

# 液相系横波型弾性表面波を利用した免疫センサ

Liquid-Phase Shear Horizontal Surface Acoustic Wave Immunosensor

小貝崇<sup>†</sup>, 吉村直之, 森敏正, 谷津田博美 (日本無線)

Takashi Kogai, Naoyuki Yoshimura, Toshimasa Mori, Hiromi Yatsuda (Japan Radio Co., Ltd.)

This paper describes immunosensors using shear horizontal surface acoustic waves (SH-SAWs), which can be directly dipped into liquids. The immunosensor is designed using an SH-SAW delay line with a center frequency of about 250 MHz on a 36 degree Y-cut quartz substrate, which is composed of a transmitting interdigital transducer (IDT), receiving IDT and a biochemical reaction area in between them. Those IDTs are protected from liquids by a glass cap and epoxy walls which are constructed using a photo-lithography technique. In order to reduce the SH-SAW propagation loss due to the walls, the thickness of the walls can be minimized. In this paper, a liquid-phase SH-SAW immunosensor to detect human serum albumin (HSA) was demonstrated.

## 1. はじめに

近年インフルエンザウイルスの流行などによりポータブルで高感度な免疫センサの実現が求められている。これに対して、弾性表面波を利用した研究が展開されている<sup>(1-3)</sup>。液相系センサとして弾性表面波を用いるには励振電極(IDT)を溶液から分離する必要があり、IDT間の伝搬路にガasketを固定化して送液ポンプを利用するフロー系のSH-SAW<sup>(1)</sup>や、IDT上にSiO<sub>2</sub>膜などを積層するLove波<sup>(3)</sup>などを利用した報告がある。我々は、量産に適した構造としてIDTを個別に空間封止する技術<sup>(4)</sup>を開発し、液体サンプルを直接滴下できるセンサを提案している。検討に用いた弾性表面波は横波型(SH: Shear Horizontal)であり、速度変化と減衰変化により表面への付着分子の質量付加効果と粘弾性を測定する。本稿では、持ち運び可能なポータブル免疫センサを目指し、SH-SAWセンサおよび小型な測定回路を製作し、抗原抗体反応の実験について検討したので報告する。

## 2. SH-SAW センサの構造と原理

本検討で用いた弾性表面波素子の構造をFig.1に示す。弾性表面波素子は、送受信電極間(IDTs)に伝搬路を有する遅延線タイプで、36度回転Yカット水晶基板の垂直X軸方向に伝搬するSH-SAWを利用した。波長は20μmで、中心周波数は約250MHzである。送受信電極は金(Au)を用いて、電極を厚膜レジストによる壁(DAM)で囲いガラスキャップを上部より張り合わせ空間封止した<sup>(4)</sup>。伝搬路は長さ6mm(300λ)で電極と同様のAuにより表面を短絡して、免疫反応を検出するセンシング領域とした。伝搬路上の厚膜レジストは、損失を考慮してフォトリソグラフィの技術により幅40μm、高さ50μmで形成した。その損失は250MHz帯で、0.8dB/λであり全体で3.2dBであった。封止構造を形成したSH-SAWの空気負荷と水負荷の周波数特性をFig.2に示す。水負荷によるS11のインピーダンス変化はなく、S21の伝搬特性変化は、位相変化が108degree、損失変化が14dBであり諸特性を確認した。

SH-SAW センサは、速度変化 $\Delta V/V$  と減衰変化 $\Delta\alpha/k$  により固定化分子の重量付加効果と粘弾性を測定することができる<sup>(5)</sup>。測定は、速度変化を位相変化、減衰変化を損失変化として、製作した発振器と検出回路を含むセンサシステム(6×12mm<sup>2</sup>)により検出した(Fig.3)。

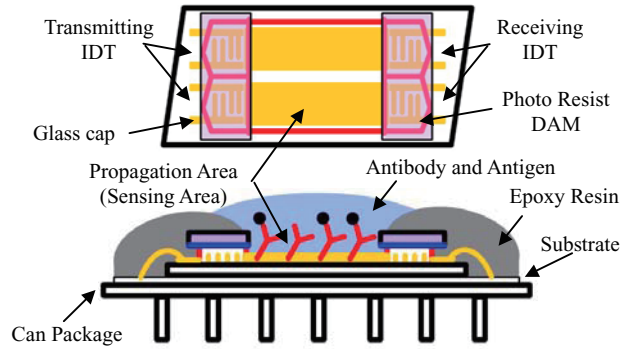


Fig.1 Diagram of the SH-SAW device.

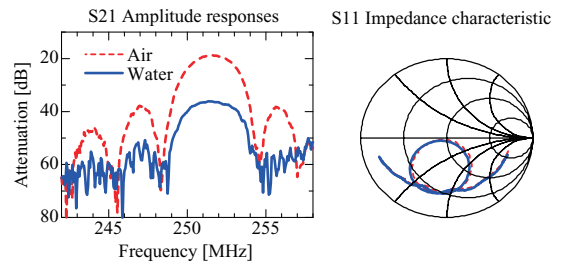


Fig.2 Frequency response of SH-SAW delay line.

