

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：13904

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03251

研究課題名(和文) 減圧ドライ転写法によるグラフェン共振器を用いた超高感度化学センサ

研究課題名(英文) A graphene resonator by low-pressure dry transfer technique for highly sensitive chemical sensor

研究代表者

高橋 一浩 (TAKAHASHI, Kazuhiro)

豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90549346

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体分子や化学物質の超高感度検出を目指し、架橋グラフェンを利用したMEMSセンサの開発を行った。キャビティを持つシリコン基板上にCVDグラフェンを転写する工程を減圧環境で行う技術を開発し、キャビティを封止した架橋グラフェン上に溶液処理によるレセプター修飾を可能にした。これによって架橋グラフェン上で初めて選択的な分子検出を実現し、濃度検出下限150 zM,質量検出下限2.01 zg/Hzを達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

提案するMEMS型のセンサは、従来の標識法を用いた分子検出技術とは異なり、分子サイズの大きいバイオマーカーを複数種類並列処理を行うことができ、濃度検出下限も従来技術を1桁上回る特性が得られた。また、吸着分子量を定量するための質量測定を行い、質量検出下限は従来比200倍を達成した。さらに、小型で携帯可能なセンサシステムを目指し、半導体チップ上での検出に向けて、CMOS検出回路との一体化の見通しが得られた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have developed a suspended graphene-based MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) sensor for ultra-sensitive detection of biomolecules and chemical substances. We developed a low pressure dry transfer technique of CVD (Chemical Vapor Deposition) graphene onto a silicon substrate with cavities, enabling receptor modification on the suspended graphene with the sealed cavity by wet treatment. As a result, we demonstrated selective molecular detection for the first time on the suspended graphene, achieving a concentration detection limit of 150 zM and mass detection limit of 2.01 zg/Hz.

研究分野：マイクロマシン工学

キーワード：グラフェン 転写技術 MEMS共振器 化学センサ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

疾患の早期診断や治療の効果の判定などの用途に向けて、低濃度の揮発性有機化合物(VOC)や、病気に由来して増加するバイオマーカーと呼ばれる生体分子を高感度に検出できるセンサが求められている。こうした目的に向けて近年、抗原抗体反応のような生体機能を利用したバイオセンサの研究が進められている。極低濃度の分子検出手法として、現在最も優れた検出下限を示す技術として、Digital ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)が実用化されている[Lab Chip12, 4986 (2012)]。この測定技術では検出下限が 2 aM と極めて低濃度の分子検出が可能であるが、蛍光標識を利用した手法のため、複数種類のマーカーの同時検出は原理的に困難である。

センサ素子を微細化し、アレイ化が可能な技術として、吸着分子の電荷を検出する ISFET (Ion sensitive field effect transistor)がある[Biosens. Bioelectron. 20, 69 (2004)]。特に、グラフェンは非常に高い電子移動度を示し、比表面積が大きいことから、FET 型バイオセンサのチャンネル材料として応用が検討されている[J. Am. Chem. Soc. 132, 18012 (2010)]。しかし、電荷を検出する ISFET 型センサでは測定範囲を制限するデバイ遮蔽の問題があり、生理的な塩濃度下では検出対象の生体高分子がデバイ長の外側でレセプターに吸着する配置をとるため、検出が困難であった[Biosens. Bioelectron. 22, 1311 (2007)]。したがって、10 nm 程度の比較的大きいサイズを持つタンパク質を検出する場合には、センシングエリアを基板から自立させ、微小構造体と吸着分子との相互作用を機械量に置き換えて信号出力する MEMS 型のバイオセンサが有効である。MEMS 型のバイオセンサでは、吸着分子間の反発力を可動膜へ応力として伝え、変形量を検出する表面応力センサ[Science 288, 316 (2000)]と振動の周波数計測から質量を検出する共振センサがある[Sens. Actuat. B 160, 1120 (2011)]。この MEMS 型バイオセンサにおいては、可動膜を薄膜化することにより、表面応力センシングでは膜の変形量が大きくなり、質量センシングでは質量感度が向上する。したがって、どちらの場合でも薄膜化は有効とされ、グラフェンの適用による高感度化が期待できる。基板上に架橋したグラフェンを用いたセンサの先行研究として、二酸化炭素 1 分子を架橋グラフェン上で検出した報告がされているが[Nano Lett. 15, 8176 (2015)]、このセンサは分子が架橋グラフェン上に物理吸着した際の抵抗率変化を測定しており、検出対象の分子を選択的に検出することが困難であった。

