

学術論文

回転傾斜露光法による複雑マイクロ構造作製とバイオデバイスへの応用

Development of complex micro-structures with inclined rotated UV lithography and applied for bio-devices

平丸 大介^{*1}, 鈴木 孝明^{*2} (正員), 福家 有子^{*1}, 神野 伊策^{*1}, 小寺 秀俊^{*1}

Daisuke HIRAMARU, Takaaki SUZUKI (Mem.), Aiko FUKUE, Isaku KANNO, Hidetoshi KOTERA

Fabrication of complex 3D structures becomes more important for improvement of soft-MEMS. Then, we propose the new fabrication method that can fabricate complex 3D structures with inclined rotated UV lithography on only one process. The simulation of the proposed method was developed to calculate the fabricated structures to assist design of masks. The validity of the method and the simulation were confirmed by demonstration of fabrication of the complex 3D structures and by similarity between fabricated structures and simulated ones. In addition, to indicate the availability of fabricated complex structures, the fabricated structures were applied to the FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) process that is the method of observation for chromosomes. In this study, the proposed method showed the potential to fabricate the novel structures and to improve the performance of micro-device.

Keywords: lithography, 3D structures, SU-8, FISH, soft-MEMS, μ -TAS.

1 緒言

現在、微細加工技術により流体デバイスなどを集積化したチップ上で一連の化学的な反応、分析など集約的に行う μ -TAS(micro Total Analysis Systems)などの、従来のSiを中心としたMEMSとは異なる樹脂材料を用いたソフトMEMS分野において、デバイスの高機能化を進めるために構造の複雑化が必要となってきた。現在、ソフトMEMS分野におけるデバイスの作製手法としては、フォトリソグラフィ技術を用いて加工したSiや、厚膜レジストであるSU-8により作製された構造を鋳型とし、PDMSなどのシリコンを流し込むソフトモールドイングが一般的である。この手法の最大の利点は鋳型のナノメートルオーダーの微細な構造でも簡便に転写することが可能[1]であり、さらにモールドイングであるため、同一の構造を大量に作製することが可能である。

しかし、この手法にはいくつかの制限がある。ひとつは微細構造をもつ鋳型の構造が二次元構造しか取れないことである。これは、鋳型の微細加工にフォトリソグラフィを用いるためであり、マスクパターンは必然的に二次元となるため、作製される構造も同様に二次元的な構造となる。この制限の解消法として複数回のリソグラフィにより、積層することで三次元構造の

鋳型を作製する手法がしばしば用いられているが、この手法により立体的な鋳型を作製した場合でも、モールドイングによる制限が存在する。これは、鋳型から抜ける構造しかで作製できないことであり、トンネルなどの横穴構造などを作製することは困難である。

上記のような作製手法の制限を解消するために様々なマイクロデバイスの作製手法が考案されており、その中でも鋳型に用いられていた厚膜レジストをデバイスの材料として直接利用する手法が注目されている。

レジストを用いて複雑な構造を作製する手法として、一つはレーザーやビームを局所的に照射することで露光し、微細な構造を作製する手法[2]がある。この手法では、制約のない三次元構造を作製可能であるが、レーザーを走査し構造を作製するため、一つのデバイスを作製するのに非常に長時間を要してしまい、デバイスの大量生産は不可能である。また、レジストを塗布する基板の反射率を制御してレジスト内にトンネル構造を作製する手法[3]も報告されている。この手法は基板さえ準備すれば露光するのみであり、大量生産も可能であるが、作製可能な構造は基板上でのトンネル構造だけで汎用性に欠けると考えられる。

これらに対し、本研究では、大量生産可能であり、簡便に複雑な三次元構造を設計、作製可能なデバイス作製手法として回転傾斜露光法を提案する。構造作製において、シミュレーションを行うことでマスク設計指針とし、バイオデバイスへの応用を試みることで本研究中で提案した作製手法の有用性を示す。

連絡先：平丸 大介, 〒606-8501 京都市左京区吉田本町,
京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻,
e-mail: daisuke.hiramaru@e02.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

