

アト - フェムトリットル微少液体の
精密計測・操作技術に関する研究

2007 年 9 月

熊本大学大学院自然科学研究科

居村史人

目次

第1章	序論	1
1.1	微少液体操作の要求	
1.2	従来の細胞操作	
1.2.1	細胞操作技術	
1.2.2	遺伝子導入技術	
1.3	ナノサージャリー技術	
1.4	本研究の目的	
1.5	本論文の構成	
第2章	微細中空ナノピペットの形成	7
2.1	はじめに	
2.2	微細管形成方法	
2.3	先端径の観察結果と考察	
2.3.1	ヒータ電力依存性	
2.3.2	ばらつき評価	
2.3.3	引張加重依存性	
2.3.4	ガラス管形状依存性	
2.4	シャンク長の観察結果と考察	
2.4.1	ヒータ電力依存性	
2.4.2	ガラス転移温度に対するヒータ電力値の推定	
2.5	まとめ	
第3章	低リークポンプによる微少液量操作技術	19
3.1	はじめに	
3.2	微少液量操作モデル	
3.3	ポンプシステムの構成	
3.4	モデルの検証	
3.4.1	実験方法	
3.4.2	界面半径と圧力の関係	
3.4.3	操作液量の分解能と圧力の関係	
3.5	まとめ	
第4章	高分解能・長ストロークナノマニピュレータの開発	26
4.1	はじめに	

4.2	マニピュレータの制御方法	
4.3	プローブ先端精度計測	
4.4	位置精度の向上	
4.5	電極パッドサイズの決定	
4.6	まとめ	
第5章	応用展開	40
5.1	はじめに	
5.2	3次元形状基板への電子回路パターンニング技術	
5.3	3次元構造体への微細加工・メッキ成膜技術	
5.4	雄性生殖幹細胞へのナノインジェクション	
5.5	まとめ	
第6章	総括	53
謝辞		55
参考文献		58
本論文に関する発表		62

第1章 序論

1.1 微量液体操作の要求

近年，科学技術はナノテクノロジーというひとつのキーワードを背景に，半導体産業，バイオ・医療，環境など様々な分野は発展を遂げている．ナノテクノロジーの例として，既に走査型プローブ顕微鏡 (SPM: Scanning Probe Microscopy)によって原子・分子をひとつずつ操作・観察することを可能にしている．原子分子よりは寸法は大きい，ナノメートルという微小な領域において，物体や液体の操作対象を容量の単位で表すと，例えば， $1\mu\text{m}$ 立方体では，1 フェムト (10^{-15}) リットル，さらに $0.1\mu\text{m}$ 立方体では 1 アト (10^{-18}) リットルと聞き慣れない単位も現れ，光学顕微鏡では観察できないほど非常に微量な容量となる．これまで，微量な液量の制御手法としては，半導体微細加工を応用した MEMS (Micro Electro Mechanical System) 技術を応用して，チップ上に微小な流路を形成し作製したインクジェットプリンタのヘッドや μ -TAS (Micro-Total Analysis System) などの Lab on a chip と呼ばれる微小流体デバイスにより，ピコ〜フェムトリットルオーダーの液量の操作が可能となっている．このインクジェット方式による印刷技術を応用して微小液滴吐出し，微細な電子回路パターンをフレキシブル基板上に印刷する技術も開発されている．

1997 年に誕生した「クローン羊ドリー」にみられる卵細胞への核移植，不妊症に悩むカップルにおいて活動率のない精子からでも受精を可能とする顕微授精技術による体外受精児の誕生などにみられるように，農学・医学分野において細胞を生かしたまま細胞内の核の入換えや細胞内にデオキシリボ核酸 (DNA: Deoxyribonucleic Acid) を注入するなどの操作が盛んに行われ我々世間一般にも認知されるようになった．しかしながら，その安全性と倫理学的問題が問われている．例えば，飼料用のトウモロコシ「スターリンク」問題では，花粉によってヒトの食料用トウモロコシと交雑が起きたという疑いがもたれている．しかし，葉緑体置換による品種改良では，葉緑体は母系遺伝のため花粉に乗らず，このような問題を防ぐことが可能になることが提案されている．また，葉緑体は光合成を行ってエネルギーを蓄える役割を持つが，優れた葉緑体を持っている植物から取り出し，味は良いが生産性の少ない食物品種に入れると，良い実を多くつくる可能性可能性がある．さらに，葉緑体では通常，でんぷんという形でエネルギー貯蔵が行われるが，遺伝子組み換えによってタンパク質をつくることも可能で製薬への応用や栄養価の高い農作物の開発に利用できる．一方，動物の細胞が持つミトコンドリアはエネルギーを産生する細胞内構造体であり，筋肉を動かすことにかかわってくる．この独自の遺伝子を持つミトコンドリアが原因と考えられる遺伝病のミトコンドリア病は原因究明が急がれている [1]．このように，最近では，細胞内の核のみならず，それよりも小さい葉緑体やミトコンドリアなどの $1\mu\text{m}$ 程度かそれ以下の大きさの細胞内小器官を操作し，解析するという細胞生物学研究を行いたいという要求が高まっている．

また、2000年当時の米国大統領であったビル・クリントン大統領は、演説の中で国家ナノテクノロジー戦略(NNI: National Nanotechnology Initiative)を公表し、ナノテクノロジーは素材、情報技術(IT: Information Technology)、バイオなど広範な産業の基盤に関わるものであり、国を挙げてナノテクノロジーの技術開発を行う政策が決定された[2]。これにより、ナノマイクロメートル領域における大規模集積回路(LSI: Large-Scale Integration)などの電子回路技術、DNAやタンパク質などを取り扱う細胞生物学などの研究開発に拍車がかかり世界的にナノテクノロジーが認知されるようになった。ナノテクノロジーには、小さい原子分子を積み上げてある特定の機能を持つものを作り上げるボトムアップ型と現在のLSI電子回路作製技術のように大きなものを小さくしていき機能を高機能化しようとするトップダウン型とがあるが、生物は細胞をひとつの単位として形成されており、ボトムアップ型という観点では、既にナノテクノロジーを達成していると言える。このように、複雑に細胞内で行われている自己組織化などの優れた機能・性質を解析し、工学的にLSIなどのエレクトロニクス分野に応用しようとするなどの要求も高まってきた。

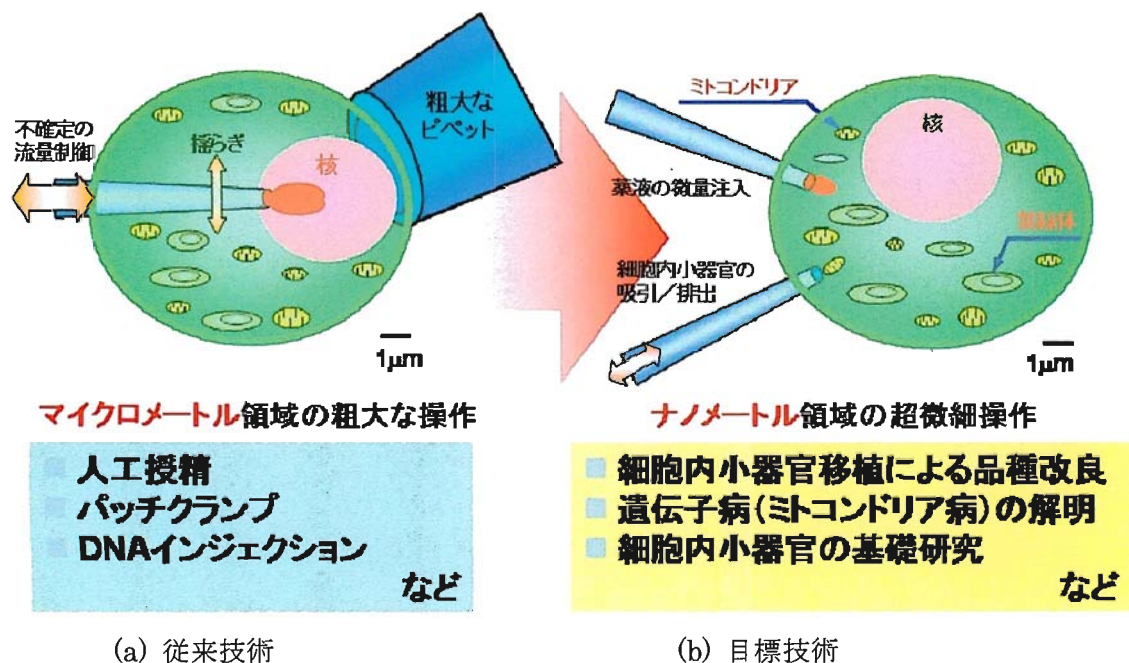


図 1-1 細胞操作の要求

1.2 従来の細胞操作技術

1.2.1 細胞操作技術

現在、家畜の品種改良などを目的とした顕微鏡下での卵細胞の核移植などの畜産分野や不妊治療のひとつである顕微授精などの医学分野において、顕微鏡下で径が数十マイクロメートルの細胞を操作している。その操作はオペレータが握るジョイスティックの動きを縮小してマイクロマニピュレータに伝達する機構を用いており、駆動方式にモータ電動式や油圧式がある。このマイクロマニピュレータにマイクロピペットと呼ばれるガラス微細

管を取り付けて、そのマイクロピペットの基端側にはチューブを介してインジェクタと呼ばれる注射器にてマイクロピペット先端の液量を操作し、卵細胞に精子やDNAを注入している。これらはマイクロマニピュレーションシステムとして、生命工学の研究や不妊治療の臨床応用として広く用いられている[3]-[6]。しかしながら、マイクロマニピュレーションの作業効率は、作業者の熟練度合いに依存する微細な手作業であるといえる。そこで、自動化されたマイクロマニピュレーションシステムや卵細胞を変形させずスムーズにマイクロピペットを挿入してインジェクションを行う機構が開発されている[7]。

また、細胞内小器官やDNA分子のマニピュレーションを目的として、レーザー光の放射圧にDNA分子を捕捉しマニピュレーションしようとする手法[8]-[9]、また、超音波や静電気力により微小物体をマニピュレーションするなど様々な研究が盛んに行われている[10]。

1.2.2 遺伝子導入技術

細胞への遺伝子導入方法は、取り扱う細胞によってどれが最も適しているかによって大きく異なる。動物細胞への遺伝子導入法は、①レーザー法[11]、②細胞融合法[12]、③電気穿孔法[13]、④ウイルス法[14]-[15]、⑤リン酸カルシウム法[16]などがあり、一方、植物細胞への遺伝子導入法は、①アグロバクテリウム感染法[17]、②エレクトロポレーション[18]、③マイクロインジェクション[19]、ウイルス感染による遺伝子導入[20]などがある。以上のいずれにせよ取り扱う細胞によって大きく導入効率が異なり、以上の中から細胞に適した遺伝子導入法を探すには実験的に試行錯誤を行い多くの時間を費やすことも問題である。また、目的の遺伝子をどれくらい導入したかという定量的な操作は行われておらず、最終的に遺伝子導入による発現効率は細胞の個体差による要因と併せて統計的な扱いしかできない状況である。

1.2 ナノサージャリー技術

バイオテクノロジー分野において、細胞内小器官を自由自在に取り扱う要求や細胞内に遺伝子などの薬液を微量かつ定量に注入する要求は非常に高い。あたかも患者を医師が外科手術するように、細胞を生かしたままで細胞内小器官を自由自在に取り扱う“ナノサージャリー”の実現が期待されており、ナノサージャリー装置の開発が行われてきた。

ナノサージャリーの実現には、図 1-2 にある 3 つの技術要素が必要であり、この 3 つの技術を既存の共焦点レーザー顕微鏡に組み込みナノサージャリー装置をつくりあげている。図 1-3 にそのシステム構成を図 1-4 に装置外観を示す。以下、その 3 つの技術要素の概要を述べる。

(1) ナノマニピュレータ；

手術器具を所望の細胞内小器官まで移動させるマニピュレータが必要である。3次元にかつナノメートルレベルの位置決め精度を有していなければならない。これをナノマニピュレータと呼んでいる。次世代半導体微細加工・計測技術の根幹を担う超精密ステージの開

発が行われており、位置決め分解能 0.6nm をすでに達成している[21]。この技術に用いられている積層型圧電アクチュエータを用いた非共振型超音波モータ[22]は、圧電素子を用いていることからサブナノメートルの微小変位の性質を有し、アクチュエータ先端がガイドプレートに接触しステージを送る構成をとることから長ストロークの送り機構を設計できる。この2つの利点を生かし、最小制御分解能 10nm を有し、かつストローク $20\text{mm}(X/Y)$ の3次元方向XYZに駆動可能なナノマニピュレータを作製している[23]・[26]。

(2) 手術器具作製；

細胞膜を貫通して細胞内の細胞内小器官に直接接触する手術器具が必要である。この微小領域においては先端内径 $1\mu\text{m}$ 以下のピペットが必要である。これをナノピペットと呼んでいる。このナノピペット作製には、ガラス管をヒータ内に通し、ヒータに電流を流し赤熱させ、ガラス管を延伸加工する手法をとっている。ヒータに印加する電力とガラス管に鉛直下向きに掛かる加重を作成条件として設定し、ナノピペット作製している。 $1\mu\text{m}$ 以下のナノピペットを容易に作製できることを確認している[27]。

(3) フェムトリットルポンプ；

ナノピペットに流体を満たしてピペット先端の液体を出し入れすることによる細胞内小器官の吸引／排出操作や、薬液を微量注入するポンプ機構が必要である。制御流量分解能としてミトコンドリアを $0.5\mu\text{m}$ の球とみなした場合の体積 $6.5 \times 10^{-17}\text{L}$ を目標に掲げている。これをフェムトリットルポンプと呼んでいる ($\text{femto}=10^{-15}$)。このポンプ作製においては、シリンジ内でピストンを駆動する医療用注射器と同じ構成を採っている。その際、ピペット先端からの液体の流入出以外のポンプ機構部からの液体の漏れを極力少なくする構造とするために真空機器でよく用いられているベローズをピストン伸縮部に用い、シリンジ内面とピストンが摺動しない構造を採った。ポンプ機構部からピペット先端まではオイル（フロリナート）で満たし、ナノピペット先端から細胞培地にみたせした純水を先端から吸引する。このオイルと純水の界面をポンプ機構により操作し、界面が移動した分をナノピペット先端から流入出する液量として顕微鏡画像から側長すると最少 0.3fL の操作量を確認している。この量は、 $1\mu\text{m}$ 球の体積 0.5fL 以下の流量に相当し、細胞内小器官 $1\mu\text{m}$ 球の吸引／吐出操作が可能なことを示している[25],[27]。

オペレータは顕微鏡画像が映し出されているモニターで細胞を観察しながらジョイスティックによりマニピュレータとポンプを操作する。

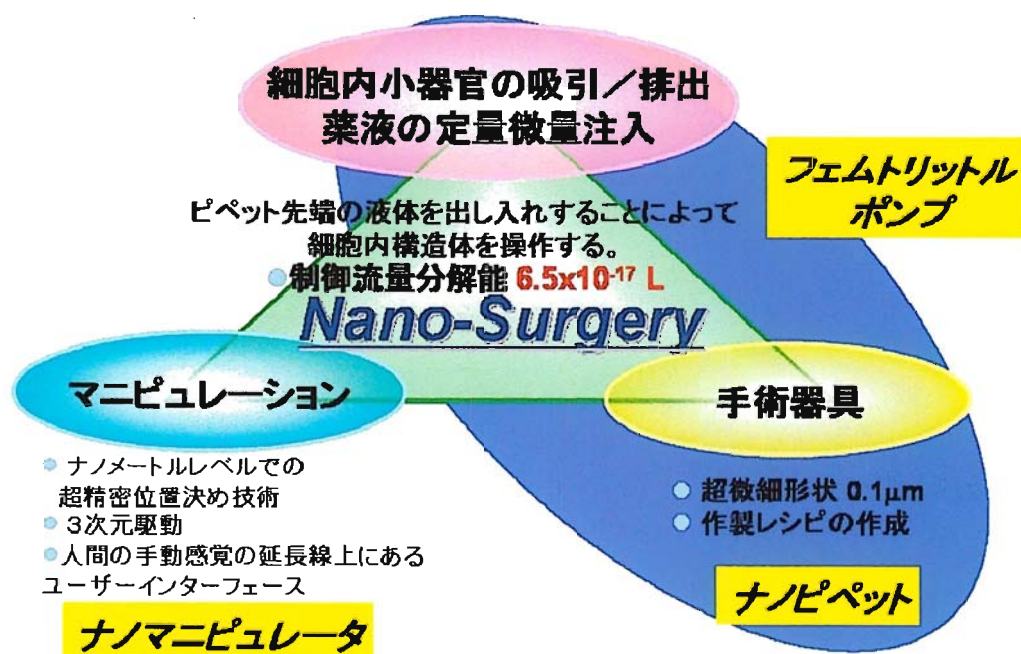


図 1-2 ナノサージャリー3つの技術要素

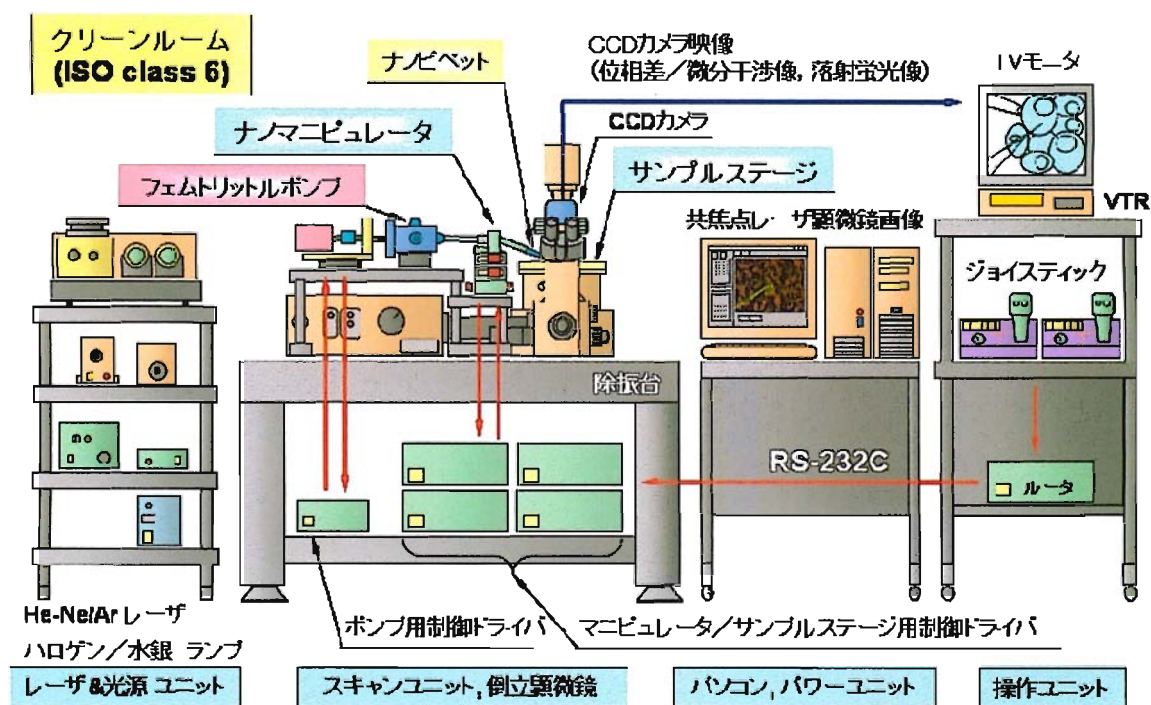


図 1-3 ナノサージャリー装置のシステム構成

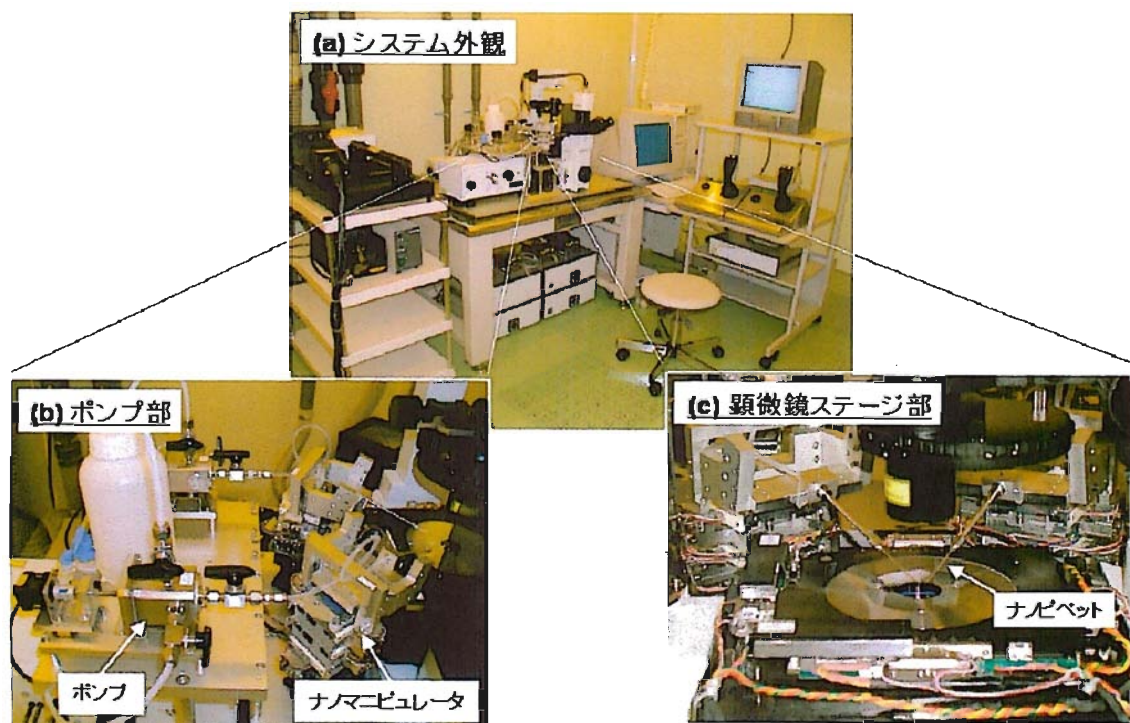


図 1-4 ナノサージャリー装置の外観

1.3 本研究の目的

本研究では、光学顕微鏡では観察できないアト・フェムトリットルレベルの微量液量を定量的に操作する超微量液体制御技術の開発を目的とし、バイオ分野のみならず、半導体微細加工分野においても利用可能な応用展開を図った。提案する超微量液体制御手法は、先端内径 $1\mu\text{m}$ 以下のガラス微細管（ナノピペット）内に駆動流体と薬液との 2 液界面を形成し、ポンプにより圧力を変化させ、その界面位置を制御することで、ピペット先端から注排出される液量を制御する手法である。この界面において、界面張力と界面に加わる圧力はつり合い、界面径と圧力は反比例の関係にあるため、圧力を計測することにより、界面がピペットの何処の径の位置にあるかを把握できる。ピペットの先端がテーパの形状であり、予めピペット形状が分かれば、所望の操作する液量をポンプから印加する圧力を変動させることによって制御することが可能となる。

1.4 本論文の構成

第 1 章では、序論を述べた。第 2 章では、細胞内小器官を取り扱う手術器具であるナノピペット形成に関して述べる。第 3 章では、低リークポンプを用いた微量液体制御システムに関して述べる。第 4 章では、高分解能・長ストロークの性能を有するナノマニピュレータに関して述べる。第 5 章では、応用展開として、3 次元形状基板への 3 次元回路パターンニング、微細加工、メッキ成膜に関して述べる。第 6 章では本論文の総括を行う。

第2章 微細中空ナノピペットの形成

2.1 はじめに

ミトコンドリアや葉緑体などの細胞内小器官は、 $1\mu\text{m}$ かそれ以下の寸法である。例えば、ミトコンドリアの寸法は、おおよそ短径 $0.5\sim 1.0\mu\text{m}$ 、長径 $1.0\sim 2.0\mu\text{m}$ である。このように細胞内小器官を吸引／排出する操作を行うには、先端内径が $1\mu\text{m}$ 以下の微細管を形成しなければならない。また、定量に液体操作を行うには、ピペット形状をリファレンス化しておく必要がある。本章では、その微細管形成において、中空のガラス管を材料として先端内径が数 μm から $1\mu\text{m}$ 以下のガラス微細管であるナノピペットの形成に関して述べる。

2.2 微細管形成方法

ナノピペットの形成は、ナリシゲ製プラーPC-10 を用いた。これは、図 2-1 に示すような工程でナノピペットを作製できる。抵抗加熱ヒータにガラス管を入れヒータに電流を流すことでヒータが赤熱し、その放熱によってガラスが温められる。図 2-2 にヒータに印加する電圧と電流の履歴の一例を示す。温められ強度的に弱くなったガラスはガラス管下端に取り付けられたおもりの自重により徐々に下方方向に引っ張られ、ついには上側と下側で分離する。このようにして上側と下側の2つのナノピペットが形成される。使用している抵抗加熱ヒータは、カンタルであり、表 2-1 にその成分と性質を示す。また、ナノピペット作

