

# 表面カラーマーカーを利用した透明薄膜加工技術の開発

早稲田大学 創造理工学部総合機械工学科

教授 梅津 信二郎

(2018 年度 一般研究開発助成 AF-2018224-B3)

キーワード：カラーマーカー、透明薄膜電極、レーザープロセッシング

## 1. 研究の目的と背景

レーザープロセッシングは、様々な現場で応用されているが、本研究では厚さ数マイクロメートル以下の薄膜エレクトロニクスへの加工に利用する。

厚さが数マイクロメートル以下のエレクトロニクスになると、細胞組織への力学的影響を小さくした状態で測定できる<sup>(1)</sup>ことから、侵襲性を最小限にして、より正確に生体情報のセンシングができるかと期待されている。このような機器開発が重要になる背景として、薬剤開発コストと開発時間の削減が世界的な課題になっている点<sup>(2)</sup>が挙げられる。また、皮膚に貼り付けることが可能なウェアラブルセンサデバイスとしての活用も期待できる。

そこで、本研究では、薄膜エレクトロニクスにレーザープロセッシングによって加工を施すことにした。しかし、薄膜エレクトロニクスは透明なため、レーザープロセッシングを施そうとしても、透過してしまう。また、高コストな加工方法では、普及の可能性が低い。これらから、薄膜表面にカラーマーカーをセットし、ここにレーザーを照射することで、熱を発生させ、加工をする手法を思いついた。

## 2. 実験方法

### 2・1 グリーンレーザーマーカーの加工精度の検討

グリーンレーザーマーカーによる薄膜エレクトロニクスへの微細加工プロセスを以下に示す。幅 25 mm × 33 mm のガラス上に着色のためフォトレジストを 3000 rpm、30 秒間スピコートし、80℃ホットプレート上で 1 時間加熱した。加熱後、剥離剤をディップコートし、薄膜基板を厚さ 250 nm で成膜した。成膜後、グリーンレーザーマーカーにより薄膜基板への加工を行った。グリーンレーザーによる薄膜基板の加工原理としては、薄膜基板下層にスピコートしたカラーマーカーがグリーンレーザーマーカーの緑色の波長を吸収し、発生した熱によって加工した。フォトレジストの色の違いによる吸光度の違いが、薄膜基板の加工精度に影響を及ぼす可能性があると考えた。そこで、本実験では薄膜基板下層のフォトレジスト層を図 1 のように濃淡の異なる二種類のフォトレジストを用いて検証を行った。また、加工を行った図面については、レーザー加工による最小加工サイズを調べるため図 2 に示すように長さ 20 μm、50 μm、100 μm の十字型とした。グリーンレーザーマーカーの加工条件については、レーザーパワーを 10%~100%の間で可変なパラメータとし、レーザー速度、Q スイッチ周波数はそれぞれ 100 mm/s、100 Hz に

固定した。これらの値については、レーザー速度を減少させると加工穴は大きくなり、Q スイッチ周波数を上昇させると、加工がされていない。そのため、本研究ではこのようにパラメータを設定し、薄膜の加工可能な最小サイズに加工を行った。

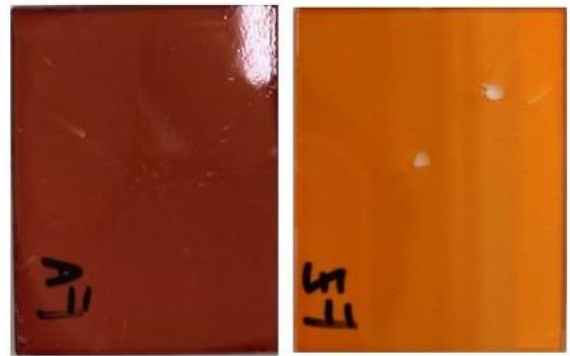


図 1 使用した二種類のフォトレジスト (左:AZ-P4620, AZEM 右:ZPN-1150, ZEON)

