T. Koidesawa and Y. Horiike, *Plasma Sources Sci. Technol.* **12**, s16 (2003).
- [33] H.M.L. Tan, H. Fukuda, T. Akagi and T. Ichiki, *Thin Solid Films* **515**, 5172 (2007).
- [34] H.M.L. Tan, T. Akagi and T. Ichiki, *J. Photopolymer Sci. Technol.* **19**, 245 (2006).

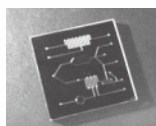
成膜・パターニング受託 MEMSファンドリーサービス

ナノインプリント



- ① マスタ・モールド製造
- ② お試しSiモールドの販売
- ③ ナノインプリント成型
(ガラス、樹脂)

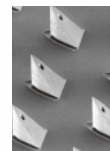
マイクロ流体チップ



- ① 受託加工
(ガラス、樹脂、PDMS)
- ② ナノインプリント
(金型・成型)
- ③ 電極形成
- ④ 搭載型マイクロポンプ
- ⑤ チップホルダ

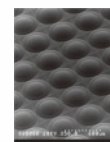
成膜
スパッタ・蒸着・CVD
フォトリソ
コンタクト・ステッパー露光/現像
エッチング
ICP/RIE/ウェットプロセス

MEMS量産



- ① 量産受託/デバイス製造
- ② オールSi製VIAウェハ

光MEMS



- ① グレースケールマスクでの
3D加工
- ② ナノインプリント
(金型・成型)
- ③ 量産受託/デバイス製造
- ④ マイクロミラーアレイ



株式会社 協同インターナショナル

<http://www.kyodo-inc.co.jp/>

〒216-0033 神奈川県川崎市宮前区宮崎2-10-9

TEL: 044-852-7575 FAX: 044-854-1979

お問合せ: denshi@kyodo-inc.co.jp

用語解説

DNA (Deoxyribonucleic Acid)

DNA はデオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid) の略号である。DNA は形の異なる 4 つの塩基分子 (A: アデニン, G: グアニン, C: シトシン, T: チミン), 糖, リン酸で構成されており, 塩基の並び方 (塩基配列) によってあらゆる生命体の遺伝情報を担っている。また, 4 つの塩基には「A-T」「G-C」のように相補的に結合する性質があり, これにより「自己複製」が行われ, 遺伝情報が伝達される。近年, その DNA を遺伝子工学の分野のみならず, 分子エレクトロニクスデバイスとして利用しようとする研究が盛んになっている。DNA は, 塩基配列を制御することにより, 自己組織化ネットワークを構成することや, 特異な電気特性を示すことが明らかになり, ボトムアップ的アプローチによる新規ナノバイオデバイス構築の構成要素としての期待が高まりつつある。

BMI (Brain-Machine Interface)

生体の脳・神経系と人工の機械を結びつける技術を行う。計測した神経信号で直接動かすロボット義手や, 光センサからの出力で脳を電気刺激して感覚を知覚させる人工視覚等, いわゆる「サイボーグ」を実現させるための基本技術である。我が国では体表面から脳波や筋電を計測して機械等を制御する非侵襲的 BMI の研究が主流であるが, 米国では体内に電極を埋め込み脳と機械を直接的に結合する侵襲的 BMI の研究も積極的に行われている。侵襲的 BMI はその SF 的な話題性から最近特に注目を集めているが, 一方で電極の生体適合性の問題や皮膚外に露出するコネクタ部における感染の問題等, 実用化のために解決しなくてはならない重大な問題も残されている。

バイオチップ (μ TAS, Lab-on-a-chip)

化学, バイオのための器具, 装置をチップ上にマイクロシステム化する研究が 1990 年頃から急速に発展している。半導体や MEMS の産業分野で発達した微細加工を応用して, 微小な反応器, 混合器, 分離器等の流体要素, さらにバルブ, ポンプ等の流体制御素子, センサ等の検出素子を微小流路を介してガラスやプラスチック, シリコン等の基板上に集積化して組み込み, 分析や合成等の実験操作を 1 つのチップ上で可能にする技術である。発展途上の技術であるため呼称は定まっていないが, マイクロ TAS (Micro Total Analysis System: マイクロ化学分析システム), ラボ・オン・チップ (Lab-on-a-chip, LOC) などと称されることが多い。

ソフトリソグラフィー (Soft Lithography)

広義には, 光を使わず, 印刷, 成形, エンボス技術を使ってパターン転写を行うリソグラフィーをソフトリソグラフィーと称する。自己組織化の研究で著名なハーバード大学の G. M. Whitesides 教授が提唱した。バイオチップの試作研究では, ソフトリソグラフィーを用いたポリマー製マイクロ流体デバイスの作製技術が普及している。常温でゴム状弾性を有するエラストマー材料の表面に微細な鋳型を用いて, 微細な凹凸構造を転写する。エラストマー材料としては, シロキサン主鎖にメチル基が結合したシリコン樹脂であるポリジメチルシロキサン (poly(dimethylsiloxane); PDMS) がよく用いられる。鋳型は, 半導体プロセスで用いられる通常のフォトリソグラフィーやマイクロマシン製造で用いられる厚膜レジスト (例えば, MicroChem 社の SU-8 など) を使って作製されることが多いが, 耐久性の高い鋳型は, シリコンのドライエッチングや厚膜めっきにより形成される。

