

アルコール CVD グラフェン自立膜上へのヘリウムイオンビーム顕微鏡 (HIM) を用いたナノポア形成

阪大工 ○杉田祥吾, 阪大院工 辻友希, 山村和也, 有馬健太 ©川合健太郎

要旨

DNA の塩基識別手法であるナノポアシーケンスの薄膜材料として利用されるグラフェンが注目されている。1 原子厚を持つグラフェン膜にナノポアを作製する事で、塩基の識別能の向上が期待されている。我々は、FIB でポアを形成した Si/SiO₂ 基板上に CVD (chemical vapor deposition) 法で 1~2 層グラフェン自立膜を直接成膜し、ヘリウムイオンビームを用いて最小 11.8 nm 径の孔を形成した。

1. 緒言

DNA の構成単位であるヌクレオチドは、デオキシリボース、リン酸、塩基で構成されており、塩基配列のわずかな違いが生物の個体差や機能差を生む^[1]。医療分野では、ガンや先天性難聴など DNA に関係した疾患に対し、DNA の塩基配列を解析することで、疾患の原因となる遺伝子を決定、適切な治療を行うなどの応用が期待されている^[2]。DNA の塩基配列を決定することを DNA シーケンスと呼び、中でも DNA の増幅や、高価な蛍光試薬が不要なナノポアシーケンス法が注目されている^[3]。ナノポアシーケンス法ではナノメートルサイズの大きさの孔に DNA を通過させ、イオン電流の変動から塩基配列の決定を行う。

ナノポアの材料として、 α -ヘモリシンなどの、タンパク質で形成したナノポアをガラス基板上に配置するタンパクナノポア^[4]や、SiN_x や石英ガラス上に直接ナノポアを形成する固相ポア^[5]がある。近年は、支持基板上に 2 次元材料であるグラフェンや MoS₂ を成膜し、FIB や HIM などナノポアを形成する単分子膜ポア^[6]が開発された。単分子膜ポアの薄膜としてグラフェンを用いることで、1 塩基分の厚さを持つナノポアを作製できることから塩基分解能の向上が期待されている。

単分子膜上にナノポアを形成する際には TEM、HIM が用いられる。HIM はイオン源である He⁺ に 10~50 keV 程度のエネルギーを与え、静電レンズにより 0.35 nm 以下に集束し、試料に照射する。HIM は FIB と同原理の集束イオン顕微鏡であり、観察試料によっては、SEM を超える超高分解能での観察と FIB を超える微細加工を行うことが出来る^[7]。

我々は、ガリウムを触媒として 1~2 層のグラフェンを Si/SiO₂ 基板上に成膜した。その後、HIM を用いてグラフェン上へのナノポア形成を行い、イオン照射量を変化させることでより小さなナノポア作製を試みた。

2. グラフェン自立膜の作製

図 1 にグラフェン自立膜を形成する支持基板の作製プロセスを述べる。両面に 300 nm 厚の熱酸化膜を形成した 200 μ m 厚の Si(110)ウエハを用いた。片面の SiO₂ 膜をリソグラフィによりパターンニングし、もう一方の面のエッチングを防ぐためレジスト膜でマスクした。BHF で SiO₂ 膜をエッチングした後、25wt%TMAH により 95°C 以上で 2 時間 30 分 Si 基板を異方性エッチングし、SiO₂ 自立膜を作製した。図 2 にグラフェン自立膜を形成するプロセスを述べる。SiO₂ 自立膜上に FIB (Focused Ion Beam) で約 500 nm 角のポアを形成した。基板上に Ga を滴下し窒素 3.0 L/min を流すことで、チャンバー内を窒素に置換した。その後、窒素 50 mL/min でバブリングによりメタノール蒸気を流しながら 1000 °C で 10 分加熱した。10 分のうち、メタノールは 5 分のみ導入した。600 °C になるまで -20 °C/min で冷却を行った後、自然冷却を行い、Ga を塩酸で除去した。図 3 にグラフェン自立膜形成後の SEM 像とラマン分光測定の結果を示す。SEM 像でグラフェン自立膜の確認と