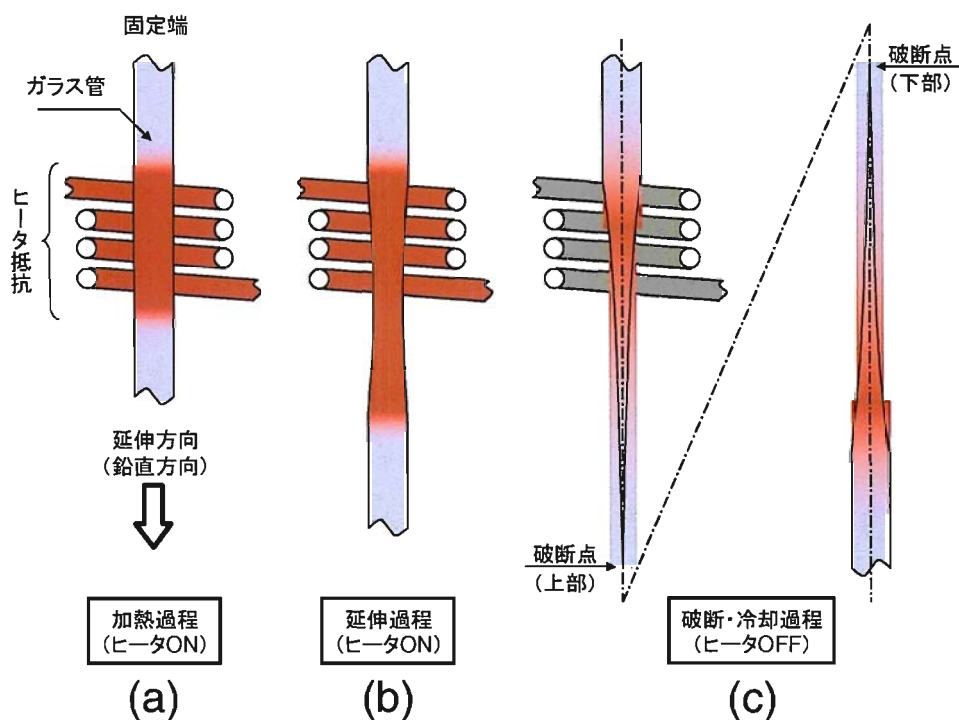


図 2-1 ピペット形成方法

製の材料は、ナリング製 G-1 および G-100 を用いた。G-1 は寸法 $\phi 0.6 \times 1.0 \text{ mm}$, $L=90 \text{ mm}$, G-100 は寸法 $\phi 0.7 \times 1.0 \text{ mm}$, $L=90 \text{ mm}$ のホウケイ酸ガラス管であり, その中でも耐熱ガラスとして有名なパイレックスガラスである。その成分と性質を表 2-2 に示す。

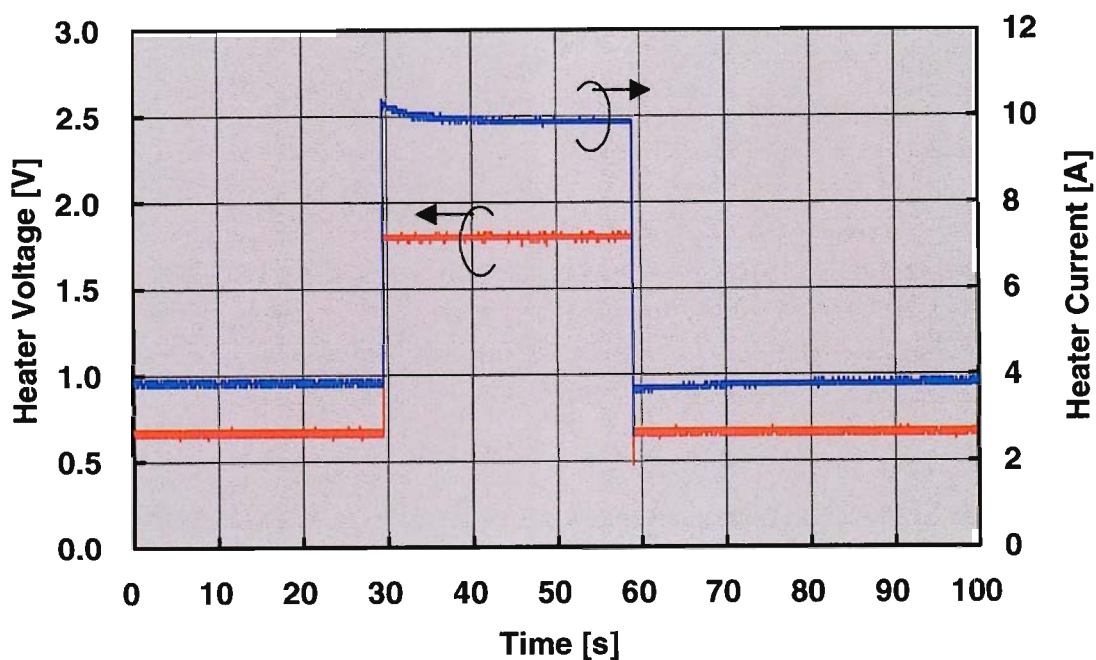


図 2-2 ヒータ印加電圧, 電流の履歴波形

表 2-1 カンタルの成分と性質[30]

成分	Fe	69.0
	Cr	23.4
	Al	5.7
	Co	1.9
抵抗率	145 $\mu\Omega \cdot \text{cm}$ (20°C)	
	175 $\mu\Omega \cdot \text{cm}$ (1300°C)	
抵抗温度係数	60 ppm/°C	
最高使用温度	1300 °C	

表 2-2 ホウケイ酸ガラスの成分と性質（ナリシゲ提供資料）

物理的性質	歪点	510	°C	
	除冷点	560	°C	
	軟化点	821	°C	
	作業点	1252	°C	
	熱膨張係数	3.25 x 10 ⁻⁶	/°C	
	比熱	0.1725	°Ccal/cmsec°C	
	比重	2.23		
	ヤング率	6.4x10 ⁵	Kg/cm ²	
	ポアソン比	0.2		
	曲げ強度	4 ~ 7 x 10 ²	Kg/cm ²	
熱的性質	屈折率	1.472	Nd:589.3nm	
	最大使用可能温度	490	°C	
	常用耐熱温度	230	°C	
	耐ヒートショック温度	150	°C	150mmX150mmX6mm厚板材
ガラス組成	SiO ₂	80.9	%	
	Al ₂ O ₃	2.3	%	
	B ₂ O ₃	12.7	%	
	Na ₂ O	4	%	
	K ₂ O	0.04	%	
	Others	0.06	%	
電気特性	誘電率	0.5		1MHz20°C
	誘電率	5.1		1MHz20°C
	誘電損失	2.6		1MHz20°C
	体積抵抗	15	25°C Ω cm	Log10
		8.1	250°C Ω cm	
		6.6	350°C Ω cm	

2.2 先端径の観察結果と考察

2.2.1 ヒータ電力依存性

作製したピペットの先端は図 2-3 のように冷陰極電界放出型走査型電子顕微鏡 FE-SEM(HITACHI S-4800)にて観察した。先端内径 140nm, 外径 210nm の微細なナノピペットが形成されている。このときの作製パラメータは, 引張加重 2.9N, 印加電力は 27.9W であった。

このようにして, 引張加重 2.9N 一定, ヒータ電力を作製パラメータとして, 先端内径の測長結果を示す。ヒータ電力の増加に伴いピペット先端内径は減少している。また, 引張加重を変化させたヒータ電力依存性の結果を図 2-5 に示す。引張加重を変化させてもそれほど大きく先端径は変化しないことが分かった。



図 2-3 ピペット先端の SEM 像

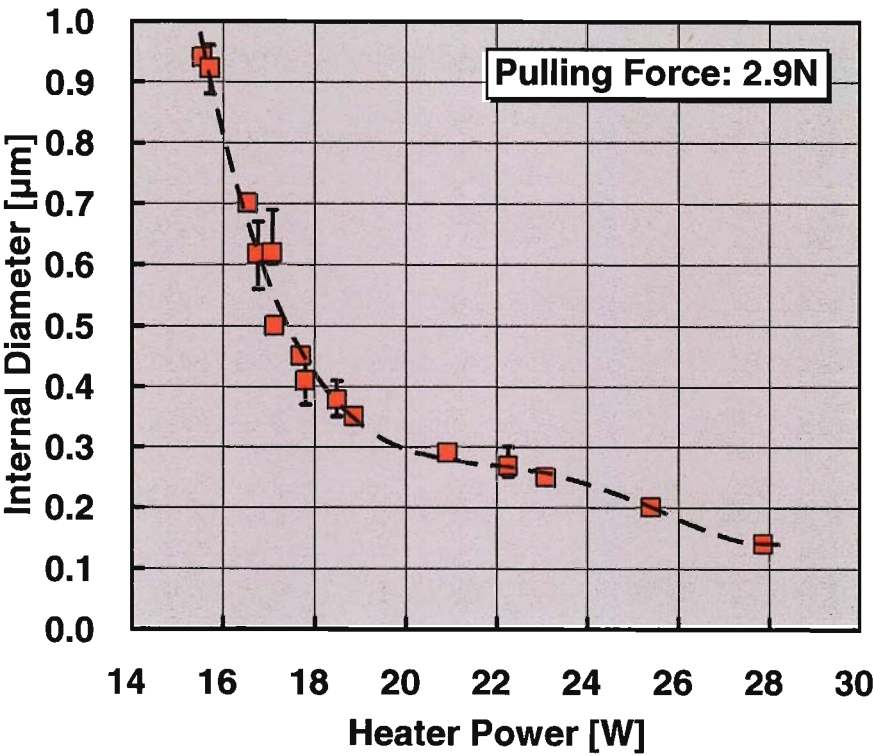
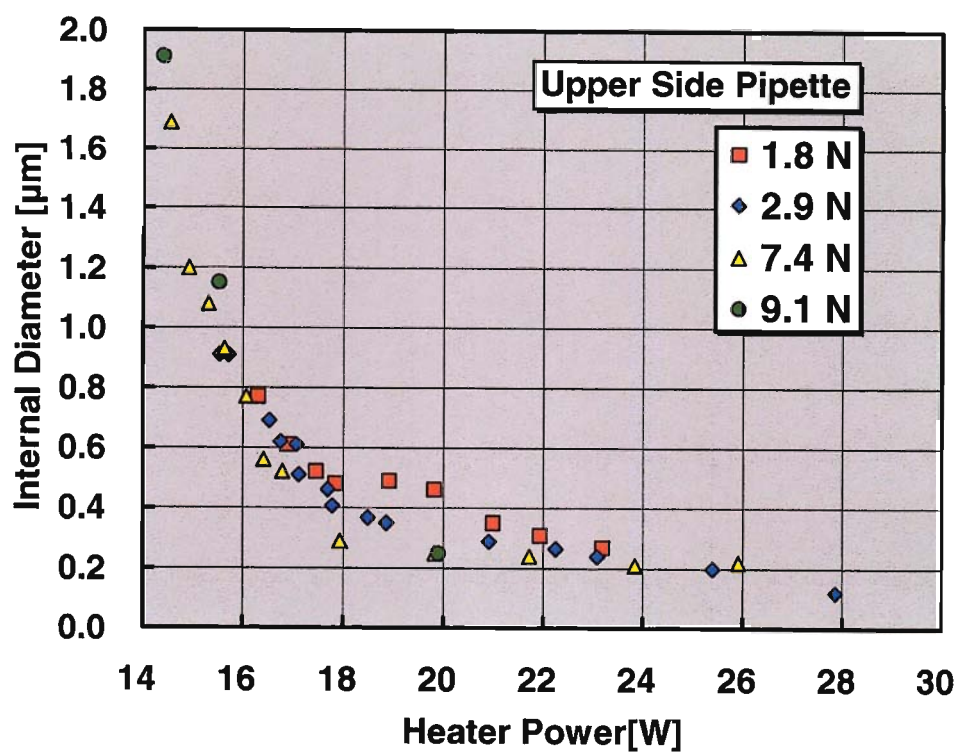
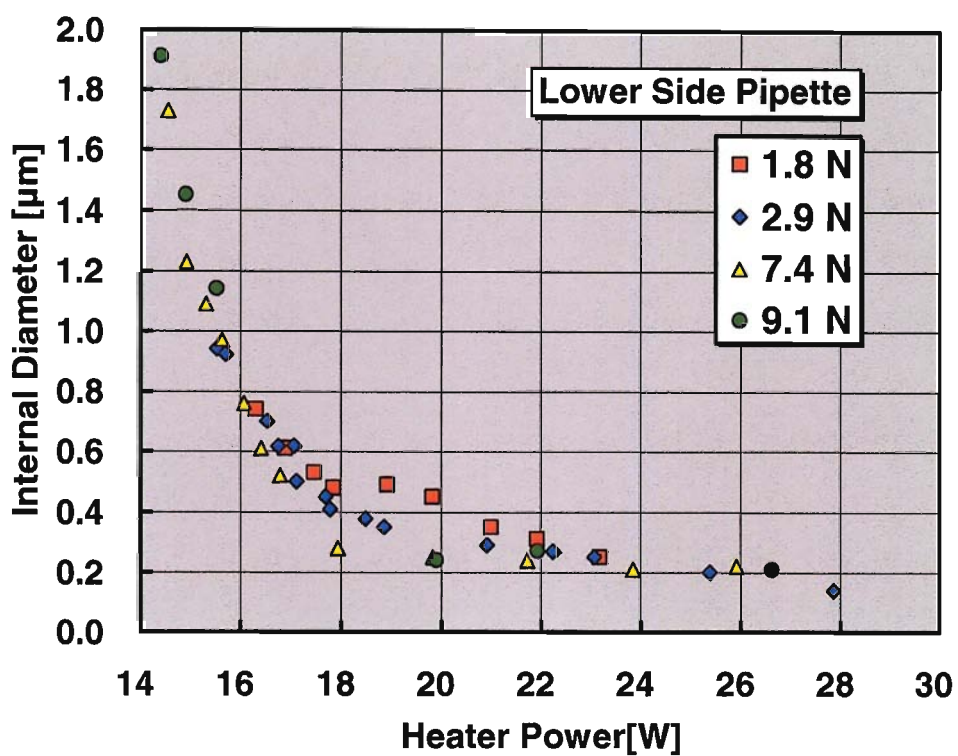


図 2-4 ヒータ電力に対するピペット先端内径の変化（引張加重 2.9N 一定）



(a)上端側



(b)下端

図 2-5 ヒータ電力に対するピペット先端内径の変化（引張加重可変）

2.2.2 ばらつき評価

ガラス管材料 G1, 引張加重 2.9N 一定で, ヒータ電力をパラメータとしてばらつきを評価した結果を図 2-6 に示す. 作製したピペットの本数は 10 本である. ヒータ電力にはほとんど依存せず, 最大 20% 近くのばらつきが見られる.

2.2.3 引張加重依存性

ガラス管材料 G1, ヒータ電力 18.4W 一定で, 引張加重をパラメータとして先端径の評価をした結果を図 2-7 に示す. 引張加重の増加に伴い先端径はわずかながら減少の傾向にある.

2.2.4 ガラス管形状依存性

肉薄ガラス管 G100, 引張加重 2.9N 一定で, ヒータ電力をパラメータとして作製した結果を図 2-8 示す. ガラス管 G1 と比較して先端内径の大きいピペットが作製されている. ヒータ電力 15.5W において作製した先端の SEM 像を図 2-9 に示す. 肉薄のピペットが作製されている.

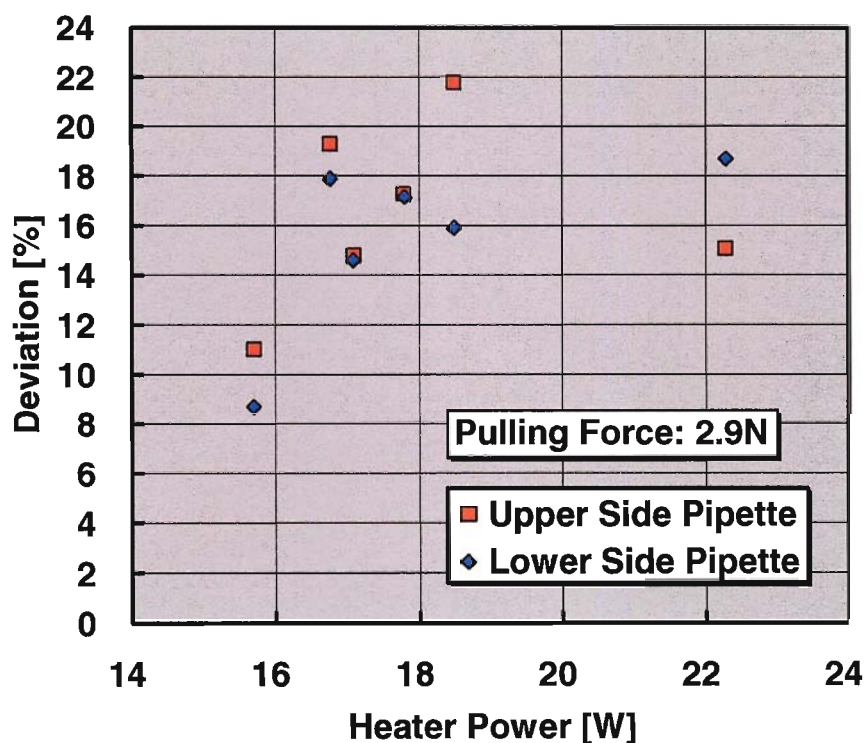


図 2-6 ばらつき評価 (引張加重 2.9N 一定, 作製本数 10 本)

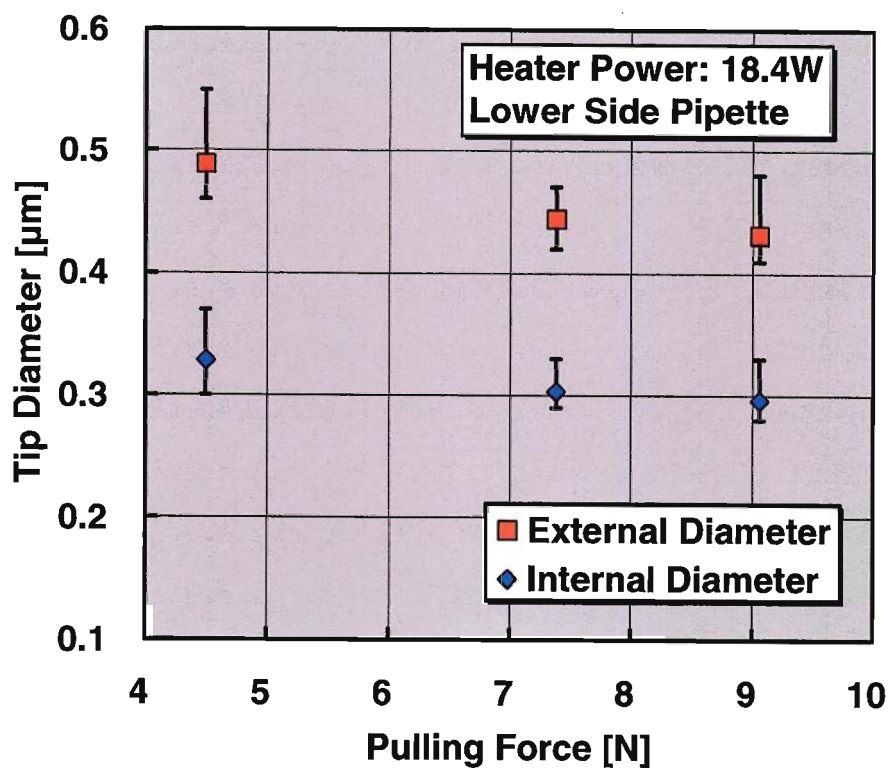


図 2-7 引張加重依存性

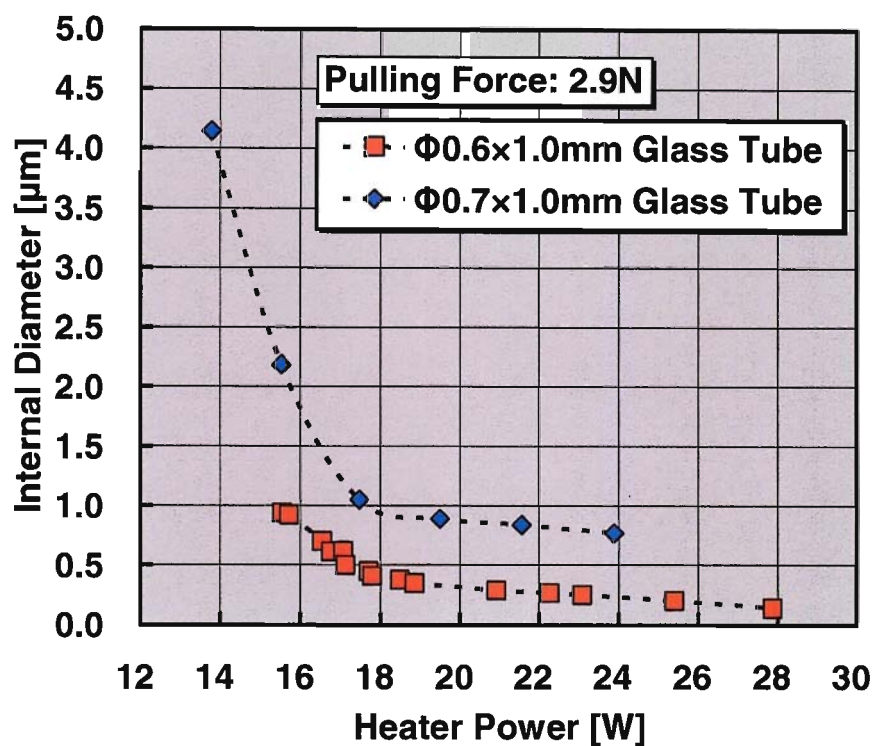


図 2-8 ガラス管形状依存性



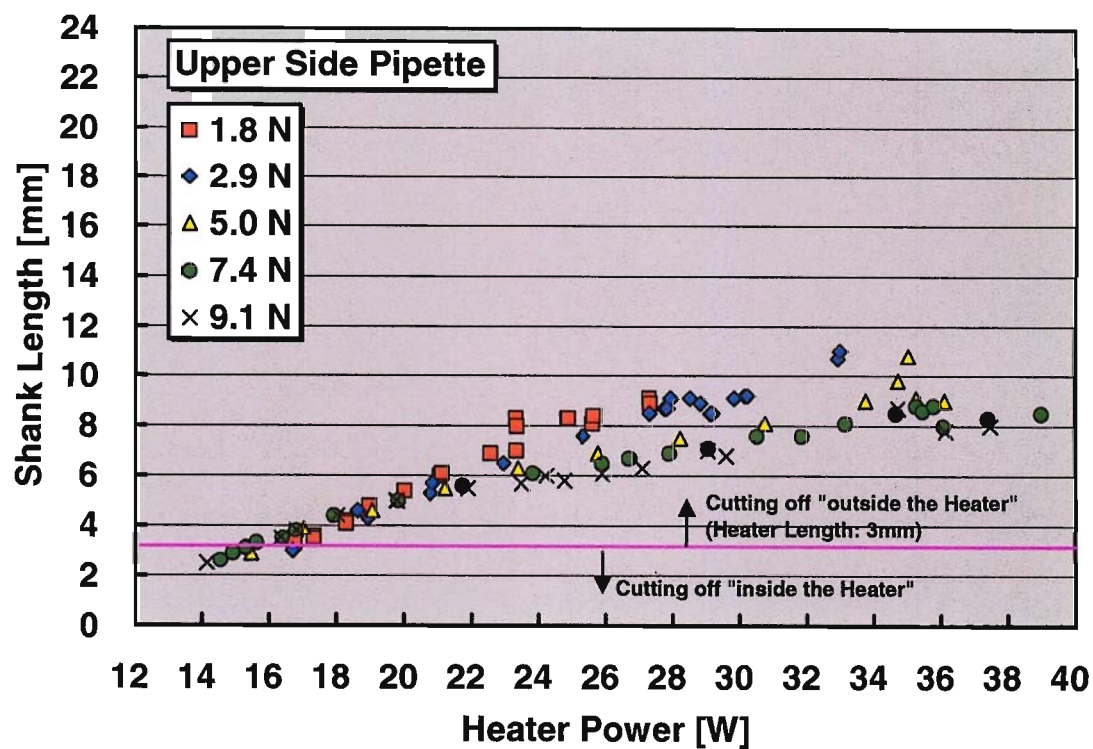
図 2-9 肉薄ガラス管を材料としたナノピペット先端の SEM 像(ヒータ電力 15.5W)

