

遺伝子操作情報トレーシングのための 細胞スケール埋込型磁気タグの研究

Investigation of Micro-magnetic Tag for Individual Discrimination

2171027



研究代表者

九州大学大学院 工学研究院

教授

山西陽子

[研究の目的]

近年、遺伝子組換え技術が高いレベルに達している。一方で遺伝子操作した対象に対するトレーシング技術は、まだ発展途上にある。特にカエル等の小動物以下のサイズとなると、イオン性溶液下で長時間保持できる IC タグが必要な上、サイズが小さくなるほど高額なこともあって普及が進んでいないのが現状である。現在、番号情報等を直接マーキングすることで個体識別を行っているが、ゲノム編集等の発展とともに識別個体数が激増し、さらに動き回る個体もあって、より効果的な多数・多品種識別・トレーシング技術が求められてきている。本研究ではこのような問題を解決するために安価で長期間安定な磁気トレーシングする技術について研究を行う。

近年の大量生産・大量消費の時代では扱うべき個体数が格段に増えているため、個体認識が重要となっており、生体の識別や成長を追跡する生体材料は急速に増加している。特に、ウェットな環境下で自動で長時間生体を観察・識別できることは重要である。自動認識 (Automatic Identification) とは、「人間を介さず、ハード、ソフトを含む機器により自動的にバーコード、磁気カード、RFID (Radio Frequency Identification) などのデータを読み込み、内容を認識する」ことである。現在の代表

的な自動認識技術としては、商品のバーコード技術、カードに用いられる磁気ストライプ技術、RFID 技術、二次元コードである QR (Quick Response) コードがあるが、現在の技術では低コストかつ長時間安定的に使用できるタグの実現は難しい。特に RFID 技術は急速に発展してきており、大量生産によって低価格化も進んできているが、RFID は水滴の存在により識別が難しくなる欠点も有する。そこで、本研究では、安価な磁性体を用いたウェットな環境下でも生体の個々の情報を長時間識別できる埋め込み型微細磁気タグの開発を行い、そのタグに適したセンサーである磁気光学 (MO) センサーを用いてセンシングすることで環境技術やセンシング・トレーシング技術へ貢献することを目指としている。

[研究の内容、成果]

光は電磁波であり、電磁波というのは電界と磁場の振動が伝搬する現象である。光の進行方向と磁場を含む面を偏光面と呼び、偏光面の方向がそろっている場合を偏光と呼ぶ。物体に直線偏光を入射し、物体に磁場をかけると磁場の強さとともに偏光面が回転する。この磁気旋光効果をファラデー効果という。その時の旋光角 (ファラデー回転角) は磁場の小さいときは物体の厚さ、磁場の強さ ヴェルデ定数と呼ばれ

る物質固有の定数 V に比例する。一般的に強磁性体はヴェルデ定数が大きくなる傾向があるので旋光角も大きくなるが、磁化飽和するのでファラデー回転角には限界がある。強磁性体の厚さが厚くなると光を透過しなくなるという難点がある [1]。

磁気光学 (MO) センサーはファラデー効果を用いたセンサーで、図 1 にセンサー部分の構造を示す。磁気光学素子には単結晶磁性ガーネットが用いられることが多い。偏光子を通して偏光された光が磁気光学素子を通過することで偏光面が回転する。旋光は鏡面層で反射し、再度磁気光学素子を通り先ほどと同じ方向に旋光する。

その旋光角はファラデー効果より磁場の大きさに応じて変化する。その旋光をもう一枚の偏光子である検光子を通して CCD や CMOS などの光学素子で観察することによってセンサー面内の磁場強度分布を N 極部分は明るく、S 極部分は暗くといったように光の強度の差として表すことが出来る。分解能が磁気光学素子の磁区大きさに依存し、磁気センサーの物理的な大きさに依存しないため高い空間分解能が得られる。

これまでの我々の研究では微細化へ向けて Ni 薄膜を用いた 1 cm 四方の個体識別用フレキシブルタグを作製し、テスラメーターによる長期間のセンシングに成功している。しかしながら、微細化には至っておらず 1 cm 四方であること、日数経過により磁束密度が減少してしまうこと、測定点ごとにセンサーを移動させる必要がある為煩雑で時間がかかることが問題点と

