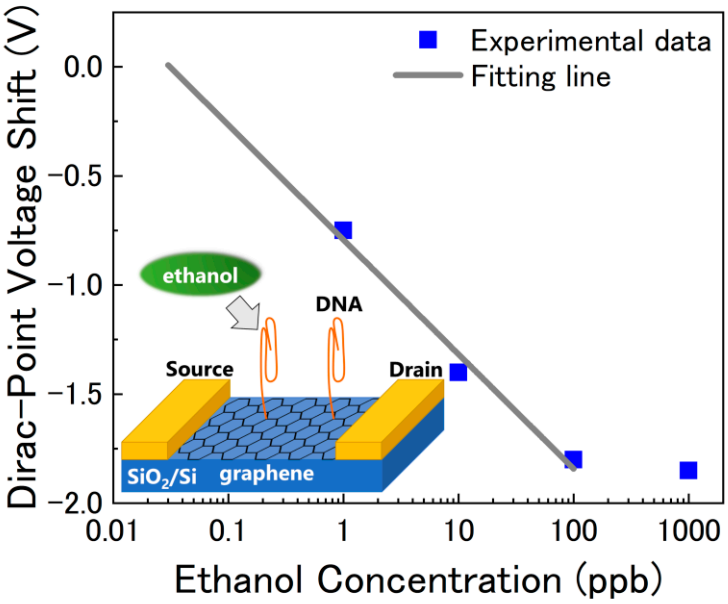
89　疾病早期発見に向けた呼気ガス分子の電気的高感度検出	前橋　兼三

【目的】疾病早期発見を実現するためには、小型デバイスを用いた parts per billion（ppb）レベルでの呼気ガス分子の検出が必要であると考えられる。グラフェンは、炭素原子からなる蜂の巣格子状に配列した六角形格子構造をしており、キャリアの移動度が極めて高いことでも知られている。したがって、これらの特徴を活かすことによって、従来の半導体式ガスセンサよりもさらに高感度なガスセンサを作製することができると期待される。本研究では、高感度呼気ガスセンサの開発に向けて、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタを作製し、ターゲット気体導入前後での伝達特性をそれぞれ測定することでガス分子を電気的に検出することを目的とした。

【方法】単層グラフェンは熱化学気相成長法を用いて銅箔上に合成し、その単層グラフェンを SiO_2基板上に転写した後、ソース、ドレイン電極を形成することによって、グラフェン電界効果トランジスタを作製した。そのグラフェン上にある塩基配列を有する 1 本鎖 DNA を塗布することによって修飾した。作製したデバイスをプローブ装置に設置し、ppb オーダーのエタノールガスを装置に導入することによって、デバイスの電気特性の変化を計測した。

【結果】エタノールガスを導入する前後でその伝達特性を測定した。その結果、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタを用いることによって、エタノールガスを ppb オーダーで検出することに成功した。さらに、2 種類の異なる塩基配列をもった DNA を用いて測定を行い、塩基配列の違いに応じて伝達特性のシフト方向の違いが観測された。これは、エタノール分子導入による DNA の構造変化の仕方によってグラフェンに与える影響が異なるためであると考えられる。以上より、測定するガスの種類に対して、DNA の塩基配列を適切に選択することによって、様々な種類のガスを低濃度で測ることが可能であると期待される。したがって、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタは、疾病早期発見に向けた呼気ガス分子の電気的高感度検出に対して有効であると考えられる。

1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタを用いたエタノール分子の高感度検出



89. 疾病早期発見に向けた呼気ガス分子の電気的高感度検出

前橋　兼三

東京農工大学 大学院工学研究院 先端物理工学部門

Key words：早期発見，呼気ガス，グラフェン，1 本鎖 DNA，小型デバイス

緒　言

近年、医療分野において「非侵襲かつその場診断」に対する関心が高まっている。現状では、病気の診断手法として血液検査やX線検査等が主に用いられている。しかしながら、血液検査は穿刺を行う必要があり、X線検査は被験者を放射線に曝す必要がある。このように、現状の診断手法には、患者へ強いる負担が大きいという問題がある。また、両検査とも検査・分析に大型装置を要する。そのため、診断を行うことができる場所が病院の検査室というように限られてしまう。以上から、現在の手法では手軽に検査を行えるとは言えないのが現状である。