^{*1} 京都大学 ^{*2} 香川大学

2 回転傾斜露光法による構造作製

本研究で扱う傾斜露光法[4]とは、マスクに直接レジストを塗布したチップを裏面であるマスク面が表になるように傾斜ステージに設置し、裏面から傾けて露光を行い、この操作を異なる角度において複数回行う露光方法である。マスクにレジストを直接塗布することでマスクのアライメントが不要となり、背面から露光することでマスクとレジストはコンタクトしているため非常に高精度のパターニングが可能となる。

本研究では、傾斜露光法のステージを断続的、連続的に回転させることで、特異的な露光領域の分布を実現している。この露光方法により得られる三次元構造の形状が決定する原理を以下に示す。

2.1 構造作製原理

基板を断続的に回転させる場合、光の進入角度は同一のまま異なる方向から複数回露光される場合と同じであり、露光形状はマスク上の一点を交点とした複数の傾斜した柱状構造となると考えられる。Fig. 1において、Fig. 1bの基板上のある一点がA, B, C, Dの四か所に回転移動した場合、Fig. 1aのそれぞれの位置に四本の傾斜した柱状構造が形成されると考えられる。

また、傾斜させた状態で連続的に回転させる場合、光の進入角度は一定で、進入経路は連続的に変化していき、最終的にマスクの一点から露光される部分は逆円錐の構造をとると考えられる。Fig. 1bでA→B→C→D→Aと連続的に回転移動した場合、Fig. 1aでは柱状構造が繋がった円錐構造となる。

実際の露光では、それぞれの露光方法における一点からの露光形状がマスクに基づき、連続的に形成されることで全体の構造を形成する。

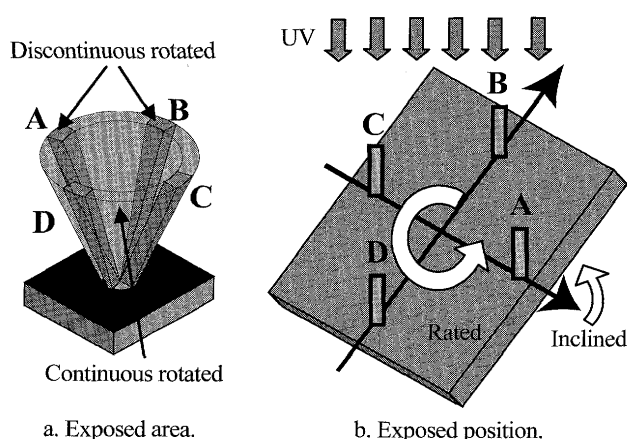


Fig. 1 Influence of rotation factor.

2.2 吸光量シミュレーション

前節で述べた原理に基づき、レジスト内に立体構造が形成されるが、マスクのパターンが複雑な場合、その構造を予想することは困難となり、同様に、入り組んだ構造を作製する場合にマスクパターンを決定するのが困難となる。そこで、回転傾斜露光法の露光経路の特性を考察し、レジスト内の吸光量シミュレーションを作成した。

一般的に、レジストを塗布したマスクを傾斜させて背面から露光させる場合、マスク、レジストの屈折率に応じて照射光は屈折する。この屈折の状態はスネルの法則よりレジストの屈折率と入射角、屈折角は以下の関係となる。ここで、空気中の屈折率を n 、入射角を θ 、マスク中の屈折率を n_m 、屈折角、入射角を θ_m 、レジスト中の屈折率を n_r 、屈折角を θ_r とする。

$$n \sin \theta = n_m \sin \theta_m = n_r \sin \theta_r \quad (1)$$

傾斜露光法では、異なる角度において基板を傾斜させ複数回露光をするため、Fig. 2に示すように、マスクの一点 (p, q) から複数の方向へ照射され、これにより通常の露光方法では得られない三次元構造が形成される。ここで、レジスト内の一点 (x, y, z) に注目すると基板マスク上の特定範囲の点群からの露光を受け、その露光量の総和によってこの点の位置のレジストの吸光量が決定されると考えられる。

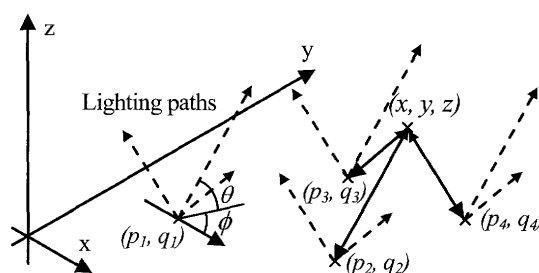


Fig. 2 Light path of inclined lithography.