2.3 シャンク長の観察結果と考察

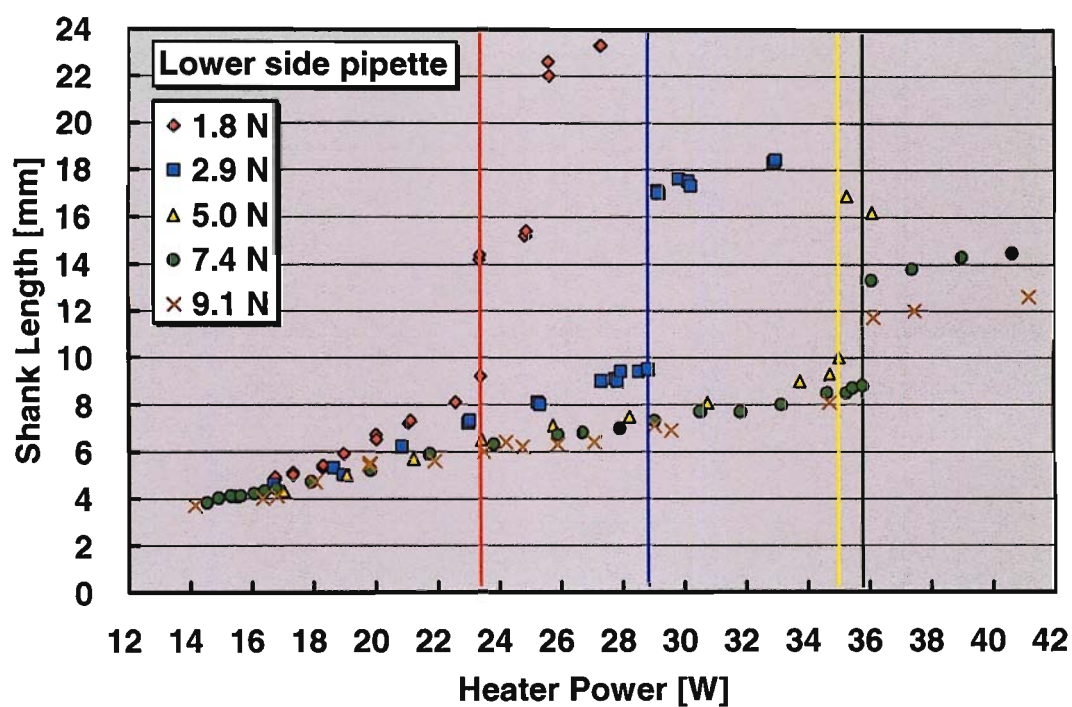
2.3.1 ヒータ電力依存性

ピペット形状として特徴的なパラメータにシャンク長がある。シャンク長を実体顕微鏡にて最小目盛 0.1mm のスケール上に置いて観察し、シャンク長を測長した。

図 2-10 に引張加重を変化させ、ヒータ電力をパラメータとして作製したピペットのシャンク長の測長結果を示す。ヒータ電力に比例してシャンク長は増加し、下端のピペットに関しては急激にシャンク長が増加している点がある。この急激に延びる点は引張加重の増加に伴いヒータ電力が高い方にシフトしていることがわかる。



(a) ピペット上端側



(b) ピペット下端側

図 2-10 ピペットのシャンク長—ヒータ電力依存性

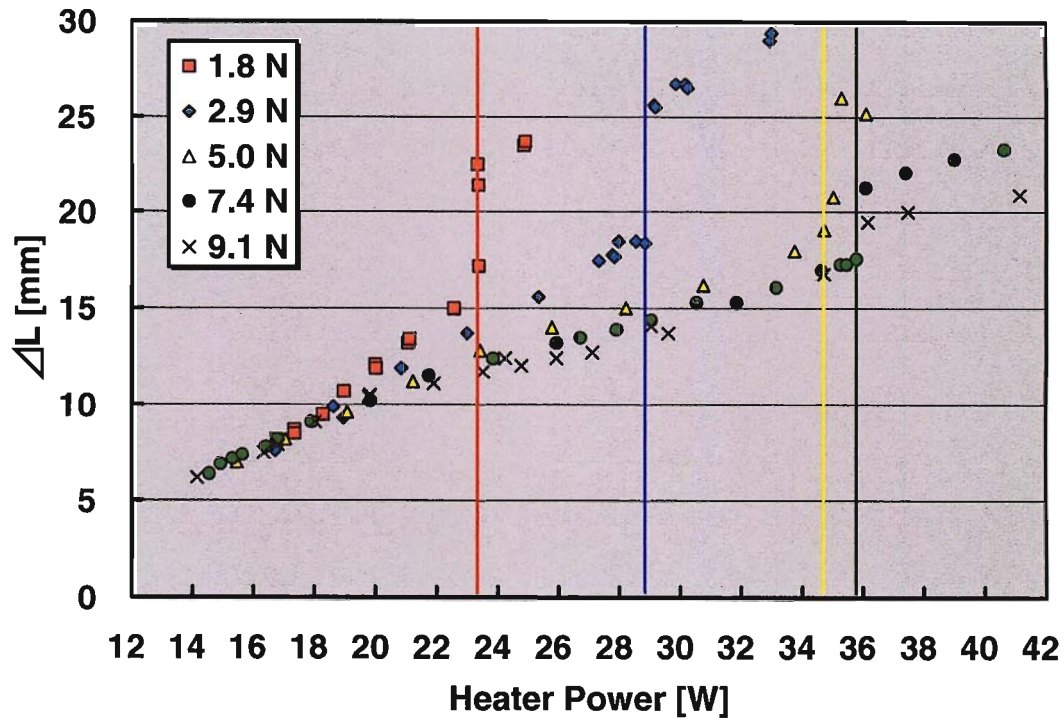


図 2-11 ヒータ電力変化に対する伸び量

2.3.2 ガラス転移温度に対するヒータ電力値の推定

上下のシャンク長を加算し、伸び量としてグラフ化しなおした結果を図 2-11 に示す。次に引張加重をパラメータとして急激に変化するヒータ電力をグラフ化した結果を図 2-12 に示す。引張加重増加に伴いシャンク長が急激に伸びる点のヒータ電力が大きくなることが分かる。この点をガラス転移温度に対応するヒータ電力とする[31]と、ガラス転移温度は引張速度が大きいほど高くなるため、次に平均引張速度をパラメータとして再グラフ化したものを図 2-13 に示す。引張速度上昇に伴いガラス転移温度に対応するヒータ電力が上昇する傾向にあることが分かる。

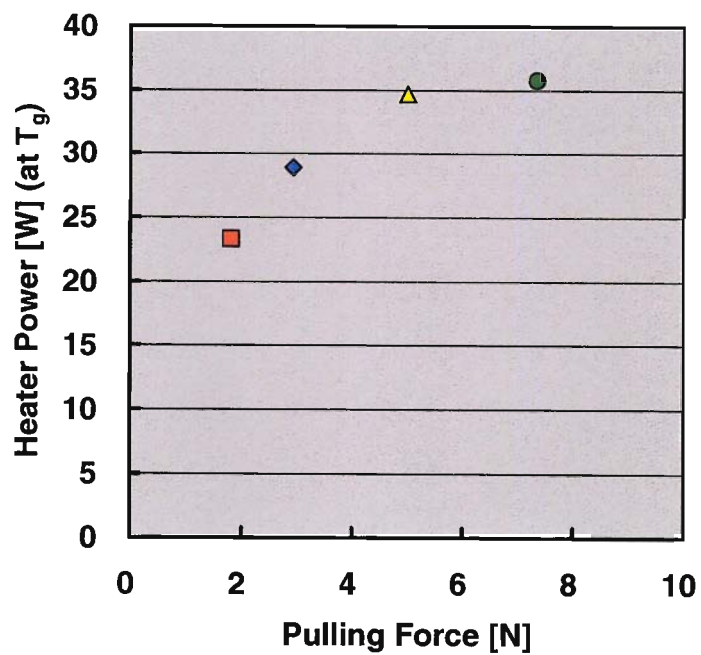


図 2-12 引張加重の変化に対するガラス転移温度に対応するヒータ電力

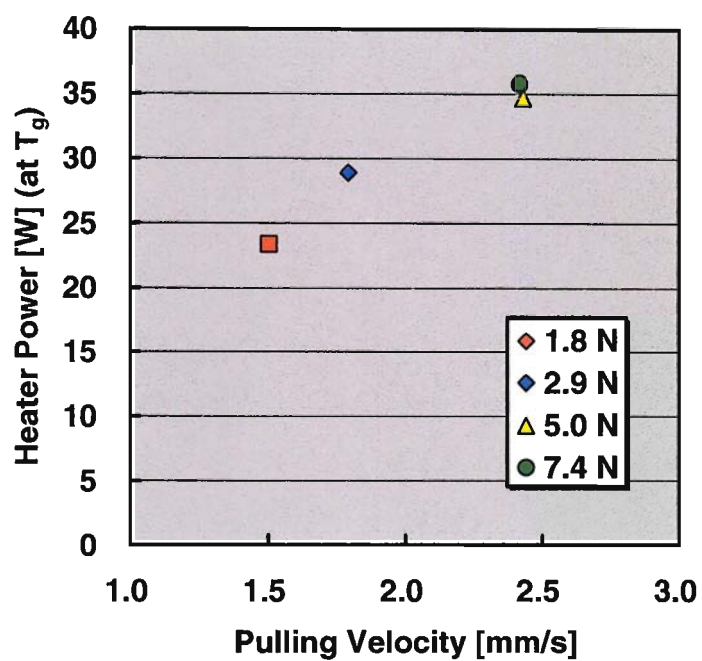


図 2-13 引張速度の変化に対するガラス転移温度に対応するヒータ電力

2.4 まとめ

ピペット形成のパラメータとして、ヒータ電力、引張加重、材料の形状をパラメータとして、先端径とそのばらつき、シャンク長の評価を行った。最小先端内径 140nm の微細なナノピペットの形成に成功した。ガラス転移温度に対応するヒータ電力以下ではピペット先端がヒータ電力に増加に伴って減少する傾向がわかった。また、引張加重を変化させることでガラス転移温度を変化させることができることがわかった。

第3章 低リークポンプによる微量液量操作技術

3.1 はじめに

細胞内小器官のミトコンドリアや葉緑体は $1\mu\text{m}$ かそれ以下の寸法である。このようにマイクロナノメートル領域の微量領域環境では、支配する物理法則が我々の住む環境とは大きく異なり、我々の生活の中では気にとめなかった些細なことが微量環境においては問題となることもある。逆に、このような微小環境で起こる物理現象を把握するにより、それまではうまくいかなかった問題も、微小領域特有の現象をうまく利用することによって解決することができるかもしれない。本章においては、このような微小領域下における物理現象に関してスケール効果をいう概念からその性質を把握し、ピペット先端における駆動用液体と操作液体との間にできる界面での力の釣合いを考え、それを利用することによってピペット先端の液体を定量的に操作する手法を提案する。細胞内小器官を例えば $1\mu\text{m}$ の球とみなすとその体積は 0.5fL になる。最低でもこの流量を最小分解能として操作することができなければ、細胞内小器官ひとつを吸引／排出できない。本章では、圧力センサを取り付けたナノサージェリー装置のポンプシステムを用いて、ピペット先端に形成される界面を移動させることにより、本ポンプの微量流量操作分解能の性能を評価した。また、圧力変化に対して界面移動の特性を測定した。

3.2 微量液量操作モデル

図 3-1 にナノピペット先端内に駆動用流体（ここではオイル）と薬液（ここでは水）を満たし 2 液界面が形成された状態の模式図を示す。先端側に満たされた水は先端開口部を通して圧力が解放されたナノピペット外部と連続的につながっていると想定する。また、オイルにはナノピペット後端より一定の圧力 P が加えられているものとする。すると、オイル／水の界面に加わる力はナノピペット内面での界面張力とある所定位置で釣合い、界面は静止状態となる。この界面の面積を界面のあるピペット内半径 r を用いて πr^2 と近似すると界面における釣合いの関係から次式が導かれる。

$$r(P) \equiv 2\gamma \cos\left(\theta + \frac{\alpha}{2}\right) \frac{1}{P} \quad (3-1)$$

ただし、 P : ポンプ内圧力

γ : 界面張力

θ : 接触角

α : ピペット開口角

である。

(3-1)式より、ポンプ内圧力 P を決定すれば、 γ, θ は材料によって決まる定数であるから、界面のピペット内半径 r が求まる。すなわち、単調減少するピペット内半径のピペット中心

軸に対する関数を定義できればピペット先端における界面の位置もポンプ内圧力で決定できる。

そこで、ピペット内半径を図 3-2 のような座標で定義し、

$$r(x) \cong -\tan\left(\frac{\alpha}{2}\right)x + r_0 \quad (3-2)$$

のように表されると仮定する。ただし、 r_0 はピペット先端における半径である。

図 3-2 においてピペット内半径 r_b , r_f ($r_b > r_f$) の位置に界面が静止したときの圧力をそれぞれ P_b , P_f とする。いま、圧力が P_b から P_f まで変化した場合、図 3-2 の斜線部の体積 V は

$$V = \int_{P_b}^{P_f} \frac{dr(P)}{\frac{dP}{dr(x)} \frac{dx}{dP}} \pi r(P)^2 dP \quad (3-3)$$

となる。(1), (2) 式を(3)式に代入すると、

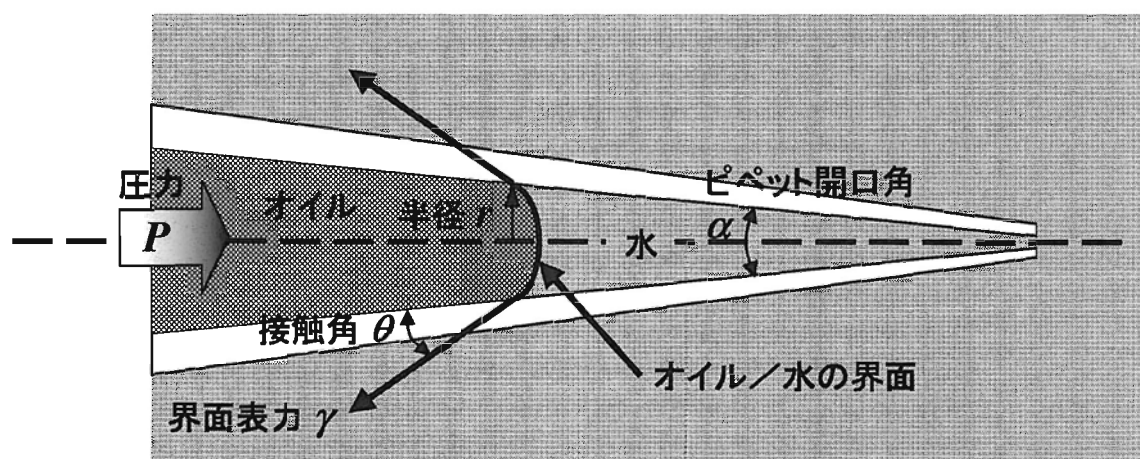


図 3-1 フロリナート／水界面の力の釣り合い

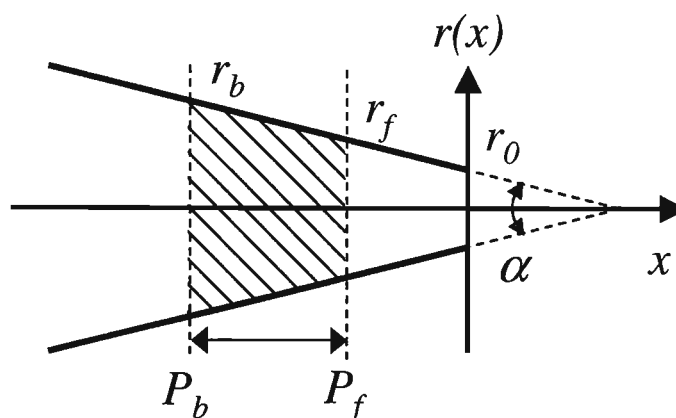


図 3-2 ピペット形状と操作流量の計算

$$V = \frac{8\pi\gamma^3 \cos^3(\theta + \frac{\alpha}{2})}{3 \tan \frac{\alpha}{2}} (P_b^{-3} - P_f^{-3})$$

$$= C(P_b^{-3} - P_f^{-3}) \left(\because C \equiv \frac{8\pi\gamma^3 \cos^3(\theta + \frac{\alpha}{2})}{3 \tan \frac{\alpha}{2}} \right) \quad (3-4)$$

を得る。

以上より予めピペット形状と界面半径の圧力特性が分かっているならば、液体の定量操作が可能となる。

これより構築できる微量流量制御ポンプシステムを図 3-2 に示す。ピペット基端側にある駆動用液体であるオイルの圧力、すなわち印加圧力を圧力センサにより計測し、目標流量値となるまで界面を移動するフィードバック機構を構築できる。ユーザーは所望の操作流量値を入力し、(3-4)式を用いて現在の圧力値から吐出／吸引操作完了の圧力値になるまで、ベローズピストンを等速移動させる。操作対象に応じてピペットが異なる場合があるので、メモリにピペット形状毎のパラメータ(A,B)を予め保存しておかなければいけない。ユーザーはそのリファレンス化されたピペット形状群から所望のピペットを選択し、目標の操作

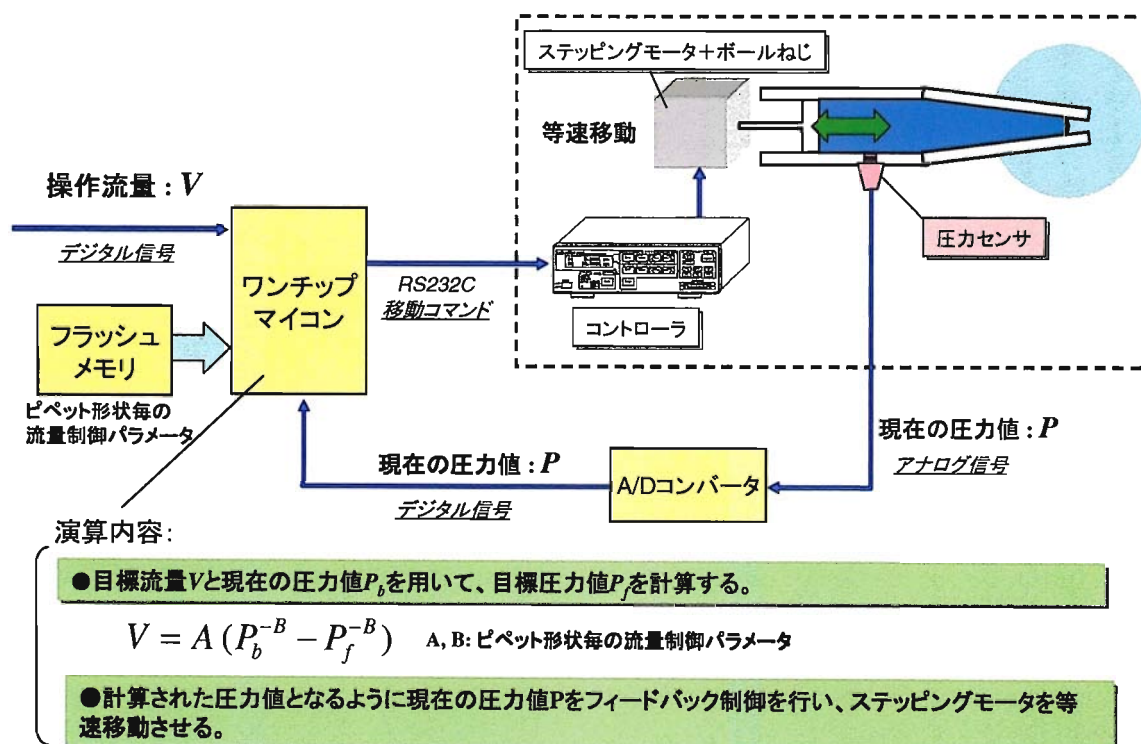


図 3-3 微量流量制御システム

流量と合わせてマイコンにて操作完了圧力を計算し、定量操作を行う制御システムを構築することができる。

3.3 ポンプシステム構成

ベローズをステッピングモータとボールねじの組み合わせにより伸縮駆動してピペット先端の2液界面を移動させるポンプ機構のシステム構成を図 3-4 に示す。ポンプには図 3-5 に示すシリコンダイヤフラム型圧力センサ(Kulite Semiconductor, XT-190-25G)をとりつけ、アンプ(TEAC 製半導体式圧力トランスデューサ用直流アンプ SA-57)にて出力電圧を増幅し圧力計測系を構築した。

ナノピペット作製は、ナリシゲ製プラーPC-10 を用いた。ガラス管材料としては全長 90mm、外径 1mm、内径 0.6mm の硼珪酸ガラスを用い、作製されたピペット先端内径 270nm であった。

このポンプからピペットまでは駆動液体である揮発性で機器を汚染しにくいフロリナート (FC-40: 密度 1870kg/m^3 , 表面張力 16mN/m @ 25°C) で満たし、倒立顕微鏡 (Inverted-Microscope: OLYMPUS IX-70)のステージにあるカバーガラス上に盛った水にピペット先端を水平 10 度の角度で侵入させフロリナート/水の 2 液界面を形成した。

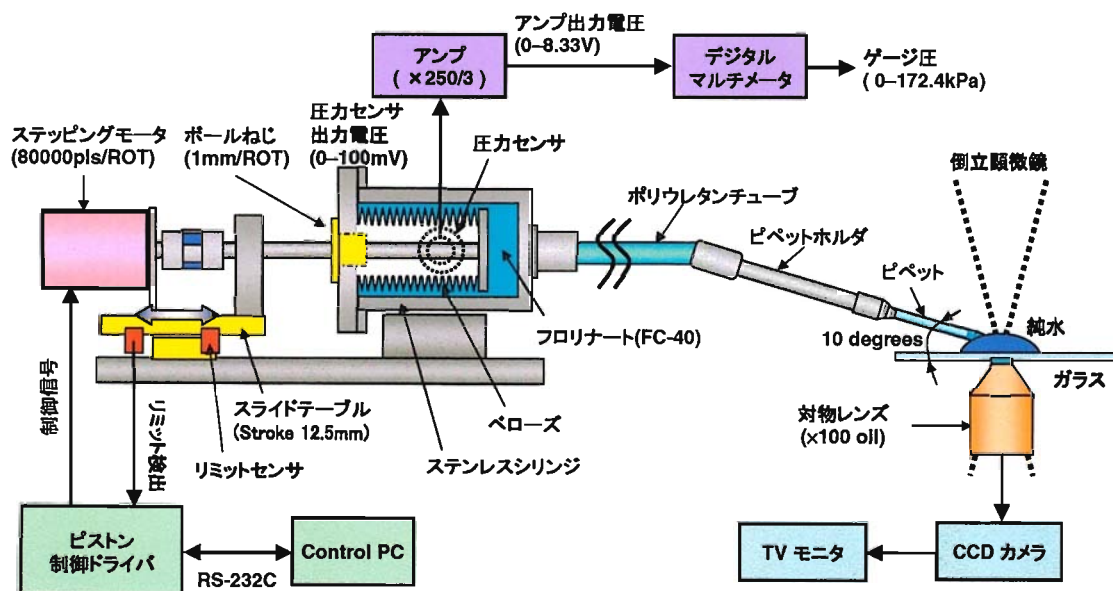


図 3-4 ポンプシステム構成（横から見た図）

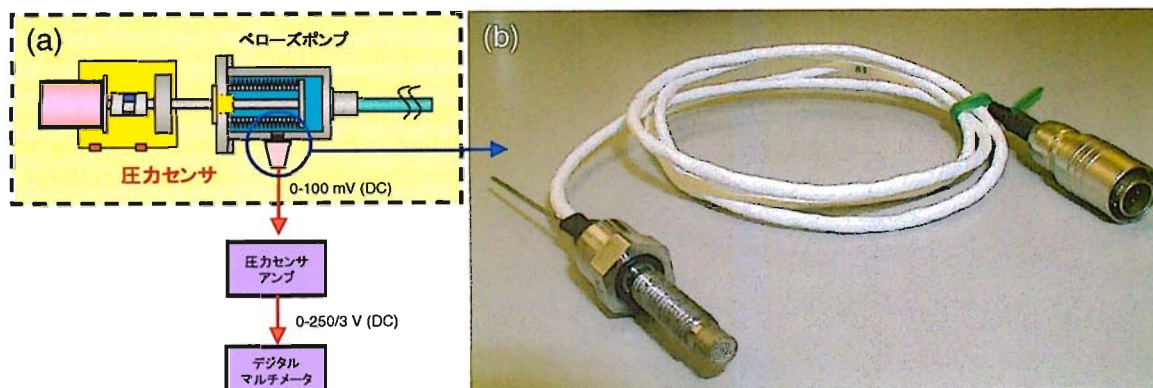


図 3-5 圧力センサ (a) ポンプシステム (上から見た図) (b) 使用圧力センサ外観

3.4 モデルの検証

3.4.1 実験方法

先端内径が 270nm のナノピペットを用い、前節で述べた微量液量操作モデルの検証を行った。図 3-6 に示すように、各印加圧力に対する界面径を顕微鏡画像にて観察・計測した。

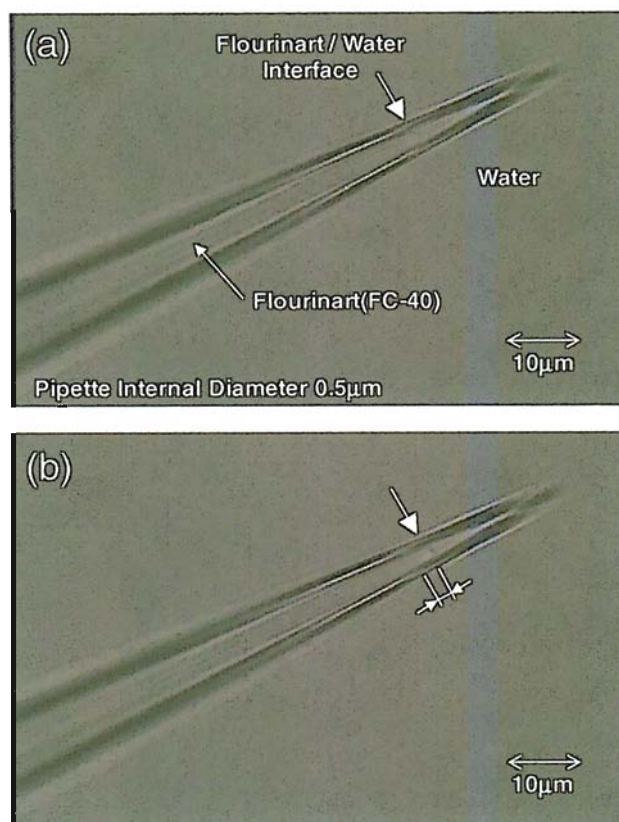


図 3-6 光学顕微鏡による界面の観察

3.4.2 界面半径と圧力の関係

実験結果として、図 3-7 に界面半径と圧力の関係を示す。界面半径は圧力に対して反比例の関係にあり、モデルと一致した。このときの式(3-1)における係数は、式(3-5)のようになった。

$$2\gamma \cos\left(\theta + \frac{\alpha}{2}\right) = 0.110 \quad [\text{N/m}] \quad (3-5)$$