これらの問題を解決するために、非侵襲かつその場で診断できる手法が求められている。この「非侵襲かつその場診断」の中でも、呼気検査に注目が集まっている。この呼気検査は、家や病院の診察室などで、呼気中に含まれる揮発性有機化合物 VOC をはじめとする様々なガスの濃度を分析することで、病気の診断を手軽に行うといったものである。呼気中には窒素や酸素、二酸化炭素などが含まれているが、その他にも 500 種類以上のガス分子が parts per billion（ppb）オーダーで含まれている。

この呼気検査を家や病院の診察室などで手軽に行うためには、持ち運び可能な程度の小型デバイスで ppb オーダーという低濃度のガスを検出する必要がある。現在、産業分野では半導体式ガスセンサが広く用いられている。これらは、持ち運びができるという観点では非常に優れているが、検出下限は parts per million（ppm）オーダーであり、病気の診断といった用途には不十分である。よって、半導体式ガスセンサを超える感度をもつ小型ガスセンサの実現が期待されている。

グラフェンは、炭素原子とその結合からなる蜂の巣格子状に配列した六角形格子構造をしているため、その体積のほとんどが周囲に露出した形状をしており、さらに、キャリアの移動度が極めて高いことでも知られている。したがって、これらの特徴を活かすことによって、従来の半導体式センサよりもさらに高感度なセンサを作製することができると期待される［1〜5］。一方、グラフェンを用いたガスセンサの課題として、グラフェン単体では分子認識ができないという点が挙げられる。この課題に関しては、特定の分子のみと結合する性質をもった分子等をグラフェン上に修飾することで対処可能となる。本研究では、グラフェン電界効果トランジスタのグラフェンチャネル上に 1 本鎖 DNA を修飾した。特定の 1 本鎖 DNA は、液相中ではターゲット分子と特異的に結合する性質をもっており、バイオセンサ分野では分子認識素子として 1 本鎖 DNA を利用したセンシングが研究されている。本研究では、この性質を気相中で活かせるのではないかと考え、1 本鎖 DNA をグラフェンチャネル上の修飾素子として採用し、ppb レベルでのエタノールの検出を試みた。

方　法

1.　グラフェン電界効果トランジスタの作製

単層グラフェンは、熱化学気相成長法を用いて銅箔上に合成した［6］。熱化学気相成長法は、反応管内に設置された銅箔上に、1,000℃程度の温度で成長させる成分を含む炭素原料ガスを供給する方法である（図 1a）。炭素原料ガスは、銅表面で分解し、炭素原子の結晶核が形成されるとその核を中心にグラフェンが形成される。形成時間とともにグラフェンの結晶サイズが増大し、隣り合うグラフェン同士がぶつかりグラフェンの形成が止まる。次に、合成した

単層グラフェンを、SiO_2膜を有する Si 基板上に転写した後、最後に、ソース、ドレイン電極を形成することによって、グラフェン電界効果トランジスタを作製した（図 1b）。

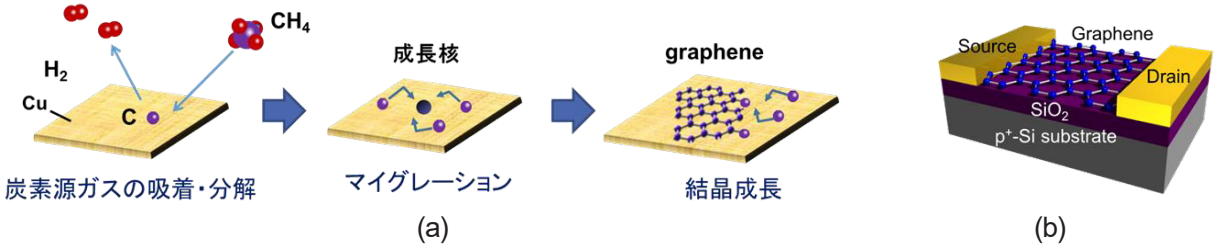


図 1. グラフェン電界効果トランジスタの作製
(a) 熱化学気相成長法を用いたグラフェン合成の模式図。
(b) グラフェン電界効果トランジスタの模式図。

2. グラフェン上への 1 本鎖 DNA の修飾

ある塩基配列を有する 1 本鎖 DNA を購入し、それを純水で 10 μM に薄めた。次に、不純物等を取り除くために水素雰囲気中でアニールしたグラフェン上に、1 本鎖 DNA を含んだ純水を滴下した。その後、そのまま 30 分間放置することによって、修飾を行った。これにより、DNA の塩基とグラフェンのπ-πスタッキングによって修飾される。最後に、グラフェン上の水分を除去するため、90℃で 1 時間 Ar アニールを行った。