ナノカーボン (Nanocarbon)

ナノスケール炭素材料の総称。一般的な対象物としては, 炭素原子により構成された六員環ネットワーク構造物であるグラフェンシート, 結晶構造を有する炭素同素体であるダイヤモンドがよく知られている。一方, 炭素原子から成るクラスターであり, 球状の炭素同素体であるフラーレンや, グラフェンシートが単層あるいは多層の同軸管状になった物質であるカーボンナノチューブは, 新規ナノスケール材料として脚光を浴びている典型的な物質である。さらにカーボンナノチューブの一種であり, 尖った先端形状を有するカーボンナノホーンは, 燃料電池の電極材料やガス吸蔵材として実用化に最も近いナノカーボンと言われている。これらの物質は, 電氣的, 機械的, 化学的特性等の多様性を示し, 次世代産業に不可欠なナノテクノロジー材料として, 世界中で最も注目されているナノ物質材料である。

官能基 (Functional Group)

物質の化学的屬性や化学反応性に注目した原子群の分類であり, 化学的な性質を化合物に与えるこれらの総称。それぞれの官能基は特有の物性や化学反応性を示す。



ひら たか みち
平田孝道

1992年岩手大学大学院工学研究科（電気工学専攻）修士課程修了，1993年東北大学工学部助手，2003年東北大学大学院工学研究科講師，2005年武蔵工業大学工学部電子通信工学科准教授，2007年工学部生体医工学科准教授，現在に至る。工学博士。ナノスケピックプラズマプロセス制御による新規構造フラーレン／カーボンナノチューブの創製，並びに新規バイオナノセンサの開発研究に従事。応用物理学会，応用物理学会プラズマエレクトロニクス分科会，日本物理学会，プラズマ・核融合学会，フラーレンナノチューブ学会 各会員。



かね こ とし ろう
金子俊郎

東北大学大学院工学研究科准教授。1997年3月東北大学大学院工学研究科電子工学専攻博士課程修了，同助手を経て2004年1月より現職。主な研究テーマは，ナノ・バイオテクノロジーへのプラズマ応用の観点から，液体中または液体と接したプラズマの生成・制御とそれを利用した新規ナノバイオ物質の創製である。一方で，核融合プラズマや宇宙プラズマにおいて観測される現象のメカニズムを室内実験で明らかにすることを目指して，磁化プラズマ中の不安定性や構造形成，電磁波による波動吸収・加熱等に関する基礎的な研究にも従事している。



あき や まさ ひろ
秋谷昌宏

1973年3月東北大学大学院工学研究科電子工学専攻修士課程修了，同年4月電電公社（現NTT）武蔵野電気通信研究所入社，CMOSメモリ，SIMOXデバイス，LSI配線電極技術等の研究に従事，1991年4月武蔵工業大学助教授，1996年4月同教授，現在に至る。工学博士。LB膜を用いた各種センサの研究，LSI設計並びに配線技術の研究に従事。電気学会，応用物理学会，電子情報通信学会，米国電気化学協会（ECS），英国化学会（SCI），各会員。



いち き たか のり
一木隆範

1995年東京大学大学院工学系研究科博士課程修了。博士（工学）。東洋大学工学部電気電子工学科助手，講師，助教授を経て，2004年に東京大学大学院工学系研究科総合研究機構助教授。2006年より東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻准教授（総合研究機構戦略研究部門兼任）。バイオデバイス，プラズマプロセス，微細加工等の研究に従事。



はたけ やま りき ぞう
畠山力三

東北大学大学院工学研究科教授。1976年3月東北大学大学院工学研究科電子工学専攻博士課程修了（工学博士）。同助手，助教授を経て1997年12月より現職（物性工学講座プラズマ基礎工学分野担当）。プラズマ科学の基礎と応用に従事しています。



おか だ たける
岡田 健

2006年3月東北大学大学院工学研究科博士課程修了。博士（工学）。2006－2007年日本学術振興会特別研究員，2006年ドイツ・ミュンヘン工科大学ワルターショットキー研究所客員研究員を経て，現在は，東北大学多元物質科学研究所研究員。主な研究分野は溶液系プラズマ，生体分子へのカーボンナノチューブ応用等。



しま たに ゆう いち
島谷祐一

1982年岡山大学大学院理学研究科修了，東京女子医科大学医学部助手・准講師，ミシガン大学研究員を経て，現在，武蔵工業大学生体医工学科准教授。博士（医学）。主な研究分野は，脳・神経と機械をむすぶ体内埋め込み型インターフェースの研究，無脊椎動物光受容細胞における情報伝達機構の研究など。



あか ぎ たか のり
赤木貴則

2003年九州大学大学院薬学府博士課程後期課程修了。博士（薬学）。山之内製薬(株)（現，アステラス製薬(株)）研究員を経て，2004年より東京大学大学院工学系研究科総合研究機構助手，2006年よりバイオエンジニアリング専攻助教。主として微細加工技術を応用した細胞計測デバイスに関する研究に従事。応用物理学会，日本薬理学会会員。