2. 研究の目的

本研究では、グラフェン上にレセプター修飾を行うことで高感度に選択的分子検出が行える MEMS センサ実現のため、キャビティ封止構造を持つ架橋グラフェンの作製を行った。CVD 成長した単層グラフェンを、キャビティを持つシリコン基板上に転写する工程を減圧環境で行うことによってキャビティ封止型の架橋グラフェンを形成し、溶液処理によるレセプター修飾を可能にする。また、架橋グラフェンへのひずみ印加を行い、共振特性 (fQ 積) の向上を目指す。さらに、グラフェン MEMS センサを CMOS 回路上に集積化することにより、チップ上信号処理を行うセンサシステムを検討する。以上の課題遂行によって 1 zg/Hz の質量感度をもつ MEMS センサを実現する。

3. 研究の方法

3. 1 CVD グラフェンの減圧ドライ転写方法

単層のグラフェンシートは触媒の銅箔上に成長させるため、キャビティを形成したシリコン基板表面に転写接着させつつ、キャビティ下部には貼りつく不良が発生しない転写技術の開発が求められる。本研究では減圧環境でグラフェンの転写を行うことにより転写時の接着力が向上する減圧ドライ転写技術の開発を行った。銅箔上の単層グラフェン上に PMMA (ポリメタク

リル酸メチル) をスピコートし、PDMS (ポリジメチルシロキサン) シートを PMMA の上部から圧着することにより PMMA/グラフェン/銅箔シートを支持し、FeCl₃ 液により銅箔の除去を行う。銅を全て除去した後、あらかじめ反応性イオンエッチングにより形成したキャビティをもつ SiO₂/Si 基板上に接着する。その後、チャンバ内を減圧した環境中において、PMMA のガラス転移温度以上の温度で基板を加熱する。この熱処理により PMMA は流動性を有するため、接着層の SiO₂ 表面のナノレベルの凹凸に PMMA/グラフェンが密着するようになり、結果としてグラフェン/基板間の接着力が向上する。また、転写環境を減圧していることでグラフェン/基板間に存在した空気を脱気でき、さらに PMMA の転移温度が下がり同温度下での流動性が上がるため、大気圧下で行う転写に比べて密着性は向上する。有機洗浄により PMMA を除去し、超臨界乾燥装置を用いてチップを乾燥させ、デバイスは完成となる。

3. 2 測定方法

(1) 表面応力計測

架橋構造上に分子を吸着させると、吸着分子同士の静電反発力により可動膜への表面応力の変化と、膜の形状変化が発生する。この原理を用いた表面応力センシングでは、架橋グラフェンの形状測定により非標識バイオセンシングを行うことができる。可動膜表面の荷電状態が変化すると、電荷をもっている吸着分子や膜表面の官能基等が反発する力が変化し、可動膜に対しては表面応力として力が伝わることによって膜の変形が発生する。表面応力計測を利用したセンサは、液中における分子吸着を非標識かつリアルタイムに評価することが可能である。表面応力センサの検出感度は、表面応力に対して大きな変形が得られる素子ほど高いといえる。表面応力に対する可動膜の変形の大きさは以下の式によって表される。

$$\Delta z \propto \frac{D^2(1-\nu)}{Et^2} \Delta \sigma \quad (1)$$

ここで z が膜の変形量、 D は可動膜の直径、 ν はポアソン比、 E はヤング率、 t は膜厚、 σ は表面応力である。式(1)より、表面応力感度は膜厚の二乗に反比例して向上するため、単位面積当たりの検出感度に換算すると、架橋グラフェンを用いたセンサは従来比 1000 倍以上に表面応力感度が向上する見込みが得られる。