ここで、点 (x, y, z) における吸光量を $U(x, y, z)$ 、吸光率を α 、点 (x, y, z) へ露光する特定範囲内の点群を $\{(p_k, q_k)\}$ 、点群の各点の露光量を決定するマスク関数を $m(p_k, q_k)$ 、各点の露光時間を t_k 、レジスト内の光の移動距離を l_k 、レジスト進入時の露光強度を I_0 とし、レジストの吸光が支配的と考えて減衰率を $e^{-\alpha l_k}$ とすると、点 (x, y, z) の吸光量 $U(x, y, z)$ は点群内の各点からの露光量の総和から得られるため、以下の式で表わされる。

$$U(x, y, z) = \sum_k \int_{t_k}^{t_{k+1}} m(p_k, q_k) \alpha I_0 e^{-\alpha l_k} dt \quad (2)$$

ここで、レジスト内の点 (x, y, z) とマスク上の点 (p_k, q_k) のなす角を (θ_k, ϕ_k) とすると、マスク上の点 (p_k, q_k) と移動距離 l_k はレジスト内の点 (x, y, z) の座標となす角により、以下のように示される。

$$p_k = x + z \tan \theta_k \cos \phi_k, q_k = y + z \tan \theta_k \sin \phi_k \quad (3)$$

$$l_k = \frac{z}{\cos \theta_k} \quad (4)$$

断続的な回転傾斜露光の場合、 θ_k が常に一定になり、それぞれ個別の露光では時間的に吸光量は変化しないことから、(2), (3), (4)から吸光量は以下のように整理される。ここでマスク関数影響項をまとめて M とする。

$$U(x, y, z) = \alpha I_0 e^{-\alpha \frac{z}{\cos \theta}} M \quad (5)$$

$$M = \sum_k (t_{k+1} - t_k) m(p_k, q_k) \quad (6)$$

連続的な回転傾斜露光の場合、 θ_k が常に一定になるため、点 (x, y, z) へ露光する点群 $\{(p_k, q_k)\}$ は点 (x, y, z) を頂点とした円錐の底円周上に存在する。また、マスクが等角速度で回転する場合、 ϕ_k は時間関数となるため、点群 $\{(p_k, q_k)\}$ は式(3)から時間関数となる。これにより、 k は時間によって表現できる。これらの条件を考慮して式(2), (3)は以下のように変形される。ここでマスクの傾斜角 θ , ϕ の角速度を ω 、経過時間を t_0 とする。

$$U(x, y, z) = \alpha I_0 e^{-\alpha \frac{z}{\cos \theta}} \int_0^{t_0} m(p_k(t), q_k(t)) dt \quad (7)$$

$$p_k = x + z \tan \theta \cos \phi(t), q_k = y + z \tan \theta \sin \phi(t) \quad (8)$$

次に、露光経過時間 t_0 が十分に長い場合、チップの回転周期 T を用いると、 $t_0 = nT$ (n :自然数)と近似できる。これは、回転傾斜露光の場合、点群 $\{(p_k, q_k)\}$ から均等に周期的に露光されるため、十分な時間が経過した場合、点群内のどの点からも同程度、露光されるからである。また、 $\phi(t) = \omega t$ であるから、積分を ϕ と t について変数変換し、 M を用いて以下の式に整理できる。

$$U(x, y, z) = \alpha I_0 e^{-\alpha \frac{z}{\cos \theta}} M \quad (9)$$

$$M = \frac{t_0}{2\pi} \int_0^{2\pi} m(p_k(\frac{\phi}{\omega}), q_k(\frac{\phi}{\omega})) d\phi \quad (10)$$

