

《様式B》

研究テーマ 「光遺伝学ツールのためのプローブ型集積マイクロ LED デバイスの開発」

研究責任者 所属機関名 豊橋技術科学大学

官職又は役職 准教授

氏名 関口 寛人 メールアドレス sekiguchi@ec.tut.ac.jp

(平成 29 年度募集) 第 30 回 助成研究 完了報告書

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要 (1, 000 字程度)

生命活動下における特定細胞の役割を調べる技術として脳神経を光で操作するオプトジェネティクス技術が注目を集めている。電気刺激や MRI では明確な因果関係を調べることができなかった神経応答と機能の関係を明らかにするために、脳の深部の神経細胞を光刺激するための埋め込み型光刺激技術が求められる。これまでは光ファイバを利用した手法が用いられてきたが、ファイバに繋がれた実験動物では行動種類に制限があるため無線電力供給を可能になる LED デバイスに注目した研究開発が進められている。LED デバイスを用いた場合には、実験動物の行動の自由度が高いことに加えて、光ファイバでは困難な深さ方向や面内における多点刺激(高い空間解像度)や光刺激範囲の可変性、低侵襲化が期待できる。本研究では、新たな光刺激ツールとして、プローブ型集積マイクロ LED デバイスの開発を試みた。まずは一般的なサファイア基板 LED ウェハを用いて半導体プロセスにより一般的な LED サイズの 1/100 となる直径 30 μ m の微小な LED を並べ、ブレードダイシングにより長さ 2.5mm、幅 300 μ m となる刺入型構造を作製した。その後、簡易な実装プロセスを行うことでマウスへの埋植実験を行い、光刺激デバイス応用に向けた可能性を示唆する結果を得た。しかし、サファイア基板の加工性は非常に悪いため、刺入ダメージを抑制するには加工性に優れた LED ウェハを利用する必要があった。そこで、シリコン基板上に作製された特殊な LED ウェハを用意し針型構造を作ることとした。従来の異方性エッチング法に加え、等方性エッチングを加えることで 3 次元的な針型構造とすることに成功するとともに、容易な加工性から 4 つの針を有する多シャンク構造による光刺激の可能性を見出した。本デバイスのバイオ応用へのチャレンジはまだ開始したばかりではあるが、今回作製した光刺激デバイスに同時に観測を可能にする神経電極やセンサ類を加えることができればオプトジェネティクス分野に大きな確信をもたらすと期待される。

2. 実施内容および成果の説明 (A 4 で、5 ページ以内)

神経科学の分野において脳神経回路に光刺激を与えて脳機能の精密な理解や操作を試み(光遺伝学)が盛んに行われている。従来の電気刺激や薬剤では広範囲のニューロンに影響するため個々の神経細胞の機能を理解することは難しいが、光刺激では個々の細胞を刺激できるためその役割の理解や制御に期待がもてる。これまでは脳細胞の深部に光を当てる場合には光ファイバを埋め込みレーザー光を照射しているが、これでは実験動物の動きを制限し、自然な行動を抑制したり、社会的な相互関係の理解を妨げる。この問題解決に向けて、これまでに埋め込み型青色 LED の作製が行われてきたが、市販の LED を用いることが一般的であり、そのサイズは $150\mu\text{m}$ から 1mm 角と大きい。本研究では、脳の深部に侵入可能で細胞 1 個を刺激できるプローブ型集積青色マイクロ LED デバイスの開発を行った。

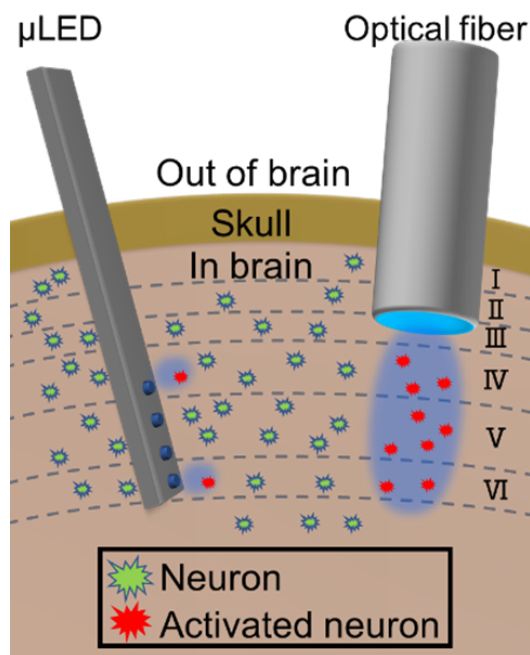


図 1. 光ファイバによる刺激とマイクロ LED プローブによる光刺激の違い

まずは、サファイア基板の上に青色 LED 構造がエピタキシャル成長された一般的な青色 LED ウェハを用いてマイクロ LED を次の手順での作製した。n 型 GaN 層に電気的なコンタクトを取るために誘導結合型反応性イオンエッチング(ICP-RIE)を用いてメサ構造を作製し、その後フォトリソグラフィと電子ビーム蒸着によるリフトオフプロセスにより n 型 Ti/Al/Ti/Au 電極を形成した。続けて、パッシベーション膜及びパッドまでの金属配線のための絶縁層として、プラズマ CVD 法で SiO_2 膜を成膜し、p 型電極を形成するためのコンタクトホールを形成した。上部からの光取り出しを想定して p 型電極には透明電極となる酸化インジウムスズ(ITO)を採