3.4.3 操作液量の分解能と印加圧力の関係

図 3-8 に吐出液量の分解能と印加圧力の関係を示す。このときのピペット形状の傾きは $\tan(\alpha/2) = 3.94 \times 10^{-2}$ であり、式(3-5)の係数より、式(3-4)の係数は求められ、式(3-6)のようになる。図 3-8 に示す実線は式(3-6)を表しており、界面の移動から得られる吐出液量の値と一致している。

$$V = 35.0 \left\{ P_b^{-3} - (P_b^{-3} + \Delta P)^{-3} \right\} \quad (3-6)$$

また、先端内径 270nm のナノピペットを用いた場合、0.5 μm 球の容量に相当する 65 アトリットルを吐出するには、圧力を 168kPa にしてこの圧力から圧力センサの分解能の 0.5kPa 分を印加すれば達成できることを示した。

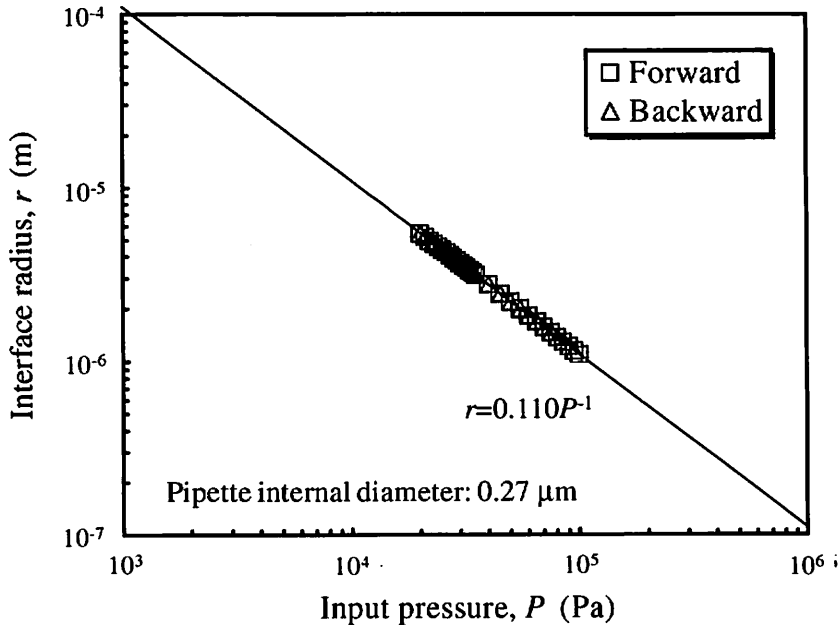


図 3-8 界面半径と印加圧力の関係

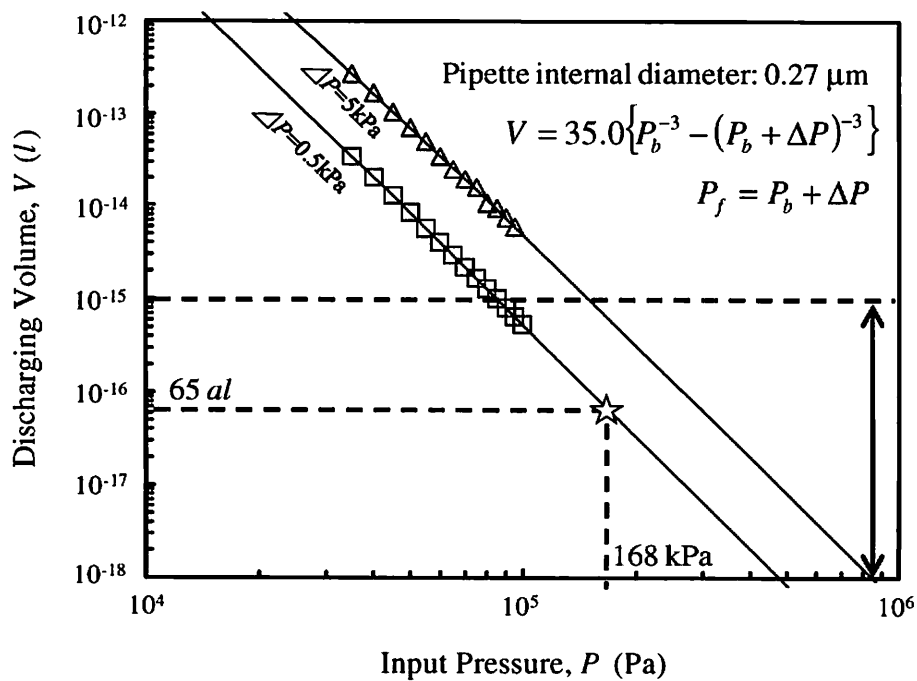


図 3-9 吐出液量の分解能と印加圧力の関係

3.5 まとめ

アト・フェムトリッターレベルの微量な液量を制御する条件としては、界面の形状がピペット先端方向に凸形状であること、ピペット先端の形状がナノメートルレベルでテーパであること、微小な圧力を計測可能なこと、高い印加圧力を保持できる低リークポンプとすることが挙げられる。

第4章 高分解能・長ストロークナノマニピュレータの開発

4.1 はじめに

実際操作を行う場合においては計測位置を指定したからといって、プロービングを微小な計測箇所へ確実に行えるとは限らない。理由はプローブ先端における精度である。どんなに操作シーケンスが正確であっても、プローブ先端における精度が計測部分よりも低ければ、確実なプロービングは不可能である。もちろん、マニピュレータを構成するステージ単体については、設定パラメータにより十分な位置決め精度を実現可能であるが、プローブ先端までには幾つかの機構を挟んでおり、プローブ先端においてステージと同等の位置決め精度を実現しているとは限らない。そのためプローブ先端における精度を計測・評価する必要がある。本章においては、マニピュレータをマニュアル操作ではなくコマンド入力による方法で位置移動させ、その時のプローブ先端における精度を計測した。また、マニピュレータ移動時の各パラメータを変更することにより、精度の向上を試みた。そして最後に、求めた精度から現状の本システムで自動操作を行った際にプロービング可能な配線や電極パッドなどの計測箇所のサイズを求める。

4.2 マニピュレータの制御方法

プローブ先端の精度を計測する上で、駆動部分であるマニピュレータ単体の制御方法及びその精度は非常に重要である。そのため、本節ではマニピュレータの構成・仕様及び制御方法について述べる。

4.2.1 マニピュレータの構成と仕様

外観としては XY/Z の各軸ごとにセラミック製のガイドプレートに側面に持つステージが用意され、非共振型超音波モータの先端が各ガイドプレートに接触するようにコイル形バネで与圧されながら装着されている。つまり、1台のマニピュレータは3つのステージが組み合わされた形で構成されている。ただし Z 軸のみは前述の機構以外に、 Z ステージに 12° の傾斜を持たせることにより上部に設置したプローブホルダーステージ下部のMCナイロンを摺動させ、横軸移動を縦軸移動に変換する方向変換機構を持たせてある。図 4-1 に実際のマニピュレータの外観写真を示す。

一番上部にあるホルダーは計測時にプローブの先端のみをデバイスに接触させるために、水平方向から 10° 傾けて固定されている。また、内部には移動量の計測のために最小分解能 10nm のリニアエンコーダが組み込まれている。また、サイズも $65\text{X}65\text{X}77\text{mm}$ と小型であり、チャンパ内の限られた空間に複数台のマニピュレータを設置することが可能である。本システムではチャンパ内に4台のマニピュレータと1台の試料ステージが設置されているが、試料ステージはマニピュレータの Z ステージ及びプローブホルダーステージの代わりに試料台を装着させたものなので、実質5台のマニピュレータを設置できたことになる。

表 4-1 にマニピュレータの仕様を記す。

仕様が示すとおり、開発したマニピュレータは小型・高精度に加え X/Y 軸 20mm、 Z 軸 5mm の長ストロークも有し、実売されている類似目的のマニピュレータの仕様が X/Y 軸におけるストローク長で数 mm、位置精度で数 μm であるのに対しいかに高性能かがよく分かる。

加えて、開発したマニピュレータは 10^{-4}Pa オーダーの高真空下での動作も確認しているので、半導体製造現場の環境下で使用可能である。

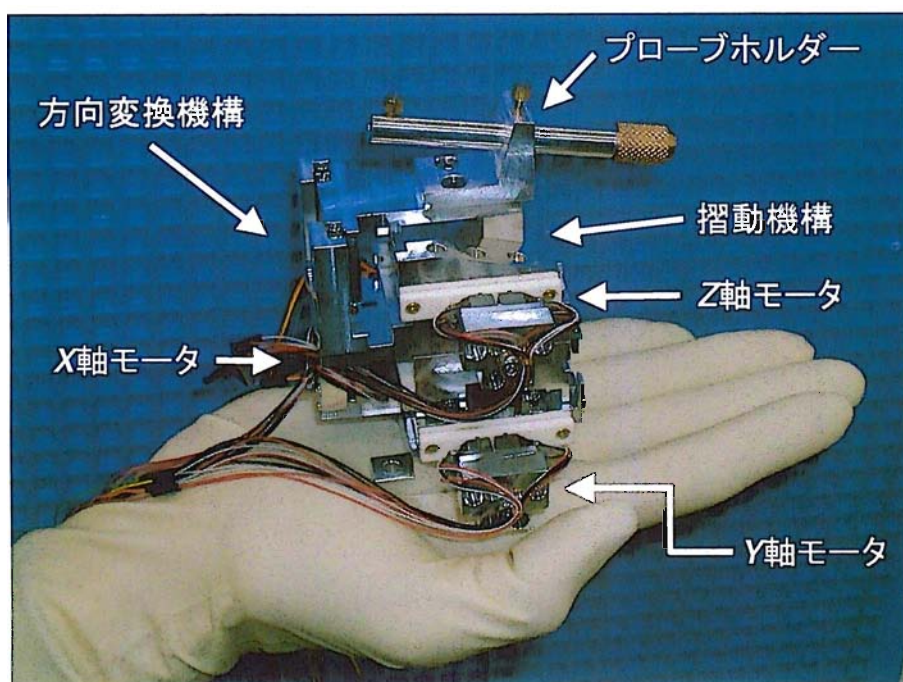


図 4-1. マニピュレータの外観写真

表 4-1. マニピュレータの仕様表

軸構成	$X/Y/Z$ 3軸
ストローク	X/Y 20mm($\pm 10\text{mm}$)
	Z 5mm($\pm 2.5\text{mm}$)
制御分解能	X/Y 10nm
	(Z 2nm)
駆動方式	非共振型超音波モータ
位置検出	リニアエンコーダ (最小分解能 10nm)
サイズ	65 × 65 × 77mm
重量	1.5kg
動作確認真空度	10^{-4}Pa オーダー

4.2.2 制御方法

マニピュレータの制御方法については、4-2-1 中で述べた内部に搭載された最小分解能 10nm のリニアスケール及びエンコーダを用いて制御を行っている。図 4-2 はスケールとエンコーダの搭載図である。実際のマニピュレータの動作は、操作用パソコンから入力された操作情報が RS-232C でルータを通り、各マニピュレータへのドライバへ送られ、PID 制御方式に変換されてマニピュレータへ渡される。この時、マニピュレータはスケールとエンコーダにより、絶えず自分の位置情報をフィードバックしながら移動するクローズドループ駆動で動作している。そのため位置決め完了時には、必ず”指定された座標±位置決め許容量”の位置に静止できる。図 4-3 にマニピュレータの制御系統を示す。

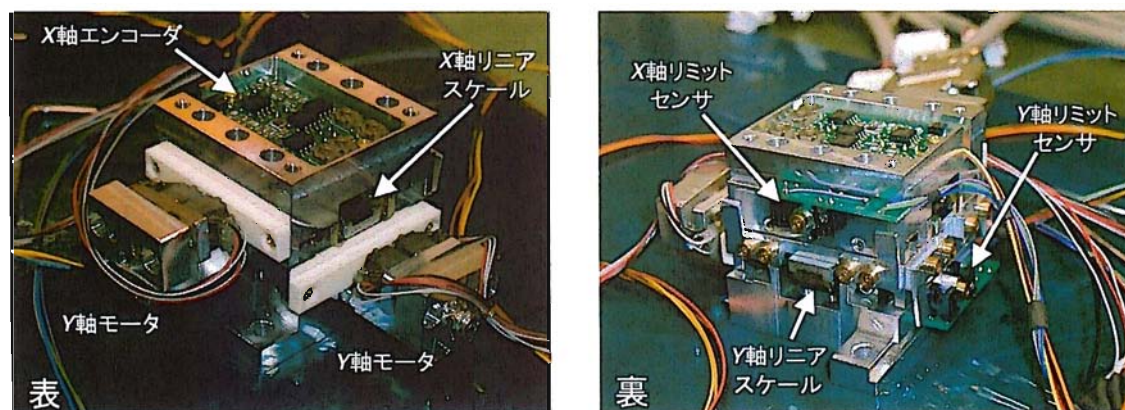


図 4-2. マニピュレータ内部のリニアスケールとエンコーダ

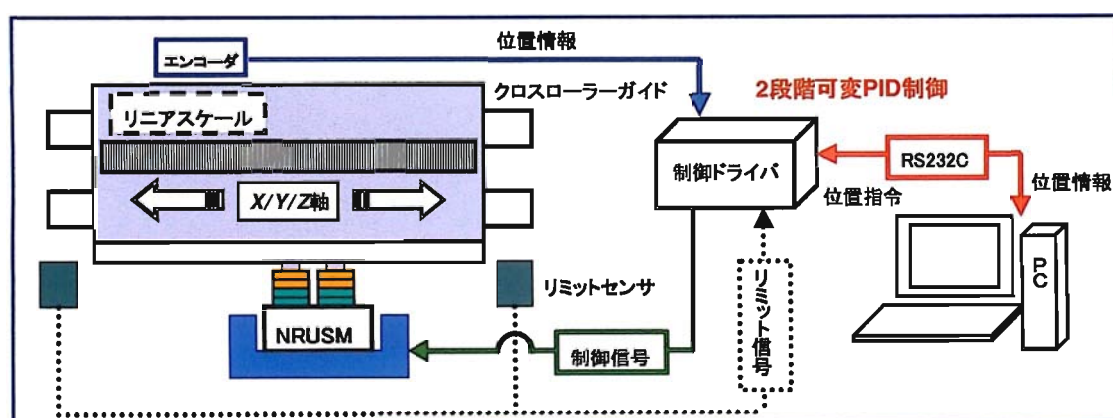


図 4-3. マニピュレータの制御系統図

4.2.3 位置決め許容量

位置決め許容量とはマニピュレータの位置決め完了条件に関係したパラメータである。

マニピュレータの位置決め完了条件は”目的位置 $\pm \alpha$ 内に β sec 居れば位置決め完了”となるが、この α の値が位置決め許容量となる。通常、この α の値が小さいほど目的位置の近くに位置決めできやすく、完了までにかかる時間は長くなる。また、逆にこの α の値が大きければ、位置決めは目的位置から遠くなりやすく、完了までにかかる時間は短くなる。

本章においては、この α の値を 100nm に固定している。

4.3 プローブ先端精度計測

4・2 節で述べたように、マニピュレータの駆動部分においては位置情報をフィードバックしながら制御するクローズドループ駆動のため、原理的にはプローブ先端の位置決め精度についても” \pm 位置決め許容量”で収まるはずである。しかし、実際的にはマニピュレータの駆動部分とプローブ先端とは同等の精度を保持しているとは限らない。そのため、本節ではプローブ先端における精度の計測を行った。

4.3.1 実験方法

プローブ先端の精度計測方法には幾つか考えられるが、本論文では実際にプローブをウェハに接触させることで行った。

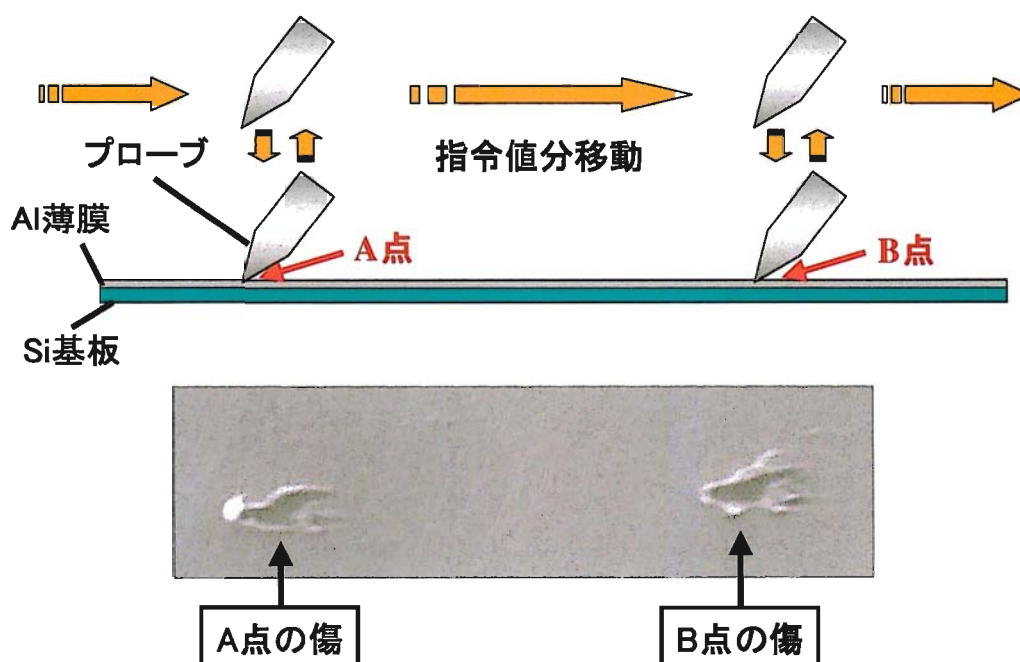


図 4-4. プローブ先端の精度計測方法の模式図（上）と傷の SEM 画像（下）

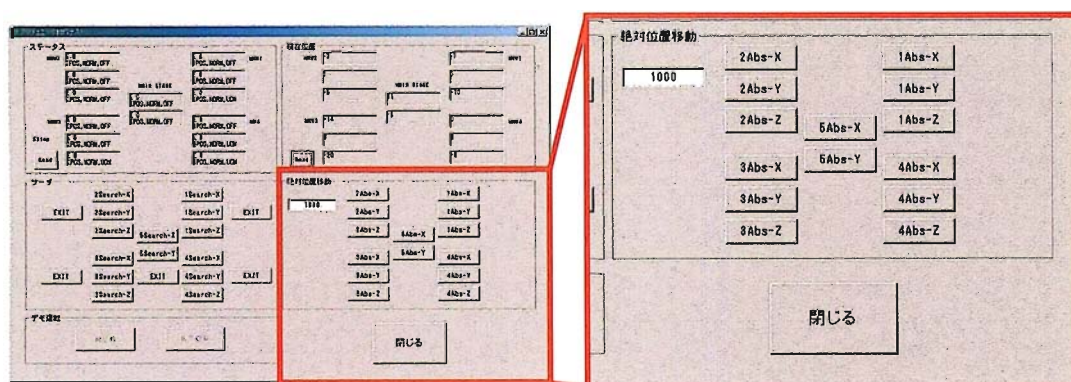


図 4-5. 移動指令値の入力画面

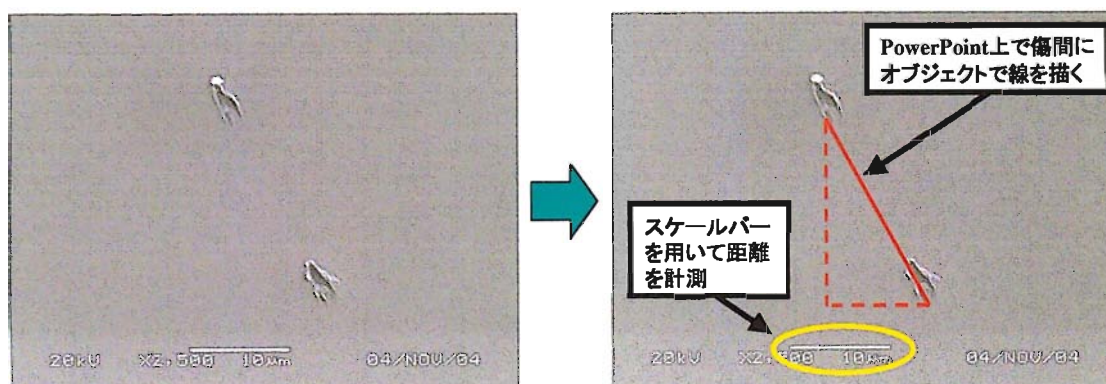


図 4-6. 移動距離の導出方法

4-3-2 実験結果

図 4-7, 4-8, 表 4-2 は移動指令値 $5\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 、 $15\mu\text{m}$ 、 $20\mu\text{m}$ 、 $25\mu\text{m}$ 、 $30\mu\text{m}$ における計測結果である。これらの結果より、まず計測した移動量の平均値については各移動指令値にたいする差は全て 50nm 以内であり、移動指令値とほぼ同一であるため問題にはならない。次に標準偏差については、ステージのスケール値との差が数百 nm オーダーで存在しているため、こちらは問題となる。この差の主な原因としては、プローブ先端の変形が考えられる。実験においてプローブ先端はウェハと傷を付けるほどに幾度も接触させている。そのため、接触のたびに圧力を受けたプローブ先端がわずかながら変形を起こした可能性は十分に考えられる。しかし、この変形だけが標準偏差の差の原因であった場合には、変形の方法は一方のみ（圧力はウェハのみから与えられる）と考えられるため、傷の間隔（移動量）は一方に増減していくはずである。しかし、実際に計測した各点の傷の間隔は広がっていたり、縮まっていたりと一様の変化が起きている訳ではない。そのためプローブ先端の変形以外にも他の原因が考えられる。

以上の結果より、次節 4-3 では変形以外の別の原因を考え、その原因を改善することにより精度向上を試みた。

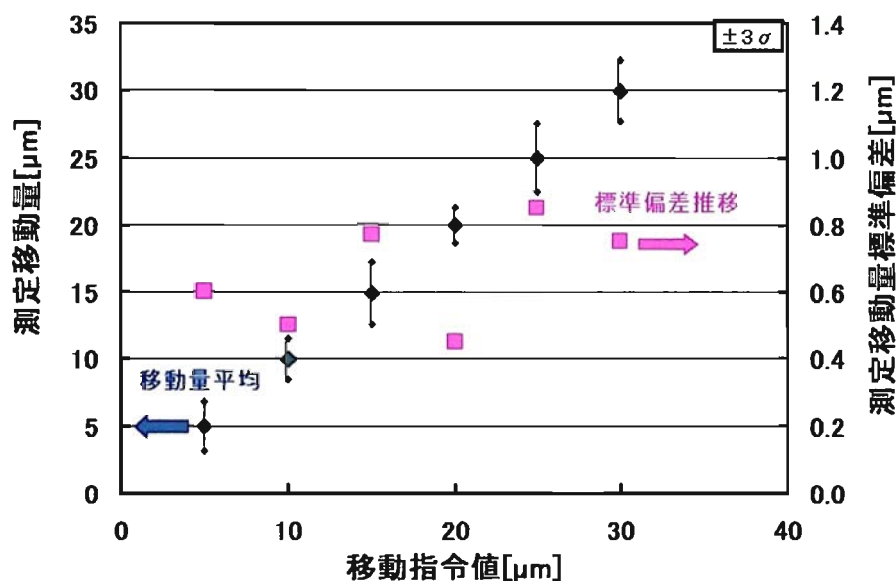


図 4-7. 移動指令値に対する計測移動量及び標準偏差

表 4-2. 移動指令値と計測移動量平均の差

移動指令値[μm]	計測移動量平均[μm]	指令値と平均の差[μm]
5.00	4.98	0.02
10.00	9.99	0.01
15.00	14.95	0.05
20.00	19.97	0.03
25.00	25.00	0.00
30.00	29.98	0.02