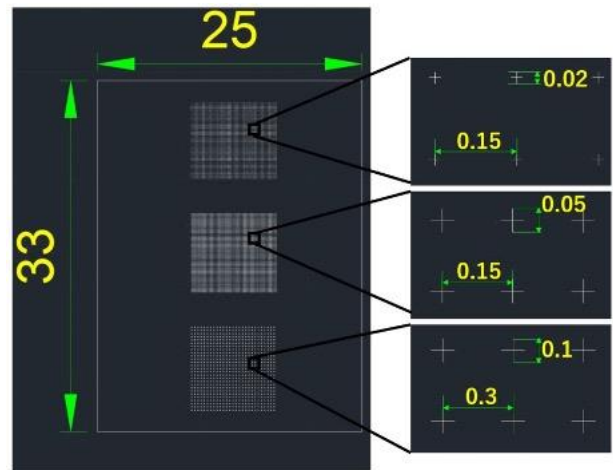


図 2 グリーンレーザーマーカー微細加工寸法

### 2・2 下層基材の違いによる加工精度の検討

薄膜にレーザー加工をするにあたり、薄膜の下層が変わることによって加工精度に違いがあるかどうかについて検討する。2・1の実験で考えたように、グリーンレーザーマーカーによる加工は下層の吸光度の違いが加工精度に影響を及ぼしていると考えられる。よって、本項目では図 3 に示すように、下層にフォトレジスト (AZ-4620, AZEM) を 3000 rpm、30 秒間スピコートしたガラスと、吸光度が

最も高い黒色に着色されている黒色ガラスを用意した。グリーンレーザーの加工条件については、レーザー出力30%、レーザー速度100 mm/s、Qスイッチ周波数100 Hzとした。



図3 下層の違いがレーザープロセッシングに与える影響の調査

### 2・3 薄膜に凹凸構造を設ける加工条件の検討

貫通穴を加工する実験より、レーザー出力を低下させることで薄膜に貫通穴ではなく溝を加工することが可能であると考えた。そこで、本項目ではグリーンレーザーを用いて薄膜に溝構造を設けることにした。加工に使用した2DのCAD図面を図4に示す。また、本実験では、レーザー出力20%では孔が貫通することが確認出来ていたため、出力10%以下での検討を行った。



図4 薄膜に凹凸構造を設けた際の加工寸法

## 3. 実験結果

### 3・1 グリーンレーザーマーカールの加工精度の検討

グリーンレーザーによって加工を行った薄膜を、顕微鏡により観察した。図5はレーザー出力50%における長さ20  $\mu\text{m}$  と100  $\mu\text{m}$ の加工を行った後の顕微鏡画像である。写真から、微細な十字形の加工の場合、レーザースポット径の関係ではほぼ円形の加工になってしまった。より高価で、スポット径の小さいレーザを導入することで、高精度で小型の十字形を加工できるが、出力などの調整によって、加工形状の小型化を図ることにした。レーザー出力を変えた上で、長さ100  $\mu\text{m}$ の十字形を9個加工し、縦幅と横幅を測定したものの平均値を加工幅とした。図6にAZ基板における加工幅を示す。グラフより、縦方向の加工幅が大きくなった。これは本実験では、グリーンレーザーは横方向の照射した上で、縦方向にステージが移動し、次の横方向の照射が行われるためである。

また、基材色を変えることで、グリーンレーザーによる加工範囲が変わることを実験により確認した。また、レーザ出力を徐々に下げていくと、20%までは薄膜に孔を設けることができたが、これ以下のレーザ出力では孔を確認することが出来なかった。また、加工可能な最小サイズの孔は約10  $\mu\text{m}$ になった。