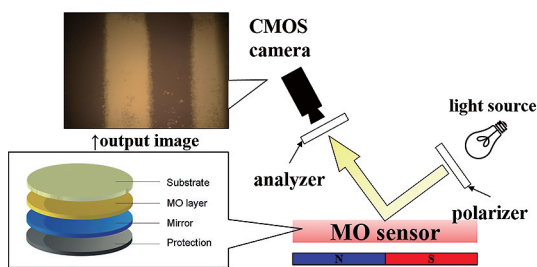


Fig. 1 Structure of MO sensor

してあげられる。これらを解決するためのセンシング法や材料の変更が求められた。

そこで個体識別用微小タグのコンセプト (図 2) を考えた。本研究において情報のコード化材料として用いる材料は磁性体である。磁性体を磁化することで外部に磁場を発し、その磁束密度をハンディ型の磁気光学 (MO) センサーにより読み取る。磁性体は図 1 のタグでは 9 区画に配置可能で 1 区画につき磁性体の有/無を 2 進数のように 1 bit の情報とすると 512 通りのナンバリングが可能となる。

次に図 3 に磁気光学センサーを用いたセンシング法の概要を示す。残留磁束は日数経過によって減少するため従来の Ni 薄膜の残留磁束をセンシングする方法 (a) に加えて、センシング時に外部から磁場を印加することによって軟質磁性体 (b) や反磁性体 (c) を磁化させて外部磁場との磁束密度の差をセンシングする方法を新たに導入した。

(b) と (c) では磁化される方向が反対となる為、得られる撮像の明暗が逆になると考えられる。

(b) と (c) のセンシング法では (a) のセンシング法に比べて磁気アシストによって着磁が不要なので時間経過による減磁の影響を考え

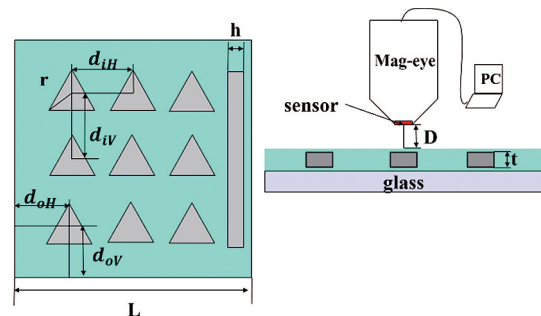


Fig. 2 Concept of micro-magnetic tag

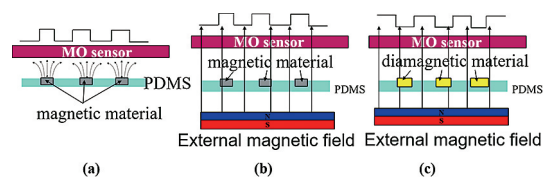


Fig. 3 Concept of magnetic tag sensing using MO sensor

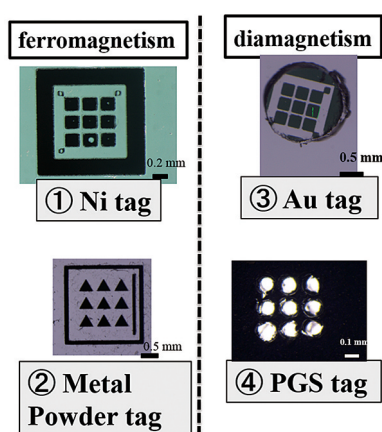


Fig. 4 Four types of micro-magnetic tags

る必要が無くなる大きなメリットがある。

先行研究では Ni 薄膜を用いたタグ製作をしてきたが、Ni は軟質磁性体であり着磁しても得られる残留磁化は他の硬質磁性体に比べて小さい。本研究で用いたタグ材料は図 4 に示す通り、① 磁性体の部分に Ni をもちいた Ni タグ ② 磁性体の部分が生体適合性のある樹脂の PDMS (ポリジメチルシロキサン) と磁性体粉末を混ぜ合わせた磁性体粉タグ ③ 磁性体の部分が反磁性を持つ Au タグ ④ より強い反磁性を持つ熱分解グラファイト (PGS) をエンドミルで加工した PGS タグ、の計四つである。強磁性のタグは自発磁化を持つので外部磁場をかけてもかけなくても反磁性のタグは自発磁化を持たないので外部磁場が必要になる。また、図 5 に以降の実験で用いた②のタグの作製プロセスを以下に示す。

