



「マイクロ・ナノスケールの熱物性とシステムデザイン」第4回研究会

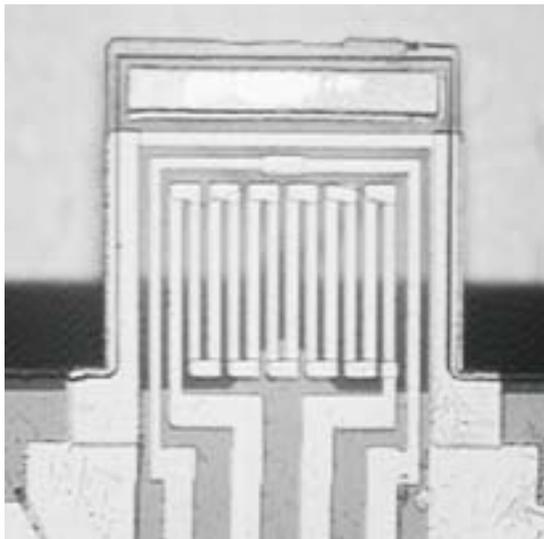
# MEMSセンサを用いた 少数細胞の代謝熱モニタリング

中別府 修 明治大学理工学部機械工学科

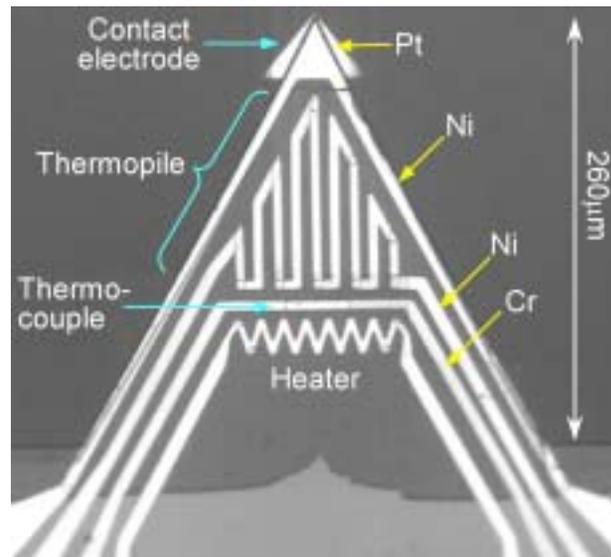
Osamu NAKABEPPU, Meiji University

# 背景：MEMS熱センサ

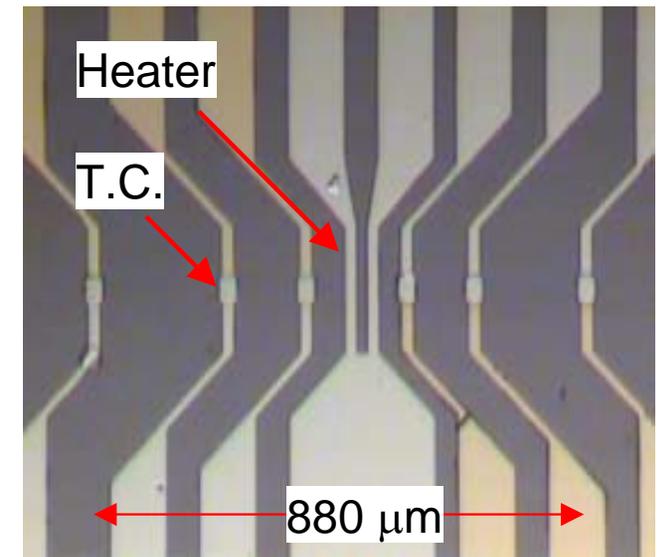
- MEMS 熱センサ・デバイス
  - 薄膜熱電対，ヒータ，
  - 膜・ブリッジ・カンチレバ構造
  - 微小，小熱容量，高熱抵抗，高集積性  
高速，高感度，高安定性，高機能化
- 熱・温度計測限界の拡張
  - 空間：nmスケール温度・熱物性計測
  - 時間：kHz帯温度変動
  - 精度：nWレベル熱量計測



チップカロリメータ



SThMカンチレバー



沸騰研究用センサ

# MEMS based Thermal Engineering

**SThM**

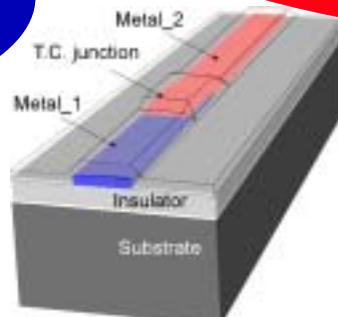
**Boiling Mechanism**

**MEMS**

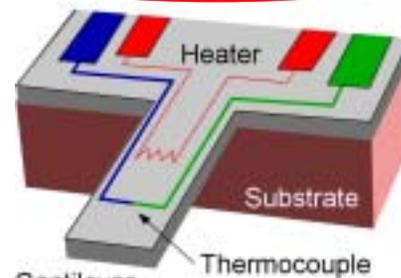
Thin film devices.  
Membrane & lever structure.  
Function Integration.  
Extending thermal meas. limit.

**Chip-Calorimetry**

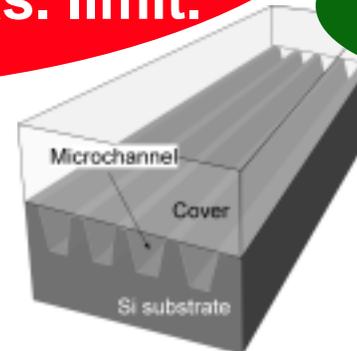
**Micro-channel**



Thin Film TC.