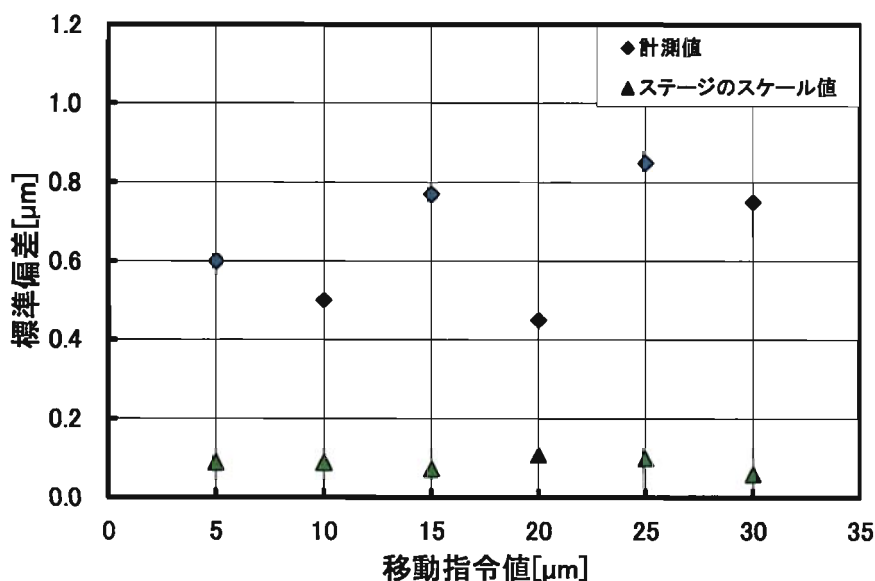


図 4-8. 移動指令値に対する標準偏差

4.4 位置精度の向上

4-3 節においてプローブ先端における精度の計測を行った。しかし、図 4-8 に示されているように計測値とマニピュレータの駆動部分であるステージのスケール値では、標準偏差において最も値に近い $20\mu\text{m}$ でも 340nm 、最も値が遠い $25\mu\text{m}$ では 750nm もの差がある。

そのため本節では、この差を縮めるためにマニピュレータの動作設定パラメータを変更し、位置精度の向上を目的とした実験を行った。

4.4.1 速度変化に対する位置精度計測

プローブ先端における精度計測において標準偏差が大きくなる原因として、動作時に発生する先端のブレや各機構におけるズレ等を考えた場合には、プローブの移動速度が関係してくると思われる。例えば、本論文では Y 軸について実験を行っているが、マニピュレータが高速で動作した場合、 Y 軸では位置決めが確実に行われても、 X 軸のステージにズレ等の若干の影響を与えていないとは限らない。そのため、位置精度向上のためにまずはマニピュレータの動作速度に対する精度の変化を計測した。

図 4-9, 4-10 は移動指令値 $15\mu\text{m}$ 及び $30\mu\text{m}$ においてマニピュレータの最高速度を初期設

定の 5mm/sec から初め、2.5mm/sec、1.25mm/sec、0.125mm/sec に変更させた場合について、4-3 節と同様の実験方法で計測した結果である。但し、15 μ m においては 2mm/sec の場合についても計測している。変更方法としては、マニピュレータのパラメータ設定において、最高速度を表す[Spd]のパラメータの値を変更することで行った。

図 4-9 は横軸に設定最高速度、縦軸に”移動量平均－移動指令値”つまり移動指令値に対する計測移動量の平均の誤差をとっている。また、図 4-10 は横軸に設定最高速度、縦軸に標準偏差をとっている。これらの結果を比較してみると、確かに最高速度を変更することで、平均値や標準偏差は変化している。特に 15 μ m の移動指令における 2mm/sec の場合には標準偏差は 320nm と非常に良くなっている。しかし、この変化は最高速度の増減に対して一様な変化とは言えないため、偶発的なものである可能性もある。この結果の原因を探るために、次の 4-4-2 ではマニピュレータの最高速度の変更による移動位置プロファイルの変化を確認した。

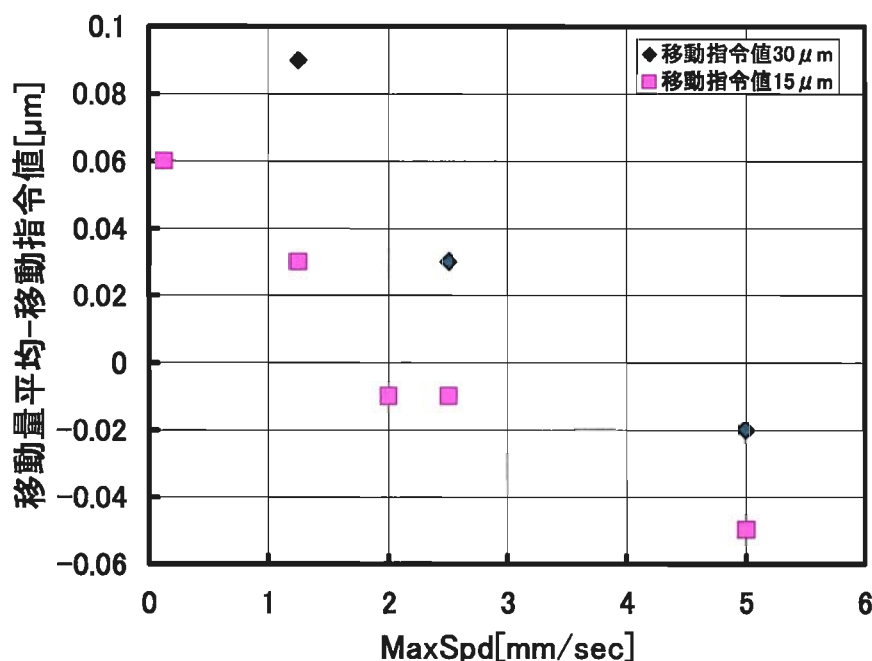


図 4-9. MaxSpd を変化させた場合の移動量平均－移動指令値の変化

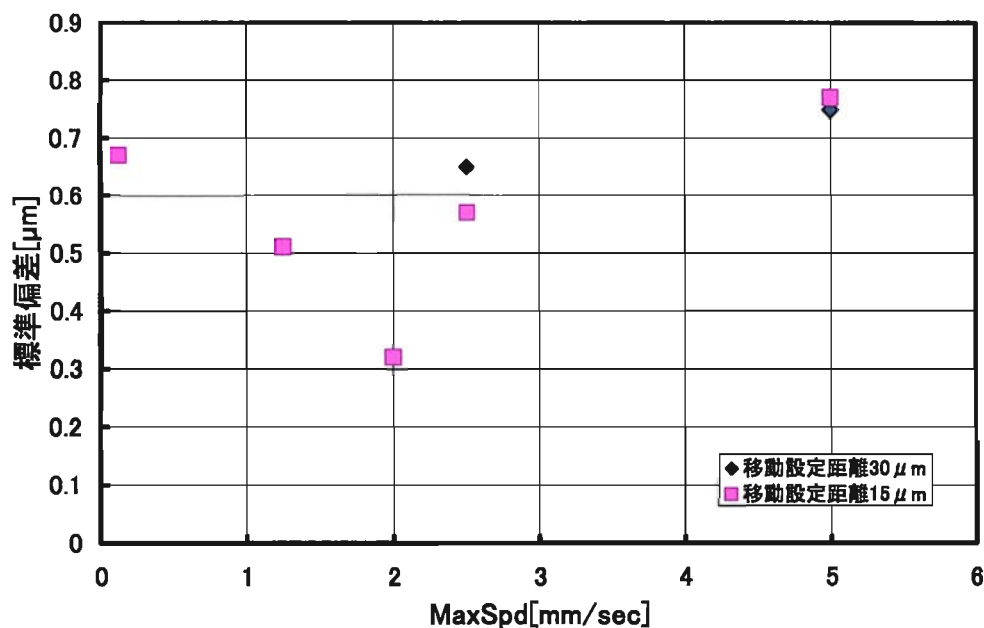


図 4-10. MaxSpd を変化させた場合の標準偏差の変化

4.4.2 位置プロファイルの確認

【確認方法】

マニピュレータの制御ドライバ内には揮発性のメモリが内蔵されており、直前のマニピュレータの動作における位置情報を 10msec 毎に記録している。この記録された位置情報はマニピュレータのサーボモードから、“get_plot”コマンドで簡単に呼び出せる。但し、記録された位置情報は実際の距離ではなくカウント数（1 カウントはスケールの最小分解能値である。そのため本マニピュレータでは 1 カウントは 10nm）で記録されている。呼び出した位置情報をグラフ化することにより移動位置プロファイルを確認した。

【確認結果】

図 4-11, 4-12 はそれぞれ 15μm、30μm の移動指令値における各速度の移動位置プロファイルである。図 4-11 のグラフを見る限り移動指令値 15μm において、最高速度を 2mm/sec に設定した場合に他の条件と比べて特長的な動作は見られない。最高速度を 0.125mm/sec に設定した場合が他に比べオーバーシュートの大きい動きを見せているが、図 4-10 において特徴的な値を出しているわけではない。次に図 4-12 のグラフを見る限りでは、2mm/sec に設定した場合にオーバーシュートが他のものに比べ若干小さくなっているが、図 4-10 の

移動指令値 $30\mu\text{m}$ において最も標準偏差が小さい 1.25mm/sec は他の条件と比べて特徴的な動作はやはり見られない。

また、なによりこの 2 つのグラフを見た限り、多少のオーバーシュートの差こそあれ、移動位置プロファイルの形は非常に類似している。この原因としては最高速度に達する前に位置決めが完了していることが考えられる。つまり、1 回の移動距離が短すぎて最高速度まで設定された加速度では到達できないのである。

以上のことより、移動位置プロファイルから速度に対する精度の変化の原因を解析することは困難であると言える。但し、移動位置プロファイルを取ることで分かったこともある。それは、どの条件においてもオーバーシュートが大きいということである。オーバーシュートとは指令値からの行き過ぎ、つまりできるだけ除外したい無駄な動作分であり、精度に影響を与えていることも十分に考えられる。そのため、次の 4-4-3 ではオーバーシュートを無くすことにより、精度が向上するかどうかの確認実験を行った。

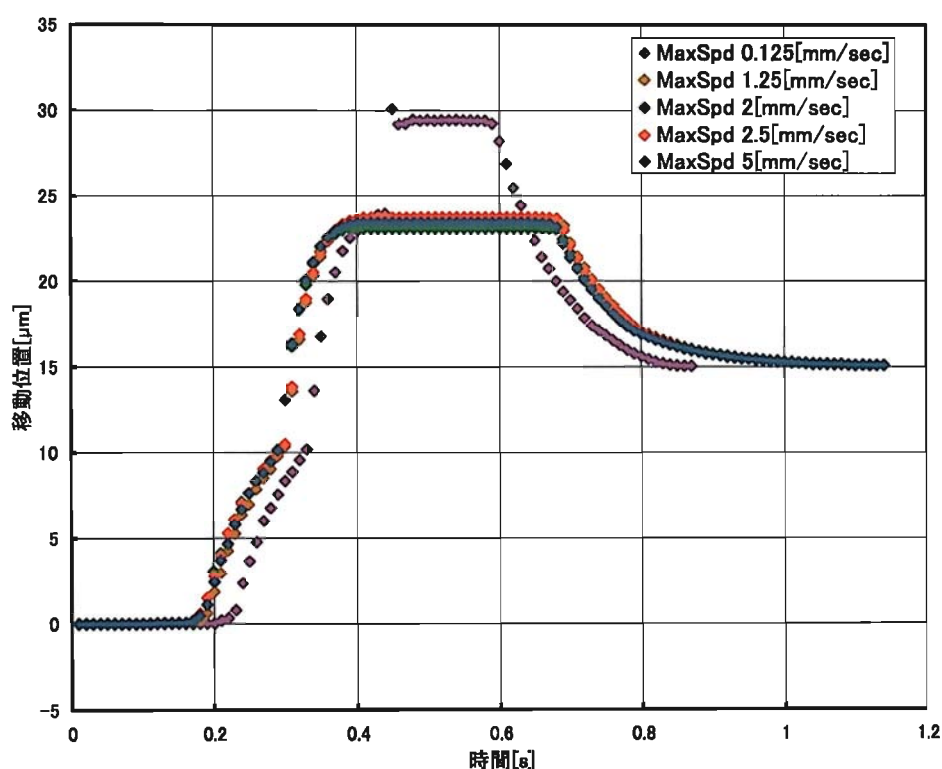


図 4-11. 移動指令値 $15\mu\text{m}$ における MaxSpd を変化させた場合の位置プロファイル

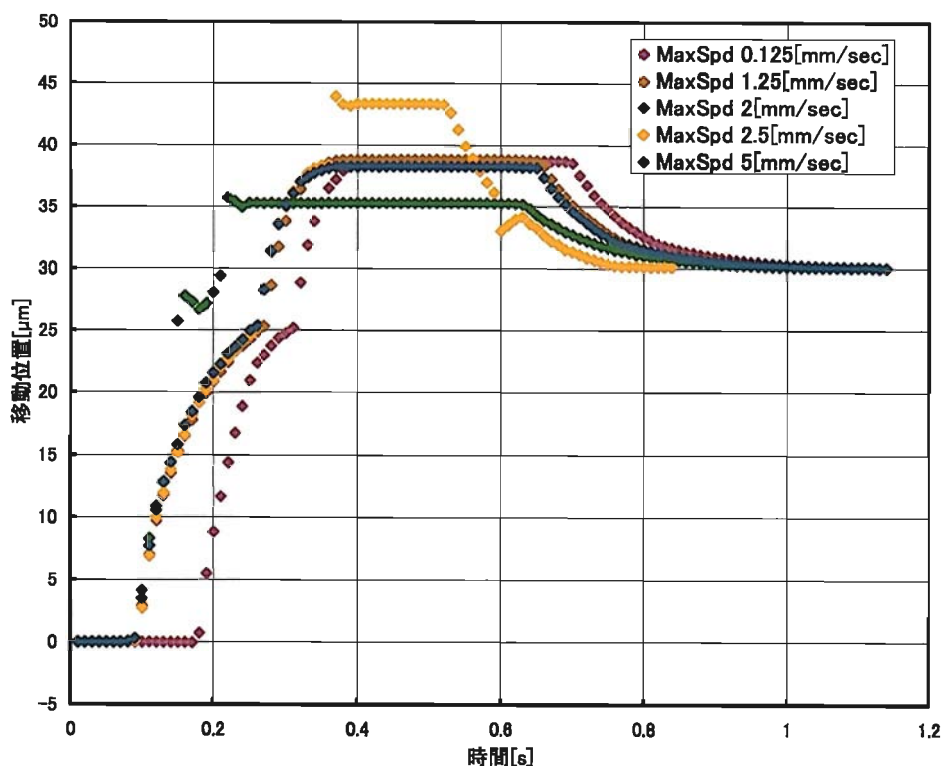


図 4-12. 移動指令値 30 μ m における MaxSpd を変化させた場合の位置プロファイル

4.4.3 PID の変更に対する位置精度計測

【PID パラメータの変更条件】

図 4-11, 4-12 の各速度における移動位置プロファイルのグラフより、どの条件においても約 5 μ m～15 μ m のオーバーシュートが発生していることが分かる。また、発生の仕方もどの条件でもほぼ同一で、移動指令値の 5 μ m 手前で速度が急に上がり、結果としてオーバーシュートが発生している。この原因としては、図 4-3 にあるように位置決め完了の高速化を目的として取り入れた 2 段階可変 PID 制御の影響が考えられる。この 2 段階可変 PID 制御はマニピュレータの動作中の移動指令値までの残り距離により、より適当な PID パラメータの値へ変化させる制御方法であるが、実際マニピュレータの設定パラメータでは移動指令値の 5 μ m 手前で PID を変化させるように設定しており、4-4-2 の結果と連動している。

そのため、まずはオーバーシュートを無くすことを第一に考え、2 段階可変 PID 制御から設定の容易な単一の PID 制御へ変更し、より適当な PID パラメータの値を検討した。また、PID 変更後に 4-3 節と同様の実験を行い、その計測結果を評価・比較した。

【実験結果】

まず、PID パラメータの値を変更する毎に位置プロファイルを確認し、オーバーシュートが出ない値を検討した。結果として、(P, I, D)=(30, 100, 150)がより適当であることを確

認した。また、PID パラメータ検討時のマニピュレータの最高速度は 4-2 節の結果と比較し易いように 5mm/sec とした。

図 4-13 は PID パラメータの値が(P, I, D)=(30, 100, 150)の時のマニピュレータの移動位置プロファイルである。この移動位置プロファイルより、PID パラメータの値を変更することで、オーバーシュートを無くすることができることを確認できる。

次に PID パラメータ変更後に 4-3 節と同様の実験を行い、精度を計測した。図 4-14 は横軸に移動指令値、縦軸に標準偏差をとった場合の計測結果である。図 4-14 の計測結果から、唯一移動指令値 20 μm において標準偏差が 30nm 大きくなっているが、その他の条件では全て PID 変更前に比べ小さくなっており、全体的に精度が向上していることが分かる。以上の結果より、PID のパラメータを変更しオーバーシュートを無くすることで精度を向上させることが可能であることが分かった。

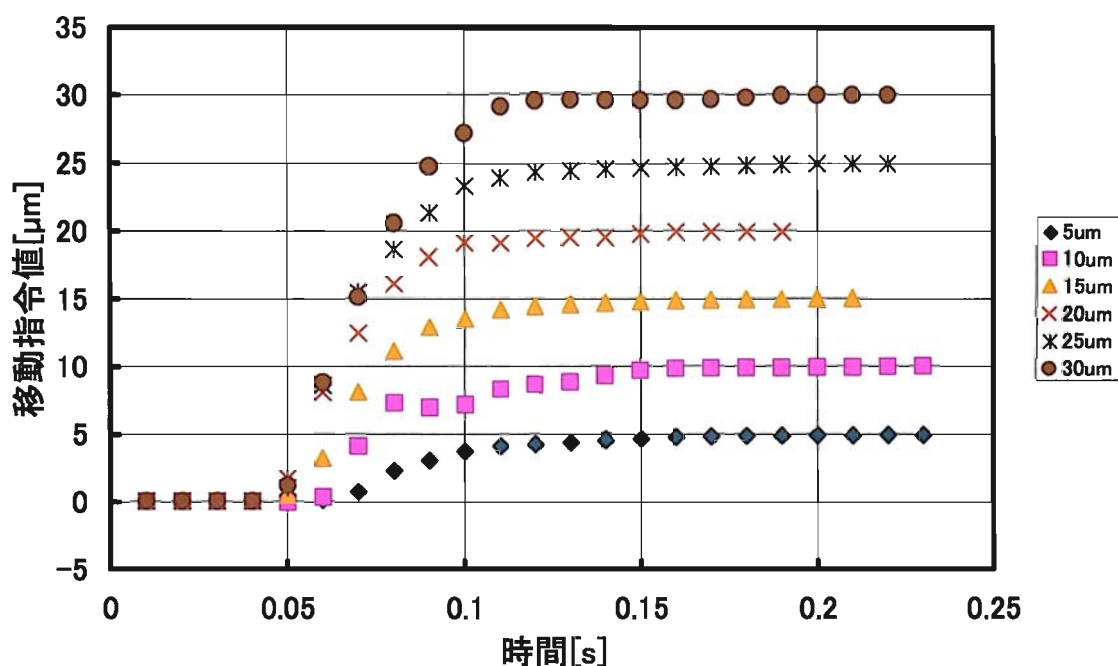


図 4-13. PID 変更後の各移動指令値に対する移動位置プロファイル

具体的には、次の操作を行う。

- ① プローブをウェハに接触させ傷が付くのを SEM で確認する
- ② 接触時の Z 軸ステージの座標を零点とする
- ③ Z 軸ステージを+500 μm 移動し、プローブを上昇させる
- ④ Y 軸ステージを指令値分位置移動させる
- ⑤ 位置決め完了後、Z 軸ステージの座標を零点に戻し、プローブをウェハに接触させる
- ⑥ ③－⑤を 50 回繰り返す
- ⑦ ⑥の終了後、傷間隔を SEM で観測する

この方法の利点としては、実際につけた傷を SEM で容易に観測することが可能でありデータ整理がし易いこと、新たに特殊な計測装置を設置せずにすむこと等が挙げられる。但し、傷を付き易くするために使用するウェハには Al (アルミニウム) 薄膜を蒸着している。図 4-4 は計測方法の模式図及び実際につけた傷の SEM 画像である。また④にある”指令値”とは 1 回移動させた場合の移動量を表しており、この値は一度計測 (操作①－⑦) が終了するまでは固定しておく。また、この指令値及び Z 軸ステージへの移動命令は、マニュアル操作ではなく、図 4-5 に示した操作ソフトウェア内のテストモードからの数値入力で行っている。

SEM 画像からの実際の移動距離の導出方法については図 4-6 に示すように、まず画像を PowerPoint のスライド一面に拡大して貼付け、2 点の傷の間にオブジェクトで線を描き、このオブジェクトの長さとしてスケールバーの長さをを用いて導出する。例えば、オブジェクトのサイズが縦 $A\text{cm}$ 、横 $B\text{cm}$ であった場合には、オブジェクトの長さ r は次式 4-1 で求められる。

$$r = \sqrt{A^2 + B^2} \quad \dots (4-1)$$

この時スケールバーの表示が $C\mu\text{m}$ で、PowerPoint 上の長さが $D\text{cm}$ であった場合、プローブの実際の移動距離 R は式 4-2 で求められる。

$$R = r \times \frac{C}{D} \quad \dots (4-2)$$

また、本論文において SEM の倍率が x2500 一定、スケールバーの表示が $10\mu\text{m}$ で PowerPoint 上の長さが 5cm であり、PowerPoint の表示限界が 0.01cm であるため、実際の移動距離の導出時の計測分解能は 20nm となる。そのため、これより下の値は無効となる。

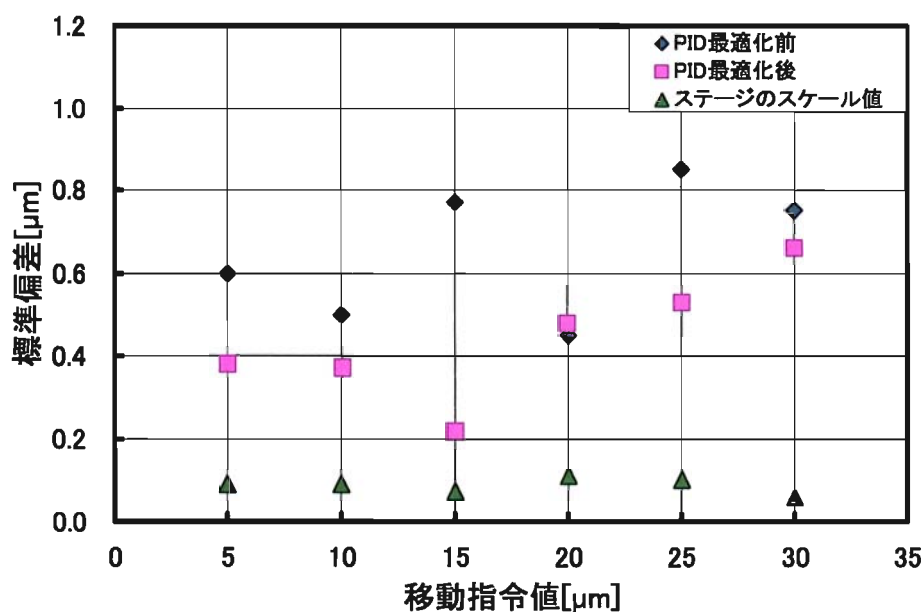


図 4-14. PID 変更後の移動指令値に対する標準偏差

4.5 電極パッドサイズの決定

本システムの自動操作時にプロービング可能な電極パッド等の計測箇所を、4・4 節までの計測結果により求める。ここで正規分布を考えると、標準偏差 σ の 3 倍の値を平均値（中心地）の両側に取れば、99.73%のデータは確立で存在するわけである。これを本節の電極パッドサイズの問題に当てはめてみれば、計測点の両側に標準偏差の最大値の 3 倍の長さを確保しておけば、1000 回中 997 回プロービング可能になる。つまり、電極パッドのサイズは式 4-3 で求められる。

$$\sigma_{MAX} \times 3 \times 2 = \text{電極パッドの一辺の長さ} \quad \dots (4-3)$$

もちろん、式 4-3 で求めたサイズでは約 300 回中 1 回はプロービングを失敗することになるが、現状のシステムでは 4・3 節で述べたプローブ先端の変形問題等から 300 点計測する前にプローブ交換等の整備を行う必要が出てくるため、問題になりにくい。

$$0.66 \times 3 \times 2 = 3.96 < 4 \quad \dots (4-4)$$

上式は精度向上を行った PID パラメータ変更後の電極パッドサイズの計算式であり、この式から $4\mu\text{m}$ 角の電極パッドであれば $30\mu\text{m}$ 以下のステップ移動における自動操作によるプロービングが可能であることが分かる。

4.6 まとめ

4-2 節においては、マニピュレータの構成・仕様及び制御方法について述べた。また、駆動部分において位置決め許容量が 100nm であることを述べた。

4-3 節においては、マニピュレータの駆動部分ではなく、実際にプロービングを行うプローブ先端の精度を移動指令値 $5\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 、 $15\mu\text{m}$ 、 $20\mu\text{m}$ 、 $25\mu\text{m}$ 、 $30\mu\text{m}$ において計測した。結果として移動量の平均値が移動指令値とほぼ同等であることと、プローブ先端の標準偏差がマニピュレータの駆動部分に比べ数百 nm の差を生じていることを確認した。