3. 低濃度ガスの発生および測定系の作製

作製したデバイスをプローブ装置に設置し、ppb オーダーのエタノールガスを装置に導入することによって、デバイスの電気特性の変化を計測した（図 2）。エタノールガスは、標準ガス発生装置であるパーミエーター発生させ、窒素ボンベから希釈用の窒素を合流させることで、ppb オーダーのガスとしてプローブ装置に導入した。

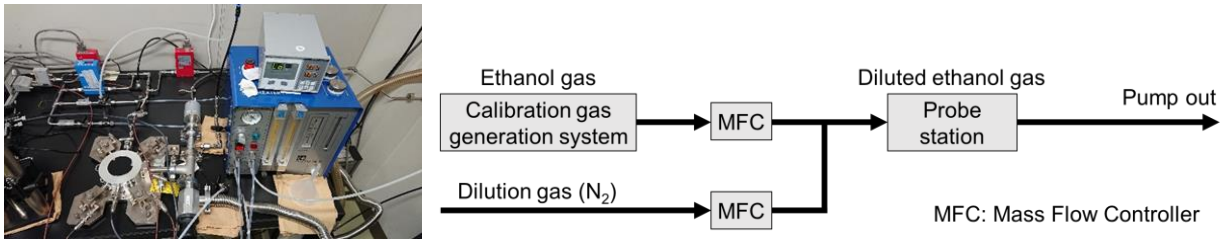


図 2. 低濃度ガスの発生および測定系

結果および考察

1. 1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタにおけるエタノールガス応答性

2 種類の 1 本鎖 DNA Seq.1 と Seq.2 を修飾したグラフェン電界効果トランジスタにおけるエタノールガス導入前後での伝達特性を図 3 に示す［7］。基板の後ろから印加した電圧を変化させることによるグラフェンを流れる電流を示している。両方のデバイスにおいて V 字の両極性伝導が観測された。これは、グラフェンのゼロバンドギャップ構造に起因しており、電流の最小値の点をディラックポイントと呼ぶ。これらの両極性特性における電流値が、DNA Seq.1 を修飾したデバイスでは、図 3（a）に示す通りエタノールガス導入に伴って伝達特性が正電圧方向にシフトした。また、濃度増大に伴ってそのシフト量も増大した。一方、DNA Seq.2 を修飾したデバイスでは、図 3（b）に示す通りエタノールガス導入に伴って伝達特性が負電圧方向にシフトした。これは、DNA Seq.1 とは反対方向である。