Cantilever Sensor



Microchannel

**Bio Metabolism Monitor**

**Radiation Sensor**

**Micro-Pump  
Micro-Heat Pipe**

# Bio Metabolism Monitor

## 研究背景

- バイオカロリメトリ：  
代謝熱計測による，生体活動の観察  
典型的な細胞代謝熱量：0.1~60pW/cell  
細胞数 $10^6$ 個以上の集団的挙動の観察
- MEMSによる熱量感度の向上  
少数・単一細胞の代謝モニタリング  
細胞の活動状態，生理状態の詳細な把握  
医薬品・アレルギー等の迅速な検査  
医学や生命工学への貢献

## 研究目的

- MEMSセンサによる，細胞代謝熱モニタリング技術の開発

# 各種生物細胞の熱生成速度

細胞	熱生成速度[pW/cell]	文献
ヒト赤血球（正常個体の）	14 ± 5	1)
同（甲状腺機能亢進個体の）	131 ± 4	2)
リンパ球（正常個体の）	2.31 ± 0.12	3)
同（末端肥大症個体の）	2.90 ± 0.15	3)
T-リンパ種細胞	7.5 ± 0.6	4)
非ホジキンリンパ腫（2年以内死亡者の）	4.0	5)
同（2年以上生存者の）	2.5	5)
上皮脂肪細胞	19	6)
上皮繊維芽細胞	40	6)
ヒト胃線ガン細胞	40 ~ 49	7)
HeLa1細胞（ヒト子宮頸癌由来）	62.3 ± 2.9	7)
Vero細胞（アフリカミドリザル腎臓）	27.4 ± 2.1	8)
酵母細胞	20 ± 3	9)
大腸菌細胞 （ヒト個体）	0.067 ± 0.010 (1.5mW/g)	9)

1) M. Monti, *Metabolism*, **34**, 183 (1985)

2) M. Monti, P. Hender, et al. *Metabolism*, **36**, 155 (1987)

3) S. Valdersson et al. *Acta Endocrinol.*, **122**, 422 (1990)

4) S. Schon, I. Wadso, *Cytobios*, **48**, 195 (1986)

5) M. Monti, et al., *Scand. J. Haematol.*, **36**, 353 (1986)

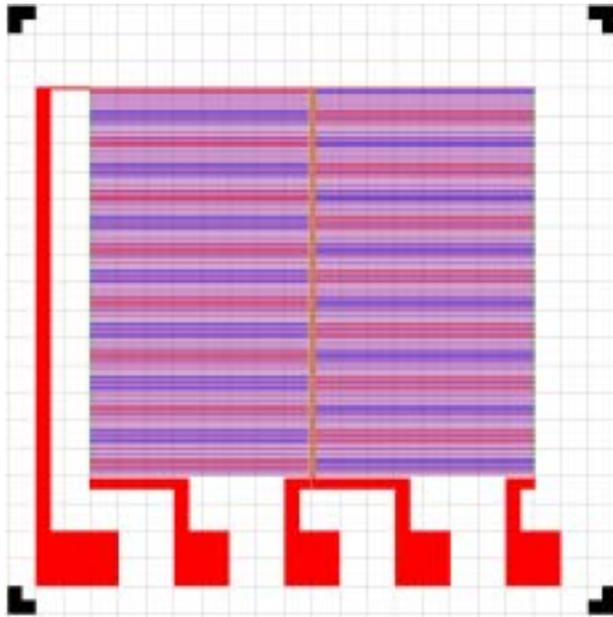
6) S. Schon, et al., *Thermochim. Acta*, **94**, 123 (1985)

7) Q. Dong, et al., *J. Biochem. Biophys. Methods*, **19**, 83 (1989)

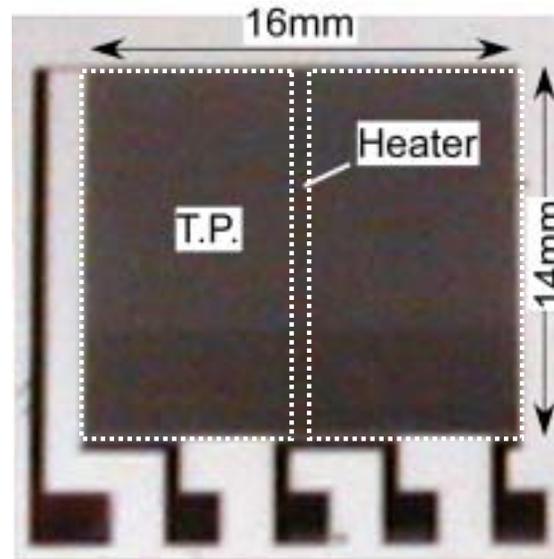
8) S. Schon, et al. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **13**, 135 (1986)

9) O. A. Antoce, et al., *Netsu Sokutei*, **24**, 111 (1997)

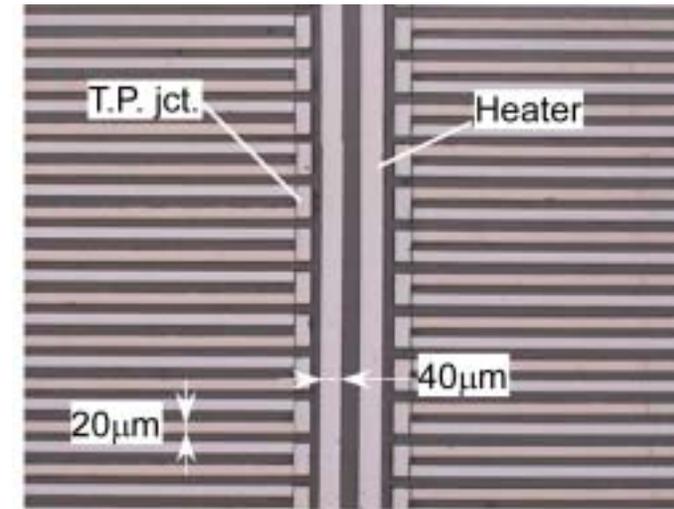
# Thermopile Sensor for Bio Calorimeter



CAD design



Overall view



Center part

## Specifications

Substrate: Cover Glass ( $t=0.15\text{mm}$ )