4-4 節においては、 15mm 及び 30mm の移動指令値において、マニピュレータの設定最高速度を 5mm/sec 、 2.5mm/sec 、 1.25mm/sec 、 0.125mm/sec と変化させることにより、平均値と標準偏差が変化することを確認できた。但し移動指令値 $15\mu\text{m}$ においては、 2mm/sec も計測した。また、位置プロファイルから観測できたオーバーシュートを、PID を変更することで無くし、結果として全体的に標準偏差を小さくすることができ、精度向上を行えた。

4-5 節においては、標準偏差から自動操作時におけるプロービング可能な電極パッド等の計測箇所のサイズを決定する方法を論じ、結果として PID 変更後のマニピュレータで $30\mu\text{m}$ 以下のステップ移動を行う場合に $4\mu\text{m}$ 角の電極パッドをプロービング可能であることを述べた。

第5章 応用展開

5.1 はじめに

微少液体の操作技術を半導体微細加工に応用展開することを図った。ここでは、3次元形状の基板上に電気回路をパターンニングする技術、マイクロメートルレベルの微小な3次元構造体に微細加工やメッキ成膜を行うための技術などを挙げる。

5.2 3次元形状基板への電子回路パターンニング技術

5.2.1 はじめに

電子機器内部に搭載されるプリント配線基板や半導体集積回路の小型化により多様な携帯機器やネットワーク機器が日常生活で使用されるようになった。今後もさらにユビキタス社会の実現を目指して、多種多様な電子機器が開発され、ますます電子機器の小型化、複合化、高機能化に拍車がかかっている。これら電子機器開発においては、3次元の形状を有するMEMS(Micro-Electro Mechanical System)デバイスの作製技術、高密度3次元実装が求められているSiP(System in a Package)技術、ハイブリッド型実装技術など[1], [2]や、さらには、フレキシブルディスプレイ[3]、ロボットに搭載される電子皮膚[4], [5]、太陽電池[6]などの軟らかい基板上への電子回路形成技術にいたるまで、これまでの2次元平面への電子回路形成が主であったのが、3次元の基板形状や構造体への電子回路形成技術においても要求が高まっている。この3次元構造体への電子回路パターンニング技術としては、3次元構造体に均一にレジストを塗布し[7], [8]、長焦点深度の投影レンズを用いた露光方式によって、平面から傾斜面へと連続して配線を形成する技術[9], [10]や、共焦点レーザ顕微鏡と電子ビーム露光機を複合化し、高さ方向の情報に対して適切に微細なパターンを描画する技術[11]もある。また、フレキシブルな形状を有する基板に対してはインクジェットなどの印刷技術を用いて電子回路を直接形成し、実装に応用する[12]などの技術も盛んに開発されている。しかしながら、機械的硬度が高く、歪みの量を比較的抑制できる単結晶シリコン基板に比べ、硬化樹脂基板、透明大型ガラス基板などは、もともと硬度が脆弱である上に、プロセス工程における熱応力、薄膜形成・エッチング処理に伴う膜応力の変化、搬送・保持機構から発生する機械的応力などの影響によりその歪み量は極めて大きい。また、それに加えて、その歪み量はパターン依存性を有し、基板全面に渡ってどうしても不均一となってしまうため、これらの基板を用いた場合の最小加工寸法の微細化には多大な困難が伴うものとなっている。すなわち、不均一な基板の歪みにより生じた微細加工パターン形状のずれに対応し、電氣的に不具合を生じることなく、確実に配線、コンタクト、デバイスの形成ができるパターン転写方法の開発が課題となっていた。

これまで我々は、ライフサイクルの短さに対応する開発コストの低コスト化（マスクコスト低減）と開発期間の短工期化(QTAT: Quick-Turn-Around-Time)を目的として、回路設

計データからパターン転写にいたる工程について、従来レチクル作製が必要であった部分に液晶ディスプレイを使用することに置き換えた、レチクルフリー露光方式に関して研究開発を行ってきた。その課程で、設計回路データから転写パターンへの変換アルゴリズム、半導体デバイス試作が可能な縮小投影露光装置への透過型液晶ディスプレイの搭載[13]、プリント配線基板作製用 QTAT オンライン電子回路パターンニング技術[14]、など2次元基板上への任意パターン露光方式について実際に検証を終えている。これにより設計から露光まですべてを電子データのみでパターン転写可能な環境を構築している。また、このレチクルフリー露光方式における容易にマスクデータを修正できる利点を用いて、MEMS プロセスによって高精度なメムレン型圧力センサを作製する際に、ウェットエッチングなどで3次元形状を形成した後、その形状に適切な位置にピエゾ抵抗素子の位置をパターンニングし配線を形成することによって、ウェットエッチングによるデバイス性能のばらつきを低減し高歩留まりの圧力センサ作製プロセス技術を開発している[15]。さらに、脆弱な樹脂基板の2次元基板歪みに対応したフレキシブルアライメント方式についても歪み量が発生したパターンに対して設計パターンを変形させて適合することでアライメントを実行するアルゴリズムの策定を行ってきた[16]、[17]。これは、2次元方向の歪みに対してアライメント可能であるが、実際には3次元方向に歪みが生じてしまうため、3次元方向の歪みに対してアライメントを行なう必要があった。そこで、機械的強度が脆弱な樹脂基板やガラス基板における不均一な3次元歪み形状を計測し、その結果により露光パターンを変更し3次元アライメントを行い、さらに3次元歪み形状に合わせてパターンを3次元露光する、ピンホールスキャン共焦点3次元露光装置を本稿にて提案したい。本装置は、フレキシブルな基板上への回路パターンニングのみならず、フレキシブルな基板上に高精度なMEMS デバイスを高密度に配置し、その後に配線を形成することで高精度かつ大面積のセンサシートを作製する実装技術として威力を発揮すると期待できる。提案する3次元露光装置は従来3次元の形状計測を目的とした共焦点光学系にて露光する方式のため、既存の共焦点レーザ顕微鏡を用いてレーザビームにて露光することで、共焦点光学系での露光の有効性を評価した。さらに、3次元のパターニングの方法としては、非露光レーザビームを基板に照射しレジスト表面の蛍光強度ピークの最も高い位置を検出することでフォーカス調整を行なった後に、露光用のレーザビームを照射してレーザスポット露光を行なう手法を用いた。このようにして基板の3次元形状に応じて逐次フォーカス調整を行ない、スポット露光をつないでパターンを形成した結果を報告する。

5.2.2 ピンホールスキャン共焦点3次元露光装置

図1に提案するピンホールスキャン共焦点3次元露光装置における3次元転写方式の原理図を示す。本転写方式は、3次元高精度転写系と3次元パターンアライメント系により構成される。3次元高精度転写系においては、光源から出た光はハーフミラーを介して透過型液晶ディスプレイの画素開口部を通過し、その後縮小対物レンズを介して基板上に入

射する。透過型液晶ディスプレイの画素開口部に対して共焦点位置にある物体からの反射および散乱光は対物レンズを介して、再び画素開口部を抜け戻り、ハーフミラーにより高速撮像素子上に入射し結像する。精密ステージ上において基板を各 Z 軸座標に固定し、共焦点ボケを排除する間隔で、液晶ディスプレイの各画素を透過モードあるいは不透過モードに制御し、その位置を XY 方向にスキャンすることで 2 次元空間上での共焦点画像を高速撮像素子において取得することが出来る。さらに、焦点深度の分解能で基板を Z 軸方向に移動し、各々の Z 座標で得られた共焦点画像を再構成することで、基板表面の 3 次元像を得る。この 3 次元形状に合わせて、3 次元パターンアライメント系において設計パターンの変形操作を行う。具体的には、取得した 3 次元形状に基づき、回路パターン中の電気的接続ポイントを特徴点として、計算機上で設計パターンに対する 3 次元歪み量を算出し、この値に基づき設計データにおいて該当する特徴点ごとの 3 次元歪み量に応じた 3 次元パターン変形操作を行い計算機上で 3 次元露光データを生成することでアライメントを完了させる。図 1 にこれら 3 次元パターンアライメントシーケンスの概略を示す。このとき、生成した 3 次元露光データは XY 座標空間において共焦点スポットサイズによりマトリックス分割し、また、各マトリックスにおける Z 座標は先に述べた 3 次元形状測定と同様に Z 軸方向の焦点深度の分解能で決定する。本方式においては、3 次元パターン転写は 3 次元高精度転写系において、計測時とは異なる短波長光を用いて行う。先に生成した各 Z 軸平面上の XY 転写パターンに基づき、透過型液晶ディスプレイ上の透過画素および不透過画素の位置を計測時と同様な手法で制御し、共焦点スポットを感光材を塗布した基板上に形成する。この時、透過型液晶ディスプレイの画素ピッチに対して共焦点スポットサイズは小さくなるため、パターンを連続的に形成するために、共焦点スポットサイズごとに基板を XY 平面上で移動させる必要がある。この操作を各 Z 軸座標位置において実施することにより、基板表面に 3 次元パターン転写が可能となると考えている。表 1 に露光対象として最大 100 μm 程度の凹凸の 3 次元歪みが発生する樹脂基板を想定し、この上に最小加工寸法 2 μm のパターンを転写することを目的とした場合の装置の具体的な仕様を挙げておく。基板の形状計測と露光を共有する投影レンズは高 NA 化、焦点深度の低減により 3 次元形状の高分解能向上を実現すると共に、ステージ Z 軸微動機構と投影パターン画像を同期スキャンする構成をとることにより等価的に長焦点深度の露光を実現できると考えている。

5.2.3 共焦点レーザ顕微鏡を用いたスポット露光による 3 次元形状基板への露光

【3 次元形状基板への露光の原理】

提案した 3 次元露光装置の光学系は、3 次元の形状計測モードと露光モードを共有している。本来、高精度の 3 次元形状計測においては、Z 方向の分解能を向上させるために焦点深度を小さくするようにレンズなどの光学系は設計される。また、それとは対照的にパターン転写時においては、レジストの不均一性を考慮し、パターン転写精度のばらつきを小さくするために、通常、長焦点深度のレンズを用いるように光学系を設計している。こ

の相反する光学系を共有して高精度な 3 次元形状計測とパターン転写を達成しなければならない。そこで、従来、細胞を蛍光染色し、細胞の 3 次元画像を取得するために利用されている既存の共焦点レーザー顕微鏡を用いて、Si ウェハ上のレジストを露光することによって、共焦点光学系でのパターン転写を試みた。

共焦点レーザー顕微鏡は、対物レンズの焦点面より発せられた光はディテクターの共焦点ピンホールに入射され検出されるが、対物レンズの焦点面以外より発せられた光は、共焦点ピンホールに入射されないために Z 方向の分解能を有している。光源からの励起光は対物レンズにより対物レンズの焦点面で回折限界まで収束され、励起光強度は最大になる。すなわち、この焦点面の蛍光試薬が最も励起され、この焦点面より上下に離れた位置の蛍光試薬ほど弱く励起される。この焦点面より発せられた蛍光は最大の効率でディテクターに入射する。対物レンズの焦点面以外からの蛍光は、励起強度がもともと弱いのと、ディテクターの共焦点ピンホールの位置に焦点を結ばないため、ほとんどディテクターへ到達しない。このため対物レンズの焦点面を中心とした非常に狭い領域の蛍光のみがディテクターに到達する。このようにして、レーザー光を XY 方向に走査し、対物レンズまたはステージを Z 方向に駆動することで、3 次元の蛍光色素によって染色された細胞の像を観察することができる[18]。これを利用して、まず、非露光レーザービームを基板に照射しレジスト表面の蛍光強度ピークの最も高い位置を検出することでフォーカス調整を行なった後に、露光用のレーザービームを照射してレーザースポット露光を行なう。このようにして基板の 3 次元形状に応じて逐次フォーカス調整を行ない、スポット露光をつないでパターンを形成することで、3 次元のパターン転写が可能になると考えられる。

【実験方法】

今回、蛍光染色された細胞試料などの 3 次元画像を取得するために利用されている共焦点レーザー顕微鏡 (OLYMPUS: FLUOVIEW FV300) を露光機として用いた。Si ウェハに HMDS (東京応化) をスピコートにて塗布した後、g 線用レジスト (東京応化: OFPR-800) をスピコートにて $1\mu\text{m}$ 厚に塗布した。その後、ホットプレートにて、 110°C 、90 秒、プリベークして、露光試料とした。レーザーにてスポット露光後は、現像液 (東京応化: NMD-W) に 25°C 、60 秒間、浸漬させ、静止現像した。この Si ウェハを共焦点レーザー顕微鏡のステージにセットし、He-Ne レーザ (波長: 543 nm) を照射して、対物レンズを駆動し焦点面を変化させた際の蛍光強度を測定した。この時、対物レンズの倍率は 10 倍で開口数 (N.A.) は 0.3 を用いた。その結果を図 2 に示す。対物レンズの駆動距離すなわち焦点面の変化に対して、蛍光強度が変化している。ここで、入射レーザー光が $62\mu\text{J/spot}$ と光量が多い時は、図 3(a) に示すように、蛍光強度の最大ピーク値を示した焦点面での露光において、 $\phi 2.2\mu\text{m}$ のスポット露光径が観察された。これから、図 3(b) に示すように、対物レンズを Z 方向に $-50\mu\text{m}$ 移動した非焦点面においては、楕円の形状となっており焦点面でのスポット露光径と比較して小さくなっていた。また、入射レーザー光の光量が $3\mu\text{J/spot}$ と小さい時には、蛍光強

度のピーク値においてもレジストの露光は観察されなかった。この結果によりレンズを Z 方向に駆動させ、逐次、蛍光強度を計測し、ピーク値を求めることでレジスト表面位置が決定されることが示された。

次に、図 4 に Ar レーザ（波長：488 nm）、He-Ne レーザ（波長：543 nm）のレジスト感度特性を示す。このように、各レーザ光ともに露光量に対してスポット露光径は線形的に大きくなっていることが分かる。また、短波長の Ar レーザで露光した際のスポット露光径は、長波長の He-Ne レーザにて露光した際のスポット露光径よりも大きいことが分かる。さらに、He-Ne レーザ 3 $\mu\text{J}/\text{spot}$ 以下の露光量では、スポット露光跡は観察されないため、レジスト表面位置の計測時には、露光量 3 $\mu\text{J}/\text{spot}$ の He-Ne レーザを用いてレジスト表面位置の計測を行なうことで、その後の Ar レーザによるスポット露光には影響されないと考えられる。このようにレジスト感度特性の He-Ne レーザと Ar レーザの波長選択性を用いて、レジスト表面位置の検出とスポット露光が可能になる。

これら、He-Ne レーザの非露光レーザ光によるレジスト表面位置の検出と Ar レーザによるスポット露光により、3 次元の形状基板へのラインパターン形成を試みる。レジスト表面位置の検出には、He-Ne レーザ（波長：488 nm）で露光量 2 $\mu\text{m}/\text{spot}$ を用い、対物レンズを Z 方向に 1 μm ステップで駆動させ、フォーカス調整を行なった。スポット露光には、Ar レーザ（波長：488 nm）で露光量 19.4 $\mu\text{J}/\text{spot}$ の条件を用いた。この時、スポット露光径は、図 4 で示した結果から $\phi 6 \mu\text{m}$ となる。このスポット露光径を 5 μm ステップでつなぐことでラインパターンを形成しようと試みた。露光試料は、顕微鏡に非共振型超音波モータ[19]駆動によるステージ（テックコンシェルジェ熊本製ステージコントローラ）を搭載して駆動し、一方向に移動させた。ラインパターンを形成するための 3 次元形状の基板としては、ステージ上で目視により 10 度傾斜させた Si ウェハと、0.75 mm 厚の透明ポリプロピレン(PP)基板を用いた。この PP 基板には、Si 基板と同様な塗布条件でレジストを塗布し、ホットプレートで 100 $^{\circ}\text{C}$ 、90 秒間、プリベークを行なった。ラインパターンを露光した後、現像液（東京応化：NMD-W）に 25 $^{\circ}\text{C}$ 、60 秒間、浸漬させ、静止現像した。

【実験結果と考察】

まず、目視で 10 度傾斜させた Si 基板に対して、レジスト表面位置の検出を行わずに、スポット露光径 $\phi 6 \mu\text{m}$ のスポット露光を行い、ラインパターンの形成を試みた際の金属顕微鏡写真を図 5 に示す。フォーカスの検出を行っていないため、フォーカス位置から離れるに従い、線幅が大きくなっており、ベストフォーカス位置から傾斜方向に 250 μm 程度離れたところでは最大で線幅が 12.7 μm となっている。次に、試料を傾斜方向に 5 μm ステップ毎に逐次フォーカス調整し 86 回スポット露光を行い、最大 425 μm 試料を移動させてラインパターンの形成を試みた際の金属顕微鏡写真を図 6 に示す。同図(a)の全体像より、全長 432 μm のラインパターンが形成されていることが分かる。同図(b)の拡大図からは、ラインエッジラフネスは大きいですが、スポット露光径と同程度の 6 μm 幅でラインパターンが

形成されていることが分かる。このラインエッジラフネスが大きい問題に関しては、スポット露光のつなぎ間隔や対物レンズの Z 軸駆動をより細かくし高精度にフォーカス調整を行なうことで改善できると考えている。この時のレジスト表面への蛍光強度のピーク値から得られる Si 基板の傾斜プロファイルを図 7 に示す。これより、実際の傾斜度は、9.3 度であったことが分かる。スポット露光開始位置から傾斜方向に 425 μm 駆動したときには、対物レンズは 71 μm 駆動されていたので、この傾きからラインパターンの全長を計算すると、ラインパターン全長は、図 6(a)の結果とほぼ一致する。

図 8 に、傾斜 Si ウェハと同様に 5 μm ステップ毎に逐次フォーカス調整し、61 回スポット露光を行い、最大 300 μm 試料を移動させて PP 基板へラインパターン形成を試みた際の金属顕微鏡写真を示す。これもラインエッジラフネスは大きいですが、6 μm 程度の線幅でラインパターンが形成できていることが分かる。この時のレジスト表面への蛍光強度のピーク値から得られる PP 基板の形状プロファイルを図 9 に示す。これから、ラインパターン全長 300 μm の間に最大で 8 μm 湾曲していたことが分かる。PP 基板においてもラインエッジラフネスが大きかった原因については、Si 基板へのラインパターン形成の時と同様な事が考えられ、さらに、PP 基板へのレジスト塗布時のレジスト膜厚のばらつきや Si 基板とはスポット露光径が異なることも原因として挙げられる。

5.2.4 まとめ

今後発展すると考えられる電子機器開発において、プリント配線基板、フレキシブルプリント配線基板、ガラス、セラミックス、有機材料、布などの様々な材質の基板に電子回路を集積化実装する上でその加工寸法の微細化や MEMS デバイスなどの複合実装のニーズが高まっている。本論文では、これらの要求を実現するために、基板表面の 3 次元計測と露光を一体的に実施可能なピンホールスキャン共焦点 3 次元露光装置を提案した。これには光学系に共焦点光学系を用いており、高精度な形状計測とパターン転写を同時に満足しなければならず、焦点深度の小さいレンズにて露光を実証する必要があった。そのために、既存の共焦点レーザ顕微鏡を用いて、非露光レーザを用いて蛍光強度ピークを計測しレジスト表面位置を検出した後、露光用レーザによりスポット露光を行うことによって、3 次元形状の基板へのラインパターンを形成することを実証した。提案した 3 次元露光装置の実現により、半導体基板上に高密度に集積化されたデバイスと、これを外部に接続するプリント配線基板上の配線密度のミスマッチを解消し、高密度の 3 次元実装が可能となると考えている。特に、MEMS、ナノテクノロジー関連で新規開発が行われている触覚センサ、有機デバイスなどを高密度に実装し、電子皮膚などの機能シートの開発・実現にも貢献するものと考えている。

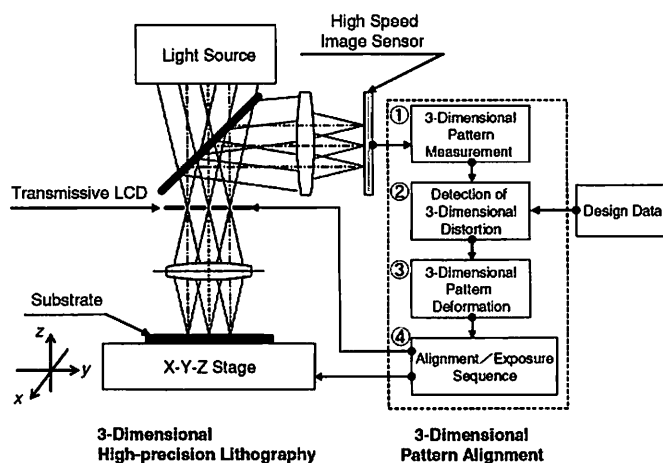


図 5-1 ピンホールスキャン共焦点 3 次元露光装置の構成

表 5-1 ピンホールスキャン共焦点 3 次元露光装置の仕様

System	1/5 reduced projection exposure 3-Dimensional Lithography
Minimum Pattern Size	2 μm
One-shot Exposure Area	5 mm \times 5 mm
Maximum Exposure Area	100 mm \times 100 mm
Resolution of Z-axis	1 μm
Maximum Scan Area (Z-axis)	$\pm 50 \mu\text{m}$
LCD	UXGA (1600 \times 1200 pixels)
LCD Pixel Size	20 μm \times 20 μm (Aperture-ratio 25 %, Aperture-size 10 μm \times 10 μm)
Optical System	Telecentric

