【論文】

スパッタ成膜 a-Si:H を用いたレーザー誘起誘電泳動による光 MEMS 拡散センサーの開発 Development of Micro Optical Diffusion Sensor utilizing Laser-Induced Dielectrophoresis with Sputtered a-Si:H

鎌田 慎* 山田 幹** 田口 良広*** 長坂 雄次***

Makoto Kamata, Kan Yamada, Yoshihiro Taguchi, and Yuji Nagasaka

本研究では微量な生体試料の拡散係数を高速に測定する MEMS デバイスを開発している。拡散現象を高速に検知するため、本測定法ではレーザー誘起誘電泳動を利用して前処理不要なマイクロスケール濃度分布形成を可能としている。レーザー誘起誘電泳動には励起光照射により導電率が上昇する光導電膜が必要であり、水素化アモルファスシリコンが用いられる。今回、反応性 RF マグネトロンスパッタ法により光導電膜を種々の条件で成膜し、提案するデバイスへの適用性を評価した。評価結果に基づき測定デバイスを作製し、拡散現象を検知した。これにより、スパッタ成膜 a-Si:H を用いた光 MEMS 拡散センサーの妥当性が確認されたので報告する。

In this study, micro optical diffusion sensor (MODS) is developed to measure the diffusion coefficient of biological sample such as protein with small sample volume in a short time. By utilizing the laser-induced dielectrophoresis (LIDEP), an additives-free and a high-speed sensing can be realized in the proposed method. The photoconductive layer is essential material for LIDEP, and the high-contrast photoconductivity change is required to form the concentration distribution of the biological sample using LIDEP. In this paper, a hydrogenated amorphous silicon (a-Si:H) is deposited as the photoconductive layer by a reactive RF magnetron sputtering method, which is a simple method compared with other technique such as a plasma-enhanced chemical vapor deposition. a-Si:H was deposited in several sputtering conditions and evaluated the applicability to the sensing device. A measurement device was fabricated, and the diffusion phenomenon of the lattice-shaped concentration distribution was detected by the device.

[**Keywords:** Diffusion coefficient, Laser-induced dielectrophoresis, MEMS, Photoconductive layer]

1. はじめに

タンパク質に代表される生体高分子における拡散係数測定は、生体内で起こる物質移動現象を解明し、生体工学から医療・創薬まで幅広い研究分野へ寄与すると考えられる。生体試料の拡散係数測定手法として、動的光散乱法[1] や Taylor 法[2], 位相シフト干渉計[3, 4] などが用いられ、高

精度な測定を実現している。

一方で Terazima ら[5-7] は過渡回折格子(TG) 法を用いて、ms オーダーで変化するタンパク質拡散係数の測定を行っている。試料の構造などを反映する拡散係数を高速にセンシングし、ms オーダーで起こるタンパク質の構造変化や分子の揺らぎを検知することで、生体分子が機能を発現するメカニズムの解明に寄与している。また、TG 法などを利用した拡散係数測定によって、薬剤-タンパク質間やタンパク質同士の相互作用の高効率なバイオセンシングを達成している[7, 8]。しかし、TG 法は励起光によって構造変化や反応が誘起される物質に限定され、反応性がない物質を用いる場合には前処理が必要である[7]。生体試料は周囲の温度や水素イオン濃度などの環境に影響を受けやすいため、短時間における環境変動を排除した測定が望まれるが、広範な試料に適用可能な手法は測定に min ~ h を要するという難点を抱えている。

* 慶應義塾大学大学院理工学研究科総合デザイン工学専攻, 〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1.

School of Integrated Design Engineering, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Yokohama 223-8522.

FAX: 045-566-1735 E-mail: kamata@naga.sd.keio.ac.jp

** 株式会社協同インターナショナル, 〒216-0033 川崎市宮前区宮崎 2-10-9.

Kyodo International, Inc., 2-10-9, Miyazaki, Kawasaki 216-0033.

*** 慶應義塾大学理工学部システムデザイン工学科, 〒223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1.

Department of System Design Engineering, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Yokohama 223-8522.

