

# SH-SAWバイオセンサの数値解析

## Numerical analysis for SH-SAW biosensor

後藤 幹博 谷津 田博美  
Mikihito Goto Hiromi Yatsuda

### 要 旨

本稿では水晶基板上の横波型弾性表面波 (SH-SAW) バイオセンサについて述べる。SH-SAWバイオセンサは250MHzのSH-SAW遅延線で、伝搬路の金表面に抗原が配置された構造である。水晶SH-SAWバイオセンサの反応現象を理論的に検証することは重要なことであり、本稿では質量負荷モデル、粘性解析モデル、粘弾性解析モデルの3手法を用いてSH-SAWバイオセンサの数値解析を行った。SH-SAW伝搬特性の数値解析はCampbellとJonesにより提案された数値解析法を層状構造に拡張させた手法を用いている。本稿ではそれを溶液の粘性効果を考慮したものに改良し、水晶基板に適応させている。また、SH-SAWバイオセンサの試作を行い、実験結果との比較を行った。250MHz水晶SH-SAWバイオセンサにおける質量、粘性、粘弾性的なふるまいは、粘弾性モデルの解析で実験結果を説明できることが示された。

### Abstract

This paper describes a shear horizontal surface acoustic wave (SH-SAW) immunoassay biosensor on a quartz substrate. The SH-SAW biosensor is a 250MHz SH-SAW delay-line which has a gold surface covered with antibodies. It is important to discuss the detection mechanism of SH-SAW biosensors on quartz. In this paper, the detection mechanism of SH-SAW biosensors are investigated, using three numerical analyses. The first analysis is based on a mass loading model. The second analysis is based on a viscosity model. The third analysis is based on a viscoelasticity model. The numerical calculation method for quartz-based SH-SAW propagation characteristics, which is a modified Campbell and Jones method involving the effect of liquid viscosity is described. In order to confirm the proposed numerical analysis models, 250MHz SH-SAW biosensors on quartz substrates were tested. The mass, viscosity, and viscoelastic behavior of fluids on SH-SAW biosensors were theoretically and experimentally discussed.

## 1. まえがき

インフルエンザを始めとする感染症は流行抑制のために、早期発見が求められている。また、近年の人口増加に伴い世界中の多くの人たちが容易に免疫反応の検出検査が受けられる環境も求められている。それに対し現在、医療・ヘルスケアの分野では臨床現場即時検査 (POCT) が注目されている。POCTの実現には病原体をセンシングするための使い捨て型センサチップと安価小型でかつ容易そして迅速に結果が出力される診断装置の開発が必要である。

当社では上述のような使い捨て型の検査キットを実現するために、小形で大量生産に有利なアプローチである水晶基板上を伝搬するSH-SAWバイオセンサの開発を行っている<sup>(1) (2) (3) (4)</sup>。しかしながら、SH-SAWバイオセンサの数値解析についての発表は少なく、設計の最適化もあまり行われていないのが現状であるが、数値解析によりSH-SAWの速度変化を数値的に求めることは今後のSH-SAWバイオセンサの実用化においては重要な要素の一つとなる。

一般的にSH-SAW、ラブ波、水晶振動子といった弾性波デバイスのセンサでは質量負荷効果が議論されている<sup>(5)</sup>が、本稿では数値解析法を用いて36度Yカット90度X方向伝搬 (36Y-90X) 水晶基板のSH-SAWに対する質量負荷効果、粘性効果、粘弾性効果を明確にすることを目的とする。

## 2. 数値解析

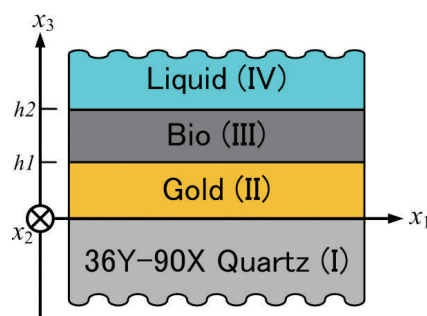


図1 計算モデルと座標系

Fig.1 Calculation model and coordinate system.