式(5), (6)と式(9), (10)から断続的回転傾斜露光、連続的回転傾斜露光において、マスクが作り出すレジスト

内の露光量分布が求められる。この分布から最終的なレジスト構造を求めるには、露光量とレジストの状態の関係を明らかにしなければならない。本研究で用いるレジストは厚膜ネガレジスト SU-8 であり、硬化に必要な露光量の閾値 K を持っているため、以下の条件を満たす点群が立体構造となる。また、特にマスク構造に注目する場合、以下の右側の等式を考察する。

$$K < U(x, y, z) \Leftrightarrow \frac{K}{\alpha I_0 e^{-\alpha \frac{z}{\cos \theta}}} = K' < M \quad (11)$$

実際のシミュレーションでは、右側の等式に基づき、マスク形状により決定する吸光量分布 M を求め、 K' を与えることで作製する構造を決定する。

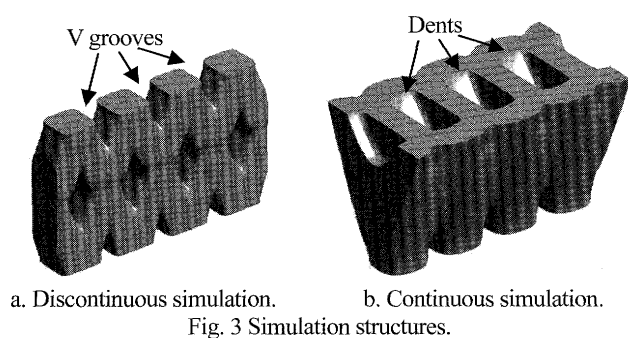
2.3 回転傾斜法による構造作製実験

本研究で提案した回転傾斜露光法について、作製される構造のシミュレーションによりマスク、作製プロセスを決定する。これらに基づきデバイスの作製を行うことで、シミュレーションとの比較から作製手法の原理検証とともに、作成したシミュレーションの有用性の評価も同時に行う。

2.3.1 構造シミュレーション

本研究で作製する微細構造はバイオデバイスのひとつである染色体伸長デバイス[5]への利用が可能な構造として、伸長した染色体を整流、保持が可能な構造の作製を目標とする。シミュレーションに用いるマスクデータは一辺 $5 \mu\text{m}$ の正方形が $10 \mu\text{m}$ 間隔で配置された配列が $50 \mu\text{m}$ 間隔で繰り返されているパターンであり、正方形部分以外がマスクされている。このデータについて断続的な回転露光と連続的な回転露光のそれぞれでシミュレーションを行う。断続的な回転露光では 180 deg. ごとの2回露光とする。

それぞれのシミュレーション結果をFig. 3 a, bに示す。断続的な回転露光による構造ではマスクに対して垂直なメッシュ構造が連続的に形成されている。この構造の上部にはV溝構造があり、構造上で染色体を伸長させた場合にこの溝構造に沿って染色体が伸長し固定されることが期待される。対して、連続的な回転露光では円錐構造が過剰に重なることで上部に凹みをもった構造が形成されている。染色体の固定のみを考える場合、断続的な露光による構造に優位性があると考えられるため、本研究では 180 deg. ごとの断続的な回転露光による構造作製を行った。



2.3.2 回転傾斜露光による構造作製

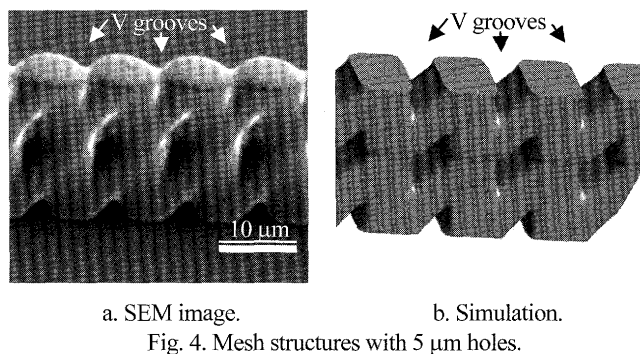
本実験では、マスクとして、24 mm x 60 mm カバーガラスにスパッタリングにより Cr を約 0.3 μm 成膜し、フォトリソグラフィによりパターンニングを行い、構造作製の厚膜レジストにはネガ型厚膜レジスト SU-8 3025(化薬マイクロケム)を利用した。傾斜露光ステージは光工学で用いられる θ ステージを鉛直方向に設置した自作のステージを作製し、ステージ部分にサーボモータを組み込みファンクションジェネレータと接続することで、等速回転可能な回転ステージも自作した。露光系に関しては、一般的な紫外線露光機を用い、予備実験により露光量を決定した。