ラマン分光測定からグラフェンの形成を確認し、ラマンマッピングでグラフェン膜が観察範囲全体に形成されていることを確認した。

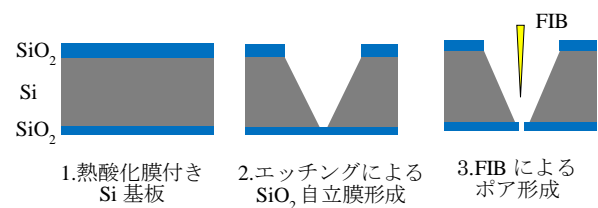


図 1. SiO₂ 自立膜を持つ支持台作製プロセス

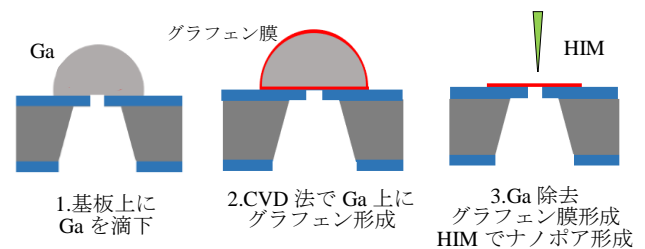


図 2. Ga を触媒としたグラフェン自立膜形成と HIM によるナノポア形成

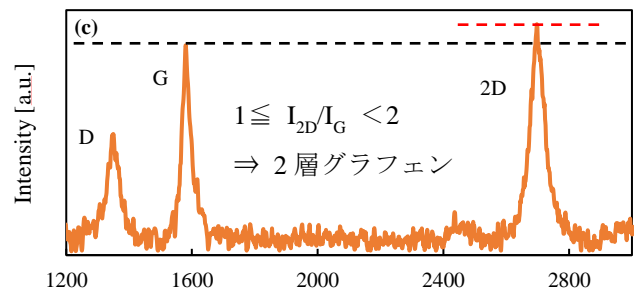
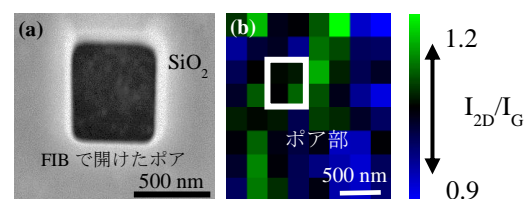


図 3. (a)FIB で加工したポアの SEM 像
(b)ポア周辺のラマンマッピング
(c)グラフェン上のラマンスペクトル

3.HIMによるナノポア加工と考察

図4、図5にグラフェン自立膜上にHIMでナノポアの加工を行った結果を示す。アパーチャは10 nm、加速電圧は30 kVで実験を行った。図4の加工領域において、加工時のイオン照射量を 4.0×10^8 ions/nm² から 6.0×10^7 ions/nm² まで段階的に減らしていくと、ナノポア径も小さくなった。図5の加工領域でも同じようにイオン照射量を下げるとナノポア径が小さくなった。しかし、図4の加工領域において 4×10^8 ions/nm² で加工を行うとナノポア径は50 nmになったのに対し、図5の加工領域において同じイオン照射量で加工を行うとナノポア径は14.5 nmになった。

この加工位置の変更による加工精度の変化は、グラフェン自立膜に高さの異同があり、フォーカス位置がずれていることに由来すると考えられる。図5では図4の結果と比較して、照射イオン量に対するナノポア径が小さいこと、最小で11.8 nmの径を持つナノポアの作製に成功したことから、加工したナノポア中で最もフォーカスが合っていたと考えられる。

HIMは、フォーカスが完全に合っている状態でなくても、焦点深度の深さからグラフェン膜への加工が可能であるが、より小さなナノポアを作製するためには、フォーカス合わせが重要である。加工領域ごとにグラフェン膜の高さが異なると考えられるので、フォーカス調整が必要である。通常、スパッタリングで加工を行う際には加工領域付近のエッジ部などでフォーカスを合わせる^[7]が、我々が用いる基板では加工領域付近にフォーカスを調整するための対象が必要になる。そこで、AuNPs (Aunanoparticles) をグラフェン自立膜上に散布しフォーカス合わせを行っている。