FAX: 045-566-1735 E-mail: tag@sd.keio.ac.jp

本研究ではレーザー誘起誘電泳動 (laser-induced dielectrophoresis: LIDEP) を用いた光 MEMS 拡散センサー (micro optical diffusion sensor: MODS) の開発を行っており、これまでに提案手法の妥当性が示されている[9, 10]。また、センサーの小型化に関する研究も行われている[11]。LIDEP は optoelectronic tweezers (OET) [12] を基にした微小粒子操作技術である。試料の限定や修飾などを必要とせず、印加電圧の周波数と励起光の照射パターンにより任意の濃度分布を形成できることから主に生体試料の操作や分離に用いられる。

LIDEP には励起光の照射により導電率が上昇する光導電膜が必要不可欠であり、プラズマ化学気相成長(PECVD)法により成膜された水素化アモルファスシリコン(a-Si:H)が用いられてきた[9-11]。本研究では、PECVD と比較して安全かつ簡易な反応性 RF マグネトロンスパッタ法を用いた a-Si:H の成膜を提案する。成膜温度や原料ガス混合比等の成膜条件から導電率特性を容易に変更可能である提案手法により LIDEP が誘起可能であれば、OET を用いた研究に対しても多大に寄与すると考えられる。本報では、複数の条件を用いて a-Si:H の成膜を行い、デバイス作製及び実験的検討により拡散係数センシングへの適用可能性を評価したので報告する。

2. 測定原理および測定装置

2. 1 レーザー誘起誘電泳動

本研究では拡散現象の高速検知を行うため、試料溶液へ LIDEP を適用することで、Fig. 1 に示すようなマイクロスケールの縞状濃度分布を形成する[9, 10]。

濃度分布形成のための駆動力となる誘電泳動力 (F_{DEP}) は非一様な電場 (E) と、それにより粒子に生じる電気双極子の相互作用によって誘起される。誘電率 ϵ_m の溶媒中にある半径 a の粒子に働く誘電泳動力は以下の式で表される。

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m a^3 \text{Re}[K^*(\omega)] \nabla E^2 \quad (1)$$

ここで、 $K^*(\omega)$ は Clausius-Mossotti 関数と呼ばれる印加電圧の角周波数 ω の関数であり、溶媒、溶質それぞれの複素誘電率によって決定され、 $-0.5 < \text{Re}[K^*(\omega)] < 1$ の値をとる。本測定法では $\text{Re}[K^*(\omega)] > 0$ となる条件を適用し、二乗

Fig. 1 Schematic image of measurement principle.

電界強度(E^2) が高い方へ粒子を駆動する[9-12]。

非一様な二乗電界強度分布を形成するため LIDEP では、励起光の照射によって暗導電率 (σ_d) から明導電率(σ_{ph}) へ導電率が上昇する光導電膜を利用する。本測定法では試料層内に明瞭な濃度分布を形成する必要があり、駆動に十分な誘電泳動力の誘起が必要である。そのため、濃度分布形成に十分な誘電泳動力を誘起可能な、高いコントラストの導電率変化(i.e. $\sigma_{ph}/\sigma_d \gg 1$) を有する光導電膜が必要とされる。

2. 2 縞状濃度分布の形成および拡散現象の検知

光導電膜に対して二光束干渉させた励起光を入射すると、励起光の強度に応じて導電率が上昇するため、励起光の干渉縞に従って仮想電極が形成される。さらに、透明電極間に交流電圧を印加すると試料層内に非一様な二乗電界強度分布が形成され、誘電泳動力により濃度振幅 Δc 、間隔 Λ の縞状濃度分布が形成される。濃度分布誘起を遮断すると、その後の濃度分布 $c(x, t)$ は、

$$c(x, t) = \Delta c \exp\left(-\frac{t}{\tau_d}\right) \cos\left(\frac{2\pi x}{\Lambda}\right) + c_0 \quad (2)$$

となり、縞状濃度分布は指数関数的に減衰し、初期濃度 c_0 に収束する。このときの拡散時定数 τ_d を用いると拡散係数 D は、

$$D = \frac{\Lambda^2}{\tau_d (2\pi)^2} \quad (3)$$

と表される。

縞状濃度分布に観察光を照射すると、濃度分布により形成される縞状屈折率分布が位相型回折格子の役割を果たし回折光が生じる。回折効率は屈折率振幅の 2 乗に比例するため、式(2) で表される拡散によって 1 次回折光の強度 I_1

は以下の式に従い減衰する.

$$I_1(t) \propto \exp\left(-\frac{2t}{\tau_D}\right) \quad (4)$$

1 次回折光強度の減衰を検知し, 算出した減衰時定数を式 (3) に代入することで拡散係数が算出される[9].