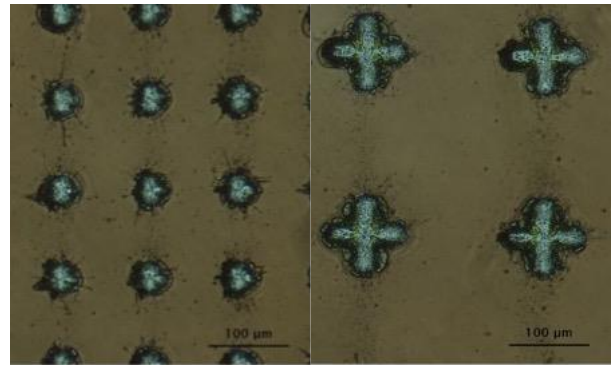


図5 薄膜へのレーザー加工後の顕微鏡写真

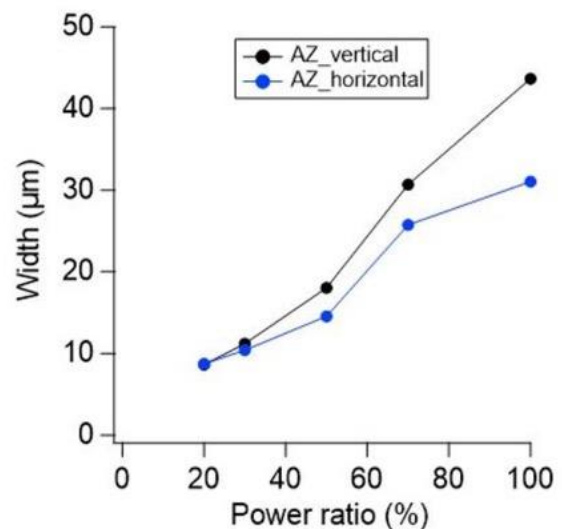


図6 レーザ出力と加工溝幅

### 3・2 下層基材の違いによる加工精度の検討

下層にフォトリソをスピコートしたガラスと黒色ガラスにグリーンレーザー加工を施し、さらに薄膜をガラスから剥離した上で走査型電子顕微鏡(SEM)により観察した結果を図7に示す。フォトリソをスピコートして作製した薄膜には貫通孔が確認されたが、一方で黒色に着色されたガラス上の薄膜は孔ができなかった。また、フォトリソ層を薄膜で挟み込んだものに対するレーザ加工を行った。フォトリソ層の上側に蒸着した薄膜には貫通孔が観察されたが、ガラスに密着している側の薄膜には貫通孔が観察されなかった。

次に、薄膜下層のフォトリソ層をスピコート回転数1000 rpm ~5000 rpmに変化させることによって膜厚を

変更した上で、形成される孔の大きさを調査した。直径の測定はSEM画像から行った。膜が厚くなるにつれて若干孔の直径が大きくなったが、大きな違いは見られなかったと考えている。この理由として、形成した薄膜の厚さが $6\mu\text{m}$ ~ $18\mu\text{m}$ であり、レーザーの孔加工を行う対象の厚みとしては薄かったためである。

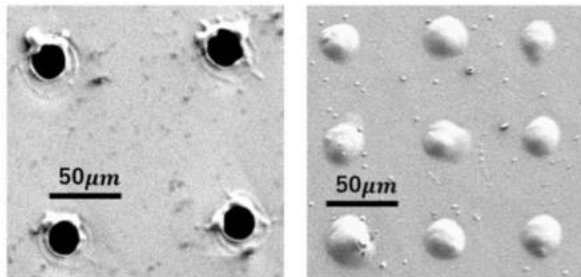


図7 加工穴のSEM画像

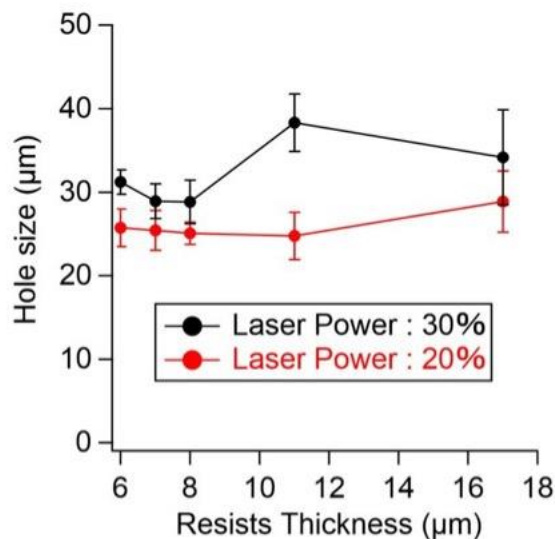


図8 フォトレジスト層の膜厚と貫通孔サイズの関係

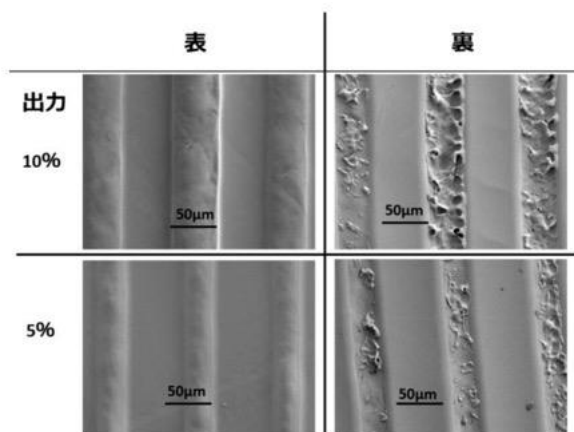


図9 レーザによる薄膜への溝加工

### 3・3 薄膜に凹凸構造を設ける加工条件の検討結果

3・2の結果から、レーザーの出力を低下させた加工を行うことで、孔ではなく、溝の付与が可能になるのではないかと考えた。図9に加工を施したSEM画像を示す。図9に示すように、レーザー加工によって、薄膜に対して溝構造を付与可能なことを実証した。また、当然ながら、レーザーの出力を絞ることによって、溝の幅を調整可能であった。レーザーの出力を変更するだけで、薄膜に付与する溝の形を制御できることは、画期的である。