TP metals: Cr & Ni

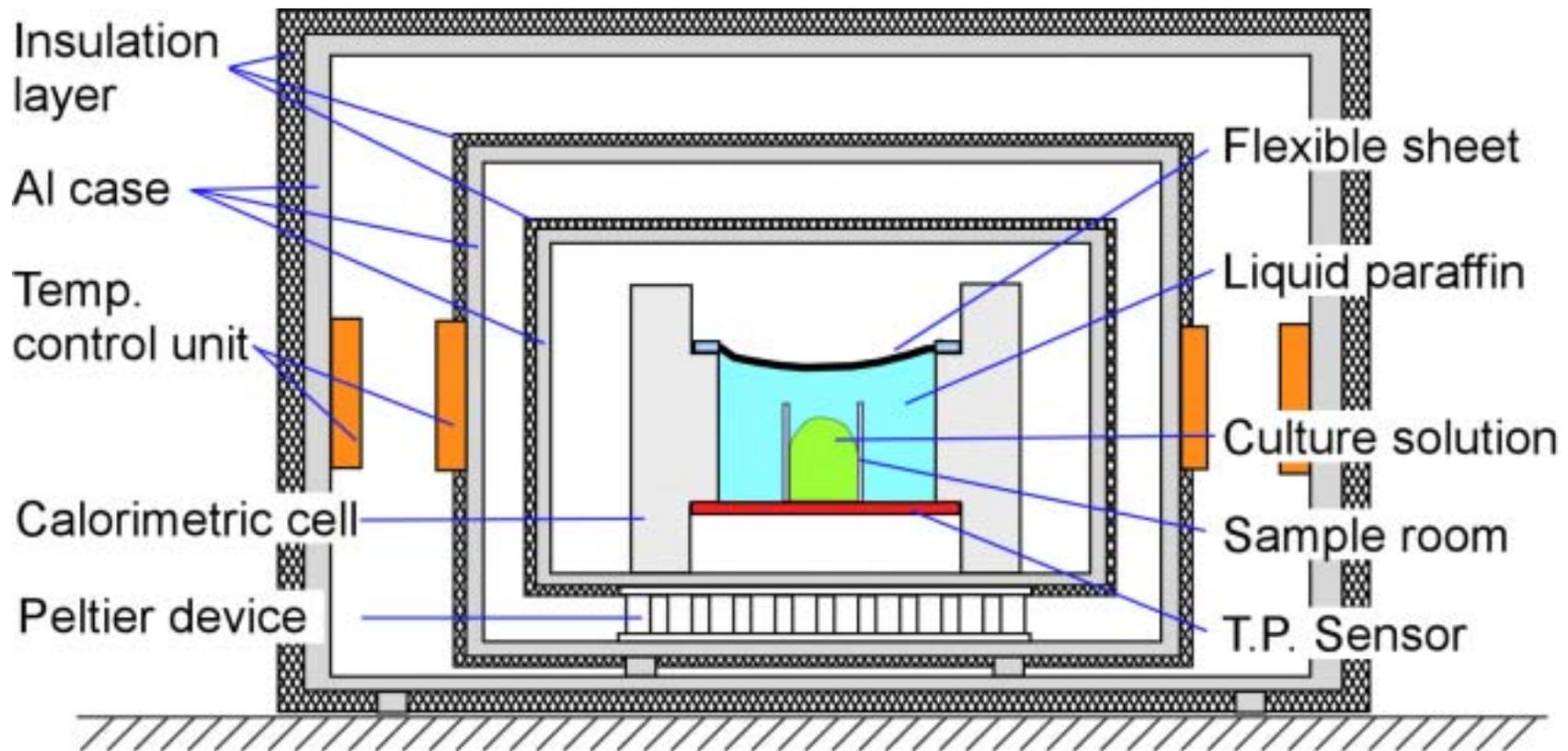
TC number: 350 couples in both sides.

Sensitivity:  $0.71\text{V/W}$  (empty)

$0.62\text{V/W}$  (with paraffin)

Calibration: Built-in heater at center

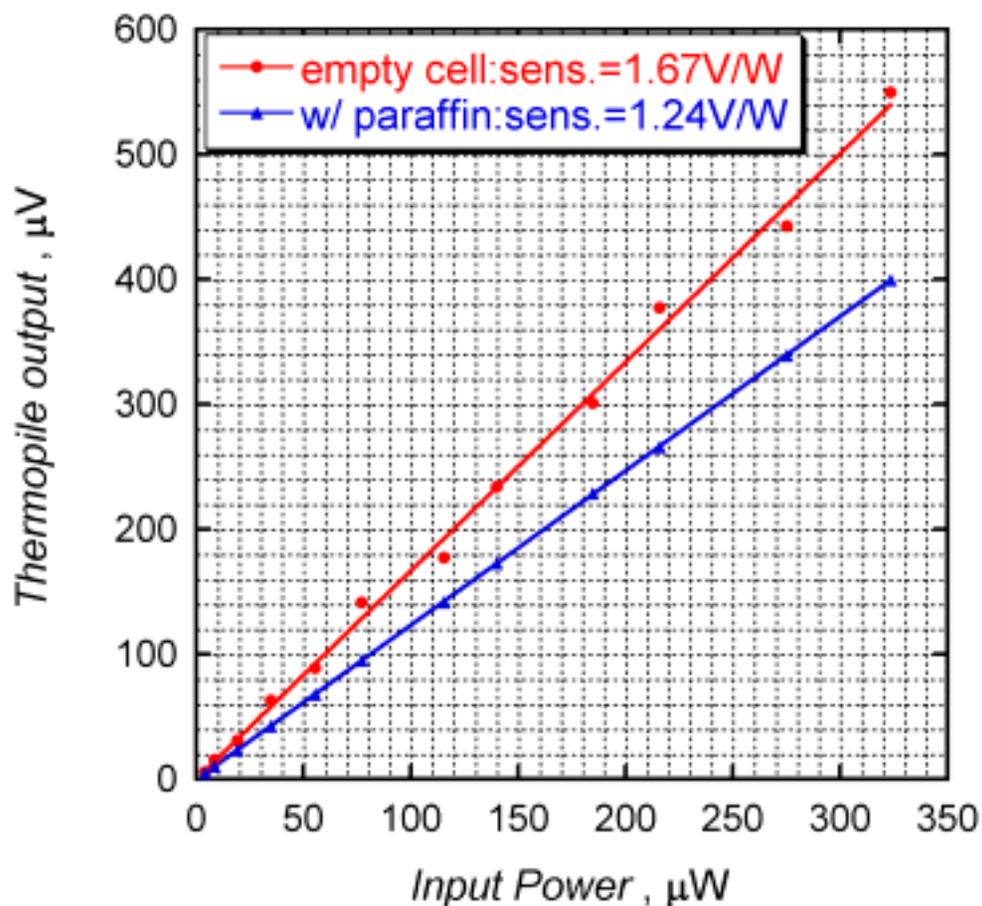
# Bio Calorimeter with MEMS Thermopile sensor