(2) 固有振動数計測

表面応力測定では、架橋グラフェンの静的な変形量を計測することにより吸着分子同士の相互作用を捉えていたが、同じ構造の素子において架橋構造の固有振動数変化を測定することにより吸着分子の質量を定量することができる。物体の固有振動数を測定して質量を定量する計測方法は、振動子が軽量であるほど高い質量感度が得られることから、この手法においてもグラフェンの使用によりセンサの高感度化が期待できる。自立した二次元材料の固有振動数を高周波で測定可能な計測手法としてレーザー励起による振動計測法[*Sci. Adv.* 4, eaao6653 (2018)]が用いられている。加振用のレーザー光に強度変調をかけて照射すると、固有振動数の周波数で信号を入力したときだけ架橋グラフェンの共振振動が発生する。共振振動発生時に架橋グラフェンと基板との間で形成される干渉特性はグラフェンの振動に由来してピーク位置が振動し、固有振動数と一致する干渉ピークの変動が発生する。したがって、干渉特性が変動している状態でプローブレーザーを照射すると反射光強度変化が得られるため、フォトディテクタの出力を周波数測定することにより架橋グラフェンの固有振動数を取得することができる。

4. 研究成果

4. 1 キャビティ封止架橋グラフェンの作製結果

図1に減圧ドライ転写法により作製したグラフェンによるキャビティ封止型ドラム構造の電子顕微鏡写真を示す。フィールドの一部にグラフェン膜の欠陥が見られるもののキャビティ上にグラフェンの自立構造を確認することができた。直径 1.2~4.5 μm のサンプルにおいて、外気 (SEM チャンバ) 圧力 ($\sim 10^{-5}$ Pa) とキャビティ内圧力 ($\sim 10^3$ Pa) との圧力差によりグラフェンが上方方向に膨らんでいる様子が確認できた。この結果は転写グラフェンによりキャビティ内が封止されていることを示唆する結果である。また、クラック込みの架橋グラフェンを含めると、最大直径は 50 μm まで作製できていることが確認できた。

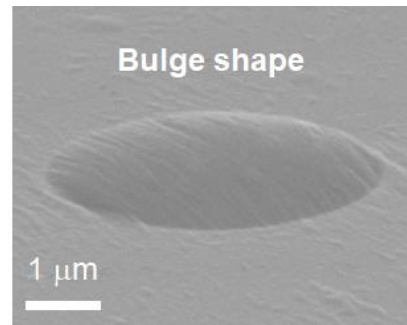


図1 キャビティ封止架橋グラフェン

架橋グラフェンの質を確認するために、グラフェンをラマン分光法により測定した。図2に直径 6 μm の架橋グラフェンのラマンスペクトルを示す。2D/G ピーク比は 1.79 を示し、D/G ピークは 0.064 であった。グラフェンは単層の場合、G ピークに対して 2D ピークが高く観測されることが知られているため、得られた架橋グラフェンが単層であることを示している。これらの値は先行研究と同程度であり、比較的欠陥の少ない架橋グラフェンであるといえる。

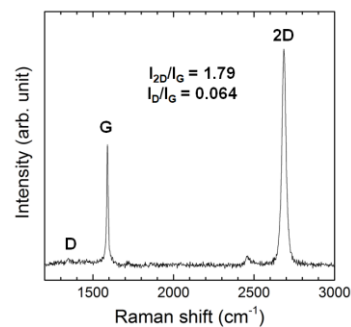


図2 架橋グラフェンのラマン分光法

4. 2 表面応力測定結果

生体分子が架橋グラフェン上に特異吸着したときの表面応力応答を評価するため、血液中にも多く存在するタンパク質であるヒト血清アルブミン抗原(HSA)をモデル分子として分子検出実験を行った。HSA を選択的に検出するためには、抗体を使用して抗原抗体反応の特異性を利用するため、グラフェン表面に抗体を固定化するための架橋剤として 1-ピレンブタン酸スクシンイミジルエステル(PBSE)を用いて抗体のアミノ基と反応させた。終濃度 1 fg/mL となるように HSA 抗原溶液を滴下して、抗原抗体反応による分子検出実験を行った。その結果、HSA 抗原滴下後、時間が経過するにつれて干渉ピークが長波長側へ約 13 nm シフトし、その後飽和する様子が得られた (図3)。一方で、ネガティブコントロールとして滴下した BSA のスペクトルシフト量は抗原抗体反応と比較し小さい値であったことから選択検出が行えていると判断できた。また HSA の濃度を下げていくとピークシフト量が小さくなっていく傾向が得られた。ピークシフト量の減少は濃度が薄くなったことで吸着する分子数が減少した事によると考えられる。抗原 10 ag/mL では物理応答よりも大きい 7.6 nm のピークシフトが得られていることから、この濃度が検出下限と判断した。HSA の分子量は約 66kDa であるため、モル濃度に換算すると 150 zM に相当する。これは Digital ELISA の検出下限 2 aM よりも 10 倍程度優れた性能である。また、ここで得られた信号変化は光信号の検出を前提としているため、CMOS イメージセンサの回路を応用した検出回路の試作と動作確認をし、グラフェン MEMS セン