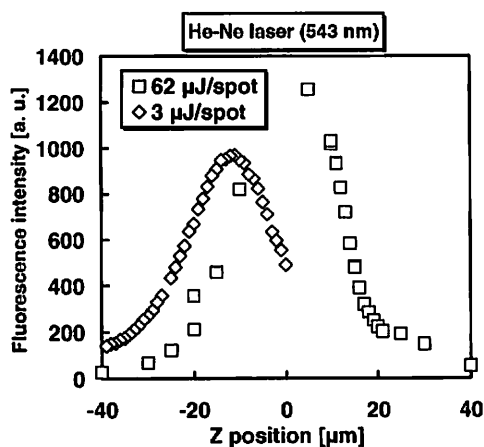


図 5-2 レジスト表面位置の検出（高さ方向に対する蛍光反射強度）

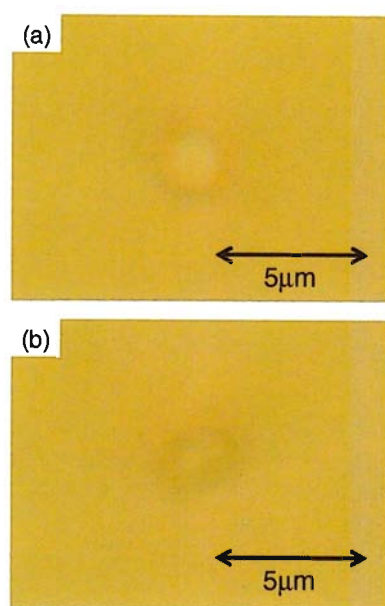


図 5-3 レーザスポット露光 (a) フォーカス位置、(b) デフォーカス位置

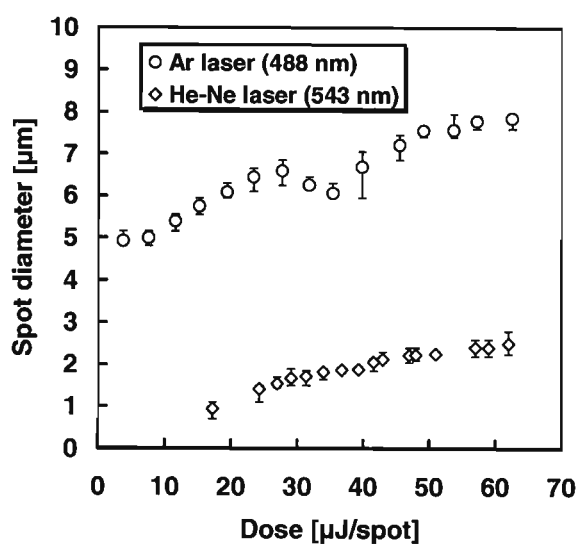


図 5-4 Ar レーザ (488 nm)、He-Ne レーザ (543nm) に対するレジスト感度特性

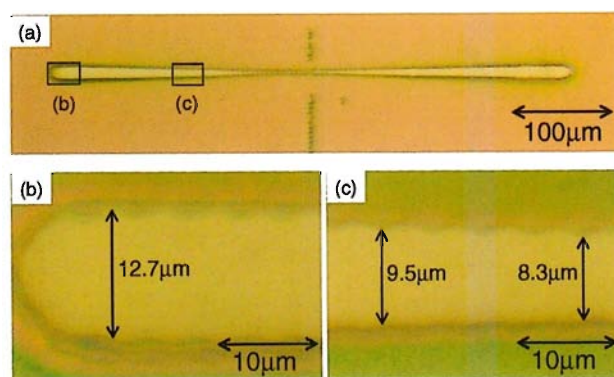


図 5-5 傾斜 Si ウェハへのラインパターン露光（フォーカス調整なし） (a) 全体像、(b) (c) 拡大像

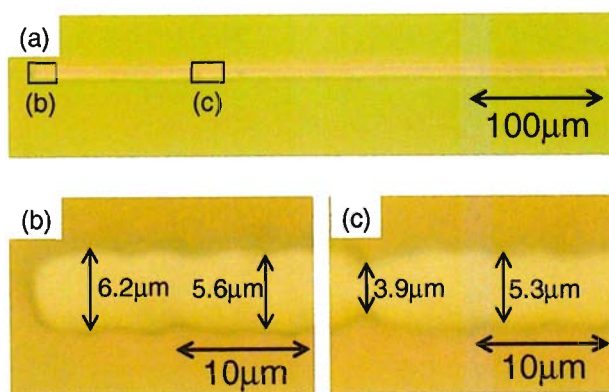


図 5-6 傾斜 Si ウェハへのラインパターン露光（フォーカス調整あり） (a) 全体像、(b) (c) 拡大像

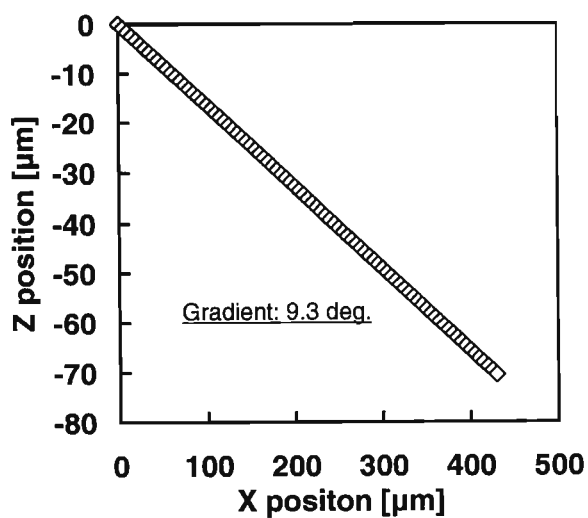


図 5-7 蛍光強度ピーク検出から得られる Si 基板の傾斜プロファイル

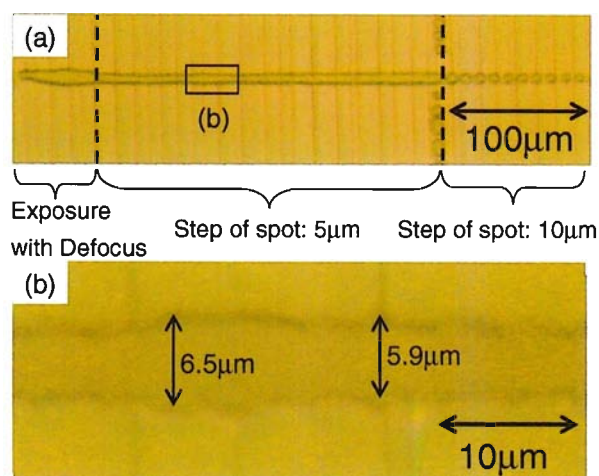


図 5-8 透明ポリプロピレン基板へのラインパターン露光 (a) 全体像、(b) 拡大像

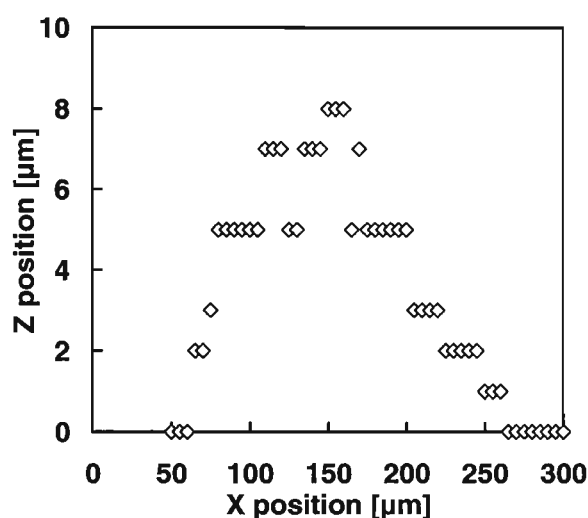


図 5-9 蛍光強度ピーク検出から得られる透明ポリプロピレン基板の形状プロファイル

5.3 3次元構造体への微細加工・メッキ成膜技術

MEMS(Micro Electro Mechanical System)のように 3 次元構造を有するデバイスの加工・実装方法について多く研究されている。そのため、LIGA、DRIE、FIB 技術などが 3 次元加工手法として盛んに研究され発展してきた。しかしながら、これらの技術は設備が非常に高価であり、多品種少量生産といえる MEMS デバイスの試作などの受注生産にはコストがかかり、また局所的に加工したいという要求には対応することは困難である。我々は、これまでに局所的にめっき処理を行い起伏形状に富んだ 3 次元構造体上への配線形成などを行なうウェットプロセスを基本としたマイクロプレーティング技術を開発してきた。

ピペット先端からめっき液を基板へ吐出させる圧電素子を用いた吐出機構を開発し、吐出液滴径などを評価した。図 1 は、吐出機構の圧電素子にステップ電圧を印加してピペット（先端内径 $10\mu\text{m}$ ）から CuSO_4 めっき液および純水を吐出し、圧電素子の印加電圧に対する吐出液滴径の変化を示している。純水よりも粘性のあるめっき液は、純水と比較して吐出液適量が減少することが分かった。また、印加電圧 40V では、 20pl の吐出流量を確認した。めっき液吐出後、この液滴内でめっき液を供給／回収することによりめっき反応が進行／持続し、局所的にめっき処理を行なうことができる。ピペット先端の精密位置制御、および、薬液吐出制御により高密度センサ実装基板などの 3 次元構造体への電極材料の局所めっきが実現すると考えている。

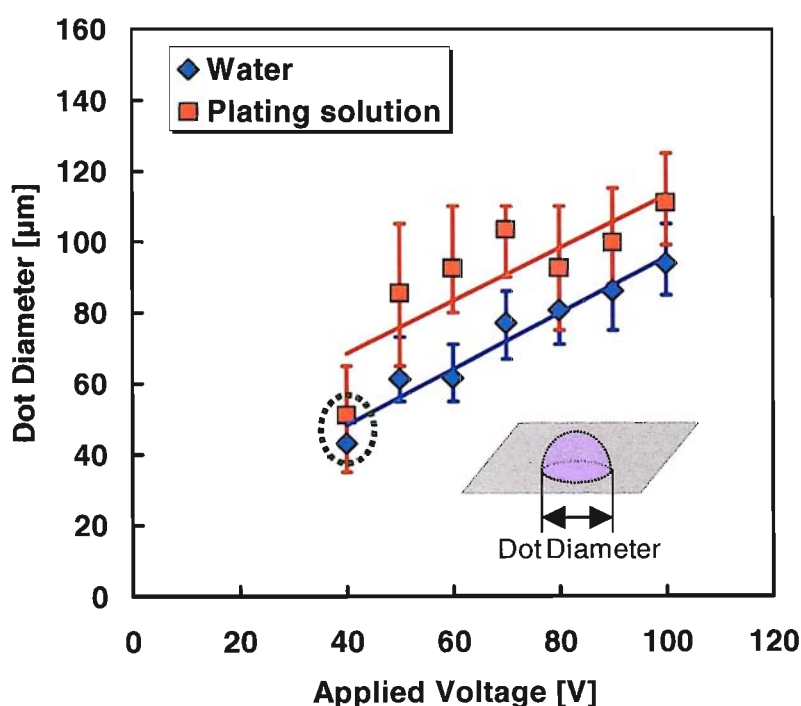


図 5-10. 圧電素子の印加電圧に対する吐出液滴径の変化

5.4 雄性生殖幹細胞へのナノインジェクション

図 5-11 にアフリカツメガエル雄性生殖幹細胞へのナノインジェクション例を示す。インジェクション溶液には、蛍光色素である FITC が含まれており、インジェクション後、蛍光顕微鏡にて観察すると細胞内へインジェクションされた溶液を観察できる。これより、インジェクションされた液量は 20fl 程度であり、フェムトリットルレベルの微少な液量をインジェクションすることに成功している。

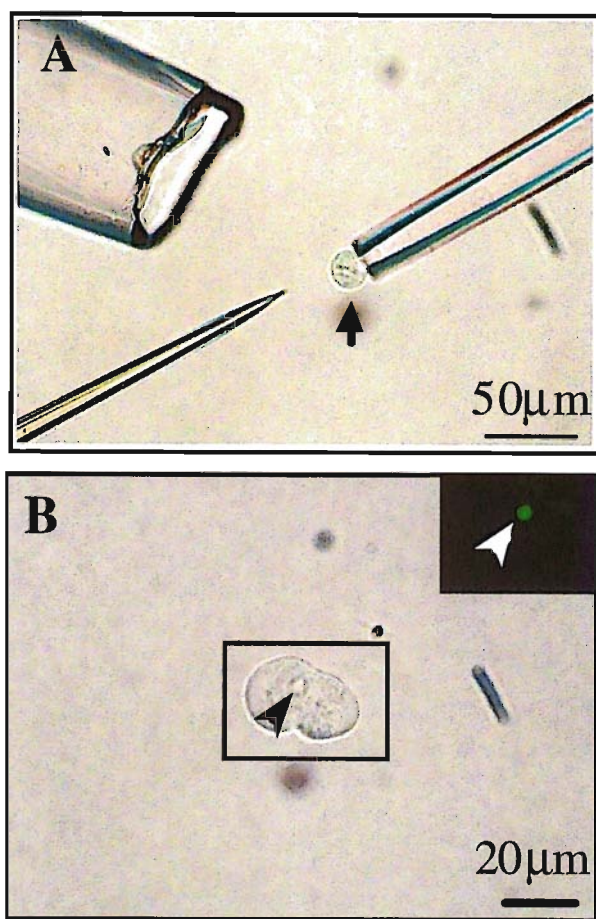


図 5-11 雄性生殖幹細胞へのナノインジェクション

5.5 まとめ

ピペット、ポンプを用いた微量液体制御技術とナノマニピュレータを用いて、3次元構造を持つMEMSデバイスや基板にマイクロメートルレベルの微細加工やメッキ成膜などを行う装置を超精密マイクロウェットステーション技術と名付け応用展開を図っている。さらに、3次元形状の基板上への電子回路パターンニングを目的として、共焦点光学系にて形状計測と露光を同時に達成するための3次元フレキシブルアライナーの開発を図っている。そのデモンストレーションとして、共焦点レーザ顕微鏡を用い、3次元形状を有するポリプロピレン基板への線幅 $6\mu\text{m}$ のラインパターンを形成することに成功した。さらに、雄性生殖幹細胞へのナノインジェクションの例でもフェムトリッターレベルのインジェクションに成功している。

第6章 総括

6.1 結論

近年，科学技術はナノテクノロジーというひとつのキーワードを背景に，半導体産業，バイオ・医療，環境など様々な分野は発展を遂げている．ナノテクノロジーの例として，既に走査型プローブ顕微鏡 (SPM: Scanning Probe Microscopy)によって原子・分子をひとつずつ操作・観察することを可能にしている．原子分子よりは寸法は大きい，ナノメートルという微小な領域において，物体や液体の操作対象を容量の単位で表すと，例えば， $1\mu\text{m}$ 立方体では，1 フェムト (10^{-15}) リットル，さらに $0.1\mu\text{m}$ 立方体では 1 アト (10^{-18}) リットルと聞き慣れない単位も現れ，光学顕微鏡では観察できないほど非常に微少な容量となる．これまで，微少な液量の制御手法としては，半導体微細加工を応用した MEMS(Micro Electro Mechanical System)技術を応用して，チップ上に微小な流路を形成し作製したインクジェットプリンタのヘッドや μ -TAS(Micro-Total Analysis System)などの Lab on a chip と呼ばれる微小流体デバイスにより，ピコ〜フェムトリットルオーダーの液量の操作が可能となっている．このインクジェット方式による印刷技術を応用して微小液滴吐出し，微細な電子回路パターンをフレキシブル基板上に印刷する技術も開発されている．また，バイオ分野においては，細胞を生かしたまま細胞内の核の入換えや細胞質内にデオキシリボ核酸(DNA: Deoxyribonucleic acid)を注入するなどの操作が盛んに行われているが，最近では，細胞内の核のみならず，それよりも小さいミトコンドリアや葉緑体などの $1\mu\text{m}$ 程度かそれ以下の大きさの細胞内小器官を吸引・排出するなどの操作を行いたいという要求が高まっている．具体的には，細胞内小器官による品種改良や遺伝子病解明などがあり，特にミトコンドリア病の解明は急務とされている．このように半導体微細加工分野やバイオ分野において，ナノ・マイクロメートル領域のアト・フェムトリットルもの微少な液量を操作する必要性は拡大している．

本研究では，光学顕微鏡では観察できないアト・フェムトリットルレベルの微少液量を定量的に操作する超微量液体制御技術の開発を目的とし，バイオ分野のみならず，半導体微細加工分野においても利用可能な応用展開を図った．提案する超微量液体制御手法は，先端内径 $1\mu\text{m}$ 以下のガラス微細管 (ナノピペット) 内に駆動流体と薬液との 2 液界面を形成し，ポンプにより圧力を変化させ，その界面位置を制御することで，ピペット先端から注排出される液量を制御する手法である．この界面において，界面張力と界面に加わる圧力はつり合い，界面径と圧力は反比例の関係にあるため，圧力を計測することにより，界面がピペットの何処の径の位置にあるかを把握できる．ピペットの先端がテーパの形状であり，予めピペット形状が分かれば，所望の操作する液量をポンプから印加する圧力を変動させることによって制御することが可能となる．

先端がナノメートルレベルで中空構造のナノピペットを形成する手法として，一般的に細胞操作技術で用いられるプラーを用いて作製した．ガラス管を垂直に固定し，ヒータによ

りガラス管を熱し、ガラス管を垂直方向に延伸することでピペットを作製した。ガラス管の径、ヒータへの印加電力、延伸加重をパラメータとして、ピペット先端径がマイクロ～ナノメートルレベルのピペットを作製する条件を得た。作製したピペットからポンプにはチューブを介して接続され、ポンプにはベローズを用いた低リーク構造とし、圧力センサを取り付けた構成とした。実験にてフロリナート／水界面を形成させた際の界面径と印加圧力は反比例の関係であることを確認することができた。先端内径 270nm のナノピペットを用いた場合、0.5 μm 球の容量に相当する 65 アトリットルを吐出するには、圧力を 168kPa にしてこの圧力から圧力センサの分解能の 0.5kPa 分を印加すれば達成できることを示した。アト・フェムトリッターレベルの微少な液量を制御する条件としては、界面の形状がピペット先端方向に凸形状であること、ピペット先端の形状がナノメートルレベルでテーパであること、微小な圧力を計測可能なこと、高い印加圧力を保持できる低リークポンプとすることが挙げられる。

3 次元方向にナノピペットや電気計測のためのプローブを微細に駆動するためのナノマニピュレータを開発した。X/Y/Z の 3 軸構成であり、各々のステージを非共振型超音波モータ(NRUSM: Non-Resonant Ultra Sonic Motor)により駆動させることによって、高分解能 (X・Y: $\pm 10\text{nm}$)、長ストローク (X・Y: 20mm) の性能を達成することが可能な構成となっている。このため高分解能で観察可能な電子顕微鏡の視野外でも、30 μm のステップ移動においては、目標位置から $\pm 4\mu\text{m}$ 以内でプロービング可能であることを示した。

これらのピペット、ポンプを用いた微量液体制御技術とナノマニピュレータを用いて、3 次元構造を持つ MEMS デバイスや基板にマイクロメートルレベルの微細加工やメッキ成膜などを行う装置を超精密マイクロウェットステーション技術と名付け応用展開を図っている。さらに、3 次元形状の基板上への電子回路パターンニングを目的として、共焦点光学系にて形状計測と露光を同時に達成するための 3 次元フレキシブルアライナーの開発を図っている。そのデモンストレーションとして、共焦点レーザ顕微鏡を用い、3 次元形状を有するポリプロピレン基板への線幅 6 μm のラインパターンを形成することに成功した。

謝辞

本論文は、熊本大学大学院自然科学研究科博士後期課程システム情報科学専攻久保田・中田研究室において行った研究を取りまとめたものである。本研究を遂行するにあたり、久保田弘教授、中田明良准教授には、終始懇切丁寧な御指導と御鞭撻を賜りました。先生方の研究・教育への情熱的な御姿勢から多くのことを学ぶことができました。ここに深甚なる感謝の意を表します。

本論文をまとめるにあたり、それぞれの御専門の立場から数々の有益な御教示、心温まる激励、そして御審査していただきました中村有水教授、村山伸樹教授、勝木淳教授、町田正人教授、高宗和史准教授に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、装置開発、研究のみならず数々の面で懇切丁寧に御指導いただきました有限会社熊本テクノロジーの小坂光二氏（現：有限会社テック・コンシェルジェ熊本）に心から深く感謝いたします。また、装置の設計、開発で深夜遅くまで御指導・御協力をいただきました奥寺智代表取締役、小坂哲也氏、加納竹志氏、馬場哲郎氏、岩淵哲也氏、徳田基氏には、ものづくりへの情熱と感動を学ぶことができました。深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、装置開発において設計・加工などものづくりの現場から数々の技術的な御指導と御協力をいただきました株式会社アラオの荒尾淳社長、井上知行氏、前田安浩氏、高木宏司氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、メッキ試料の観察、分析に関して御指導および御助言をいただきました熊本大学の外本和幸准教授、森園靖浩准教授に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、ナノピペット形成に関して、実験を共に行い、多くの議論をしていただきました東北大学大学院の熊崎誠氏に心より深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、微量液体制御における圧力計測制御システムに関して懇切丁寧に御指導と御協力いただきました東北大学の森本達郎助教に深く感謝いたします。

本研究のみならず、数々の面で懇切丁寧に御指導と御助言をいただきました財団法人くまもとテクノ産業財団の中村一光氏（現：日立先端科技股份有限公司）に深く感謝いたします。

本研究で用いました共焦点レーザ顕微鏡の設置に関しまして懇切丁寧に御対応して頂きましたオリンパス株式会社の萬治慶介氏に心より深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、ナノサージャリー装置を実際に細胞実験に利用され、ユーザーの立場から本装置に関する御助言、さらには、細胞生物学に関して懇切丁寧に御教示していただきました熊本大学理学部の谷時雄教授、河崎敏広氏（現：国立遺伝学研究所）、国立精神・神経センター神経研究所の後藤雄一氏に深く感謝いたします。

研究室生活を送るにあたり、事務処理等で大変お世話になりました研究室秘書の堤貴子さん、山本哉美さん、中村恵美さん、奥村(旧姓：石崎)敬子さん、江口泰代さん、道添こずえさんに心から御礼申し上げます。また、研究室のサーバー管理、ネットワーク管理関係で大変お世話になりました吉岡昌雄技官に心から御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、微量液体制御システム開発において、日夜、緻密に実験データを取得し、実験から計測制御システムの構築について共に研究を進めてきた博士前期課程2年の黒岩裕之氏、2003年度卒業の伊藤訓史氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、ナノプローブ装置の開発において、ナノプローブの作製からナノマニピュレータの評価実験に関して共に実験を進めた2004年度博士前期課程修了の板倉敬二郎氏、博士前期課程1年の岩田洋輔氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、高密度実装用三次元露光装置の開発に関して、日夜、今日焦点レーザ顕微鏡を用いて緻密に露光実験し、共に研究を進めてきた博士前期課程の日高光太氏、博士前期課程1年の宗勇樹氏に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、局所メッキ技術に関して、社会人学生として多忙にも関わらず、土日やさらに平日の夜遅くまで共に実験していただきました2005年度博士前期課程卒の姜維海氏に深く感謝いたします。また、メッキ技術の理論、実験／評価に関して懇切丁寧に御指導と御協力いただきました2004年度博士後期課程卒の本武幸一氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、高精度ナノマニピュレータの開発において、非共振型圧電アクチュエータやステージ構成／システムについて専門の立場から多大な御協力をいただき、深く議論していただきました博士後期課程2003年度卒の江頭義也氏、博士後期課程3年の遠藤泰史氏、2003年度博士前期課程卒の橋口弘幸氏、2004年度博士前期課程卒の古川博之氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、半導体プロセスに関して、日夜多くの議論を通じて多大な御協力と御助言をいただいた2004年度卒博士後期課程卒の若杉雄彦氏、2006年度博士後期課程卒の森川晃次氏、林直毅氏、羽山隆史氏、田北進也氏、研究員の大嶋一郎氏、2003年度博士前期課程卒赤道孝之氏、2004年度博士前期課程卒の森康雄氏、2005年度博士前期課程卒の脇元聡氏、2005年度博士前期課程卒の新庄信博氏、2006年度博士前期課程卒の後藤篤氏、博士前期課程2年の小村俊一郎氏に深く感謝いたします。更に、終始御協力いただきました久保田・中田研究室のスタッフ、並びに学生諸氏に深く感謝いたします。

本研究は、多くの方々の御指導、御協力のもとに行なわれたものであり、諸氏に改めて深くお礼申し上げます。

なお、本研究は、新エネルギー・産業技術開発機構の平成12年度即効型地域新生コンソーシアム研究開発事業「ナノテクノロジーを応用した細胞内構造体の手術操作装置の開発」、経済産業省の平成13年度即効型地域新生コンソーシアム研究開発事業「半導体電気計測のためのナノプローブ技術の開発」、及び財団法人九州産業技術センター平成16年度産業連

携戦略・次世代産業創出事業研究開発委託事業環黄海梓「ナノプロービングによる高精度表面加工・計測技術に関する研究」の御支援により行われたものである。

最後に、私を理解し、学生生活を支えいつも温かく見守り続けていただいた家族に深く感謝いたします。

参考文献

- [1] 後藤雄一著, “ミトコンドリア病,” 国立精神・神経センター神経研究所, 2001.
- [2] 米国国家ナノテクノロジー戦略, NNI: National Nanotechnology Initiative Web site; <http://www.nano.gov/>
- [3] (株) ナリシゲ, NARISHIGE CO., LTD. , website: <http://www.narishige.co.jp/>
- [4] (株) 島津製作所, SHIMADZU CORPORATION, website: <http://www.shimadzu.com/>
- [5] サッター, SUTTER INSTRUMENT COMPANY, website: <http://www.sutter.com/>
- [6] エッペンドルフ, Eppendorf Co., Ltd. , website: <http://www.eppendorf.com/>
- [7] 工藤謙一, 樋口俊郎, “細胞操作用マイクロマニピュレータ,” 現代医療, Vol. 35, No. 3, pp. 668-675, 2001.
- [8] 見澤弘明, 松尾繁樹, “レーザマニピュレーション”, 精密工学会誌, Vol. 68, No. 11, pp. 1393-1397, 2002.
- [9] 桂進司, “DNA 分子のマイクロマニピュレーション”, 精密工学会誌, Vol. 68, No. 11, pp. 1415-1418, 2002.
- [10] 竹内正男, “超音波マイクロマニピュレーション”, 精密工学会誌, Vol. 68, No. 11, pp. 1398-1401, 2002.
- [11] 粕谷敬宏, “動物細胞への遺伝子導入法—1—レーザー法”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 28, No. 11, pp. 740-746, 1990.
- [12] 河野憲二, “動物細胞への遺伝子導入法—2—細胞融合法”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 28, No. 12, pp. 826-831, 1990.
- [13] 杉村厚, 清水伸, “動物細胞への遺伝子導入法—3—電気穿孔法”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No.11, pp. 54-60, 1991.
- [14] 杉本正信, “動物細胞への遺伝子導入法—4—ウイルス法(2)ワクチニアウイルス”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No. 3, pp. 187-189, 1991.
- [15] 橋本修一, “動物細胞への遺伝子導入法—4—ウイルス法(1)アデノウイルス”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No. 3, pp. 184-187, 1991.
- [16] 伊藤嘉保, 鮎沢大, “動物細胞への遺伝子導入法—5—リン酸カルシウム法”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No. 4, pp. 264-269, 1991.
- [17] 磯原豊司雄, 鎌田博, “植物細胞への遺伝子導入法—1—アグロバクテリウム感染系——Ti プラスミド, Ri プラスミドを用いて”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター) Vol. 29, No. 10, pp. 659-665, 1991.
- [18] 経塚淳子, 島本功, “植物細胞への遺伝子導入法—2—エレクトロポレーション”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No. 11, pp. 734-739, 1991.
- [19] 野村港二, “植物細胞への遺伝子導入法—3—マイクロインジェクション”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター), Vol. 29, No. 12, pp. 811-817, 1991.

