

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：82670

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K04789

研究課題名(和文) 精密ナノインプリント法を用いたインフルエンザ検査チップの開発

研究課題名(英文) Development of Au nanopattern chip using UV nanoimprinting method

研究代表者

紋川 亮 (Monkawa, Akira)

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・事業化支援本部技術開発支援部3Dものづくりセクター・上席研究員

研究者番号：10399397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：近年、局在プラズモン共鳴(LSPR)を利用したバイオセンサーは、迅速かつ簡便に生体相互作用を検出できる簡易検査チップとして期待されている。LSPRセンサーの実用化をさらに進めるためには、LSPRチップを大量に生産する方法を構築する必要がある。そこで本研究では、UVナノインプリント技術を用いたLSPRチップの量産化に関する研究を行ってきた。その結果、従来のチップ作製方法では量産性に問題があり、金ナノパターン形状やLSPR特性の再現性、レジスト残渣の除去方法に問題があることがわかった。本研究では、これらの問題を解決するため、量産に適した再現性のあるLSPRチップ作製法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまで成し遂げられていないRT-PCR法と同等の検出感度を有するチップの開発に成功している点にある。この検査チップは、検査に要する時間が短く、低コストかつ迅速検出が可能である。それ故、このチップは、新型インフルエンザの発生時におけるパンデミック対策において、ヒト-ヒト感染予防の根幹を担う重要なキーデバイスとなることは疑いの余地もない。本研究は、シミュレーションにより高感度検出のメカニズムを解明した上で、実用化につなげる開発スタイルをとっており、近年、重視されているEBM(Evidence-based Medicine根拠に基づいた医療)という新しい診療理念とも合致する。

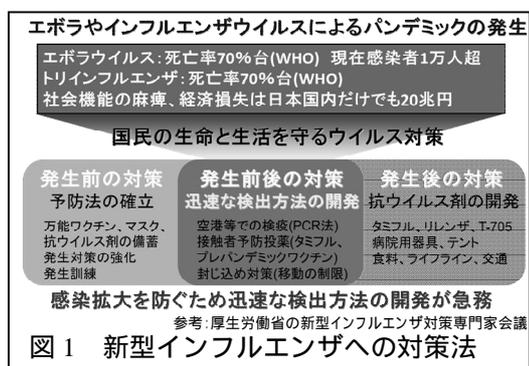
研究成果の概要(英文)：In recent years, localized plasmon resonance (LSPR)-based biosensors have been expected as a promising tool for simple test chips of detecting biological interaction due to rapid and simple to perform. In order to further promote practical application of LSPR sensors, it is necessary to provide a method for mass producing LSPR chip. Therefore, we have been conducting research on the mass production of LSPR chips using UV nanoimprinting technology. As a result, we found that the conventional chip fabrication method is not suitable for mass production, and that there are problems in the reproducibility of the gold nano-pattern shape and LSPR characteristics, as well as in the removal method of resist residue. In this study, we established a reproducible LSPR chip fabrication method suitable for mass production to solve these problems.

研究分野：バイオセンサ

キーワード：バイオセンサ 局在プラズモン共鳴 インフルエンザウイルス ナノインプリント法

## 1. 研究開始当初の背景

エボラやトリインフルエンザ(H5N1)ウイルスは、致死率が非常に高く、パンデミック(感染爆発)の発生が懸念されている(図 1)。パンデミックの発生は、我々の健康だけでなく、経済活動をはじめとする社会機能の麻痺など、世界的な経済損出をもたらす。これらのウイルスの脅威に対抗するためには、早期診断による感染者の封じ込めが不可欠である。早期診断は、封じ込めの効果が期待されるとともに、抗ウイルス薬投与などの適切な診療を早期に実施でき、患者の生存確率を高める。特に致死率が高いエボラウイルスは、3~4個程度のウイルスが体内に侵入するだけで、増殖すると考えられており、早期診断には、超高感度迅速検出システムが必要となる。現状、ウイルスの検出は、RT-PCR 法によるウイルスゲノム検出が、最も高感度な検出方法であるが、検出までに数時間かかり、サーマルサイクラーなどの特殊な装置が必要である。一方、イムノクロマト法は、医療現場で広く利用されている簡易検査法であるが、感度が悪く、早期診断には向かない。そのため、現状では、迅速な封じ込めに有用な検査方法が確立されていない。本研究は、RT-PCR の高感度検出能力と簡易検査チップの簡便性を融合した革新的ウイルス検査手法が可能であるかという学術的な「問い」を解決するための重要な研究課題である。



