

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02582

研究課題名(和文)エピタキシャルグラフェンによる電荷移動型FETバイオセンサの開発

研究課題名(英文)Charge-transfer type graphene-FET biosensors using epitaxial graphene film.

研究代表者

大野 恭秀(OHNO, Yasuhide)

徳島大学・ポストLEDフォトリソ技術研究所・准教授

研究者番号：90362623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：大面積・単結晶のエピタキシャルなグラフェンであるSiC基板上のグラフェン膜を利用したグラフェンFETを用いて、グラフェンの本質的な吸着特性を明らかにすると共に、電荷移動型のセンサデバイスを作製する。これまで研究されてきたCVD法によるグラフェンデバイスでは、センサ特性に再現性が見られないことが大きな問題であったが、単結晶であるエピタキシャルグラフェンを用いて、ポリマー残渣がないデバイス作製プロセスを適用することで、再現性が極めて良い吸着特性を得ることができた。結果、グラフェンへのタンパク質吸着は電荷移動型であることが判明し、タンパク質を構成するアミノ酸によって吸着特性が決まることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果により、これまでグラフェンを用いたバイオセンサにおける再現性の問題は飛躍的に改善されたと言える。計画段階で提案したとおりセンサ材料として用いる場合は、グラフェンの単結晶性が非常に重要であり、またレジストフリーなデバイスプロセスのような、清浄な表面を維持できるようにすることも重要であることが分かった。また、最大の結果としてグラフェンとタンパク質との吸着特性は単純な電荷移動ではなく、電子がグラフェンに移動する電子移動が支配的であることが分かったことである。これにより非特異吸着による影響を評価することが可能になった。

さらに抗体修飾デバイスによりデバイ長の外側にある抗原の検出に成功した。

研究成果の概要(英文)：Protein and amino acids adsorption characteristics using single-crystal, epitaxial graphene film on SiC substrate with large area. The device fabrication processes without electron and photo resist were carried out to realize the polymer-free graphene FET devices. The transport characteristics were shifted in the negative direction by various protein introductions. The shift direction was independent on the proteins' isoelectric point, charge type and amount, indicating that the origin of the adsorption characteristics was the charge transfer between proteins and graphene film. Moreover, we investigated amino acids, which is the building blocks of proteins, adsorption characteristics. Although many amino acids showed electron doping adsorption characteristics like proteins, only the glycine showed charge type dependence of the transfer characteristics.

研究分野：半導体工学

キーワード：グラフェン バイオセンサ エピタキシャル 単結晶

1. 研究開始当初の背景

本研究を開始当時、グラフェンを用いたバイオデバイス研究は年 800 件程度の論文が発表されていることが示しているように、非常に熱心に研究がなされていた。しかしながら、色々な生体分子・イオン・ウイルスを検出可能である、と述べているが、結果に一貫性が見られないこと、すなわち、再現性が乏しいことが大きな問題であった。本研究課題代表者は、これらはグラフェンの多結晶性・結晶粒界・グラフェン上のポリマー残渣の影響が大きいのではないかと考え、グラフェンの本質的なセンサ特性が重要であるとして、本研究を提案した。

2. 研究の目的

本研究の目的はグラフェンの本質的な吸着特性、センシング特性を評価すること、さらにそれを受けて本来検出できないはずであるデバイ遮蔽長の影響外にあるターゲットを検出できるデバイスの試作である。

3. 研究の方法

単結晶・大面積をもつ SiC 基板上的エピタキシャルグラフェンを用いてデバイスの作製を行う。この際、電子線レジストやフォトレジストを用いないレジストフリーなプロセスでデバイス作製を行い、エピタキシャルグラフェン上にポリマー残渣が残らないようにする。このような清浄表面を持つデバイスを用いて、様々なタンパク質を様々な緩衝液で pH、濃度を变化させ、タンパク質の持つ電荷の符号、電荷量を変化させて吸着特性を得る。また、複数の人間により同様の実験を行い、実験結果の再現性を評価する。