数値解析はCampbellとJonesの数値解析法<sup>(6)</sup>を層状構造に拡張させた手法を用いている。本稿ではそれを溶液の粘性を考慮したもの<sup>(7)</sup>に改良し、さらに水晶基板に適応させている。

図1は計算モデルとその座標系である。圧電結晶基板 (I)、メタル (II)、バイオ媒体 (III)、ニュートン流体 (IV) の4層から成り立っている。圧電結晶基板層 (I) は36Y-90X水晶、メタル層 (II) は厚さ92nmの金膜、ニュートン流体層 (IV) はニュートン流体で構成されている。バイオ媒体層 (III) は抗体や酵素、DNAといったバイオ分子が固定化された層である。本稿ではこのバイオ媒体層 (III) を

質量負荷モデル, 粘性モデル, 粘弾性モデルで仮定した。SH-SAWは $x_3=0$ の $x_1-x_2$ 平面上を $x_1$ 方向に伝搬する平面波で, 圧電結晶基板層 (I) とニュートン流体層 (IV) は半無限媒体層, メタル層 (II) とバイオ媒体層 (III) は有限媒体層であると仮定している。

(I) 層と (II) 層ではCampbellとJonesにより提案された数値解析法<sup>(6)</sup>を層状構造に拡張した手法を用い, (IV) 層は森泉らによって報告された解析法<sup>(7)</sup>を用いている。(III) 層では3種類の解析法を用いている。1つ目はCampbellとJonesにより提案された数値解析法<sup>(6)</sup>を層状構造に拡張した手法, 2つ目は森泉らによって報告された解析法<sup>(7)</sup>, 3つ目は弾性定数を複素化した解析法である。(I) 層と (II) 層, (II) 層と (III) 層, (III) 層と (IV) 層の境界条件はそれぞれの粒子変位と応力が $x_3$ 方向に対して連続になるように設けてある。解析で得られた速度の実部をSH-SAWの速度 (m/s), 虚部を減衰 (dB/ $\lambda$ ) として評価している。

### 3. SH-SAWバイオセンサ

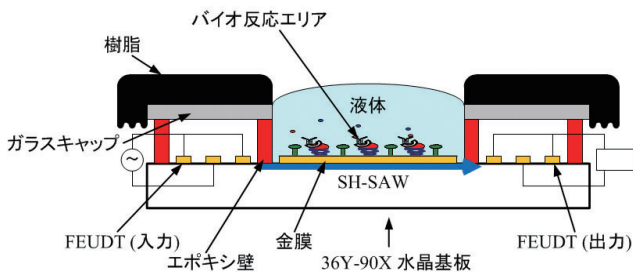


図2 SH-SAWバイオセンサの断面図

Fig.2 Cross section of SH-SAW biosensor

SH-SAWバイオセンサはバイオセンサとしてのバイオ反応領域を形成しやすい遅延線形で36Y-90X水晶基板が用いられている。図2にSH-SAWバイオセンサの断面構造図を示す。入出力電極には1/12 $\lambda$ 浮き電極型一方向性電極 (FEUDT)<sup>(8)</sup>が用いられ, その間には伝搬路が設けられている。伝搬路はセンシングエリアとして金膜で覆われており, その厚みは92nmで長さは9mmである。中心周波数は250MHzで入出力電極の電極周期は20 $\mu$ m, 電極開口長は0.72mm, 電極対数は80対である。

免疫反応を測定するにあたり, SH-SAWバイオセンサのセンシングエリアに溶液を滴下することから, 入出力電極を溶液から保護する必要がある。そこで, 厚膜レジストとガラスキャップを用いた空間封じ構造を実現し, これにより容易にセンシングエリアのみに溶液を滴下することができる。