(1) ガラス基板上に PDMS をスピンコート

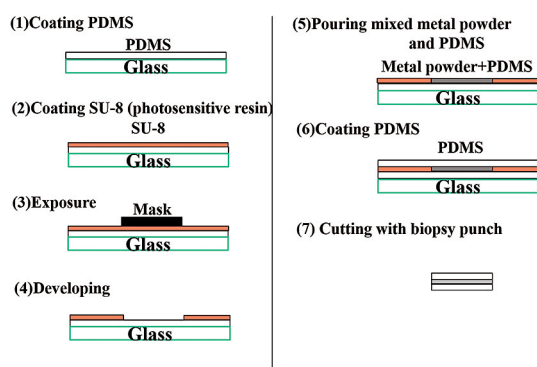


Fig. 5 Fabrication process of metal powder mixed PDMS tag

しオープンを用いてベークした。

- (2) SU-8 3050 をスピンコートしオープンを用いてプリベークした。
- (3) マスクアライメント装置を用いて露光しオープンを用いて 95℃ でポストエクスポージャーベークした。
- (4) PGMEA を用いて現像することで凹地を作製した
- (5) 凹地に金属粉と PDMS を混合したものを流し込み、オープンでベークした。
- (6) 再度 PDMS をスピンコートしオープンを用いて 90℃ でベークした。
- (7) 精密メスを用いてタグ部分を切り取ることで微小磁気タグを作製した。

初期センシング実験ではタグとの距離 $D=0$ μm , タグ大きさ $L=3$ mm とした。また、図 6 に各タグのセンシング結果を示す。今回の実験では図 6 右上に示すような多極マグネットシート (表面磁束密度 2 mT, 磁極間隔 2 mm) を外部磁場印加用磁石としてタグの下に敷いた。Ni タグの場合は外部磁場ありでもなしでもセンシング可能であった。またタグ厚さが厚い方がくっきりと陰影があらわれた。磁性体粉 (Fe) タグの場合は外部磁場なしの場合判別がつきづらかったが、外部磁場ありの場合だとセンシング可能であった。Ni も Fe も軟質磁性体であり着磁した際の残留磁束は飽和磁束に比べてとても小さいため、着磁して残留磁束を測定するのには向いていない。硬質磁性体に比べて

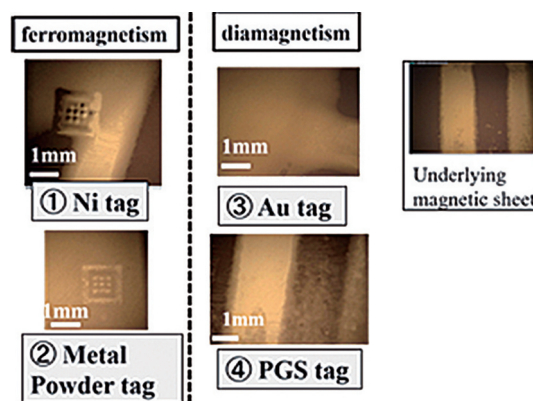


Fig. 6 MO image of fabricated tags

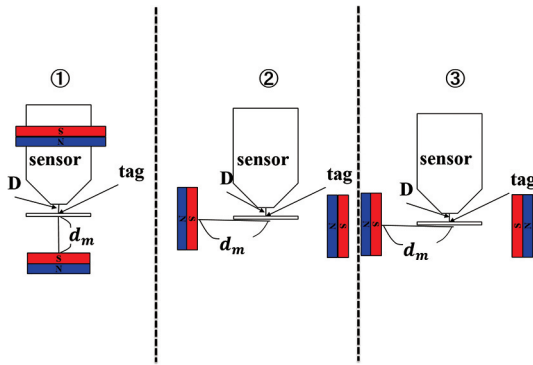


Fig. 7 Magnet arrangement for external magnetic field

保磁力が小さいので外部磁場を印加した際に磁化を変化させやすく応答性が良いといえる。Au タグ、熱分解グラファイトタグはタグ厚さにかかわらずセンシング困難であった。これらは各磁性体の磁化率のオーダーの違いによるものである。磁化率の違いが磁気分極の大きさの指標となるので、磁化率が大きく影響していることが分かる。なお、以降の実験では安定して作成できる②の磁性体粉タグを用いた。