本測定法をタンパク質などの生体分子の拡散係数測定に適用することを考えると, その拡散係数は 10^{-10} m²/s 程度である[3] ことから $\lambda=5\text{ }\mu\text{m}$ に設定した場合, τ_D は ms オーダーとなり高速な検知が可能となる.

3. 反応性 RF マグネトロンスパッタ法を用いた光導電膜の成膜と評価

3. 1 光導電膜成膜方法

本研究では反応性 RF マグネトロンスパッタ法を用いた LIDEP 用 a-Si:H の成膜を提案する. 反応性 RF マグネトロンスパッタ法はターゲットとして Si, 原料ガスとして H₂ を混合した Ar ガスを用いることから, 成膜温度や圧力, スパッタ時の電力, 水素混合比などを変更することで, 光導電性や光学的特性など膜質を調節しながら a-Si:H を平易に成膜することが可能である.

本報では, 提案する成膜手法の妥当性を検証するために Table 1 に示す条件にて成膜を行った. 成膜時の圧力および RF 出力は RF マグネトロンスパッタ法で一般的に用いられる値を設定し, 温度を室温(r.t.), 150 °C, 200 °C と変化させて約 1 μm 成膜し, 評価した結果について報告する. Fig. 2 に各温度でスライドガラス上に成膜した a-Si:H を示す. 膜厚を触針式表面プロファイラーで測定したところ, それぞれ 0.91 μm (r.t.), 1.00 μm (150 °C), 0.95 μm (200 °C) であった. 色調に差があることから成膜温度により光学的特性が異なることがわかる.

Table 1 Depositing condition.

Pressure	Power	Source gas	Temperature
1.4 Pa	400 W	Ar+9% H ₂	r.t./ 150 °C/ 200 °C

Fig. 2 Image of deposited a-Si:H on slide glass.

① r.t. ② 150 °C ③ 200 °C

3. 2 光学的特性および膜質の評価

堆積した薄膜の構造特性を評価するために, レーザーラマン分光光度計を用いた測定を行った. 結果を Fig. 3 に示す. 480 cm⁻¹ 近傍のピークはアモルファス構造に由来する. 膜中に微結晶シリコンや結晶シリコンが存在する場合 500 cm⁻¹, 518 cm⁻¹ 近傍にもピークが現れるが[13], Fig. 3 から 480 cm⁻¹ 近傍のピークしか現れず, いずれの条件においてもアモルファス膜が成膜されていることが確認された.

また, 紫外可視分光光度計を用いて a-Si:H の透過率を測定した結果を Fig. 4 に示す. 測定原理の関係上, 観察波長を透過する必要がある. また, 明瞭な導電率分布を形成するためには励起波長に高い吸収性を持つ必要がある. 本測定法では観察光源として波長 635 nm, 二光束干渉させる励起光源として 532 nm のレーザーを利用する. Fig. 4 より成膜した光導電膜はいずれも観察波長で 50% 以上の透過性を有しており, 観察光透過性の条件を満たす. また, 励起波長について透過率および膜厚をもとに, 吸収係数 α を算出したところ, Table 2 の結果が得られた. これより, 200 °C で成膜した光導電膜において, 最も大きな導電率変化が

Fig. 3 Measurement result of Raman shift.

Fig. 4 Measurement result of transmittance.

Table 2 Depositing temperature and absorption coefficient α (wavelength: 532 nm).