SH-SAWバイオセンサの伝搬路金表面上にはターゲットとなるたんぱく質や抗体が配置される。ある特定の抗体はある特定の抗原のみしか認識できない為, 抗原抗体反応を利用するセンサは選択性に優れる特長を持つ。

### 4. 質量負荷解析

SH-SAWバイオセンサにおける質量負荷効果についての解析<sup>(9)</sup>を検討した。数値解析ではバイオ媒体層の質量が変化

したときのSH-SAWの速度と減衰の変化を計算する質量負荷モデルを使用している。図3はバイオ媒体層の質量変化に対するSH-SAWの速度変化と減衰変化である。媒質には金 (Au), SiO<sub>2</sub>, 仮想生体分子膜を用いており, 金はメタル層と同じ媒体, SiO<sub>2</sub>は圧電結晶基板と同じ媒体, 仮想生体分子膜はタンパク質を想定して選んでいる。計算結果はバイオ媒体層が無いときの速度と減衰を基準とした相対値で示している。図3からは質量の増加に伴い速度変化は減少しているが, 減衰変化はほとんど変化しない様子が伺える。このことからSH-SAWは質量変化に対してはそのほとんどが速度変化として捉えており, 本解析がAuldの摂動理論<sup>(10)</sup>に従っていることが示された。

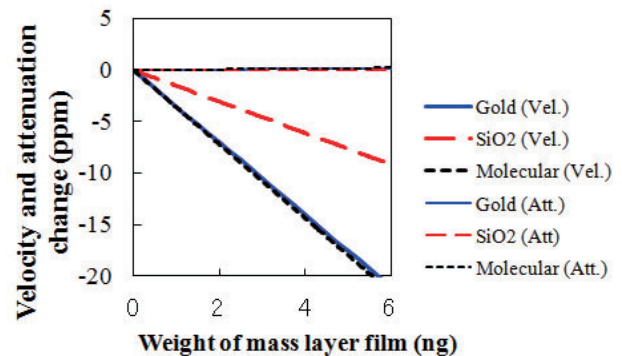


図3 負荷媒体質量変化に対する位相と振幅の変化

Fig.3 Phase shift and Amplitude change of SH-SAW biosensor as a function of weight of additional materials.

250MHzのSH-SAWバイオセンサを用い人血清アルブミン (HSA) による抗原抗体反応の実験を行った。実験結果<sup>(4)</sup>では測定試薬液20 $\mu$ Lで100pg/mLの最小感度が得られているので全ての抗原が吸着したと考えてもその質量は2pgになる。そこで, 図3の結果を用いて2pgの質量負荷に対する位相変化を計算した。表1は水晶250MHzのSH-SAWバイオセンサでの2pgの質量変化に対する位相変化で理論値と実験値が示してある。理論は金 (Au), SiO<sub>2</sub>, 仮想生体分子膜を媒体とし実験はHSAを媒体としている。表1から実験結果では2pgの質量変化に対し2°の位相変化を示すのに対し理論では約0.001°程度と実験結果に対して非常に小さい値であることが示されている。このことよりSH-SAWバイオセンサの抗原抗体反応に対する変化は質量負荷効果だけでは説明できないことが示された。

表 1 水晶250MHzのSH-SAWバイオセンサの理論値と実験値による位相変化

Table 1 Phase shift of theoretical and experimental results of 250MHz SH-SAW biosensor on quartz

	2pgに対する位相変化 (°)
理論値 (Au)	0.0012
理論値 (SiO <sub>2</sub> )	0.0006
理論値 (仮想生体分子膜)	0.0012
実験値 (HSA)	2