本研究で作製した構造は、染色体伸長デバイスへの利用が可能な構造として、中心に一边 5 mm の正方形の滴下台を配置し、その四方に染色体の懸架構造としてメッシュ構造を配置したデバイスを作製した。

構造作製プロセスについては、SU-8 をマスク上に塗布し、SU-8 の一般的なプロセスによりベイクなどを行う。以下の Table. 1 に本研究で行った断続的回転傾斜露光実験のプロセスの詳細を示す。

Table. 1 SU-8 process.

Method	Properties	Time
O2 aching	Ozone cleaner	30 min/10 min
Bake	200 deg.	5 min
OAP primer		
Spin coating	slop	5 s
	3000 rpm	30 s
Bake	95 deg.	3 min
SU-8 3025		
Spin coating	slop	5 s
	500 rpm	5 s
	slop	8.3 s
	3000 rpm	21.7 s
Pre-Bake	65 deg.	5 min
	95 deg.	15 min
Relaxation	slow cooling	30 min
Expose	400mJ/cm ²	800 s
PEB	65 deg.	1 min
	95 deg.	6 min
Relaxation		1 hour
Development	SU-8 Developer	10 min
Rinse	IPA	over 10 min
Hard Bake	Room $\rightarrow$ 200 deg.	Over 1 hour



2.3.3 実験結果

作製したデバイスの懸架構造において、5 μm メッシュ構造メッシュ構造について SEM 画像を Fig. 4 a に、その部分でのシミュレーション画像を Fig. 4 b にそれぞれ示す。実際の構造においてメッシュ構造が連続して配置されている様子が観察され、構造の上部に V 溝構造があり、シミュレーション上でも同様の形状を計算している。このことから実際の構造に近い構造を計算していることがわかり、シミュレーションの有効性が認められる。また、その基礎となった回転傾斜露光法の原理も検証できたと考えられる。

3 バイオデバイスへの応用

回転傾斜露光法の有用性を示す一例として、回転傾斜露光法により作製した構造について、染色体を FISH(Fluorescence In Situ Hybridization)法により蛍光で高解像度に観察するための染色体伸長、固定デバイスとしてこの構造を利用する。

3.1 FISH 実験の原理と目的

FISH 法とは、対象となる DNA や染色体に直接、蛍光標識されたプローブ DNA を導入することで、プローブ DNA と相補的な配列を特異的に蛍光標識し染色体上にマッピングする手法であり、対象とする DNA や染色体の配列を維持したまま、その DNA や染色体上での特定の配列について位置や個数を評価することが可能である。つまり FISH 法では、特定の配列の存在を示す蛍光の有無だけではなく、染色体上でのマッピングされた位置も重要な観察要素であり、染色体が凝集している場合には、マッピングされた配列の存在は蛍光により確認できても、詳細な位置情報は得られにくい。そこで、凝集した染色体を引き延ばすことが可能になれば、マッピング位置の情報について大きく解像度を向上させることが可能である。

そこで、染色体を伸長させる手法として、本研究で作製した微細構造を持つデバイス上に染色体を塗布し、遠心力により染色体を伸長させる手法を用いる。染色体が遠心力で伸長する際、デバイス上の微細構造がガイドとなり、染色体を一定の形状に配列させ、さらに染色体の多くの部分を液中に懸架するため、ハイブリダイゼーションを促進することができると考えられる。

3.2 実験手法

本実験では、染色体に HeLa 由来のヒト染色体を対象とし、プローブ DNA には EGFR & CEN7 を用いた。また、蛍光観察時に SU-8 の自家蛍光を軽減するため、デバイス上に Ti を約 $0.3\ \mu\text{m}$ 成膜した。