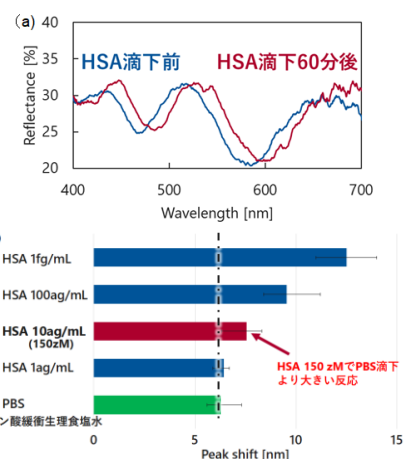


図3(a) 1 fg/mL HSA 抗原滴下前後のセンサの干渉スペクトル (b) 抗原濃度依存性

サによるオンチップ測定の見通しを得た。

4. 3 質量測定結果

分子の吸着量を定量するため、抗原抗体反応を利用してグラフェン上にターゲット分子を吸着させて架橋グラフェンの固有振動数測定を行った。共振測定の結果、分子修飾前の共振周波数が 8.60 MHz、PBSE と anti-HSA 抗体固定化後の共振周波数が 6.88 MHz、そして HSA 抗原吸着によって 5.54 MHz の共振周波数が得られ、分子が架橋グラフェン上に吸着するごとに共振周波数が低下する結果が得られた (図 4)。抗原抗体反応前後の共振周波数シフト(-1.34 MHz)から、可動膜に吸着した分子の質量を求めた。ここで、共振型質量センサに吸着した質量 Δm は次の式で求めることができる：

$$\Delta m = -2m \frac{\Delta f}{f_0} \quad (2)$$

Δf が測定で得られた周波数シフト、 f_0 が処理前の共振周波数である。 m は架橋されている部分のグラフェンの質量であり、今回の測定で用いた架橋グラフェンの質量は45.5 fgである。これらの値から吸着した質量は17.7 fgであることが分かった。この値から質量感度を算出すると13.2 zg/Hzとなり、従来のシリコン共振センサの質量感度(~0.5 ag/Hz)[Sci. Rep. 7, 4660 (2017)]より約38倍優れた感度を示唆する結果が得られた。以上より架橋グラフェン上に選択的に吸着した分子の質量測定を実現した。同

様にして直径を6.8 μm と4.6 μm の個体の測定を行ったところ、質量感度はそれぞれ、8.23 zg/Hz, 2.01 zg/Hzとなり、振動部の軽量化による高感度化が確認できた。この質量感度は小型化することにより向上するため、直径3 μm 程度で1 zg/Hzが実現できる見積もりが示された。

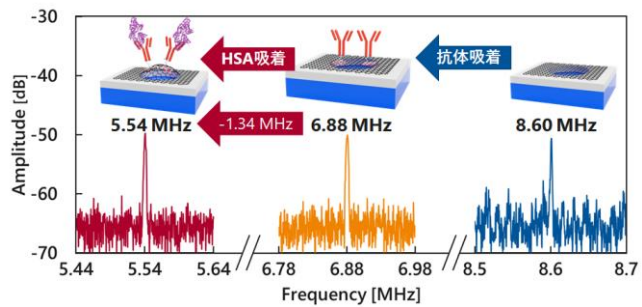


図4 分子修飾前後のグラフェン共振器の共振周波数

また、共振特性を向上させるための別の手段として、グラフェン共振センサへひずみを加えることによってセンサ感度、検出下限の向上が期待できる。ひずみを印加する構造においても架橋グラフェン上に分子修飾が可能ないように、キャビティが封止された架橋グラフェンの両端にレジストパターンを形成し、レジストの熱収縮によって共振特性の指標となる共振周波数と振動のQ値の積 (fQ積) の向上を検討した。グラフェン中に印加されたひずみはラマン分光特性における2D,Gピークのシフトによって評価できる。チップを150 $^{\circ}\text{C}$ で加熱後、ラマン分光測定を行った結果、Gピークが5 cm^{-1} , 2Dピークが9 cm^{-1} 程度低波数側へシフトする様子が確認された。この値は先行研究より、約0.3%のひずみ量であることが算出された。ひずみ印加時の共振特性への効果の評価するため、光励起による固有振動数測定を行った。その結果、ひずみ印加によって、共振周波数が7%,Q値が22%向上する結果が得られ (図5)、感度向上の見通しを得た。