次に微小磁気タグを MO センサーを用いてセンシングしていくための外部磁場印加方法を決定した。角型フェライト磁石を二つ用いて二つの磁石の配置を変えてセンシング実験を行った。

① タグの上方下方に磁石を配置し N 極と S 極を向かい合わせて置く ② タグの左右に N 極と S 極を向かい合わせて置く ③ タグの左右に S 極同士を向かい合わせて置く、の 3 種類の配置を試した。タグの中心と磁石表面の距離を d_m とし、センサーとタグの距離を D とし、 $D=0 \mu\text{m}$ の時と厚さ約 $160 \mu\text{m}$ のガラス基板を間に置いた時でセンシングした。タグ大きさ $L=3 \text{ mm}$ 、タグ厚さ $t=200 \mu\text{m}$ 、磁性体粉は Fe(325 mesh, 株ニラコ) を用いた。

① の場合はタグとの距離 $D=0 \mu\text{m}$ の時はセンシング可能であったが $D=160 \mu\text{m}$ のときはセンシング困難であった。② の場合はタグとの距離 $D=0,160 \mu\text{m}$ の時はセンシング可能であった。③ の場合はタグとの距離 $D=0,160 \mu\text{m}$ のどちらもセンシング困難であった。①と②の

場合を比べると②のほうがセンシング距離が大きい。①はタグが発する磁束が D を大きくすると広がることでセンシングが困難となり、②のほうが距離による磁束の広がりが小さいことがわかる。またタグ情報区画の 1 つは一辺が 0.6 mm 、厚さ 0.2 mm の正三角形であり、磁性体は長手方向に磁化すると飽和磁束が大きくなるので②のほうが着磁方向として適していることがわかる [2]。③では S 極同士を対向させることによってタグの磁化の方向がうまく定まらないためセンシング困難となった。

最適な外部磁場を印加した際のセンシング可能距離を人の目ではなく定量的に決定するため、画像解析ソフトでタグ情報領域と周囲との輝度の差を測定し、その差が設定した値より小さくなればタグ認識困難となるようにする。タグの撮像は位置による輝度の違いを避けるため、マーカーを設置した。タグ情報領域の右側の暗い領域を Histogram の平均値をとることによりグレースケール 256 階調で数値化する。同じ領域が選択されるよう、マクロを用いて繰り返し 6 回計測した。また、図 8 に示すように比較用にタグを置いてないときの撮像も用意し同じマクロを用いて輝度を数値化した。

図 10 に数値化した結果を示す。平均値・下限値というのはタグを置いてないときの撮像の物である。結果をみるとセンサー距離 $D=0 \sim 80 \mu\text{m}$ の区間では輝度はほぼ一定であり、 $80 \mu\text{m}$ と $110 \mu\text{m}$ の間で輝度は大きく上がり、そ