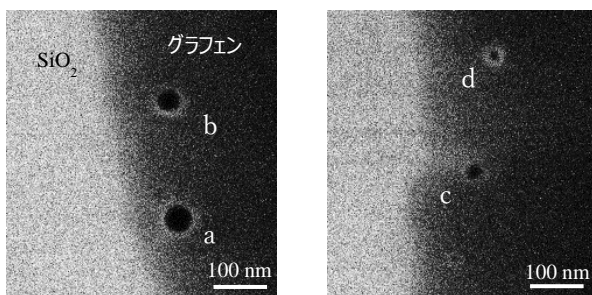


図4. HIMを用いて加工したグラフェン自立膜上のナノポア

表1. 図4のa~dの加工時のイオン照射量とナノポア径

| | 照射イオン量 [ions/nm ²] | ナノポア径 [nm] |
|---|--------------------------------|------------|
| a | 4.0×10^8 | 50.0 |
| b | 2.0×10^8 | 45.0 |
| c | 8.0×10^7 | 21.4 |
| d | 6.0×10^7 | 18.8 |

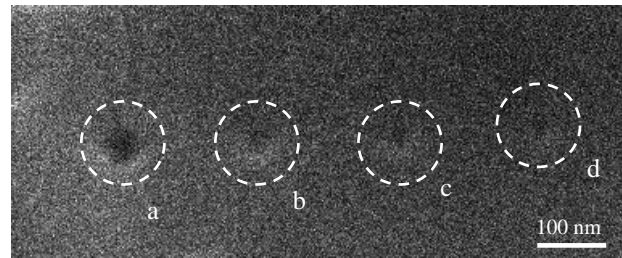


図5. 加工領域を変えて加工したグラフェン自立膜上のナノポア

表2. 図5のa~dの加工時のイオン照射量とナノポア径

| | 照射イオン量 [ions/nm ²] | ナノポア径 [nm] |
|---|--------------------------------|------------|
| a | 7.2×10^8 | 22.2 |
| b | 5.6×10^8 | 16.4 |
| c | 4.0×10^8 | 14.5 |
| d | 2.4×10^8 | 11.8 |

ナノポア径を小さくするためには、さらに実験条件の調整が必要であると考えている。アパーチャはHIMでの加工においてイオン源から射出されたイオン数を減らす役割を持つ^[7]。アパーチャを小さくすることで、さらにビーム径を絞ることが出来る。

加速電圧を小さくすることで、試料表面における帯電を抑えることが出来るので、帯電によるイオンビームの曲がりを防止する。しかし、加速電圧を下げるとビーム径が大きくなり加工精度が落ちるため、加速電圧の最適化によりナノポア径を小さくする。発表においては、上で述べた2つのパラメータに関して最適な条件を調べた結果について述べる。

4.結言

メタノールを炭素源としたアルコール CVD により Ga を触媒とした1~2層のグラフェン自立膜の形成を行い、HIMでナノポアの加工を行った。同じイオン照射量で加工しても、フォーカス位置の変化により加工精度が変化していることが確認された。今後は加工位置ごとにフォーカス合わせを行ったうえで、さらに小さな径のポア作製に向けて各パラメータの最適条件を調べていく。

5.謝辞

本研究の一部はJSPS 科研費 19K05233,19H02571 の助成とナノテクノロジープラットフォーム (大阪大学ナノテクノロジー設備供用拠点) の支援を受けて実施された。

6.参考文献

- [1] 中村桂子, Essential 細胞生物学, 南江堂 (2011)
- [2] 山本俊至, 『悪性腫瘍の最先端 がんゲノム医療』, 東女医大誌, 88, 1: 1-4 (2018)
- [3] 近藤昭彦, 遺伝子工学, 化学同人 (2012)
- [4] Kasinowics JJ et al. (1996) PNAS. 93: 13770-13773
- [5] Paolo Cadinu et al. (2018) Nano Lett. 18: 2738-2745
- [6] Stephanie J et al. (2016) Nature Nanotechnology 11: 127-136
- [7] 日本顕微鏡学会, 新・走査電子顕微鏡, 共立出版 (2011)