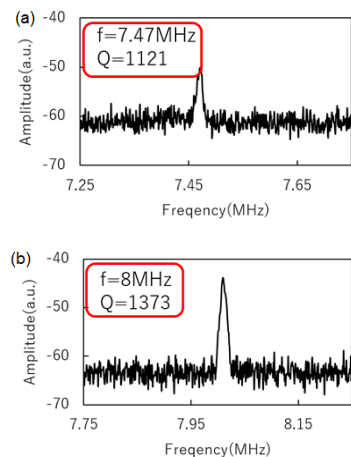


図5 ひずみ印加による f Q積の向上

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 K. Takahashi, H. Ishida, and K. Sawada	4. 巻 112
2. 論文標題 Vacuum-sealed microcavity formed from suspended graphene by using a low-pressure dry transfer technique	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physics Letters	6. 最初と最後の頁 41901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/1.5008595	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 S. Kidane, H. Ishida, K. Sawada, K. Takahashi	4. 巻 2
2. 論文標題 A suspended graphene-based optical interferometric surface stress sensor for selective biomolecular detection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale Advances	6. 最初と最後の頁 1431-1436
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/C9NA00788A	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 喜種慎, 石田隼斗, 澤田和明, 高橋一浩
2. 発表標題 減圧ドライ転写法によるサスペンデットグラフェンを用いたMEMSバイオセンサ
3. 学会等名 電子情報通信学会電子デバイス研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Kidane, H. Ishida, K. Sawada, and K. Takahashi
2. 発表標題 Evaluation of antigen-antibody reaction on suspended graphene by optical interferometry
3. 学会等名 Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Kidane, H. Ishida, K. Sawada, and K. Takahashi
2. 発表標題 Optical interferometry-based surface stress sensor using suspended graphene
3. 学会等名 2018 Int. Conf. on Optical MEMS an Nanophotonics 2018 (OMN 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 喜種慎, 石田隼人, 澤田和明, 高橋一浩
2. 発表標題 自立グラフェンを利用した光干渉型表面応力バイオセンサ
3. 学会等名 第35回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石田 隼斗, 岩田 達哉, 澤田 和明, 高橋 一浩
2. 発表標題 減圧ドライ転写技術を用いた真空キャビティ構造をもつグラフェン共振器の製作
3. 学会等名 第34回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Kidane, H. Ishida, K. Sawada, and K. Takahashi
2. 発表標題 Selective molecular detection on a suspended graphene developed by low-pressure dry transfer technique
3. 学会等名 The 30th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 喜種 慎、石田隼斗、澤田和明、高橋一浩
2. 発表標題 減圧ドライ転写法により作製したサスペンデッドグラフェン上での選択的分子検出
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 J. Uesaka, K. Go, S. Kidane, K. Sawada, K. Takahashi
2. 発表標題 Fabrication of tensile strain applying structure to suspended graphene for nanomechanical resonator with high fQ product
3. 学会等名 2019 International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 喜種 慎、澤田 和明、高橋 一浩
2. 発表標題 超高感度非標識生体分子計測に向けたグラフェン光干渉型表面応力センサ
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上坂 淳平、郷 幸佑、喜種 慎、澤田 和明、高橋 一浩
2. 発表標題 高FQ積を備えたナノメカニカル共振器に向けた架橋グラフェンへの引っ張り歪印加構造の作製
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋一浩、石田隼人、喜種慎、岩田達也、澤田和明
2. 発表標題 光励振法を用いたグラフェン共振器の固有振動数評価
3. 学会等名 第11回 集積化MEMSシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 喜種慎、澤田和明、高橋一浩
2. 発表標題 分子選択性を持つグラフェン共振センサによる高感度質量計測
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 上坂淳平、喜種慎、澤田和明、高橋一浩
2. 発表標題 ひずみ印加によるキャピティ封止型グラフェン共振器の共振特性向上
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〕

集積化バイオセンサ・MEMSグループホームページ
<http://int.ee.tut.ac.jp/bio/>

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