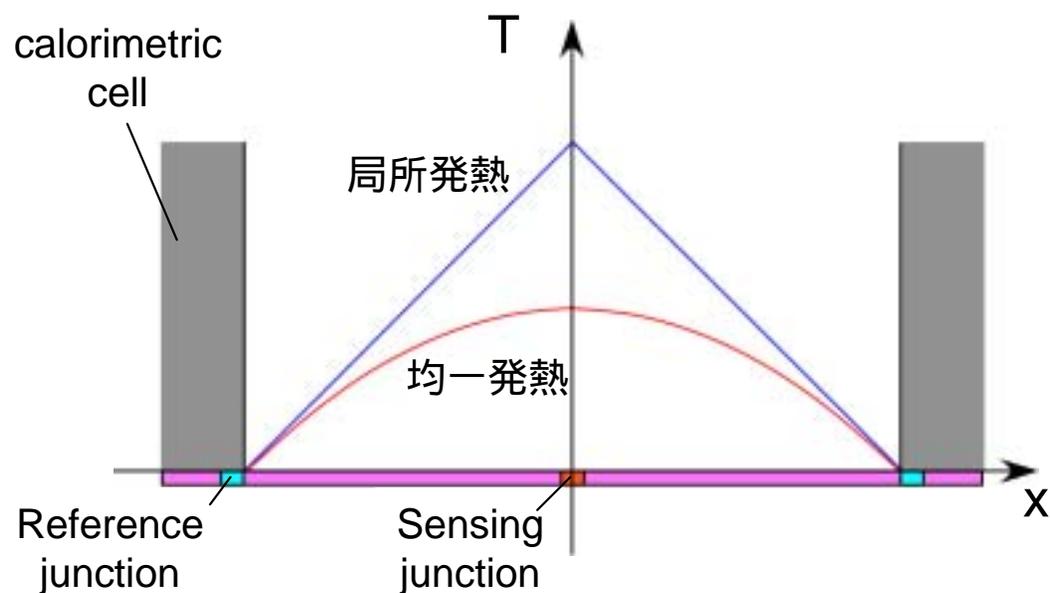
- **Temp. Control: P control with Peltier device & PID control with heater.**
- **Conduction** type: Metabolic heat is conducted through thermopile.
- **Batch** Operation: Calorimetric cell is closed for avoiding thermal perturbation with evaporation of culture solution and metabolite.

# 薄膜サーモパイルセンサの感度

校正用ヒーターによる既知の電力とセンサからの出力の関係から測定

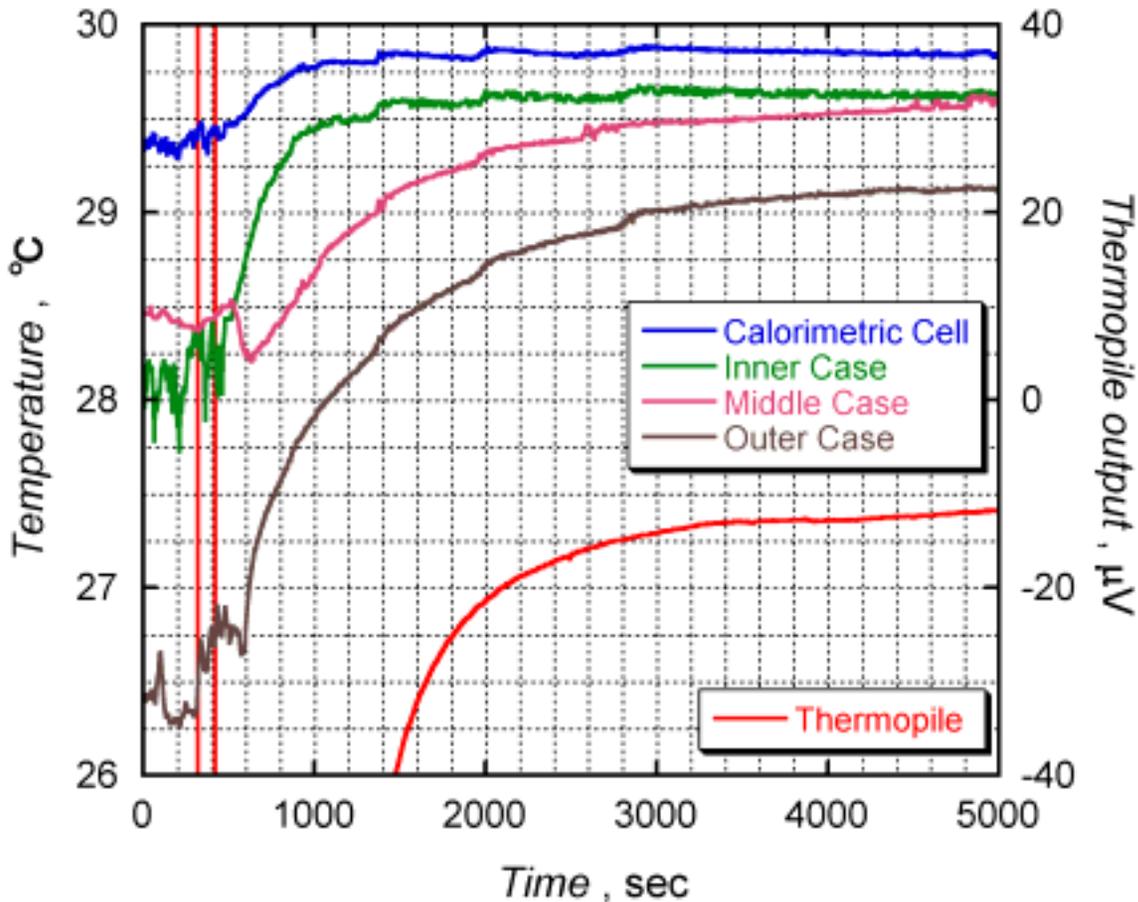
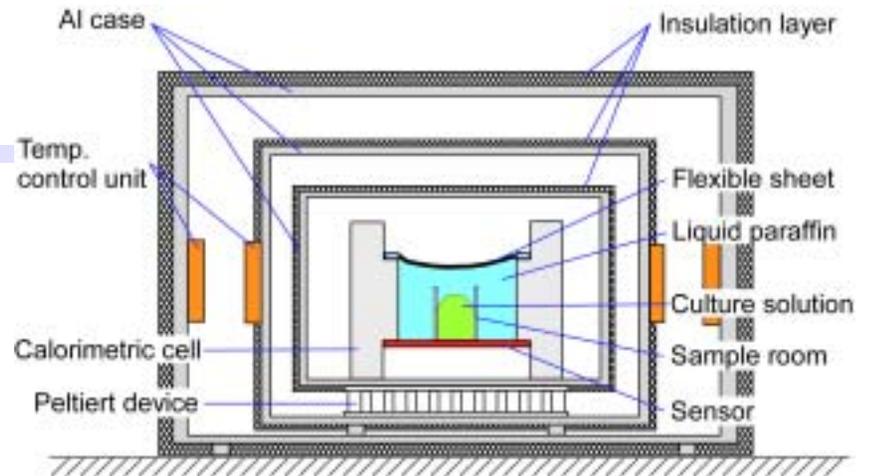