Temperature	r.t.	150 °C	200 °C
$\alpha, \times 10^{-6} \text{ m}^{-1}$	1.4	1.8	2.2

期待されることが分かった。

3. 3 光導電率の評価

最も大きな導電率変化が期待される 200 °C で成膜した a-Si:H について、光導電率を評価するため、スライドガラスに成膜した a-Si:H の上面へ抵抗測定用の電極を形成した。Fig. 5 に示すように励起に用いる波長 532 nm のレーザー光を測定用電極へ照射し、励起光強度と抵抗値 R の関係を測定した。電極幅 w 、電極間距離 l および堆積した光導電膜の厚み d を用いて導電率 σ は、

$$\sigma = \frac{1}{R} \frac{l}{w \cdot d} \quad (5)$$

と表される。

測定用電極を形成するにあたり、電極形状を設計した。その際、測定部位で強度が一樣とみなせるよう励起光直径 (1.7 mm) に比べて電極間距離が十分に小さくなるよう設計した。電極形状を転写するためのステンシルマスクを作製し、a-Si:H にステンシルマスクを密着させた状態で高真空蒸着装置により Au を蒸着することで、測定用電極を形成した。Fig. 6 に実際に形成した電極の一例を示す。設計値で電極幅は 800 μm 、電極間距離は 50 μm であり、Fig. 6 より設計した通りに電極が形成されていることがわかる。電極形成後、導電性ペーストを用いて電極と高抵抗測定装置を接続し、測定した。

光導電率の測定結果を Fig. 7 に示し、Ohta らが OET に

Fig. 5 Evaluation method of photoconductivity.

Fig. 6 Deposited Au electrode for evaluation of photoconductivity.

Fig. 7 Measurement result of photoconductivity.

適用している PECVD 法成膜 a-Si:H の測定結果[12] を併せて示す。使用した高抵抗測定装置は 200 T Ω の入力インピーダンスを有することから、式(5) より $\sigma > 10^{-8} \text{ S/m}$ であれば測定可能であり、結果はその範囲に収まっている。反応性 RF マグネトロンスパッタ法により成膜した a-Si:H も励起光強度の増加に伴い、導電率が上昇する傾向が見られた。その入射光強度変化に対する導電率変化は PECVD 法により成膜されたものと同程度の変化を示し、安全で簡易な提案手法による LIDEP 誘起可能性が示唆された。反応性 RF マグネトロンスパッタ法により成膜した a-Si:H の本測定法への適用妥当性を確認するため、同成膜条件を用いて測定デバイスを作製した。

4. スパッタ成膜デバイスにおける拡散現象検知

4. 1 デバイスファブリケーション

拡散係数測定デバイスの作製にあたって、まず合成石英基板(0.5 mm) 上に反応性 RF マグネトロンスパッタにより透明電極としてスズドープ酸化インジウム(ITO, 200nm) を成膜し、その上へ 200 °C の条件を用いて a-Si:H (1 μm) を成膜した。さらに、スピコートにより厚膜用ネガ型フォトリソグレイ技術を用いて流路形状をパターンニングした。また、別の合成石英基板にサンドブラスト加工により試料封入用の貫通穴を作製し、ITO (200 nm) を同様に成膜した。各基板をダイシングソーにより 15 mm $\times$ 7.5 mm のチップに切り分け、サーマルボンディング(190 °C) でサンドウィッチ構造を形成した。試料溶液を流路へ封入する前に、試料一流路表面間の吸着を低減するために猪谷ら[10] と同様の表

Fig. 8 Figure of fabricated device and schematic image of cross section.

面改質を施し、流路表面を親水性に改質した。作製した測定デバイスおよびデバイスの構造断面を Fig. 8 に示す。

4. 2 拡散現象の検知

作製した誘電泳動セルを用いて、LIDEP による 1 次回折光の検知および拡散に伴う強度の減衰検知を行った。その際の光学系を Fig. 9 に示す。無偏光ビームスプリッター (NPBS1) で二分割された励起光は、光導電膜上で交差し干渉縞を形成する。干渉縞間隔をビームプロファイラーで観察したところ $\lambda = 9.5 \mu\text{m}$ であった。光導電膜にわずかに吸収される観察光による不用な誘電泳動誘起を避けるため、ファンクションジェネレーター (FG1) とシャッターを用いて、励起光の入射、交流電圧印加 (FG2) のタイミングに観察光の入射タイミングが重ならないよう制御し、実験した。測定時の励起光の強度、ビーム径ならびに印加電圧と濃度分布誘起時間を Table 3 に示す。