次いで、溶液ゲートグラフェン FET においてゲート容量の測定を溶液の濃度を变化させて行う。これによりエピタキシャルグラフェンの量子容量が全ゲート容量に対してどのくらいの影響をもつのかを確認する。得られた結果から実効的な遮蔽長を計算し、これまでは検出できないとされてきたデバイ長の外側にあるターゲット分子の検出を行う。

4. 研究成果

SiC 基板上的エピタキシャルグラフェンを用いてレジストフリープロセスにてホールバーを形成した。また以下のタンパク質溶液を濃度を变化させて作製した。牛血清アルブミン(BSA)は pH 4.5, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 の溶液を、キモトリプシン(CHT)は pH 6.8, 9.0 の溶液を、ヘモグロビン(Hb)は pH 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 の溶液を、インターメディリシン(ILY)は pH 6.5, 7.0, 8.0 の溶液を、シトクロム C(CytC)は pH 7.0 の溶液を調整した。用いたタンパク質の等電点(pI)は BSA, Hb, CHT, ILY, CytC がそれぞれ 5.3, 6.8, 8.8, 9.8, 9.9 である。すなわち等電点の異なるタンパク質を上記にあるような様々な pH 溶液を調整することで、様々な帯電状態にして測定を行った。BSA, Hb, CHT については正に帯電したものと負に帯電したものを用意し、ILY と CytC に関しては等電点が大きいため正に帯電したものののみ評価した。

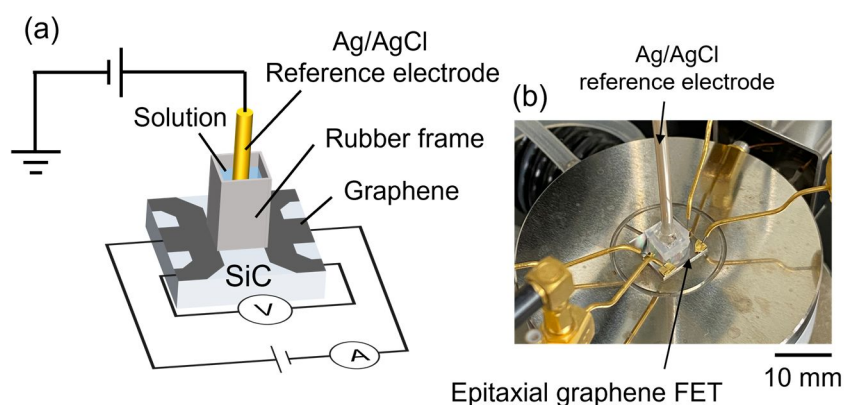


Fig. 1: 実験系の模式図と実験時の写真

SiC 基板上エピタキシャルグラフェンをステンシルマスクリソグラフィにより 6 端子ホールバー状に形成した。本研究ではレジスト膜の残渣に代表されるポリマーの残渣をグラフェン状に残さないために、デバイスはすべて PET フィルムによるステンシルマスクを用いてデバイス作製を行っている。このグラフェンデバイスに Fig. 1 のように 4 端子測定を行うことでコンタクト抵抗の影響を無視して、グラフェンそのものの抵抗値の測定を行っている。

まずは SiC 基板上エピタキシャルグラフェンを用いた溶液ゲート FET デバイスにおけるドレイン電流のドリフト現象に関して調べた。これまで剥離法や CVD 法によるグラフェンでは、何もなくてもドレイン電流のシフトが観測されており、ドリフト現象として問題となっていた。この現象はセンサ特性としての伝達特性シフトにノイズとして加わるため、センサ特性の信頼性を損ねている。このドリフト現象はグラフェン

上の欠陥・転移などへの吸着、ポリマー残渣や基板の影響などが原因ではないかと考えられているが、この現象のため正確な吸着特性を得ることが難しくなっている。よって、単結晶である SiC 基板上エピタキシャルグラフェンデバイスのドリフト特性を評価することは非常に重要になる。