## 2. 研究の目的

本研究の目的は、超高感度迅速検査チップを開発することにある。これまでの研究の結果、金ナノドットパターン(ドット径 400nm、ドットピッチ 800nm)に光を照射した際に発生する局在プラズモン共鳴(LSPR)現象を利用した LSPR チップにより、たった1個のインフルエンザウイルスの検出に成功している。しかしながら、FDTD シミュレーションの結果、ドットパターンの形状(ドット径・中心間距離、ドット高)において、特にドット高とウイルス検出時に生じる LSPR スペクトルのシフト量(検出感度)に相関があり、LSPR チップの量産化においてバラツキ(歩留まり)の原因となることが明らかになった。本研究では、この課題を解決するために、新規に開発する精密ナノインプリント法により、金ナノドットパターンの高さを精密に制御した大面積 LSPR チップ作製法を開発し、検出感度のバラツキを最小限に抑制した LSPR チップの大量生産システム構築を目指す。

## 3. 研究の方法

これまで、熱可塑性樹脂に加圧・加熱する熱ナノインプリント法により、4mm 角の金ナノドットパターンの作成に成功しているが、大面積化に際して、製造工程で発生するバラツキが課題となる。特に Au 成膜時に発生する金ドット高のバラツキが最大の問題である。従来法(図 2)では、インプリントで作製したホールパターン内に金を蒸着させ金ナノドットパターンを作製している。この手法は、大面積化の際、ホール内に堆積させる金の蒸着量を制御することが難しく、パターン形状(高さ)の精密制御が難しい点が課題である。

そこで本研究では、LSPR チップの生産プロセス検証とバラツキによる性能への影響の確認を行った上で、パターン形状(高さ)の精密制御が可能であり、大面積化においても歩留まりを減少させることが期待される光ナノインプリント法(UV-NI)により課題を解決した。

## 4. 研究成果

### 4. 1. LSPR チップ作製検討

図 3 に、UV-NI 法による金ナノパターンチップの作製方法を示す。以下に各項目における検討事項および最適条件に関して示す。

#### (1) UV-NI 用モールドの作製

ピラー型 Si モールド(直径 400nm、ピッチ 800nm、高さ 270nm)をマスターモールドとして、熱ナノインプリント(X-300、SCIVAX)で樹脂フィルム(ZF14-188、日本ゼオン)にパターンを転写し、UV-NI 用のホール型フィルムモールドを作製した(図 4)。フィルムモールドのホール深さは、マスターと同じ 270nm となった。熱ナノインプリントの条件は、ステージ温度 140℃、加圧力 2000N、加圧時間 360sec とした。

#### (2) UV ナノインプリント条件の最適化

アンモニア過水(NH<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O=1/1/5、75℃、5min 以上)および酸素プラズマ処理(RIE-10NRT、サムコ、O<sub>2</sub>、250W、10min)で洗浄した石英基板に、スパッタ装置(EIS-230、エリオニクス、2000V、100W、Ar:1sccm)で Au(60nm)/Si(数 nm)を成膜した。その上に UV レジストをスピンコーティング