測定試料として、ポリスチレンビーズ水溶液 (ϕ 500 nm, 0.1 vol%) を用いた。半径 a の球状粒子の拡散係数は、溶媒の温度 T 、粘性率 η およびボルツマン定数 k_B を用いて以下の Stokes-Einstein の式により算出することができる。

$$D_{\text{Theory}} = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (6)$$

Fig. 9 Optical system to detect diffusion phenomena.

(DM: dichroic mirror, FG: function generator, L: lens, M: mirror, NPBS: non-polarized beam splitter, PBS: polarized beam splitter, PD: photo detector, $\lambda/2$: half-wave plate, $\lambda/4$: quarter-wave plate)

Table 3 Measurement condition.

Light intensity of excitation light for LIDEP	Beam radius of excitation light
1.0 mW	ϕ 1.7 mm
Applied voltage for DEP induction	Induction time of DEP force
10 V _{pp} , 10 kHz	8 s

Fig. 10 Detected decay of intensity of the first order diffracted light.

試料の温度を 298 K として拡散係数を算出すると、 $D_{\text{Theory}} = 9.7 \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ と求められる。

励起光の照射および交流電圧の印加により縞状濃度分布を誘起し、観察光を照射したところ 1 次回折光の検知に成功した。濃度分布誘起を終了すると、物質拡散に伴い Fig. 10 に示すような 1 次回折光が減衰の様子が検知された。この波形から減衰時定数はフィッティング解析により $\tau_D = 8.2 \text{ s}$ と算出され、Fig. 10 下に示した解析結果と検知波形の差分から、良好にフィットしていることがわかる。式(4)に干渉縞間隔 $\lambda = 9.5 \mu\text{m}$ を代入することで、 $D = 3 \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ と算出され、測定結果から算出される拡散係数は式(6)により算出される理論値とオーダーで一致した。

以上より、ノイズによる不確かさが大きい、理論に即した指数関数的な減衰挙動が検知され、スパッタ成膜 a-Si:H を用いた LIDEP による本測定手法の妥当性が示された。今後、本測定法を利用してタンパク質など拡散係数が大きく、減衰時定数が小さい試料を測定すれば、ms オーダーの高速な測定が実現すると期待される。

5. 結 論

本報では LIDEP を用いた拡散係数測定デバイスの開発

について述べた。以下に結論を示す。

1. LIDEP に必要不可欠な光導電膜について、反応性 RF マグネトロンスパッタ法を用いた簡易な成膜手法を提案し、成膜および特性の評価を行い、成膜温度 200 °C において PECVD 法成膜と同程度の性能が期待される a-Si:H 成膜に成功した。
2. 新規成膜手法により測定デバイスを作製し、ポリスチレンビーズ水溶液を用いて縞状濃度分布を誘起し、観察光を照射したところ 1 次回折光および拡散による減衰挙動が検知された。よって、新規手法により成膜した a-Si:H が LIDEP に適用可能であることが示された。
3. LIDEP に適用可能な a-Si:H の成膜、評価からデバイス作製に至るまでの一連のプロトコルが確立された。

謝辞

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(S)(No. 24226006)、挑戦的萌芽研究(No. 15K13890) の支援を受けて実施された。また、デバイスの作製にあたっては、4 大学ナノ・マイクロファブリケーションコンソーシアムおよび川崎市ナノ・マイクロ産学共同研究開発補助金の支援を受けた。