### 3・4 マイクロ孔を有する薄膜における細胞培養

微細加工を施した薄膜の中心に12mm四方のシリコンフレームを配置し、シリコンフレーム内にフィブロネクチン溶液 $30\mu\text{g/ml}$ を $250\mu\text{l}$ 入れ、2~3時間放置することで薄膜上にフィブロネクチンのコーティングを行った。コーティングの後、 $1.2 \times 10^6$  cells/mlに調整した細胞懸濁液をシリコンフレーム内に $350\mu\text{l}$ 入れ、ヒトiPS細胞由来心筋細胞の播種を行った。2~3日間シリコンフレーム内で培養を行った後、シリコンフレームを取り除き、薄膜をガラスから剥離し、60mmのdish内で薄膜を7mlの培養液に浸すことで培養を行った。グリーンレーザー加工に使用した2DのCAD図面を図10に示す。先行研究では、フォトリソグラフィ・酸素プラズマエッチング手法により薄膜に円形の微細孔を設けることで、薄膜と心筋細胞の密着性が高まり、長期的な培養が可能であった。本実験では、グリーンレーザー加工によって加工した薄膜が機能的に問題なく使用できるか確認するため、播種エリアに約 $20\mu\text{m}$ の微細孔を加工し、加工を施していない薄膜との培養期間を比較した。培養関連の写真を割愛するが、レーザー加工を施していない表面の場合、2週間程度後に薄膜から、生きている細胞が剥離するケースが多く観察されたが、レーザー加工を施した場合、このようなケースは見られなかった。レーザー加工を施すことによって、細胞にとっての強力な足場として機能することを意味しており、動きを伴う心筋細胞にとっては、好ましい足場となることを意味している。

心筋細胞の拍動を観察することによって生きていることは分かるが、生細胞と死細胞の比率は明らかではない。そこで、Live/Dead染色を行い、これを調査した。薄膜上で心筋細胞の培養を培養し2週間が経過したサンプルについてのLive/Dead染色結果を図11に示す。画像の左側がCalcein-AMによる心筋細胞組織の染色、右側はEthidium Homodimer-1による死滅細胞の染色結果であるが、画像より微細孔の有無にかかわらず薄膜上で心筋細胞組織を形成が成功していることがわかる。一方で微細加工を施した薄膜のEthidium Homodimer-1染色結果は確認することが出来なかった。Ethidium Homodimer-1を使用せずに蛍光顕微鏡での観察を行ったところ同様の結果であったため、これはレーザー加工を行った薄膜をガラスから剥離する際にフォトレジストが付着してしまうことが原因と考えられる。(図12)