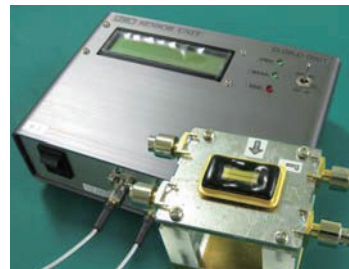


Fig.3 Photograph of SH-SAW sensor system.

kogai.takashi@jrc.co.jp

### 3. 実験結果

#### 3.1. 粘弾性感度測定

基本性能の評価として、製作した SH-SAW センサの粘弾性感度をグリセリン水溶液の濃度を変えて測定した。用いたグリセリンの室温 20 度での粘弾性は、0 %で 0.98 mPas、20 %で 1.76 mPas である。測定は、2 分間隔でピペットにより基準溶液の純水とグリセリン水溶液を交互に入れ替え行った。実験結果を Fig.4 に示す。速度変化を実線で、減衰変化を破線で示した。結果、繰り返しの再現も良く濃度による違いを測定可能であった。また、粘弾性による変化は、速度変化と減衰変化とともに同じ変化量であり、理論<sup>5)</sup>通りの結果が得られた。

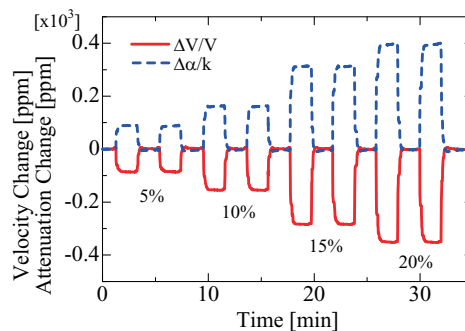
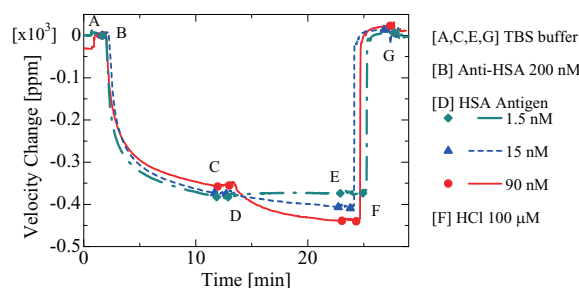


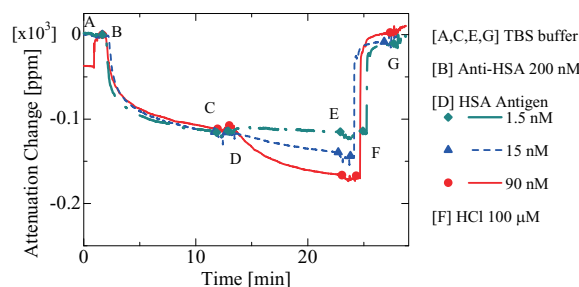
Fig.4 Fractional velocity change and fractional attenuation change of SH-SAW for viscosity change of glycerol.

#### 3.2. 免疫測定

免疫測定の評価として、ヒト血清アルブミン (HAS: Human Serum Albumin)を用いた抗原抗体反応の確認実験を行った。実験に使用した弾性表面波のセンシング領域には、抗体の Fc 領域を認識する固定化用融合蛋白質 ORLA18 (ORLA Protein Technologies 社製) を事前に形成した。実験は、Table.I に示す工程で同一素子を用いて 3 濃度を測定した。はじめに基準溶液 トリス緩衝生理食塩水 (TBS: Tris-Buffered Saline) から Anti-HSA 抗体を濃度 200nM(30 μg/ml)で固定化後、次に HSA 抗原による抗原抗体反応を検出し、最後に HCl の pH によって固定化用融合蛋白質から抗体を脱離させて初期状態に戻した。実験結果を Fig.5 の(a)速度変化と(b)減衰変化に示す。抗原濃度による変化量の違いを測定でき、速度変化と減衰変化の比較により抗原の反応は、粘弾性変化が支配的であることがわかった。これは、抗原を柔らかい膜として SH-SAW が検出したためであり、抗原の膜質(弾性力)評価に利用可能である。



(a) Fractional velocity change



(b) Fractional attenuation change

Fig.5 Fractional velocity change and attenuation change of SH-SAW immunosensor for anti-HSA and HSA antigen binding.

### 4. まとめ

免疫反応が測定可能な SH-SAW の素子構造及び小形検出回路について基本特性を確認した。SH-SAW での速度変化と減衰変化を同時に検出することで、表面への付着分子の質量負荷効果と粘弾性変化を高い感度でリアルタイムに測定可能である。今後、諸特性と免疫反応を原理的に関連付けて、ポータブルな免疫センサとして提案していきたい。

Table.I Process chart of HSA immunoassay.

No.	Process	Time
A	TBS	2
B	Anti-HSA 200 nM	10
C	TBS wash	2
D	HSA 1.5 nM, 15 nM, 90 nM	10
E	TBS wash	2
F	HCl 100 μM	5
G	TBS wash	1

### 引用文献

1. E.Berkenpas, S.Bitla, P.Millard and M.Pereira da Cunha: IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr., vol.51, pp.1404-1411 (2004).
2. T.Kogai and H.Yatsuda: Proc. IEEE US Symp., pp.552-555 (2006).
3. H.JLee, K.Namkoong, E.C.Cho, C.Ko, J.C.Park, S.S.Lee: Biosensors and Bioelectronics 24, pp.3120-3125 (2009).
4. T.Kogai, H.Yatsuda and S.Shiokawa: Jpn. J. Appl. Phys.47, pp.4091-4095(2008)
5. J.Kondoh, K.Saito, S.Shiokawa, H.Suzuki: Proc. IEEE US Symp., pp.445-449 (1995).