Fig. 2 に 10 mM ホウ酸緩衝液中における溶液ゲート型 SiC 基板上エピタキシャルグラフェンデバイスの伝達特性(ドレイン電流 - ゲート電圧特性)の時間依存性を示す。実験は溶液に浸した状態で何も溶液に加えずに伝達特性を一定時間ごとに測定した。図よりおおよそ -0.35 V 付近に Dirac 点と呼ばれる電荷中性点を示す電流の極小値が現れている。この Dirac 点は時間経過とともに伝達特性は電流が増える方向へのシフトが観測されたが、ゲート電圧方向のシフトはほとんど観測されなかった(Fig. 2 挿入図)。ゲート電圧方向のシフトはグラフェンにドーピングが行われたことを意味し、センサ特性の評価で用いられる。このようなゲート電圧方向のシフトがほぼないという結果は他の緩衝液中でも観測され、40 分程度でのゲート電圧方向へのシフト誤差は ± 0.01 V という小さな値であることが分かった。これは SiC 基板上エピタキシャルグラフェンでは単結晶性であるが故にイオンの吸着がなく、ドリフト特性が小さいことが分かった。この結果は SiC 基板上エピタキシャルグラフェンを用いたデバイスにおいて、ゲート電圧方向のシフトは吸着した物質によるものであると考えられる。また、電流方向のシフトに関しては試料によっては減少する場合もあり、解明の必要があると考えられるため、今後の研究が期待される。

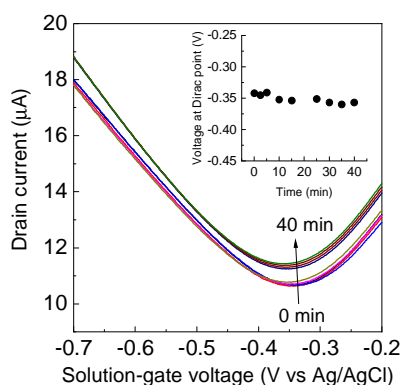


Fig. 2: SiC 基板上エピタキシャルグラフェン FET の溶液ゲート動作ドリフト特性

Fig. 3 に正または負に帯電したタンパク質吸着特性の濃度変化を測定したものの内、代表的な伝達特性を示す。この実験では以前に測定したタンパク質のメモリ効果が影響を与えるのを避けるため、1 測定毎に違うデバイスを使用している。また、複数人間がデバイス作製と測定を行い、同じ実験を複数解することで再現性が得られるのかも確認している。Fig. 3 より伝達特性はタンパク質吸着によってゲート電圧の負方向にシフトしていることが分かる。この結果は別の人間が同じ測定しても再現することから非常に再現性が高いことが分かった。

さらに、等電点に近い pH における溶液においても、Fig. 3 と同様のシフトが得られることも実験的に判明した(Fig. 4)。このことも pH による帯電がシフトに影響を与えるものではないことが示されている。

この結果がタンパク質吸着によるものかを調べるために、シフト量の添加タンパク質濃度依存性を調べた。Fig. 5 は横軸にタンパク質濃度、縦軸にシフト量をプロットしたものを示す。伝達特性のシフト量は添加したタンパク質濃度に対して当初大きく動き、徐々に飽和していく様子が得られた。これらの特性に対して Langmuir の吸着等温式を適用すると、図中の破線で表されるように、実験結果によく沿うことから、これらのシフト特性はタンパク質 - グラフェンの吸着特性によるものと分かる。さらにこのゲート電圧負方向へのシフトはタンパク質の持つ等電点、溶液の pH に関わらず、すなわち、タンパク質の帯電状態(符号・電荷量)に依存せずに観測されることが分かった。これはこれまでに報告されている、タンパク質の帯電状態の逆符号の電荷がグラフェン誘起される静電界効果や、タンパク質の帯電状態と同符号の電荷がグラフェンに誘起される電荷移動効果では説明できない。本研究により、本質的なタンパク質 - グラフェンの吸着特性は、タンパク質からグラフェンへの電子移動であることが実験的に示された。