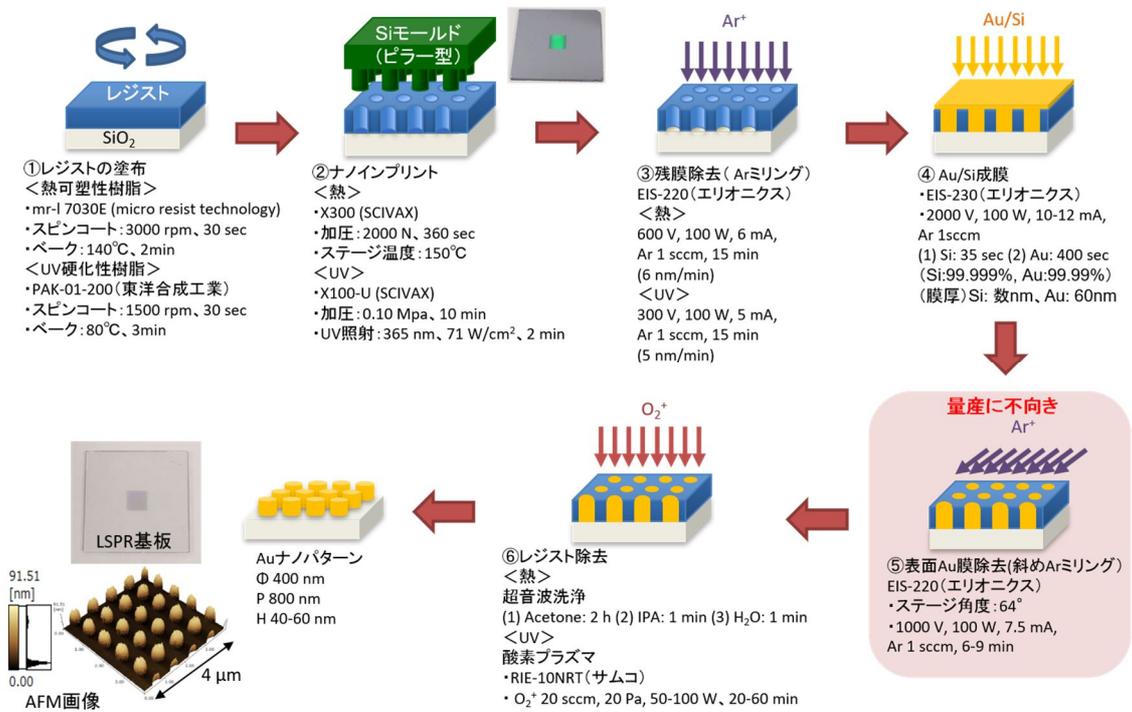


図 2. 熱ナノインプリント法(従来法)による金ナノパターンチップの作製方法

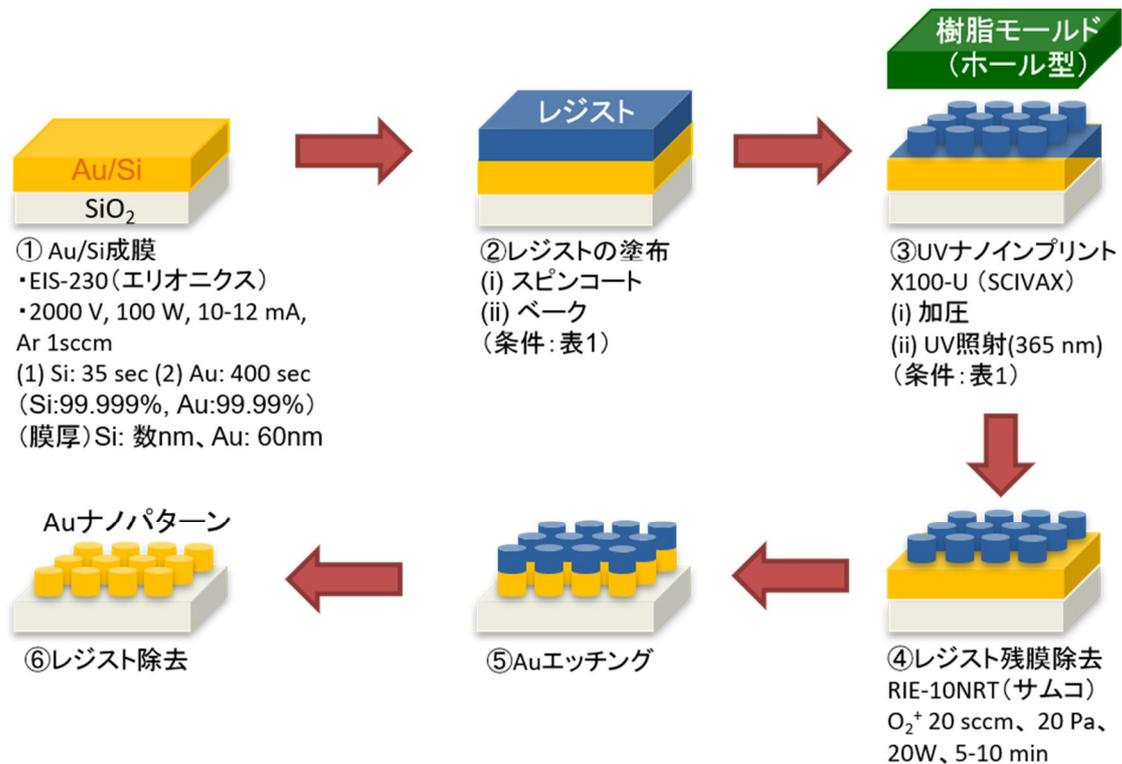


図 3. UV-NI 法による金ナノパターンチップの作製方法

(4000rpm, 30sec)し、ベーク後に UV-NI (UV 波長 365nm)を施した。検討した UV レジスト、ベーク、および、UV-NI の条件は表 1 にまとめた。SU-8 を含むレジストに関しては、UV-NI 後に PEB (65、1min 95、1min) も行った。柔らかいレジストである PAK-01-200 や mr-NIL200-300nm の場合、パターン転写は可能ではあったが、フィルムモールドの僅かな歪みまで転写され、レジスト膜厚にムラが生じた。また、ナノパターン部分のレジストがモールドに付着してしまうこともあった。一方、Cyclopentanone で 5%に希釈した SU-8 では、硬すぎるためパターンが転写できなかった。