## 感度校正



$$\cdot S_p = \begin{cases} 0.84 \text{ V/W (empty)} \\ 0.62 \text{ V/W (with paraffin)} \end{cases}$$

# 多重恒温槽特性



実験開始からの各部温度，  
サーモパイルの出力の変化

## 各部の時定数

- Thermopile sensor 87 sec
- Calorimetric cell , Inner case 280 sec
- Middle case 890 sec
- Outer case 930 sec

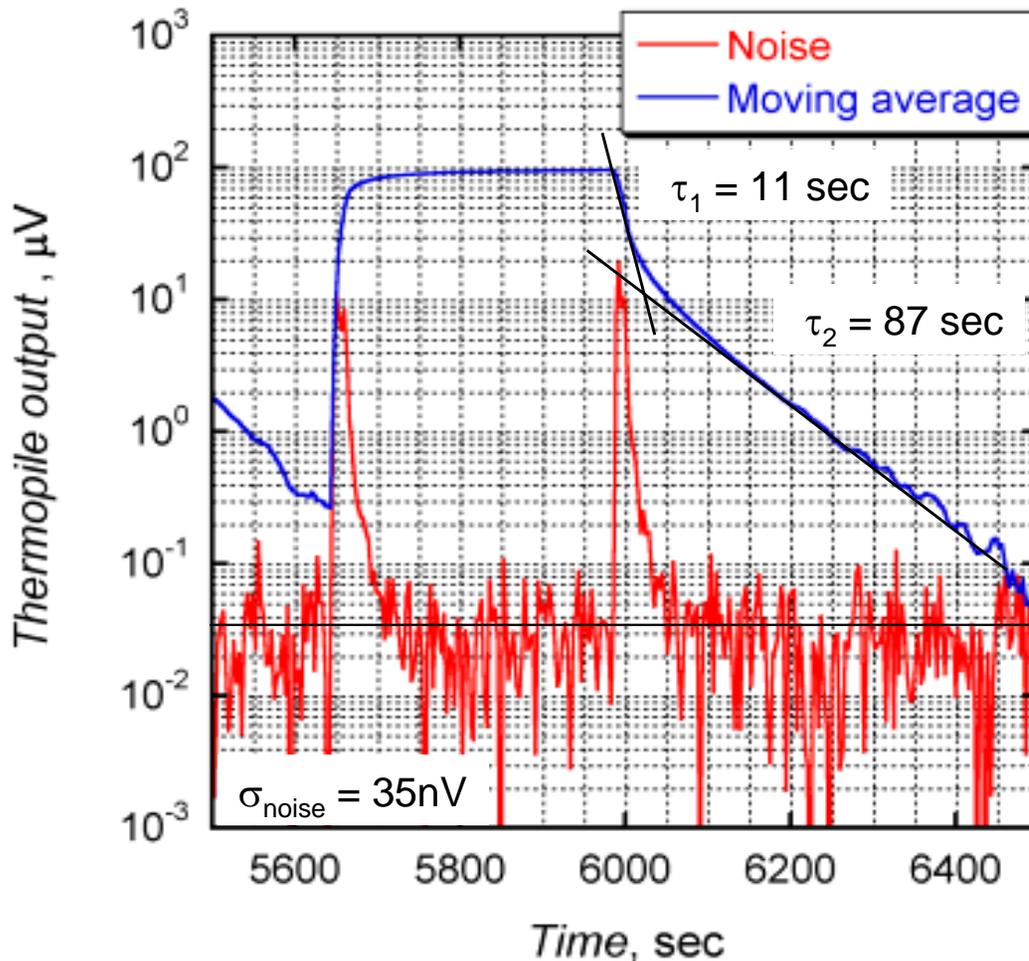
## 温度減衰特性

約1000秒周期の空調による外乱

- Room 1.2Kp-p
- Outer case 50mKp-p
- Calorimetric cell 検出不能
- Thermopile 2nWp-p  
(0.18 $\mu$ Kp-p)

# 薄膜センサの分解能と時定数

ヒーターをステップ加熱させた時のセンサの応答から評価



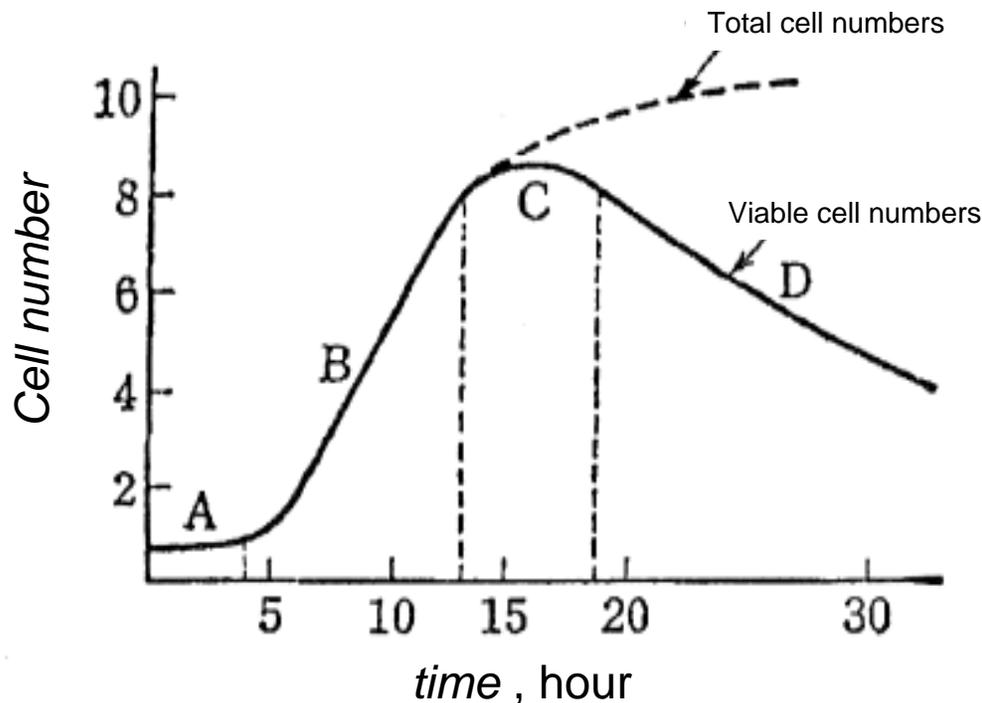
## 熱量分解能

- ノイズ強度 35nV
- ノイズ等価電力 56.5nW  
( $3 \times 10^3$ 個の酵母菌に対応)