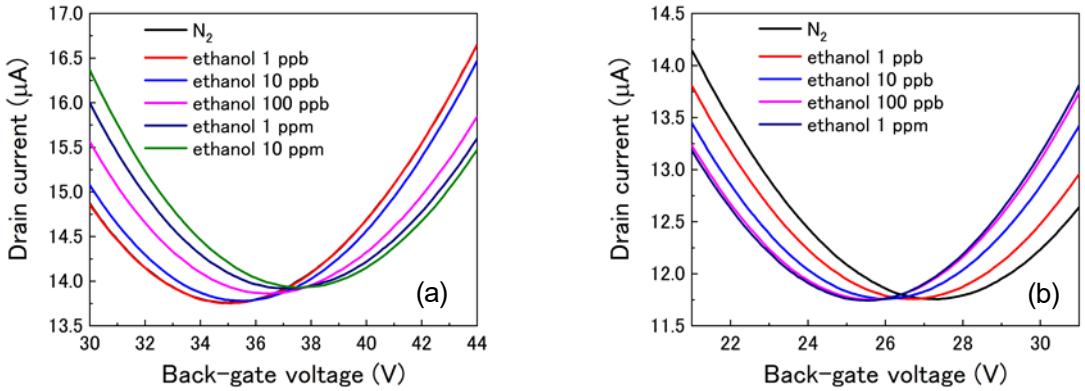


図 3.　1 本鎖修飾グラフェン FET を用いたエタノールガス導入前後での伝達特性

(a) DNA Seq.1 を修飾した場合。

(b) DNA Seq.2 を修飾した場合。

次に、図 3 の結果を基に得られた、ディラックポイント電圧値シフト量の濃度依存性を図 4 に示す。図 4 (a) より、Seq.1 修飾デバイスでは 1 ppm までエタノールガスの濃度増大に伴ってディラックポイント電圧シフト量が増加していることが分かる。その後、10 ppm 付近でシフトが飽和している。この結果は、Seq.1 修飾デバイスでのエタノールガス検出範囲が数 ppb から 1 ppm の間であることを示している。ここで、このデバイスにおける検出下限を求めるため、1 ppm 以下のプロットを図内で直線近似した。その近似直線が図内の黒線である。検出下限は s／n 比から求め、ノイズはエタノール導入前の窒素雰囲気下で数回測定した伝達特性のディラックポイント電圧値の標準偏差と定義した。s／n = 3 を検出下限の計算に用いると、今回作製した Seq.1 修飾デバイスでのエタノールガスの検出下限は 1.5 ppb と求めることができた。同様に図 4 (b) を参照すると、Seq.2 修飾デバイスでは 100 ppb まではエタノールガスの濃度増大に伴ってディラックポイント電圧シフト量が増加し、1 ppm 付近でシフトが飽和していることがわかる。検出範囲はおよそ 1 から 100 ppb と求められ、先と同様の計算を行うことにより、今回作製した Seq.2 修飾デバイスにおけるエタノールガスの検出下限は 60 parts per trillion (ppt) と求められた。以上より、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタを用いることによって、エタノールガスを ppb オーダーで検出することに成功した。

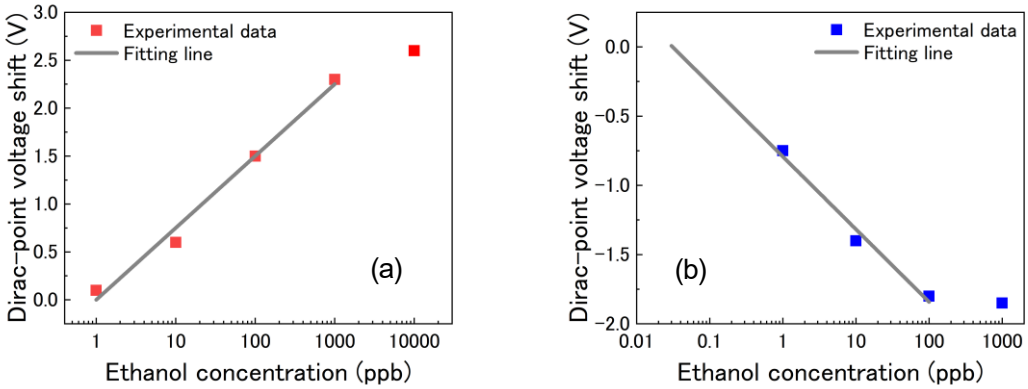


図 4.　1 本鎖修飾グラフェン FET を用いたエタノールガス導入前後での伝達特性

(a) DNA Seq.1 を修飾した場合。

(b) DNA Seq.2 を修飾した場合。

2. エタノールガス導入による伝達特性のシフト要因

一般に、グラフェン FET を用いたガス分子のシフト原理は、ガス分子の分極や電荷が疑似的なゲート電圧の印加を起こし、グラフェンにフェルミレベルの変調を起こすというメカニズムで生じるものである。しかしながら、本研究では、同じガス分子を検出しているにもかかわらず、DNA の塩基配列の違いによってシフト方向が異なるというものであった。エタノール分子はアルキル基とヒドロキシ基との間に生じる分極が弱いため、ppb オーダーといった低濃度領域ではグラフェンにキャリアの誘起を引き起こす可能性は低いと考えられる。したがって、伝達特性のシフト方向に違いが生じたのは、DNA の構造変化に要因があると考えられる。