そこで、PAK-01-200 と SU-8 (5%希釈) を 5.6 : 1 で混合したレジストを用いたところ、モールドにレジストが付着することなくパターンの転写が可能となった。

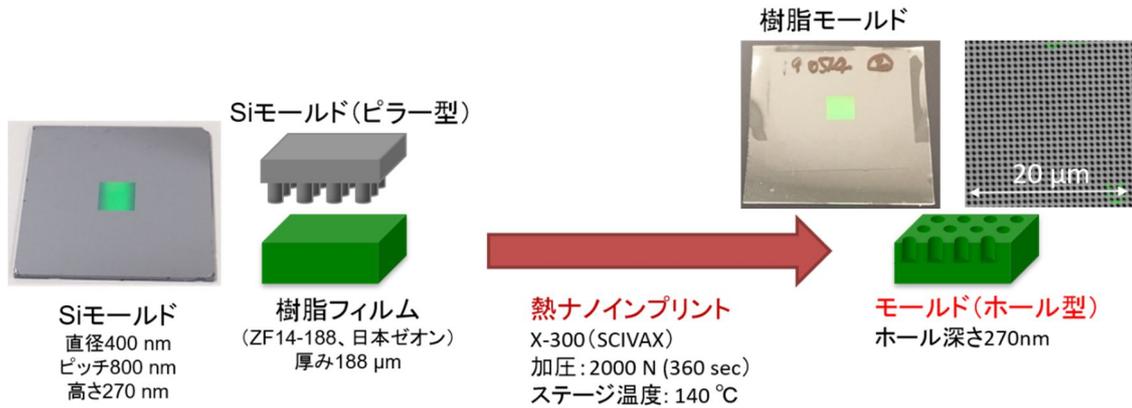


図 4. UV-NI 用樹脂モールドの作製

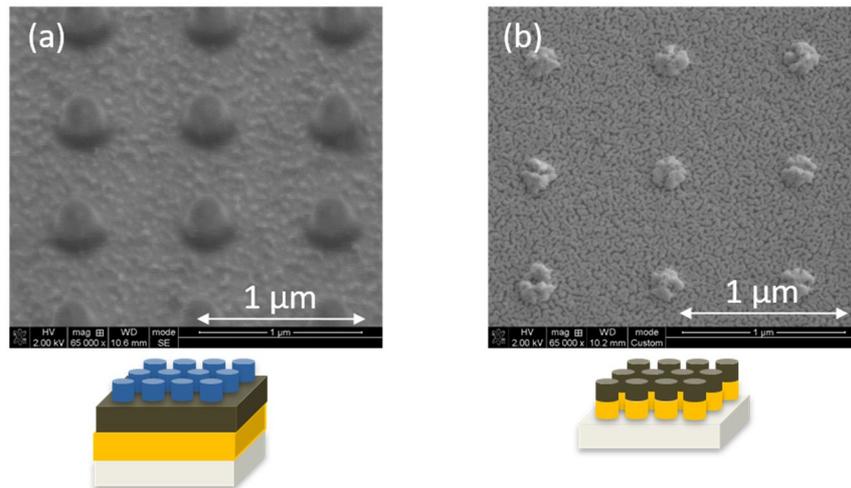


図 5. チップの SEM 画像 : (a) UV-NI および残膜処理後 (b) Au ドライエッチングおよびレジスト除去後

### (3) 残膜除去条件の最適化

Au 膜をエッチングで削るのに際して邪魔になるレジスト残膜を酸素プラズマ処理 (RIE-10NRT、サムコ) で除去し、レジストマスクを作製する条件検討を行った。最終的な条件としては、出力 20W、圧力 20Pa、ガス流量 20sccm で、処理時間についてはレジスト残膜によって 5~10min で適宜調整した。