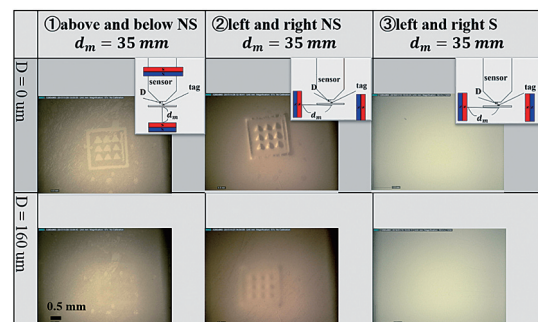


Fig. 8 Result of magnet arrangement

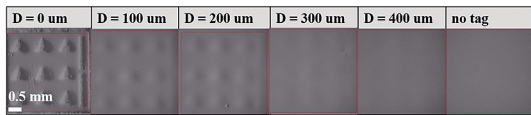


Fig. 9 MO image for measuring maximum sensing distance

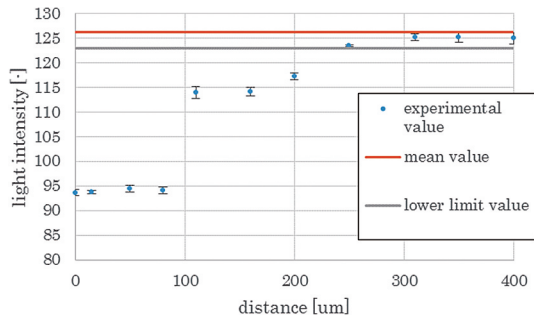


Fig. 10 Sensing distance by image analysis software

こから緩やかにタグがない時の撮像の輝度に近づいている。0～80 μm では MO センサーの表せる輝度の最低値を示し、110 μm 以上ではタグとの距離が離れるにつれて磁束が小さくなることを表している。特に 80～110 μm の区間では MO センサーで違いがわかる範囲内で急激に磁束が小さくなっていた。タグが無い場合の輝度の最低値（測定回数 20）より小さい輝度だとセンシング可能と考えたと $D=200 \mu\text{m}$ まではセンシング可能で $D=250 \mu\text{m}$ 以上ではセンシング困難となった。MO センサーはファラデー効果によりセンサー面に対して垂直に入ってくる磁束に対して光の旋光角が大きく、センサー面に対して平行な磁束の場合は旋光角が小さくなるので、センサー部がタグから離れることによりセンサー部での磁束密度が小さくなったことが原因として考えられる。

[今後の研究の方向、課題]

本研究では生体を対象とする安価な磁性体を用いた磁気タグを開発し、そのタグが発信する情報を素早く読み取るシステムを確立することを目的として研究を行った。そのためにフォトリソグラフィ等の MEMS 技術を用いて各種磁性体を用いた生体埋め込み用の微小磁気タグの

開発を行い、材料の選定を行った。その結果、反磁性体材料より磁性体材料を用いたタグが磁化率の観点よりセンシングに適していることが分かった。素早くセンシングできるシステムとして磁気光学 (MO) を用いたセンサーを使用した。外部磁場の評価をした結果、タグの左右両側に N 極と S 極を対向させて配置すると磁化の強さ、磁束の広がり、方向の観点より適していることが分かった。画像解析ソフトを用いたセンシング可能距離は 200 μm となった。今後、直流磁場とは異なったセンシング法が可能になりセンシング距離がのびる可能性がある交流磁場等の使用、およびファラデー回転角が大きくなる磁気光学素子への変更でセンシング距離の大きいセンシングシステムを構築するなどで生体に埋め込んだ際に導入した試薬の情報や遺伝子コード等の数値的情報を搭載し、環境制御に貢献できると考えている。

[参考文献]

- (1) 佐藤勝昭, 光と磁気, 朝倉書店, pp. 5-12, 2001
- (2) 小林久理真, したしむ磁性, 朝倉書店, pp. 9, 1999

[成果の発表・論文等]

- (1) "Local Magnetization and Sensing of Flexible Magnetic Tag for Long-Term Monitoring under Wet Environment", Y. Yamanishi, D. Matsumura, Y. Fujiwara, T. Ohgawara and Y. Haramoto, Transducers 2017, Kaohsiung, Taiwan, (W2A.001), p. 460-463.
- (2) "個体識別のための埋め込みタグの研究", 松村大輔, 山西陽子, 大河原孝, 原本悦和, 2017 年第 78 回応用物理学会秋季学術講演会 (2017.9.5-8, 福岡国際会議場), 8p-PA2-17, 9 月 8 日 (2017).
- (3) "Investigation of micro magnetic tag for individual discrimination", K. Oguma, Y. Yamanishi, D. Matsumura, T. Sato, Y. Haramoto, T. Kawahara, バイオニクス研究センター実装学会, 3 月 2 日, 九大, pp. 25, (2018)
- (4) "個体識別へ向けた微小磁気タグの研究", 松村大輔, 佐藤匡, 川原知洋, 原本悦和, 山西陽子, ROBOMECH 2018 in Kitakyushu, (社)日本機械学会ロボメカ部門, (2A1-L07), 北九州, 6 月 5 日,

- (2018).」 (2018), vol.27 (2), pp.305-311. doi: 10. 1109/
(5) K. Ichikawa, S. Maeda, Y. Yamanishi, Journal JMEMS. 2018. 2793314
of Microelectromechanical Systems (JMEMS),