## 時定数

- $\tau_1 = 11\text{sec}$   
センサの基板上で温度が定常になる
- $\tau_2 = 87\text{sec}$   
試料セル内での温度が定常になる

# 微生物の増殖曲線



A: 誘導期      B: 対数増殖期  
C: 定常期      D: 死滅期

**誘導期(induction phase)**  
増殖への準備期間

**対数増殖期(log. growth phase)**

細胞は一定の割合で増加  
増殖速度は環境に依存

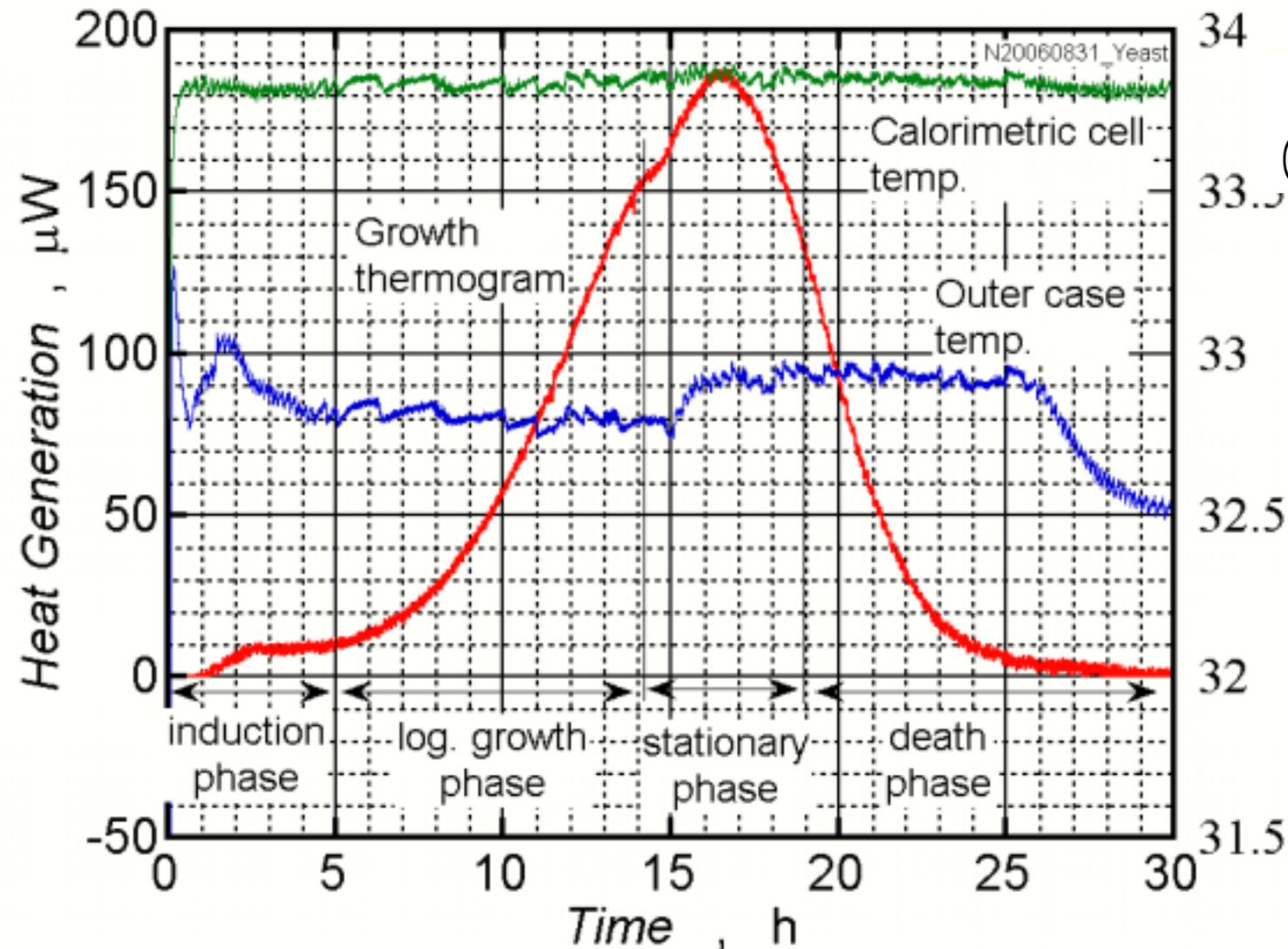
**定常期(stationary phase)**

細胞数はほぼ一定  
増殖，死滅細胞数が釣り合う

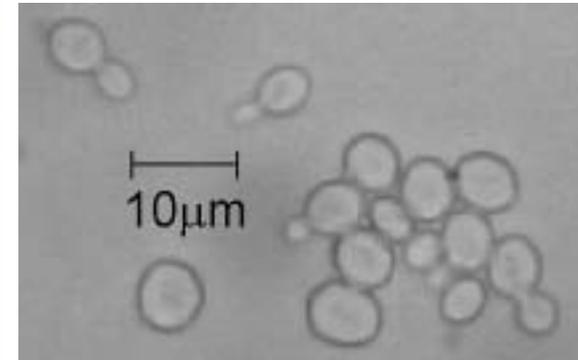
**死滅期(death phase)**

細胞が死滅，減少

# Growth Thermogram of Yeast



Yeast (パン酵母)  
(*Saccharomyces cerevisiae*)



Typical Data  
Metabolic heat: 20pW/Cell  
Generation time:  
80~120min

## Conditions

- Culture solution:  
M-Green Yeast and Mold Broth: 0.2ml + Sucrose 3wt%aq: 0.2ml
- Temperature: 33.8°C
- Sensitivity: 0.62  $\mu\text{V}/\mu\text{W}$