このような帯電に依存しないことを示すために、Langmuir の吸着等温式で得られるパラメータである解離定数(K_D)を用いて評価した。 K_D は吸着被覆率が 50% となるときに濃度を示す値であり、センサとしては最も高い感度を示す濃度を表すものである。この K_D におけるシフト量を各タンパク質吸着実験の結果から Langmuir の吸着等温式のフィッティング結果から得られたシフト量を、各タンパク質の等電点に対してプロットしたものを Fig. 6 に示す。図より被覆率 50% の時のシフト量は、様々な pH で入っても、エラーバーが示すように誤差は非常に小さいことから、等電点に関係なくほぼ一定であった。すなわち、タンパク質の種類で決まっているわけではないことを示している。

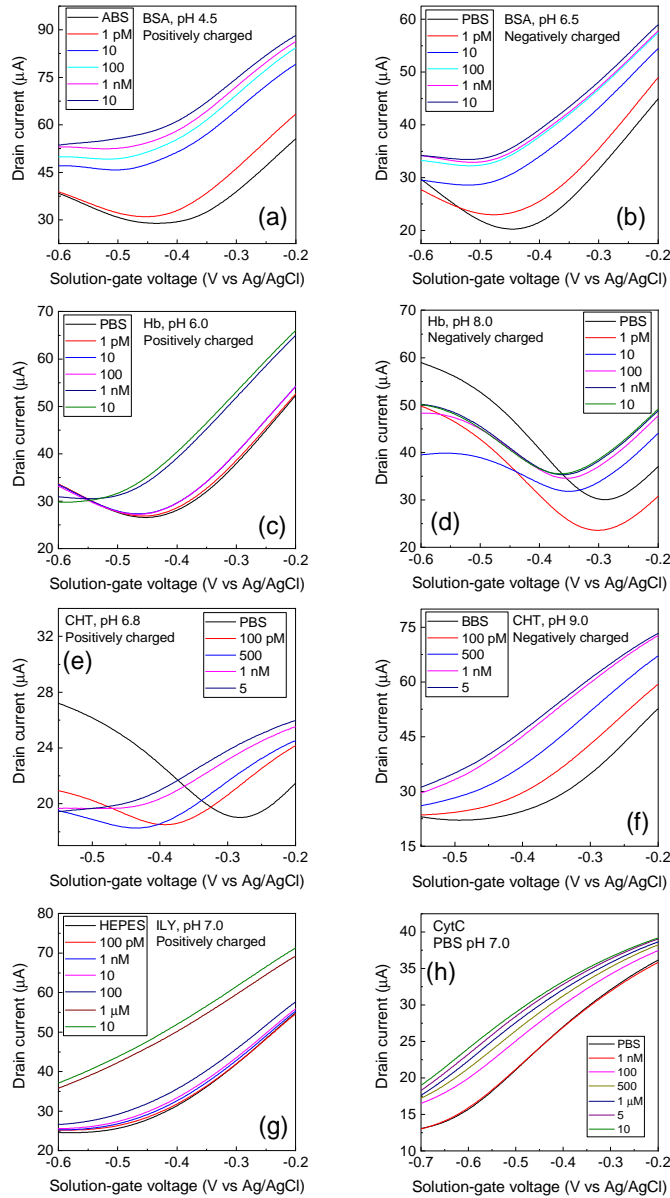