- [20] 広近洋彦, “植物細胞への遺伝子導入法—4—ウイルス感染による遺伝子導入”, 化学と生物(日本農芸化学会 学会出版センター) Vol. 30, No. 1, pp. 54-63, 1991.
- [21] Y. Egashira, K. Kosaka, T. Iwabuchi, T. Kosaka, T. Baba, T. Endo, H. Hashiguchi, T. Harada, K. Nagamoto, M. Watanabe, T. Yamakawa, N. Miyata, S. Moriyama, Y. Morizono, A. Nakada, H. Kubota and T. Ohmi, “Sub-Nanometer Resolution Ultrasonic Motor for 300mm Wafer Lithography Precision Stage,” Jpn. J. Appl. Phys., Vol.41, PartI, No.9, pp.5858-5863, 2002.
- [22] 魚住清彦, “剪断変形と伸縮変形を利用した圧電体ウォーカー —剪断変形を用いたナノメータ送り—,” 超音波 TECHNO, Vol. 12, No. 11, pp. 15-18, 2000.
- [23] 居村史人, 中田明良, 久保田弘, 小坂光二, 江頭義也, 小坂哲也, 荒尾淳, “胞手術用に開発したナノマニピュレータ,” 日刊工業新聞社月刊機械設計, Vol. 46, No.10, pp.59-63, 2002.
- [24] 居村史人, 中田明良, 江頭義也, 森川晃次, 原田崇, 石橋秀隆, 遠藤泰史, 橋口弘幸, 久保田弘, 小坂光二, 小坂哲也, 岩淵哲也, 馬場哲郎, 加納竹志, 鏡裕行, “細胞手術ナノピペットと超精密マニピュレーションシステムの開発,” 第 16 回熊本県産学官技術交流会演論文集, pp. 194-195.
- [25] Fumito Imura, Akira Nakada, Yoshiya Egashira, Hiroshi Kubota, Kouji Kosaka, Tetsuya Kosaka, Hiroyuki Kagami, Kiyoshi Masuda, Jun-ichi Hamada, Mitsuhiro Tada, and Tetsuya Moriuchi, “Development of nano-surgery system for cell organelles,” Proceedings of SICE Annual Conference 2002 in Osaka, pp. 3212-3217, 2002.
- [26] 居村史人, 中田明良, 久保田弘, 小坂光二, 江頭義也, 小坂哲也, 岩淵哲也, 馬場哲郎, 加納竹志, 荒尾淳, “非共振型超音波モータを用いたナノマニピュレータの性能評価,” 2002 年度精密工学会秋季大会講演論文集, p. 10, 2002.
- [27] 居村史人, 伊藤訓史, 熊崎誠, 中田明良, 小坂光二, 小坂哲也, 久保田弘, “細胞手術用微細ピペットにおける超微量液体制御システム,” 平成 15 年計測自動制御学会関西支部シンポジウム講演論文集, pp. 21-24, 2003.
- [28] 江刺正喜, “微小世界の物理学とマイクロマシン”, 日本ロボット学会誌, Vol. 14, No. 8, pp. 1086-1089, 1996.
- [29] 江刺正喜, 藤田博之, 五十嵐伊勢美, 杉山進, “マイクロマシーニングとマイクロメカトロニクス”, 培風館, pp. 73-76, 1992.
- [30] 平井平八郎, 犬石嘉雄, 成田賢仁, 安藤慶一, 家田正之, 浜川圭弘, “電気電子材料,” p. 274, 2000.
- [31] 作花済夫, “ガラスの辞典,” p. 366, 1995.
- [32] R. R. Tummala, “SOP: What Is It and Why? A New Microsystem-Integration Technology Paradigm-Moore’s Law for System Integration of Minutized

- Convergent System of the Next Decade," *IEEE Trans. Advanced Packaging*, vol. 27, no. 2, pp. 241-249, 2004.
- [33] 嶋田勇三, "先端実装技術の動向と今後の展望," *電学論(C)*, vol. J88-C, no. 11, pp. 827-838, 2005.
- [34] T. Kawase, T. Shimoda, C. Newsome, H. Sirringhaus and R. H. Friend, "Inkjet printing of polymer thin film transistors," *Thin Solid Films*, vol. 438-439, no. 22, pp. 279-287, 2003
- [35] Y. Noguchi, T. Sekitani and T. Someya, "Organic-transistor-based flexible pressure sensors using ink-jet-printed electrodes and gate dielectric layers," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 89, pp. 2535071-2535073, 2006.
- [36] H. Kawaguchi, T. Someya, T. Sekitani and T. Sakurai, "Cut-and-paste customization of organic FET integrated circuit and its application to electronic artificial skin," *IEEE J. of Solid-State Circuits*, vol. 40, no. 1, pp. 177-185, 2005.
- [37] M. B. Schubert and J.H. Werner, "Flexible solar cells for clothing," *Materials Today*, vol. 9, no. 6, pp. 42-50, 2006
- [38] V. K. Singhi, M. Sasaki, K. Hane and M. Esashi, "Flow Condition in Resist Spray Coating and Patterning Performance for Three-Dimensional Photolithography over Deep Structures," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 43, no. 4B, pp. 2387-2391, 2004.
- [39] K. Yamazaki and H. Namatsu, "Three-Dimensional Resist-Coating Technique and Nanopatterning on a Cube Using Electron-Beam Lithography and Etching," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 45, no. 14, pp. L403-L405, 2006.
- [40] 江刺正喜, "マイクロマシン/MEMS のパターンニング技術," 2002 マイクロマシン/MEMS 技術大全 (Electronic Journal 別冊), pp. 72-76, 2002.
- [41] ウシオ電機, "露光装置 UX-4023SC," 2002 マイクロマシン/MEMS 技術大全 (Electronic Journal 別冊), pp. 153-155, 2002.
- [42] K. Yamazaki, T. Yamaguchi and H. Namatsu, "Three-Dimensional Nanofabrication with 10-nm Resolution," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 43, no. 8B, pp. L 1111-L 1113, 2004.
- [43] K. Murata, J. Matsumoto, A. Tezuka, Y. Matsuba and H. Yokoyama, "Super-fine ink-jet printing: toward the minimal manufacturing system," *Microsystem Technologies*, vol. 12, pp. 2-7, 2005.
- [44] K. Wakasugi, S. Wakimoto, A. Nakada, I. Ohshima, H. Kubota and K. Nakamura, "Design and Fabrication of MOS Device Circuits with Reticle-Free Exposure Method," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 44, no. 4B, pp. 2279-2282, 2005.
- [45] K. Wakasugi, S. Wakimoto, T. Akamichi, A. Nakada, H. Kubota, T. Inokuchi, S. Suzuki, S. Aikawa, K. Kosaka, K. Nakamura and T. Morimoto, "Development of

- QTAT online electronic circuit patterning system," IEEE Trans. Semiconductor Manufacturing, vol. 18, no. 4, pp. 487-494, 2005.
- [46] N. Hayashi, Y. Mori, S. Takita, I. Ohshima, A. Nakada, H. Kubota, T. Ichikawa and S. Matsumoto, "Wet-etched membranes devices and its application to the integrated micro-scale tactile sensor," Jpn. J. Appl. Phys., 投稿中.
- [47] 特開 2005-284046, "パターンずれ量検出方法及び露光装置"
- [48] 中田明良, 赤道孝之, 吉野彰一郎, 森本達郎, 久保田弘, "不均一伸縮対応フレキシブルアライメント露光方式," 第 65 回応用物理学会学術講演会予稿集, no. 2, p. 620, 2004.
- [49] 長谷川茂, "共焦点レーザ蛍光顕微鏡の原理," 細胞工学, vol. 14, no. 9, pp. 1081-1089, 1995.
- [50] Y. Egashira, K. Kosaka, T. Iwabuchi, T. Kosaka, T. Baba, T. Endo, H. Hashiguchi, T. Harada, K. Nagamoto, M. Watanabe, T. Yamakawa, N. Miyata, S. Moriyama, Y. Morizono, A. Nakada, H. Kubota and T. Ohmi, "Sub-Nanometer Resolution Ultrasonic Motor for 300mm Wafer Lithography Precision Stage," Jpn. J. Appl. Phys., PartI, vol. 41, no. 9, pp.5858-5863, 2002.

本論文に関する発表

学術論文

1. Fumito Imura, Hiroyuki Kuroiwa, Akira Nakada, Kouji Kosaka and Hiroshi Kubota, "Attoliter Control of Microliquid," Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 46, No. 11, pp. 7519-7523, 2007. (第2章, 第4章に関する発表)
2. Toshihiro Kawasaki, Fumito Imura, Akira Nakada, Hiroshi Kubota, Kazuhiro Sakamaki, Shin-Ichi Abe and Kazufumi Takamune, "Functional demonstration of the ability of a primary spermatogonium as a stem cell by tracing a single cell density in *Xenopus laevis*," Development, Growth and Differentiation, Vol. 48, pp. 525-535, 2006. (第5章に関する発表)
3. 居村史人, 日高光太, 宗勇樹, 林直毅, 吉岡昌雄, 久保田弘, "高密度実装用三次元露光装置の開発," 電子情報通信学会和文論文誌 C, Vol. J90-C, No. 11, pp. 741-748, 2007. (第5章に関する発表)

国際会議

1. Fumito Imura, Akira Nakada, Yoshiya Egashira, Hiroshi Kubota, Kouji Kosaka, Tetsuya Kosaka, Hiroyuki Kagami, Kiyoshi Masuda, Jun-ichi Hamada, Mitsuhiro Tada and Tetsuya Moriuchi, "Development of nano-surgery system for cell organelles," Proceedings of SICE Annual Conference 2002 in Osaka, pp. 3212-3217, Osaka Japan, August 7, 2002. (第5章に関する発表)
2. Hiroshi Kubota, Fumito Imura, Akira Nakada, Yoshiya Egashira, Kouji Kosaka and Tetsuya Kosaka, "Nano-Surgery System by Ultra-Precision Semiconductor Technology," Abstracts of Second International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (M&BE2), p. 136, Tokyo Japan, March 7, 2003.

3. Kouji Kosaka, Tetsuya Iwabuchi, Tetsuya Kosaka, Tetsuro Baba, Satoru Okudera, Kouji Takaki, Yasuhiro Maeda, Fumito Imura, Akira Nakada and Hiroshi Kubota, "Development of Vacuum Environment Compatible Nano-probe System," Digest of Papers 2003 International Microprocesses and Nanotechnology Conference, pp. 246-247, Tokyo Japan, October 30, 2003.
4. Fumito Imura, Satoshi Ito, Makoto Kumazaki, Akira Nakada, Kouji Kosaka, Tetsuya Kosaka and Hiroshi Kubota, "Volume Control System of Liquid in Nano-Pipette Using Fluid Interface," Abstracts of 1st International Symposium on Active Nano-Characterization and Technology, pp. 223-224, Tsukuba Japan, November 12, 2003. (第2章, 第4章に関する発表)
5. Keijirou Itakura, Fumito Imura, Akira Nakada, Kouji Kosaka, Atsushi Arao, and Hiroshi Kubota, "A Nano-Probing System for Measurement of Micro-Device," Abstracts of 1st International Symposium on Active Nano-Characterization and Technology, pp. 225-226, Tsukuba Japan, November 12, 2003.
6. Fumito Imura, Toshihiro Kawasaki, Kazufumi Takamune, Kouji Kosaka, Akira Nakada and Hiroshi Kubota, "Nano-Injection of Foreign Substance into A Living Cell with Nano-Surgery System," Abstracts of Third International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics (M&BE3), p. 82, Tokyo Japan, March 3, 2005. (第2章, 第4章に関する発表)
7. Toshihiro Kawasaki, Fumito Imura, Akira Nakada, Hiroshi Kubota, Kazuhiro Sakamaki, Shin-Ichi Abe and Kazufumi Takamune, "Functional Demonstration of an Ability of Primary Spermatogonium as Stem Cell by Tracing a Single Cell Destiny in *Xenopus laevis*," Proceedings of International Symposium on Germ Cells, Epigenetics, Reprogramming and Embryonic Stem Cells, p. 58, Kyoto Japan, November 15-18, 2005.
8. Kouta Hidaka, Fumito Imura, Akira Nakada and Hiroshi Kubota, "3D Lithography with Confocal Laser Scanning Microscope," Program and Abstracts of Second International Symposium on Standard Material And Metrology for Nanotechnology, p. 65, Tokyo Japan, May 25, 2006.

9. Hiroyuki Kuroiwa, Fumito Imura, Masao Yoshioka, Akira Nakada and Hiroshi Kubota, "Extremely-Small and Blind Volume Control System toward the Atto-liter Liquid Operation," Program and Abstracts of Second International Symposium on Standard Material And Metrology for Nanotechnology, p. 67, Tokyo Japan, May 25, 2006.

国内発表

1. 居村史人、中田明良、江頭義也、森川晃次、原田崇、石橋秀隆、遠藤泰史、橘口弘幸、久保田弘、小坂光二、小坂哲也、岩渕哲也、馬場哲郎、加納竹志、鏡裕行、「細胞手術ナノピペットと超精密マニピュレーションシステムの開発」、第16回熊本県産学官技術交流会演論文集、論文番号415、194頁～195頁、平成14年1月22日。
2. 居村史人、中田明良、江頭義也、小坂光二、小坂哲也、鏡裕行、久保田弘、「細胞内構造体操作用ピペットの先端における流体挙動の観察」、第49回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 3、講演番号29a-Q-2、1298頁、平成14年3月29日。
3. 中田明良、居村史人、江頭義也、久保田弘、小坂光二、加納竹志、小坂哲也、岩渕哲也、馬場哲郎、荒尾淳、井上知行、岩根宏、前田安浩、「半導体電気計測のためのナノプローブ技術の開発ー細胞ナノサージェリーから半導体ナノプローブへー」、熊本県地域結集型共同研究事業超精密半導体計測技術開発第3回技術シンポジウム資料、65頁～70頁、平成14年6月21日。
4. 居村史人、中田明良、久保田弘、小坂光二、江頭義也、小坂哲也、岩渕哲也、馬場哲郎、加納竹志、荒尾淳、「非共振型超音波モータを用いたナノマニピュレータの性能評価」、2002年度精密工学会秋季大会講演論文集、講演番号C35、10頁、平成14年10月3日。
5. 中田明良、居村史人、板倉敬二郎、久保田弘、小坂光二、小坂哲也、岩渕哲也、加納竹志、馬場哲郎、荒尾淳、井上知行、岩根宏、前田安浩、高木宏司、「メタライゼーションフリー計測用ナノプローバの開発」、セミコン・ジャパン2002超精密半導体計測技術フォーラム資料、67頁～70頁、平成14年12月4日。

6. 板倉敬二郎、居村史人、中田明良、久保田弘、小坂光二、岩渕哲也、小坂哲也、江頭義也、荒尾淳、井上知行、前田安弘、高木宏司、「微細構造デバイス用電気計測システムの開発」、第 17 回熊本県産学官技術交流会演論文集、論文番号 524、258 頁～259 頁、平成 15 年 1 月 21 日。
7. 居村史人、板倉敬二郎、中田明良、小坂光二、小坂哲也、前田安浩、高木宏司、江頭義也、万化、久保田弘、「半導体電気計測用ナノプロービングシステムの開発」、第 2 回大学間連携半導体技術交流会予稿集、45 頁～50 頁、平成 15 年 3 月 22 日。
8. 中田明良、居村史人、板倉敬二郎、久保田弘、小坂光二、荒尾淳、「メタライゼーションフリー計測用ナノプローバの開発」、2003 年電子情報通信学会総合大会講演論文集、講演番号 SC-12-4、S-67 頁～S-68 頁、平成 15 年 3 月 19 日。
9. 居村史人、板倉敬二郎、中田明良、久保田弘、小坂光二、小坂哲也、江頭義也、前田安浩、高木宏司、「非共振型超音波モータ駆動ナノマニピュレータの開発—小型ナノマニピュレータの性能評価—」、2003 年度精密工学会春季大会講演論文集、講演番号 M18、558 頁、平成 15 年 3 月 26 日。
10. 居村史人、森本達郎、中田明良、小坂光二、小坂哲也、久保田弘、「界面張力平衡現象を用いた圧力制御型微量注射器」、第 50 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 29p-P12-14、1396 頁、平成 15 年 3 月 29 日。
11. 小坂光二、江頭義也、小坂哲也、奥寺智、後藤雄一、多田光宏、守内哲也、濱田淳一、遠藤泰史、橋口弘幸、居村史人、中田明良、久保田弘、大見忠弘、「超精密位置決め技術を応用した細胞マニピュレータ」、精密工学会超精密位置決め専門委員会定例会講演前刷集、No. 2003-1、21 頁～28 頁、平成 15 年 4 月 18 日。
12. 中田明良、居村史人、板倉敬二郎、万化、久保田弘、小坂光二、小坂哲也、岩渕哲也、加納竹志、馬場哲郎、荒尾淳、井上知行、岩根宏、前田安浩、高木宏司、「パッドフリー計測のためのナノプローバの開発」、熊本県地域結集型共同研究事業超精密半導体計測技術開発第 4 回技術シンポジウム資料、71 頁～75 頁、平成 15 年 6 月 20 日。
13. 居村史人、伊藤訓史、熊崎誠、中田明良、小坂光二、久保田弘、「細胞操作用ピペット先端における 2 液界面の挙動とその物理的考察」、第 64 回応用物理学会学術講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 31a-S-5、1190 頁、平成 15 年 8 月 31 日。

14. 万化、居村史人、板倉敬二郎、中田明良、久保田弘、前田安浩、小坂光二、「ナノプローブ電気計測システムの制御」、2003 年度精密工学会秋季大会講演論文集、講演番号 H63、360 頁、平成 15 年 10 月 4 日。
15. 居村史人、伊藤訓史、熊崎誠、中田明良、小坂光二、小坂哲也、久保田弘、「細胞手術用微細ピペットにおける超微量液体制御システム」、平成 15 年計測自動制御学会関西支部シンポジウム講演論文集、講演番号 T201、21 頁～24 頁、平成 15 年 10 月 24 日。
16. 河崎敏広、居村史人、中田明良、久保田弘、酒巻和弘、高宗和史、「解離した *Xenopus* 精巣構成細胞群の再集合、及び皮下移植による精子形成の進行」、日本発生物理学学会第 37 会大会発表要旨集、講演番号 2P020、176 頁、平成 16 年 6 月 5 日。
17. 河崎敏広、居村史人、中田明良、久保田弘、酒巻和弘、高宗 和史、「解離した *Xenopus* 精巣構成細胞群の再集合および皮下移植による雄性生殖幹細胞の増殖と精子形成の進行」、日本発生物理学学会第 38 会大会発表要旨集、講演番号 1P077、191 頁、平成 17 年 6 月 2 日。
18. 居村史人、姜維海、黒岩裕之、中田明良、久保田弘、「3 次元マイクロ構造体への局所めっき技術の開発」、第 66 回応用物理学会学術講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 9p-ZC-5、444 頁、平成 17 年 9 月 9 日。
19. 姜維海、居村史人、黒岩裕之、中田明良、久保田弘、「局所めっき技術のためのめっき液吐出機構の評価」、平成 17 年度応用物理学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 31、講演番号 2Aa-14、124 頁、平成 17 年 11 月 27 日。
20. 黒岩裕之、居村史人、中田明良、久保田弘、「局所ウェットプロセスのための超微量液体制御システムの開発」、平成 17 年度応用物理学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 31、講演番号 2Aa-15、125 頁、平成 17 年 11 月 27 日。
21. 日高光太、居村史人、中田明良、久保田弘、「共焦点レーザ顕微鏡を用いたスポット露光の評価」、平成 17 年度応用物理学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 31、講演番号 2Aa-18、128 頁、平成 17 年 11 月 27 日。
22. 居村史人、姜維海、黒岩裕之、中田明良、久保田弘、「局所めっき処理のためのめっき液吐出機構の開発」、第 53 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 2、講演番号 24a-J-6、873 頁、平成 18 年 3 月 24 日。

23. 黒岩裕之、居村史人、中田明良、久保田弘、「微細ピペットにおける超微量液体制御システムの開発」、第 53 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 24p-I-18、1381 頁、平成 18 年 3 月 24 日。
24. 日高光太、居村史人、中田明良、久保田弘、「共焦点レーザ顕微鏡を用いたレーザスポット露光による 3 次元露光」、第 53 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 2、講演番号 25p-ZB-3、762 頁、平成 18 年 3 月 25 日。
25. 河崎敏広、居村史人、中田明良、久保田弘、酒巻和弘、安倍眞一、高宗和史、「雄性生殖幹細胞の純化の試み」、日本発発生生物学学会第 39 会大会発表要旨集、講演番号 2P090、238 頁、平成 18 年 6 月 2 日。
26. 日高光太、居村史人、宗勇樹、中田明良、久保田弘、「フレキシブル基板への共焦点レーザ顕微鏡による 3 次元露光」、第 67 回応用物理学学会学術講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 29a-P1-18、1032 頁、平成 18 年 8 月 29 日。
27. 黒岩裕之、岩田洋輔、居村史人、中田明良、久保田弘、「細胞手術のためのピペット内界面圧力制御による超微量インジェクション」、第 67 回応用物理学学会学術講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 30p-P8-13、1178 頁、平成 18 年 8 月 30 日。
28. 那須淳一、日高光太、居村史人、中田明良、久保田弘、「連続視野角方式におけるレジスト膜反射強度特性の温度依存性」、平成 18 年度応用物理学学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 32、講演番号 25Aa-1、6 頁、平成 18 年 11 月 25 日。
29. 宗勇樹、居村史人、林直毅、中田明良、久保田弘、「ピエゾ抵抗型圧力センサシートの感度特性評価」、平成 18 年度応用物理学学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 32、講演番号 25Ea-4、82 頁、平成 18 年 11 月 25 日。
30. 溝上隆之、小村俊一郎、居村史人、中田明良、久保田弘、「pn 接合のキャリアライフタイム測定による拡散防止膜の評価」、平成 18 年度応用物理学学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 32、講演番号 26Aa-8、128 頁、平成 18 年 11 月 26 日。
31. 岩田洋輔、黒岩裕之、遠藤泰史、居村史人、吉岡昌雄、中田明良、久保田弘、小坂光二、「SEM に搭載したナノマニピュレータシステムのブロービング精度評価」、平成 18 年度応用物理学学会九州支部学術講演会講演予稿集、Vol. 32、講演番号 26Ca-12、150 頁、平成 18 年 11 月 26 日。

32. 黒岩裕之、岩田洋輔、遠藤泰史、居村史人、小坂光二、吉岡昌雄、中田明良、久保田弘、「SEM に搭載したナノプローブシステムの性能評価」、2006 年度精密工学会九州支部福岡地方講演会講演論文集、講演番号 409、89 頁、平成 18 年 12 月 3 日。
33. 宗勇樹、居村史人、吉岡昌雄、久保田弘、「触覚センサを用いた表面粗さ計の開発」、2007 年度精密工学会春季大会第 14 回学生会員卒業研究発表講演会講演論文集、講演番号 N-03、5 頁～6 頁、平成 19 年 3 月 20 日。
34. 岩田洋輔、黒岩裕之、遠藤泰史、居村史人、吉岡昌雄、久保田弘、「ナノプローブシステムにおけるコンピュータと CAD の連動制御技術の開発」、2007 年度精密工学会春季大会第 14 回学生会員卒業研究発表講演会講演論文集、講演番号 N-08、13 頁～14 頁、平成 19 年 3 月 20 日。
35. 那須淳一、日高光太、居村史人、久保田弘、「連続視野角方式を用いたレジスト膜反射強度特性の温度依存性」、第 54 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 27p-S-1、1057 頁、平成 19 年 3 月 27 日。
36. 小村俊一郎、溝上隆之、居村史人、久保田弘、「pn 接合を利用したキャリアライフタイム測定による拡散防止膜の評価」、第 54 回応用物理学関係連合講演会講演予稿集、No. 2、講演番号 28p-K-14、825 頁、平成 19 年 3 月 28 日。
37. 宮本健太郎、河崎敏弘、居村史人、久保田弘、高宗和史、「アフリカツメガエル雄性生殖幹細胞で発現する新規チロシンキナーゼの同定」、第 40 回日本発生生物学会第 50 回日本細胞生物学会合同大会要旨集、講演番号 1P-042、86 頁、平成 19 年 5 月 28 日。
38. 小村俊一郎、溝上隆之、居村史人、久保田弘、「pn 接合の測定温度変化による電流電圧特性を利用した拡散防止膜の評価」、第 68 回応用物理学会学術講演会講演予稿集、No. 2、講演番号 5p-ZF-15、786 頁、平成 19 年 9 月 5 日。
39. 黒岩裕之、岩田洋輔、居村史人、久保田弘、「超微量液体制御ポンプにおけるチューブの応答特性評価」、第 68 回応用物理学会学術講演会講演予稿集、No. 3、講演番号 5p-A-11、1300 頁、平成 19 年 9 月 5 日。
40. 岩田洋輔、濱田真弘、黒岩裕之、遠藤泰史、居村史人、久保田弘、小坂光二、「静電容量とプローブ接触圧計測によるナノコンピュータの Z 軸駆動」、第 68 回応用物理学会学術講演会講演予稿集、No. 1、講演番号 7p-V-6、210 頁、平成 19 年 9 月 7 日。

41. 黒岩裕之、岩田洋輔、居村史人、久保田弘、「超微量液体制御システムにおける圧力応答特性の評価」、平成 19 年度電気関係学会九州支部連合大会（第 60 回連合大会）講演論文集、講演番号 08p-1P-05、202 頁、平成 19 年 9 月 18 日。

解説・特集

1. 居村史人、中田明良、久保田弘、小坂光二、江頭義也、小坂哲也、荒尾淳、「細胞手術用に開発したナノマニピュレータ」、機械設計 日刊工業新聞社、第 46 巻、第 10 号、59 頁～63 頁、平成 14 年 7 月号。

特許

1. 久保田弘、中田明良、居村史人、小坂光二、特開 2003-284775 「液体の吸入および／または吐出装置ならびに液体の吸入および／または吐出方法」、（平成 14 年 3 月 28 日出願）。

受賞

1. 国際ナノテクノロジー総合展・技術会議（nano tech 2002）、ナノテック大賞バイオテクノロジー部門賞受賞、平成 14 年 3 月 8 日。
2. 2002 年度計測自動制御学会学術奨励賞技術奨励賞、平成 15 年 2 月 28 日。