### (4) Au エッチング条件の最適化

#### ウェットエッチング

レジスト残膜処理後、Au 膜を Au エッチャント液 (Goldetchant, nickel compatible, Sigma-Aldrich) でエッチングする条件を検討したが、目的の Au ナノパターンを得ることはできなかった。処理方法の一例としては、3%希釈液中に基板を約 3 分間浸漬し、パターン部分以外の Au 膜 (Au ベタ膜) が除去されると同時に基板を取り出し洗浄した。その後、レジストマスクを酸素プラズマで除去した。結果として Au ナノパターンは無く、Au が溶けて無くなった。一方、処理時間を短くし、Au ベタ膜が無くなる前にエッチングを中止してマスクを除去しても、Au 膜にナノパターンは作製されておらず、Au ベタ膜のままであった。溶液によるエッチングは等方的であるため、マスクされた箇所もエッチングされてしまうことや、ベタ膜部分とパターンニング部分でエッチング速度が異なることなどにより、エッチングの制御が難しく、最適条件を見出すには至らなかった。

#### Cr マスクを用いたドライエッチング

次にドライエッチングを検討した。レジストマスクではドライエッチングに耐性がない可能性があるため、Au/Si 成膜時に Cr をさらに成膜し、Cr マスクを用いることとした。同様の UV-NI や残膜除去の条件で処理することで、レジストパターンを作製した (図 5a)。Cr の膜厚は約 10nm とし、Cr エッチャント液 (HICRETSCHS-1、和光純薬) に基板を Cr ベタ膜が無くなるまで 10 秒ほど浸漬させることで、Cr をエッチングした。その後、高速ディープエッチング装置 (サムコ株式会社 RIE-400iPBT) を用い、表 2 に示す条件で Au 膜をドライエッチングした。AFM 測定によるとまだレジストが残っていたため、レジストの除去を行った。この時の基板の Au ナノパターンを SEM 観察したところ、Au の直径がレジストマスクの直径よりも小さくなり、表面の形状が凸

凹していた(図 5b)。原因としては、Cr マスク作製時のウェットエッチングで Cr マスクが小さくなったことや、Au のドライエッチングにより削られてしまったことなどが考えられる。最後に Cr マスクを除去して LSPR スペクトルを測定したところ、従来法で作製した LSPR チップと同様に 1200nm 付近にピークが見られたが、強度はかなり弱かった。これは Au のサイズが小さくなってしまったことによるものと考えられる。この課題を解決するためには、予めマスターモールドのピラー直径を大きくし、最終的な Au ナノパターンのサイズが目的サイズとなるように調整する必要がある。また他にも、石英表面もエッチングにより削られることで凸凹していたことや、Au ナノパターン表面も凸凹していたことなどの課題があった。

#### KOH 水溶液によるリフトオフ

UV レジストの PAK-01-200 は硬化した後でも、30%KOH 水溶液で溶かすことができるため、その溶液を用いた Au/Si 成膜チップのリフトオフ条件を検討し、次のような条件を確立した。まず、130 のホットプレート上で Au/Si 成膜チップを 15 分間加熱した後、30%KOH 水溶液中で 30 分間超音波処理を施し、レジストを溶解させた。この時点では完全には表面 Au/Si 膜が剥離しなかった。そこで、イソプロピルアルコールで 1 分間ほど超音波処理したところ、残った表面 Au/Si 膜も剥離し、完全にリフトオフした。最後に、チップ表面に付着している Au 膜の残渣を水で 1 分間ほど超音波洗浄して除き、Au ナノパターンチップを得ることに成功した(図 6)。なお、130 でチップを加熱しなかった場合、リフトオフされなかった。130 で加熱によりリフトオフできた理由としては、加熱によりレジストが変形し、Au/Si 膜にクラックが入ることで、KOH 水溶液の浸透や、超音波処理による破壊が容易になったためと考えられる。