DNA Seq.1 を修飾した場合、伝達特性は正電圧方向にシフトした［7］。DNA とエタノールの分子の大きさを考慮すると、DNA のリン酸やデオキシリボース、塩基など様々な部分にエタノールガスが多数まとわりつくように水素結合で吸着していると考えられる。エタノール分子が DNA に吸着した結果、グラフェンと DNA の間にはたらくπ-πスタッキングよりも DNA とグラフェンの間にはたらく多数の水素結合の方が、結合力が強いために、DNA はグラフェンに近づくように構造変化を起こしたと推察される。1 本鎖 DNA は、DNA 内のリン酸やデオキシリボース由来の負分極をもつため、グラフェンに近づくように DNA が構造変化を起こすことで、その負分極がグラフェンに接近したと考えられる。その結果、DNA の負分極がグラフェンに与える影響が強まって疑似的なゲート電圧の印加が生じ、正電圧方向シフトという結果が得られたと示唆される。一方、DNA Seq.2 を修飾した場合、伝達特性は負電圧方向にシフトした。この結果より、エタノール分子が DNA に水素結合で吸着した結果、DNA はグラフェンから離れるように構造変化を起こし、DNA 内のリン酸による負分極がグラフェンから遠ざかったと考えられる。したがって、DNA の負分極がグラフェンに与える影響が弱まり、疑似的なゲート電圧の印加が生じ、負電圧方向シフトという結果が得られたと示唆される。

本研究では、呼気検査に応用可能である ppb オーダーの感度をもった持ち運び可能なガスセンサの開発に向けて、グラフェンチャネル上に 1 本鎖 DNA を修飾したグラフェン電界効果トランジスタを作製した。エタノールガスを導入する前後でその伝達特性を測定した。その結果、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタを用いることによって、エタノールガスを ppb オーダーで検出することに成功した。さらに、2 種類の異なる塩基配列をもった DNA を用いて測定を行い、その結果、塩基配列の違いに応じて伝達特性のシフト方向の違いが観測された。これは、エタノール分子導入による DNA の構造変化の仕方によってグラフェンに与える影響が異なるためであると考えられる。以上より、測定するガスの種類に対して、DNA の塩基配列を適切に選択することによって、様々な種類のガスを低濃度で測ることが可能であると期待される。したがって、1 本鎖 DNA 修飾グラフェン電界効果トランジスタは、疾病早期発見に向けた呼気ガス分子の電気的高感度検出に対して有効であると考えられる。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、東京農工大学大学院工学研究科の生田昂助教である。

文　献

1） Ohno Y, Maehashi K, Matsumoto K. Label-Free Biosensors Based on Aptamer-Modified Graphene Field-Effect Transistors. J. Am. Chem. Soc. 2010 Dec 29;132(51):18012-18013. Epub 2010 Dec 3. DOI: 10.1021/ja108127r

2） Okamoto S, Ohno Y, Maehashi K, Inoue K, Matsumoto K. Immunosensors Based on Graphene Field-Effect Transistors Fabricated Using Antigen-Binding Fragment. Jpn. J. Appl. Phys. 2012 Jun 20;51(6S):06FD08. Epub 2012 Jun 20. DOI: 10.1143/JJAP.51.06FD08

3） Maehashi K, Sofue Y, Okamoto S, Ohno Y, Inoue K, Matsumoto K. Selective ion sensors based on ionophore-modified graphene field-effect transistors. Sensors and Actuators B 2013 Oct 1;187:45-49. Epub 2012 Sep 21. DOI: 10.1016/j.snb.2012.09.033

4) Okuda S, Ono T, Kanai Y, Ikuta T, Shimatani M, Ogawa S, Maehashi K, Inoue K, Matsumoto K. Graphene Surface Acoustic Wave Sensor for Simultaneous Detection of Charge and Mass. ACS Sensors 2018 Jan 26;3(1): 200-204. Epub 2017 Dec 28. DOI: 10.1021/acssensors.7b00851

5) Sakamoto Y. Uemura K, Ikuta T, Maehashi K. Palladium configuration dependence of hydrogen detection sensitivity based on graphene FET for breath analysis. Jpn. J. Appl. Phys. 2018 Apr 1;57(4S):04FP05. Epub 2018 Feb 28. DOI: 10.7567/JJAP.57.04FP05

6) Uemura K, Ikuta T, Maehashi K. Turbostratic stacked CVD graphene for high-performance devices. Jpn. J. Appl. Phys. 2018 Feb 14;57(3):030311. Epub 2018 Feb 14. DOI: 10.7567/JJAP.57.030311

7) Nozaki R, Ikuta T, Ueno K, Tsukakoshi K, Ikebukuro K, Maehashi K. Ethanol Detection at the Parts per Billion Level with Single-Stranded-DNA-Modified Graphene Field-Effect Transistors. Phys. Status Solidi B 2020 Feb 1;257(2):1900376. Epub 2019 Aug 27. DOI: 10.7567/JJAP.57.030311