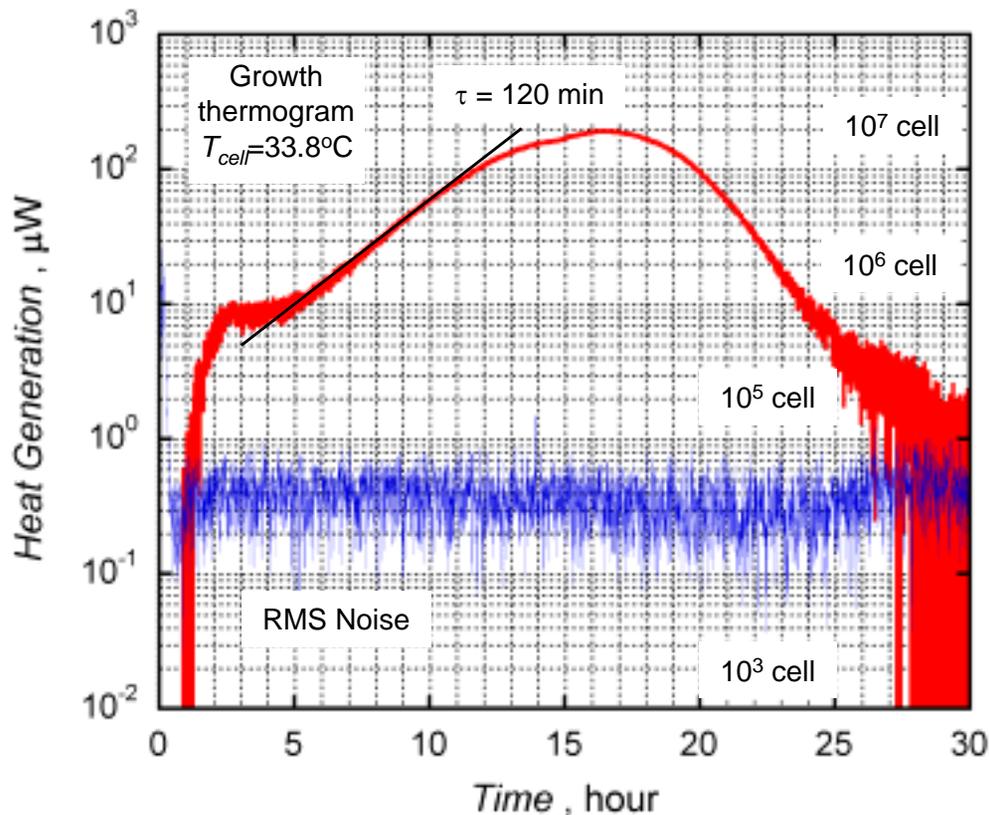
# 計測系改善によるノイズの低減

ドライイースト1粒 / 3wt%スクロース水溶液100ml 0.2ml

培養液( M-Green Yeast and Mold Broth ) 0.2ml

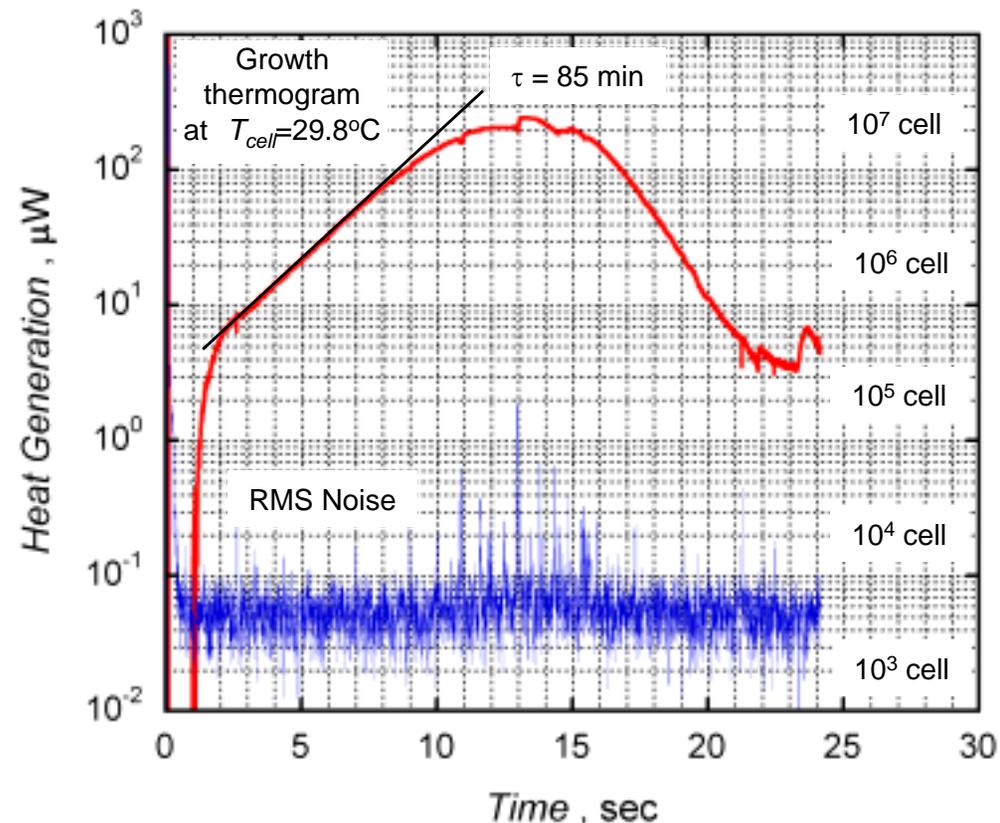
Amp. (G=100,10Hz LPF): 1 set

Amp. (G=100,10Hz LPF): 2 set



$4 \times 10^5$  個 ~  $10^7$  個の増殖

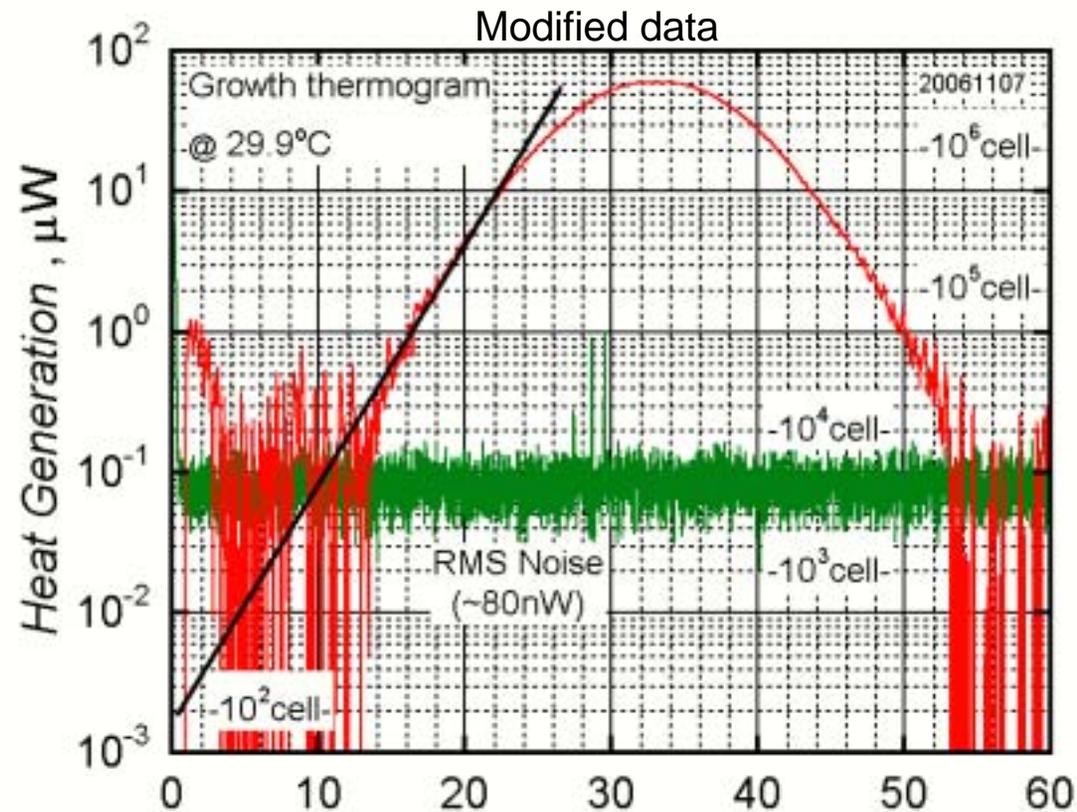
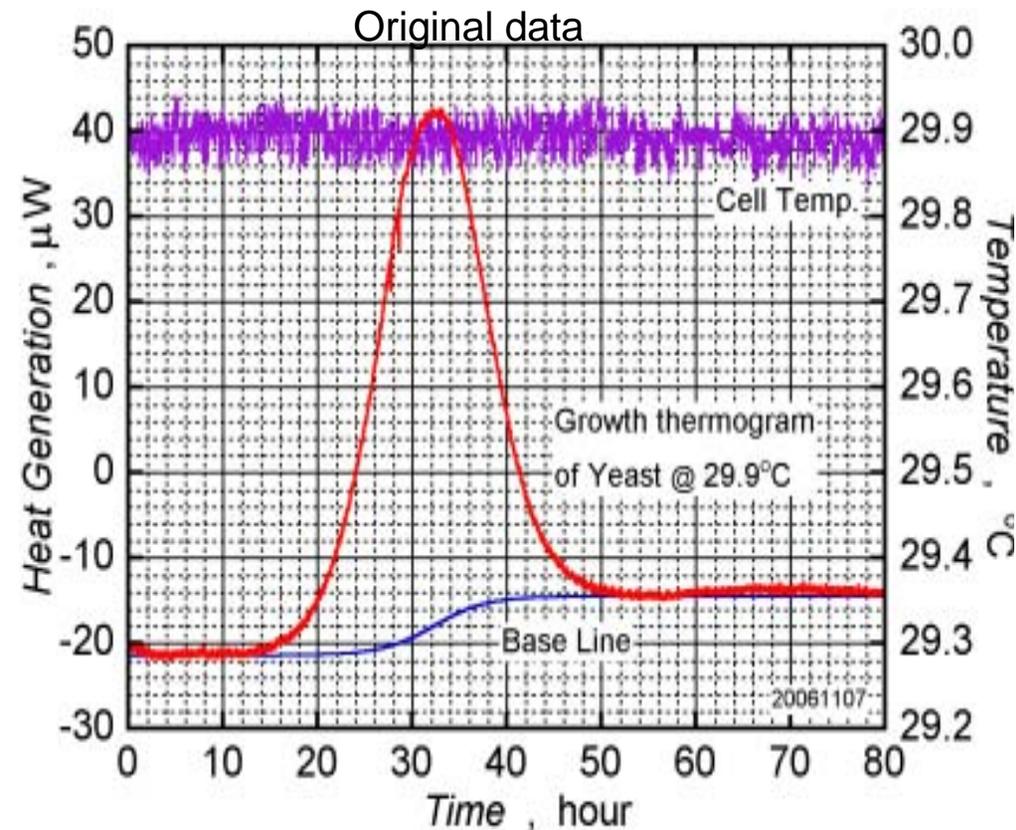
RMS Noise 約300nW  
(酵母菌 $1.5 \times 10^4$ 個に相当)



$3 \times 10^5$  個 ~  $10^7$  個の増殖

RMS Noise 約60nW  
(酵母菌 $3 \times 10^3$ 個に相当)

# Growth Experiment from Small Number of Yeast



## Conditions

- Yeast: Dry Yeast 1 peace/1000ml sucrose solution
- Culture solution:
  - M-Green Yeast and Mold Broth: 0.05ml
  - Sucrose 3wt%aq: 0.1ml