Fig. 3: エピタキシャルグラフェン FET における伝達特性のタンパク質濃度依存性

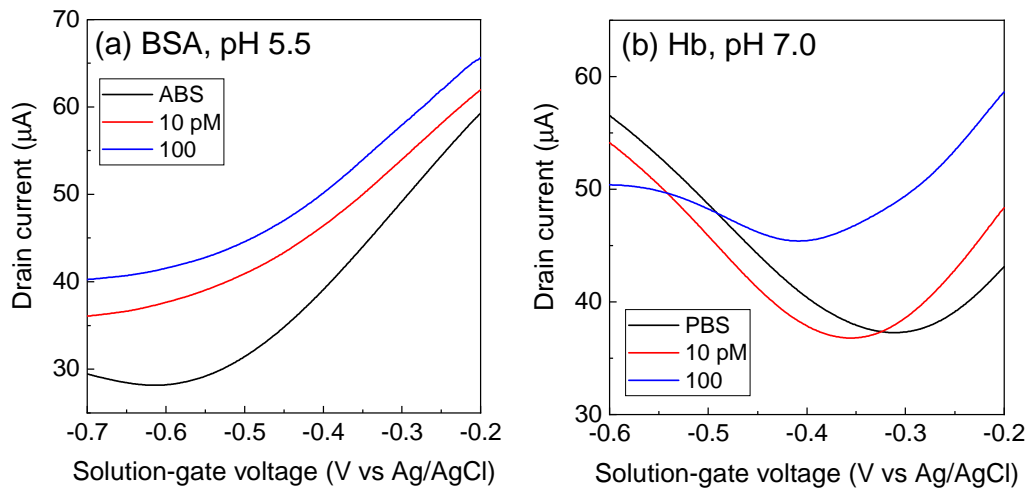


Fig. 4: 等電点付近の pH におけるエピタキシャルグラフェン FET における伝達特性

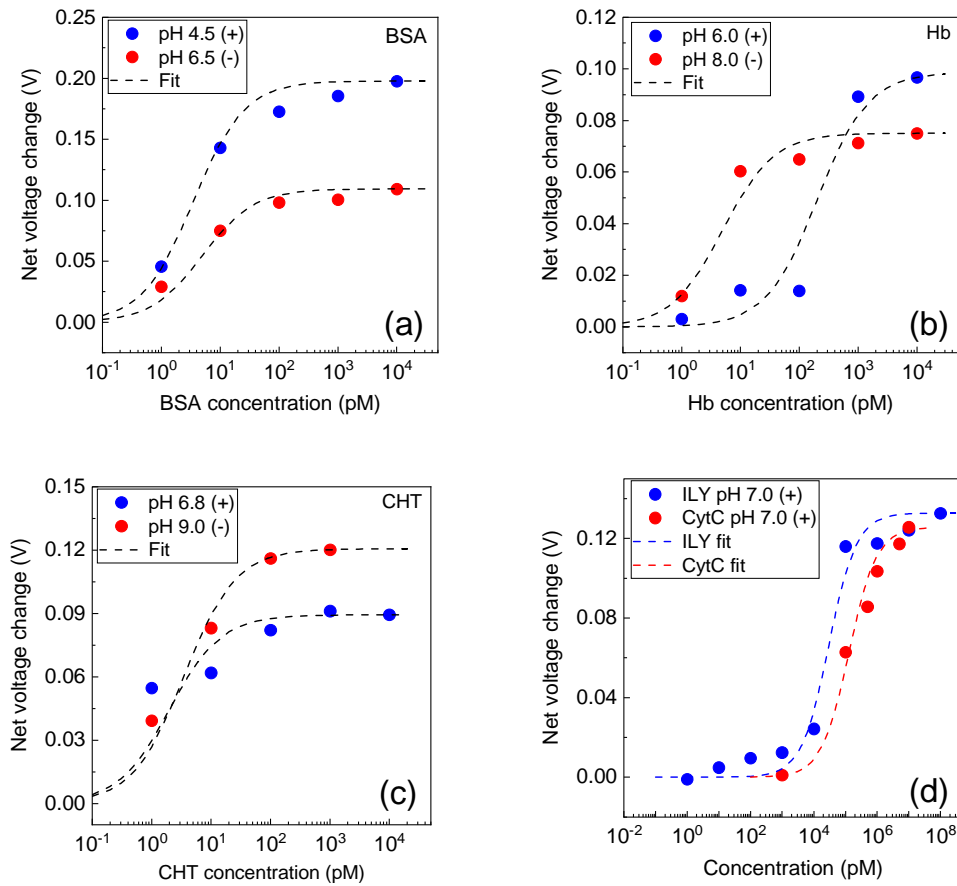


Fig. 5: 伝達特性シフト量の各タンパク質濃度依存性。破線は Langmuir の吸着等温式によるフィッティング。

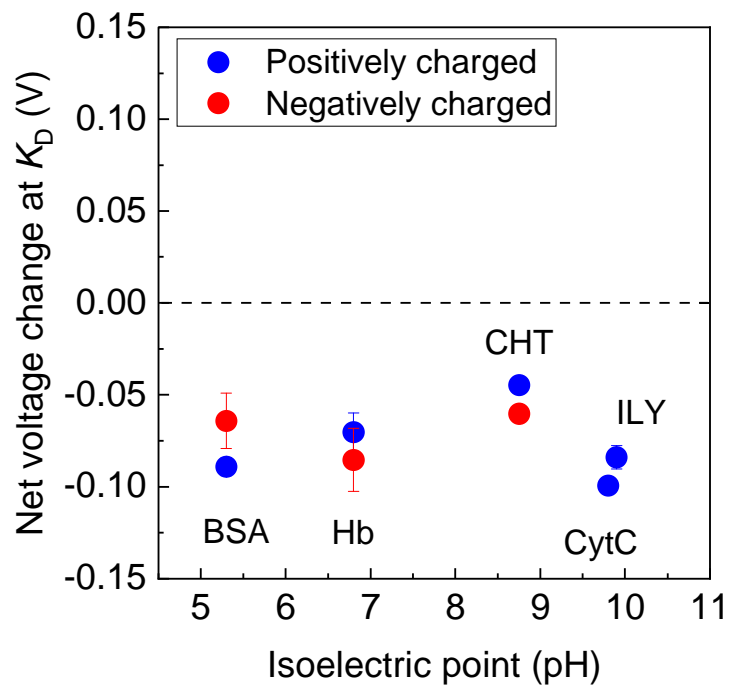


Fig. 6: 解離定数に相当する濃度に対応する伝達特性のシフト量

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Nakagawa Yoshinori、Okauchi Shigeki、Sano Masahiko、Mukai Takashi、Ohno Yasuhide、Nagase Masao	4. 巻 61
2. 論文標題 Graphene/AlGaN Schottky barrier photodiodes and its application for array devices	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SD1013 ~ SD1013
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ac6132	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 -