デバイスの中心に染色体懸濁液を滴下し、スピンドーターによって 5000 rpm, 30 s の条件で染色体を伸長させ、ホルムアミドで固定した後、プローブを滴下する。さらに、ヒートショックと氷冷によりハイブリダイゼーションを開始し、湿室内で 5 時間静置することでハイブリダイゼーションを完了させる。そして、DAPI により染色体を染色し、Antifade により封入することで染色体とプローブの蛍光観察を行った。

3.3 実験結果

実験結果として、メッシュ構造上の染色体に対して蛍光観察を行った際の、染色体、プローブによるマッピングの様子を Fig. 5 に示す。

実際に微細構造上で染色体が伸長、固定されており、プローブが染色体上の特定の配列にマッピングされている様子が観察できる。これらにより、FISH による染色体の配列位置の観察が可能と考えられるため、本研究で作製した三次元構造をもつデバイスの有用性が示された。

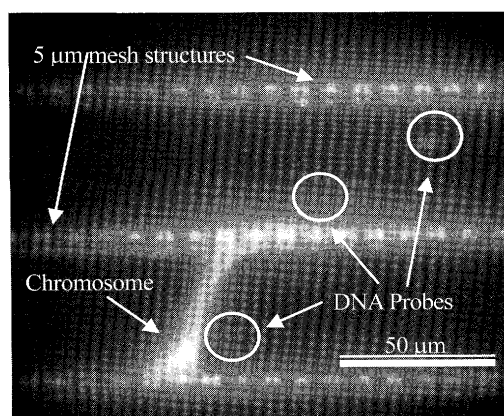


Fig. 5 Light path of inclined lithography.

4 結言

本研究では、厚膜ネガレジスト SU-8 を用いて、回転傾斜露光法という手法を提案し、シミュレーションによる構造の予測と、実際に作製された構造物を比較することで、この手法の原理検証を行った。また、作製された構造の応用の一つとして、デバイス上で遠心力により染色体を伸長させ FISH をおこなうことで、作製された構造の有用性を示した。

本研究で提案した作製手法により、既存の手法では作製に非常に高価な設備と、長い作業時間が必要であった三次元構造を、通常の露光装置のみで安価に、かつ容易に作製することが可能となった。また、作製される構造のシミュレーションを用いて、必要な構造を決定してから実際のマスクを設計したり、作製プロセスを決定したりすることが可能となる。これらの手法を用いることで、ソフト MEMS や μ -TAS においてデバイスの高機能化が期待できる。

謝辞

特別研究奨励費 (20-6629)、JST 育成研究 (平成 16 年度採択)、およびシーズ発掘試験 A (平成 20 年度) による成果である。ここに記して謝意を表する。

(2008 年 10 月 23 日受付, 2009 年 1 月 12 日再受付,
2009 年 2 月 13 日再々受付)

参考文献

- [1] Zhao, XM, Xia, Y, and Whitesides, GM, Soft lithographic methods for nano-fabrication. *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 7, No. 7, pp. 1069-1074, 1997.
- [2] Yusuke Furuta, Naoyuki Uchiya, Hiroyuki Nishikawa, Junji Haga, Takahiro Sato, Masakazu Oikawa, Yasuyuki Ishii, and Tomihiro Kamiya, "Fabrication of three-dimensional structures of resist by proton beam writing", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 25, No. 6, pp. 2171- 2174, 2007.
- [3] Kentaro Totsu, Kenta Fujishiro, Shuji Tanaka, Masayoshi Esashi, "Fabrication of three-dimensional microstructure using maskless gray-scale lithography", *Sensors and Actuators A*, 130-131, 387-392, 2006.
- [4] Takaaki Suzuki, Isaku Kanno, Junya Ogawa, Kensuke Kanda, and Hidetoshi Kotera, "A piezoelectric active microchannel for fluid transport in microTAS", *The 11th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2007)*, pp.1498-1500, 2007.
- [5] Xavier Michalet, Rosemary Ekong, Françoise Fougerousse, Sophie Rousseaux, Catherine Schurra, Nick Hornigold, Marjon van Slegtenhorst, Jonathan Wolfe, Sue Povey, Jacques S. Beckmann, Aaron Bensimo, "Dynamic Molecular Combing: Stretching the Whole Human Genome for High-Resolution Studies", *Science*, Vol. 277. no. 5331, pp. 1518 - 1523, 1997.