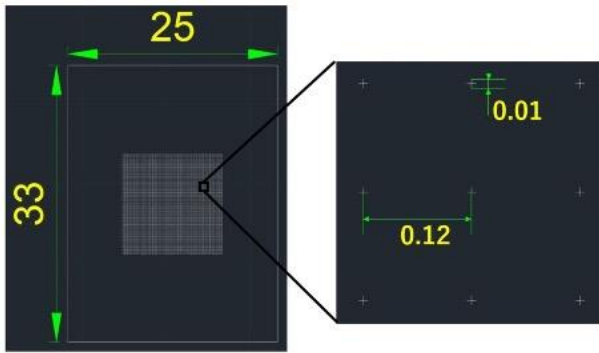


図 10 細胞培養用の薄膜へのレーザー加工パターン

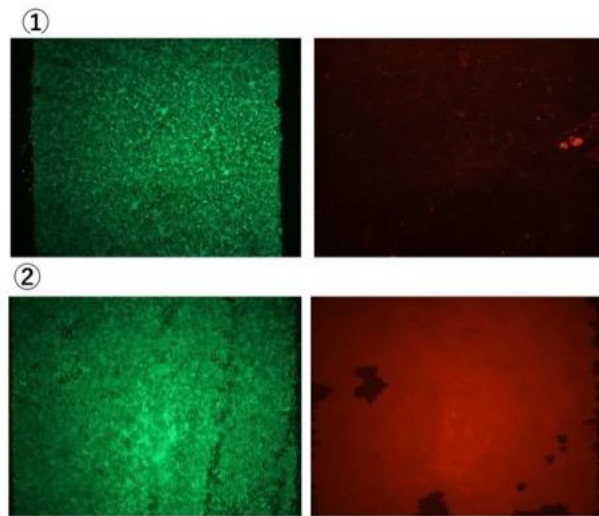


図 11 薄膜上で培養した心筋細胞の Live/Dead 染色結果  
① 微細孔無し、②微細孔有り

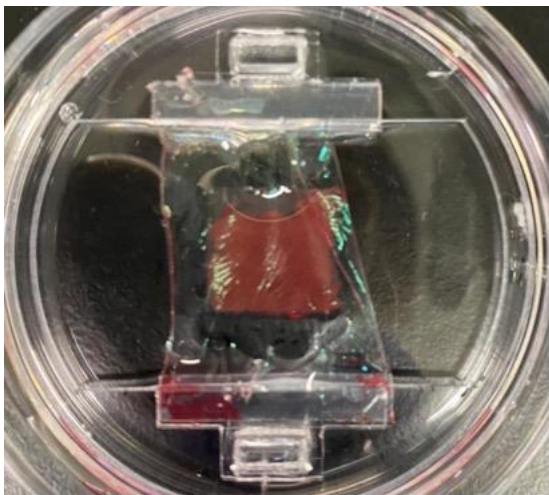


図 12 微細加工した薄膜をガラスから剥離する際にフォトリソグリスが付着した様子

#### 4. 結論

本実験では、グリーンレーザーマーカにより薄膜に最小約  $10 \mu\text{m}$  の微細孔の加工が可能であることを実証した。また、基材色の違いによって、当然ながらグリーンレーザーによる加工のサイズに影響があることを確認した。さら

には、出力を絞ることによって、孔ではなく、溝加工が行えることを確認した。

グリーンレーザーとマーカを使用するという単純なテクニックで、薄膜に対して多彩な加工を行うことが可能であることを実証した。薄膜に対して機械加工で孔や溝を設けることは現実的でないことから、本手法が、薄膜への微細加工を行うスタンダードになる可能性を有していると考えている。

次に、孔を設けた薄膜が、細胞培養に与える影響を調査した。拍動からは違いが観察しにくかったので、Live/Dead 染色を行った。この結果、孔加工を施しても、細胞の生死に影響がないことを確認した。さらには、表面に微細な凹凸ができることなどの理由によって、心筋細胞が剥がれにくくなるため、長期培養に向けた足場になることが分かった。心筋細胞組織は長期培養時に Dish から剥離してしまう問題がある。この問題によって、長期的に顕微鏡下で観察することが困難になってしまう。しかし、本手法を用いることで、薄膜表面に心筋細胞組織を貼り付けておくことが可能になり、さらにはエレクトロニクス配線によって、細胞外電位などの情報をリアルタイムで継続して測定可能というメリットがある。

#### 謝 辞

本研究は、公益財団法人天田財団の一般研究開発助成 (AF-2018224-B3) を受け実施されたものであり、ここに謝意を表します。また、本研究を推進するにあたり、共同研究者の皆様、実験を推進してくれた大矢くん、菅野くんをサポート頂きました。付記し、感謝申し上げます。

#### 参考文献

- (1) T. Ohya, H. Ohtomo, T. Kikuchi, D. Sasaki, Y. Kawamura, K. Matsuura, T. Shimizu, K. Fukuda, T. Someya, S. Umez, "Simultaneous measurement of contractile force and field potential of dynamically beating human iPS cell-derived cardiac cell sheet-tissue with flexible electronics", *Lab on a Chip*, 21(20), 3899-3909 (2021).
- (2) M. Bellin, M. C. Marchetto, F. H. Gage and C. L. Mummery, *Nature Review of Molecular Cell Biology*, 13, 713-726 (2012).

#### 業 績

菅野 雄斗、大矢 貴史、菊地 鉄太郎、佐々木 大輔、松浦 勝久、清水 達也、福田 憲二郎、染谷 隆夫、梅津 信二郎、"レーザープロセッシング技術を利用した薄膜バイオセンサの微細加工法の基礎検討"、日本機械学会卒論講演会 (2022)。