5. 粘性変化による解析

SH-SAWバイオセンサにおける粘性効果についての解析<sup>(11)</sup>を検討した。数値解析ではバイオ媒体層の粘性が変化するときのSH-SAWの速度と減衰の変化を計算する粘性モデルを使用した。数値解析結果では粘性変化に伴うSH-SAWの速度変化と減衰変化は同じであり、摂動法の理論<sup>(12)</sup>に対応していることが示された。また、濃度の異なるグリセリン水溶液の粘性変化を利用してSH-SAWバイオセンサの粘性評価を行った<sup>(11)</sup>。実験は2分毎に水、重量分率10、20、30%グリセリン水溶液の順に置換を行い、それぞれにおける位相と振幅を測定した。測定時の温度は23℃で測定サンプル数は360個である。

図4はグリセリン水溶液の濃度変化に伴う粘性変化に対するSH-SAWバイオセンサの位相と振幅の変化である。図4の実線は理論解析で得られた結果、正方形は実験で得られた値の平均値であり、エラーバーは $\pm 2\sigma$ を示している。図4の結果より、粘性変化に対するSH-SAWの位相変化、振幅変化は理論と実験で一致していることが示された。

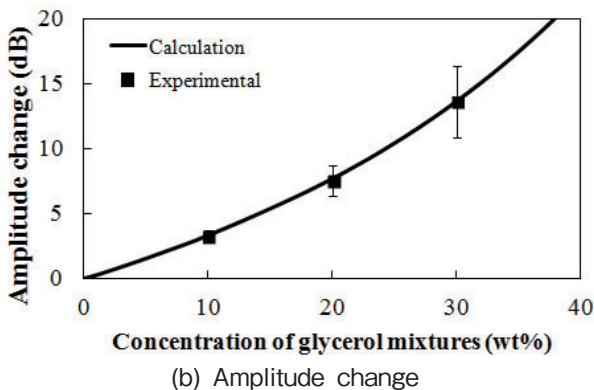
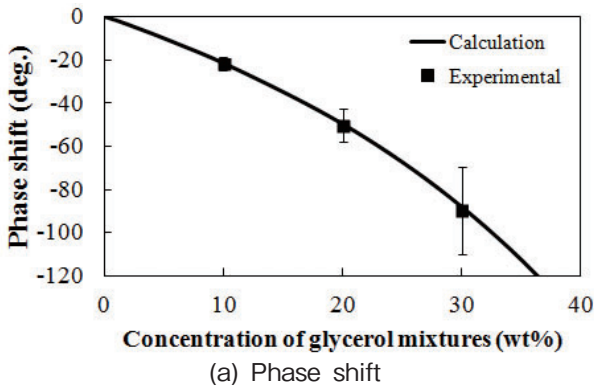


図4 グリセリン水溶液の濃度変化に対するSH-SAWバイオセンサの振幅位相変化

Fig.4 Phase shift and Amplitude change of SH-SAW biosensor as a function of concentration of glycerol mixtures.

6. 粘弾性変化による解析

SH-SAWバイオセンサにおける粘弾性効果についての解析<sup>(13)</sup>を検討した。数値解析ではバイオ媒体層を粘弾性媒体とし、粘弾性層の厚みが変化するときのSH-SAWの速度変化を計算する粘弾性モデルを使用した。また、粘弾性層の厚みの変化に対するSH-SAWの速度変化を測定する実験を行い、解

析結果と比較をした<sup>(13)</sup>。濃度の異なるウシ血清アルブミン (bovine serum albumin : BSA) を吸着させることで、厚みが異なる粘弾性層が形成できると考え、濃度0, 1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g/mL}$ の5種類のBSA水溶液を準備した。解析では粘弾性層の厚みに対するSH-SAWの速度変化を計算したのに対し、実験では濃度の異なるBSA水溶液からのBSA吸着に対する位相変化を測定している。その為、BSA水溶液の濃度に対する吸着したBSA厚みを推定する検討を行った。図5はBSA水溶液濃度に対する吸着したBSA膜厚を推定した結果である。評価は空気状態で吸着したBSA膜の速度変化を実験により測定し、得られた速度変化から質量負荷モデルの解析を用いてその厚みを推定している。