NOMENCLATURE

a	: radius of particle, m
c	: concentration, g·l ⁻¹
d	: thickness, m
D	: diffusion coefficient, m ² ·s ⁻¹
E	: electric field, V·m ⁻¹
F_{DEP}	: dielectrophoretic force, kg·m·s ⁻²
I	: light intensity, W
k_B	: Boltzmann constant, J·K ⁻¹
K	: Clausius-Mossotti function
l	: length between electrodes, m
R	: resistance, Ω
T	: absolute temperature, K
w	: electrode width, m
ε	: permittivity, F·m ⁻¹
η	: viscosity, Pa·s
Λ	: fringe spacing, m
σ	: electrical conductivity, S·m ⁻¹
τ_D	: decay time constant, s
ω	: angular frequency, rad·s ⁻¹
Subscript	
d	: dark
m	: surrounding medium
ph	: photo

参考文献

- [1] N. Kanzaki, T. Q. P. Uyeda, K. Onuma; “Intermolecular Interaction of Actin Revealed by a Dynamic Light Scattering Technique”, *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 2881–2887.
- [2] A. Hawe, W. L. Hulse, W. Jiskoot, R. T. Forbes; “Taylor Dispersion Analysis Compared to Dynamic Light Scattering for the Size Analysis of Therapeutic Peptides and Proteins and Their Aggregates”, *Pharm. Res.*, **28** (2011) 2302–2310.
- [3] J. F. Torres, A. Komiya, D. Henry, S. Maruyama; “Measurement of Soret and Fickian diffusion coefficients by orthogonal phase-shifting interferometry and its application to protein aqueous solutions”, *J. Chem. Phys.*, **139** (2013) 074203.
- [4] 小宮敦樹, 円山重直, 守谷修一; 「タンパク質物質拡散現象における広域緩衝液の影響評価」, *熱物性*, **24** (2010) 15–20.
- [5] K. Kuroi, K. Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, T. Kamiyama, M. Terazima; “Pressure-Sensitive Reaction Yield of the TePixD Blue-Light Sensor Protein”, *J. Phys. Chem. B*, **119** (2015) 2897–2907.
- [6] 寺嶋正秀; 「揺らぎ・ダイナミクスと生体機能」 寺嶋正秀編 (2013) 159–169, 化学同人.
- [7] J. S. Khan, Y. Imamoto, Y. Yamazaki, M. Kataoka, F. Tokunaga, M. Terazima; “A Biosensor in the Time Domain Based on the Diffusion Coefficient Measurement: Intermolecular Interaction of an Intermediate of Photoactive Yellow Protein”, *Anal. Chem.*, **77** (2005) 6625–6629.
- [8] A. Kumar, V. M. Gorti, H. Shang, G. U. Lee, N. K. Yip, S. T. Wereley; “Optical Diffusometry Techniques and Applications in Biological Agent Detection”, *J. Fluids Eng.-Trans. ASME*, **130** (2008) 111401.
- [9] 猪谷恒一, 田口良広, 長坂雄次; 「レーザー誘起誘電泳動を用いた小型拡散センサーに関する研究」, *日本機械学会論文集 B 編*, **77** (2011) 1567–1577.
- [10] 猪谷恒一, 蛭子井明, 田口良広, 長坂雄次; 「レーザー誘起誘電泳動を用いた小型拡散センサーの開発」, *熱物性*, **23** (2009) 197–202.
- [11] T. Oka, K. Itani, Y. Taguchi, Y. Nagasaka; “Development of Interferometric Excitation Device for Micro Optical Diffusion Sensor Using Laser-Induced Dielectrophoresis”, *J. Microelectromech. Syst.*, **21** (2012) 324–330.
- [12] A. T. Ohta, P.-Y. Chiou, H. L. Phan, S. W. Sherwood, J. M. Yang, A. N. K. Lau, H.-Y. Hsu, A. Jamshidi, M. C. Wu; “Optically Controlled Cell Discrimination and Trapping Using Optoelectronic Tweezers” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **13** (2007) 235–243.
- [13] L. Houben, M. Luysberg, P. Hapke, R. Carius, F. Finger, H. Wagner; “Structural properties of microcrystalline silicon in the transition from highly crystalline to amorphous growth”, *Philos. Mag. A-Phys. Condens. Matter Struct. Defect Mech. Prop.*, **77** (1998) 1447–1460.

[Received Jun. 28, 2015, Accepted Dec. 9, 2015]