- Temperature: 29.9 $^{\circ}\text{C}$
- Sensitivity: 0.62 $\mu\text{V}/\mu\text{W}$ , Amp(40dB)+Amp(40dB)

## Result

- Initial cell number:
  - 100 cells order
- Metabolism detection:
  - $10^4 \sim 10^6$  cells
- Detectable level:
  - RMS noise $\sim$ 80nW  $\Leftrightarrow$  4000 cells
- Generation time :  $\sim$ 100 min

# まとめ：Bio Metabolism Monitor

- MEMSサーモパイルを用いた試料セルと3重恒温槽による熱量計の試作
- 感度：0.62V/W
- $10^4 \sim 10^7$  Cell以上の酵母菌の増殖サーモグラム計測
- ノイズ等価発熱量：60nW（3000Cellに対応）
- 高感度化は可能か？
  - 高熱抵抗構造：ブリッジ流路
  - 温度変動（外乱）の遮断
  - サーモパイルのS/N比の最適化
- 数個～単一細胞の代謝応答モニタ

# 謝 辞

本研究で用いたMEMSセンサは，東京工業大学メカノマイクロプロセス室の協力により製作した．

本研究の一部は科学研究費補助金（基盤研究(B)17360094，萌芽研究18651055）の助成により行われた．

ここに，感謝の意を表します．