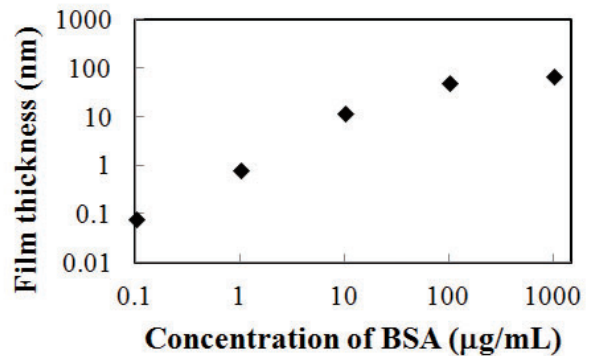


図5 推定したBSA水溶液濃度に対するBSA膜厚  
Fig.5 Estimated thickness of BSA versus BSA concentration.

図6は吸着したBSA膜に対するSH-SAWの速度変化の実験値と粘弾性解析による理論値である。実線は粘弾性モデルによる解析の結果で正方形はBSA水溶液による実験結果である。BSA膜厚は図5を用いて水溶液濃度から推定した結果でエラーバーは $\pm 2\sigma$ である。解析で粘弾性層膜の密度を1000  $\text{kg/m}^3$ 、横粘弾性係数の実部を0.15MPa、虚部を2.5MPaと想定することで図6に示す通り実験結果と解析結果が一致していることが確認できた。これにより、粘弾性モデルによる解析でBSAの膜厚に対するSH-SAWの速度変化を捉えることができ、BSA膜における材料パラメータを推定することができた。

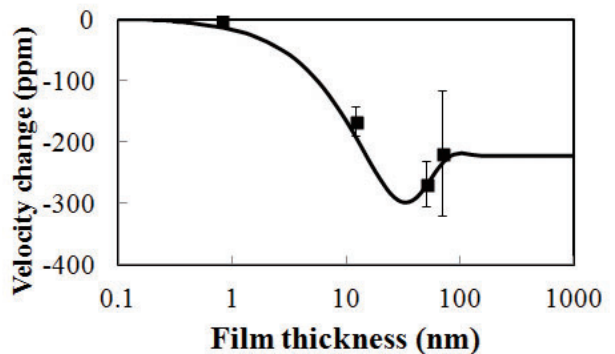


図6 粘弾性層の膜厚に対するSH-SAWの速度変化  
Fig.6 Velocity change of SH-SAW biosensor as a function of viscoelastic film thickness.



## 5. あとがき

本稿では液体中の金表面を伝搬する水晶SH-SAWの数値解析について述べた。溶液中を伝搬する250MHz水晶SH-SAWに対し実験と解析を行い、それぞれの結果を比較した。

質量負荷モデルの解析では、実験結果に対しとても小さい値で免疫反応によるSH-SAWの変化は質量変化だけでは説明できないことが示された<sup>(9)</sup>。一般的に弾性波デバイスのセンサでは質量変化が議論されてきたが、本解析により全てがそうでないという事が示された。

粘性変化モデルの解析では、粘性変化に伴うSH-SAWの速度変化と減衰変化は同じであることが示され、実験結果と一致した結果が得られた<sup>(11)</sup>。

また、実際の免疫反応に用いられるタンパク質を想定し、粘弾性モデルによる解析を行った。モデルの妥当性を確認するために厚みの異なるBSAを用いて250MHzのSH-SAWバイオセンサで実験を行った。単純な粘弾性モデルの解析で実験結果を説明できることが示された<sup>(13)</sup>。

本数値解析で得られた数値はSH-SAWバイオセンサのサイズ、感度、歩留りを考慮した最適設計を検討する上で重要な要素となる。例えば、金の膜厚に対するSH-SAWの変化量を数値的に把握することで、量産時における製造工程ばらつきに対する感度性能ばらつきを把握でき、歩留り改善の指標となる。今後も本研究を継続し、SH-SAWバイオセンサの実用化を目指していく。