1. 著者名 Kataoka Taichi、Fukunaga Fumiya、Murakami Naruse、Sugiyama Yoshiki、Ohno Yasuhide、Nagase Masao	4. 巻 61
2. 論文標題 Far-infrared emission from graphene on SiC by current injection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SD1019 ~ SD1019
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ac5423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Minami Tomoki、Ochi Shuta、Nakai Hiroki、Kinoshita Tomohiro、Ohno Yasuhide、Nagase Masao	4. 巻 11
2. 論文標題 Thermal desorption of structured water layer on epitaxial graphene	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 AIP Advances	6. 最初と最後の頁 125012 ~ 125012
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/5.0075191	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakai Hiroki、Akiyama Daiu、Taniguchi Yoshiaki、Kishinobu Iori、Wariishi Hiromichi、Ohno Yasuhide、Nagase Masao、Ikeda Takuya、Tabata Atsushi、Nagamune Hideaki	4. 巻 130
2. 論文標題 Charge-independent protein adsorption characteristics of epitaxial graphene field-effect transistor on SiC substrate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 074502 ~ 074502
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/5.0054688	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Murakami N., Sugiyama Y., Ohno Y., Nagase M.	4. 巻 60
2. 論文標題 Blackbody-like infrared radiation in stacked graphene P-N junction diode	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SCCD01 ~ SCCD01
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1347-4065/abe208	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Yoshiaki, Miki Tsubasa, Ohno Yasuhide, Nagase Masao, Arakawa Yukihiro, Imada Yasushi, Minagawa Keiji, Yasuzawa Mikito	4. 巻 58
2. 論文標題 Suppression of protein adsorption on a graphene surface by phosphorylcholine functionalization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 055001 ~ 055001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/1347-4065/ab0b37	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi Yoshiaki, Miki Tsubasa, Ohno Yasuhide, Nagase Masao, Arakawa Yukihiro, Yasuzawa Mikito	4. 巻 58
2. 論文標題 Observation of the interaction between avidin and iminobiotin using a graphene FET on a SiC substrate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SDDD02 ~ SDDD02
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/1347-4065/ab0544	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kujime Takaya, Taniguchi Yoshiaki, Akiyama Daiu, Kawamura Yusuke, Kanai Yasushi, Matsumoto Kazuhiko, Ohno Yasuhide, Nagase Masao	4. 巻 257
2. 論文標題 High Stability of Epitaxial Graphene on a SiC Substrate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 physica status solidi (b)	6. 最初と最後の頁 1900357 ~ 1900357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pssb.201900357	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18件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 福永 郁也, 村上 成汐, 大井 基暉, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 グラフェン積層接合における電流スイッチング
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中野 泰輔, 中村 俊輔, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 エピタキシャルグラフェン上構造水層のトンネル電流解析
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新免 歩, 木下 智裕, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 SiC上グラフェンの液滴発電における異方性
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kataoka Taichi, Fukunaga Fumiya, Murakami Naruse, Sugiyama Yoshiki, Yasuhide Ohno, Masao Nagase
2. 発表標題 Far-infrared emission from graphene on SiC by current injection
3. 学会等名 34th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片岡 大治, 杉山 良輝, 村上 成汐, 福永 郁也, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 SiC 上グラフェンへの電流注入による赤外線放射の観測
3. 学会等名 第82回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南 朋貴, 越智 柊太, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 SiC上グラフェンの水脱離によるシート抵抗変化
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakai Hiroki, Akiyama Daiu, Taniguchi Yoshiaki, Kishinobu Iori, Ikeda Takuya, Atsushi Tabata, Hideaki Nagamune, Yasuhide Ohno, Masao Nagase
2. 発表標題 Protein detection by electron donor using epitaxial graphene film on SiC substrate
3. 学会等名 33rd International Microprocesses and Nanotechnology Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Murakami Naruse, Sugiyama Yoshiki, Yasuhide Ohno, Masao Nagase
2. 発表標題 Blackbody-like infrared radiation in stacked graphene P-N junction diode
3. 学会等名 33rd International Microprocesses and Nanotechnology Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下 智裕, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 液滴による電位差発生現象におけるパツファ層の影響
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口 嘉昭, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 液浸ラマン分光法を用いた SiC 上グラフェンのタンパク質吸着特性評価
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaya Kujime, Yoshiaki Taniguchi, Daiu Akiyama, Yusuke Kawamura, Yasuhide Ohno, Masao Nagase
2. 発表標題 High stability of the epitaxial graphene film on SiC substrate
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Compound Semiconductor (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuhide Ohno, Takanori Mitsuno, Yoshiaki Taniguchi, and Masao Nagase
2. 発表標題 1-aminopyrene-modified epitaxial graphene device for pH sensors
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Compound Semiconductor (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口 嘉昭, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 ホール効果測定によるSiC上グラフェンのタンパク質吸着特性評価
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山 良輝, 都 継瑤, 久次米 孝哉, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 SiC上グラフェンの赤外線放射特性の観測
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 俊輔, 都 継瑤, 葛尾 理樹, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 エピタキシャルグラフェン上構造水層の電子輸送特性
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大野 恭秀, 川越 悠斗, 谷口 嘉昭, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 溶液ゲートグラフェン FET における電気二重層の役割
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷口 嘉昭, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 SiC 上グラフェン FET のタンパク質吸着特性とキャリア伝導
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上 成汐, 杉山 良輝, 田原 雅章, 大野 恭秀, 永瀬 雅夫
2. 発表標題 積層グラフェン p-n 接合の赤外線放射特性
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

〔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	永瀬 雅夫 (NAGASE Masao) (20393762)	徳島大学・ポストLEDフォトンクス研究所・教授 (16101)	
研究分担者	金井 康 (KANAI Yasushi) (30721310)	大阪大学・産業科学研究所・助教 (14401)	
研究分担者	前橋 兼三 (MAEHASHI Kenzo) (40229323)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (12605)	

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
---------	---------