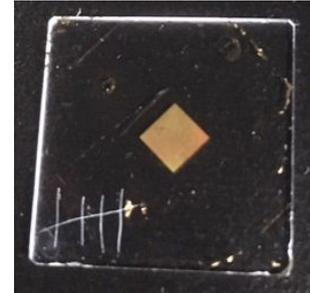


図 6. LSPR チップ写真

AFM 観察の結果、4 枚のチップにおける Au ナノパターンサイズは、直径  $0.46 \pm 0.04 \mu\text{m}$ 、高さ  $79 \pm 4 \text{nm}$ 、ピッチ  $0.85 \pm 0.02 \mu\text{m}$  であり、平均値に対する誤差の割合はそれぞれ 9%、5%、2%であった(図 7a)。高さとピッチについては目標の 5%以内となった。直径の誤差が大きくなった原因としては、装置やレジストの状態により、レジスト残膜除去量に差が生じたためと考えられる。現在の実験環境ではこれらの誤差を小さくすることは難しく、実際の製品化においては品質管理などにより誤差を小さくする工夫が必要である。また、レジスト壁面に付着した Au/Si 膜に由来するドーナツ状のバリまたは突起が存在した。これらの突起は 450 加熱処理によりある程度滑らかになった。(図 7b)。加熱によるパターンサイズの有意な変化は見られなかった。また、6 枚の LSPR チップのスペクトル測定により、450 加熱前のピーク位置と吸光度の平均値はそれぞれ  $1229 \pm 12 \text{nm}$ 、 $1.49 \pm 0.11$  であり(図 7a)、450 加熱後はそれぞれ  $1206 \pm 10 \text{nm}$ 、 $1.83 \pm 0.05$  であった(図 7b)。加熱により、ピーク位置は若干低波長側にシフトし、吸光度は大きくなると共に、それぞれの誤差は小さくなった。これは加熱により、突起などの Au ナノパターン形状の不揃いが整えられたことや、Au が焼しめられたこと、Si 下地が  $\text{SiO}_2$  へ酸化されたことによる誘電率変化などが原因と考えられる。ピーク位置の平均値に対する誤差の割合は、加熱前後でそれぞれ 1%となった。一方、吸光度における誤差の割合については、加熱前は 7%であったが、加熱後には 3%に減り、目標の 5%に収まった。以上より、直径以外の Au ナノパターンのサイズ、および、LSPR スペクトルのピーク位置と強度(吸光度)の誤差は目標である平均値の 5%以内となり、再現性の高い、量産に適した LSPR チップの作製方法の確立を達成できた。直径の誤差については、製品化に際して装置状態等が安定した量産用の装置を用いれば解決できると考えられる。

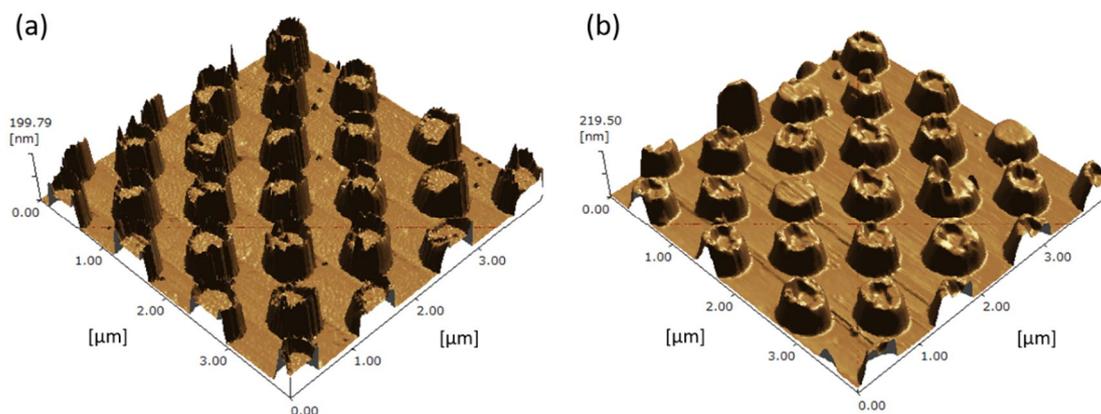


図 7. AFM 画像 (a)450 加熱前、(b)450 加熱後

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuki Takimoto, Akira Monkawa, Kohki Nagata, Masahiro Kobayashi, Mariko Kinoshita, Tomoko Gessei, Toshiya Mori & Hiroyuki Kagi	4. 巻 15
2. 論文標題 Detection of SO2 at the ppm Level with Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) Sensing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plasmonics	6. 最初と最後の頁 805-811
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11468-019-01099-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	瀧本 悠貴  (Takimoto yuki)  (80733758)	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・事業化支援本部技術開発支援部3Dものづくりセクター・副主任研究員    (82670)	
研究分担者	永田 晃基  (Nagata Kohki)  (40733754)	地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター・開発本部開発第一部電気電子技術グループ・副主任研究員    (82670)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------