### 謝辞

本研究であるSH-SAWバイオセンサの数値解析<sup>(14)</sup>では静岡大学創造科学技術大学院、近藤淳教授に多大なる協力を頂きました。深く感謝いたします。

### 参考文献

- (1) 谷津田博美, 小貝崇, 後藤幹博, 飯島修, 笠井俊, “POCT用SH-SAWバイオセンサの開発,” 日本無線技報, No.64, 2013, pp. 41-45.
- (2) M. Goto, O. Iijima, T. Kogai, and H. Yatsuda, “Point-of-Care SH-SAW Biosensor,” Proc. IEEE Ultrasonic Symp., 2010, p. 736.
- (3) T. Kogai, N. Yoshimura, T. Mori, and H. Yatsuda, “Liquid-Phase Shear Horizontal Surface Acoustic Wave Immunosensor,” Jpn. J. Appl. Phys. 49 (2010) 07HD15.
- (4) H. Yatsuda, T. Kogai, D. Athey, and V. Lawson, “SH-SAWを用いたバイオセンサ,” 2012 Proc. Institute of Electrical Engineers of Japan, 2012, TC1-4.
- (5) G. Sauerbrey, “Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung”, Zeitschrift für Physik, Vol. 155, (1959), pp. 206-222.
- (6) J. J. Campbell and W. R. Jones, “Proagation of surface wave at the boundary between a piezoelectric crystal and a fluid medium”, IEEE Trans. Sonics Ultrason. SU-17 (1970) pp. 71-76.
- (7) T. Moriizumi, Y. Unno, and S. Shiokawa, “New Sensor in Liquid Using Leaky SAW,” Proc. of IEEE 1987

Ultrasonic Symp., pp. 578-582.

- (8) K. Yamanouchi and H. Furuyashiki, “New low-loss SAW filter using internal flotion electrode refraction type of single-phase unidirectional transducer,” Electron. Lett., vol. 20, no. 24, pp. 989-990, Nov. 1984.
- (9) M. Goto, H. Yatsuda, and J. Kondoh, “Analysis of Mass Loading Effect on Guided Shear Horizontal Surface Acoustic Wave on Liquid/Au/Quartz Structure for Biosensor Application,” Japanese Journal of Applied Physiscs, Vol. 52, 07HD10, 2013.
- (10) B. A. Auld, “Acoustic Fields and Waves in Solid”, Krieger, Malabar, FL, 1990, 2nd ed., Chap. 12.
- (11) M. Goto, H. Yatsuda, and J. Kondoh, “Numerical Aanalysis of Viscosity Effect on Shear Horizontal Surface Acoustic Wave for Biosensor Application,” IEEJ Trans. on Sensors and Micromachines, Vol. 136, No.1, pp. 1-5, 2016.
- (12) 近藤淳, 塩川祥子, “SH-SAWデバイスを用いた溶液系センサ”, 電子情報通信学会論文誌 (C-II), Vol. J75-C-II, No.5 (1992) pp.224-234.
- (13) M. Goto, H. Yatsuda, and J. Kondoh, “Effect of viscoelastic film for shear hozirontal surface acoustic wave on quartz,” Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 54, 07HD02, 2015.
- (14) 後藤幹博, “水晶基板を用いた横波型弾性表面波バイオセンサ応答の数値解析による考察”, 静岡大学博士論文, 2014.

### 用語一覽

SAW: Surface Acoustic Wave (弾性表面波)  
 SH-SAW: Shear-horizontal SAW (横波型弾性表面波)  
 POCT: Point of Care Testing (臨床現場即時検査)  
 HSA: Human Serum Albumin (ヒト血清アルブミン)  
 BSA: Bovine Serum Albumin (ウシ血清アルブミン)  
 FEUDT: Floating-electrode unidirectional transducer (浮き電極型一方向性電極)