用し、最後にパッドまでの金属配線として Ti/Au の形成を行った。図 2 に今回作製したプローブ型マイクロ LED の模式図を示す。直径 $30\mu\text{m}$ 、間隔 $120\mu\text{m}$ で独立に駆動可能な 4 つのマイクロ LED が集積されている。

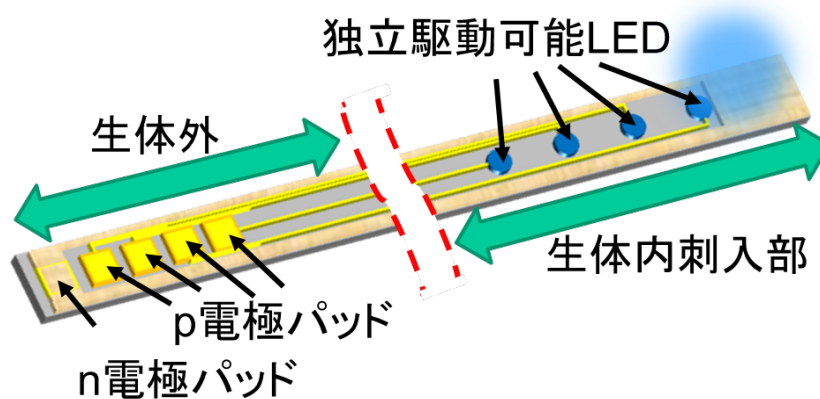


図 2. 作製したプローブ型集積青色マイクロ LED デバイスの模式図

半導体加工プロセスにより作製したマイクロ LED デバイスチップをプローブ型にするためにブレードダイサーを用いて、長さ 2.5mm 、幅 $300\mu\text{m}$ のサイズにダイシングした。図 3 にダイシング後のチップの様子、図 4 にプローブステーション下での発光の様子を示す。独立駆動によるすべてのマイクロ LED から青色発光が観察された。作製した青色 LED の量子発光効率を調べたところ $10\sim 14\%$ と比較的高い値が得られ、光遺伝学で求められる光強度 $1\sim 10\text{mW}/\text{mm}^2$ を $2\sim 20\mu\text{A}$ という微小電流で得られることが示された。

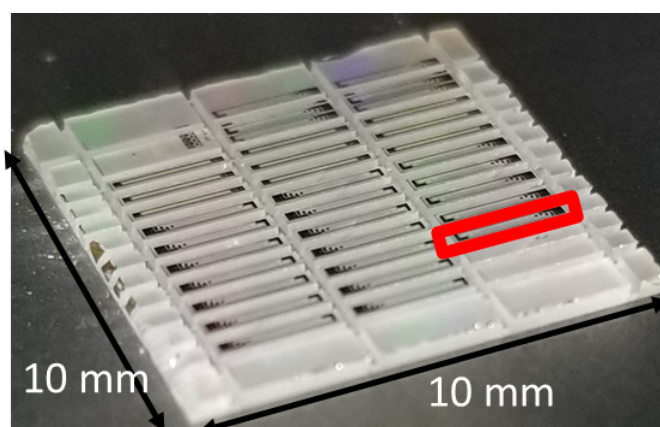


図 3. 作製したマイクロ LED チップのダイシング後の様子

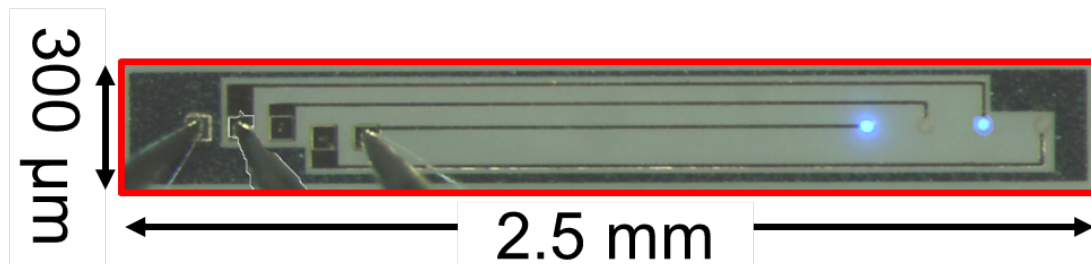


図4. マイクロ LED プローブの発光像

光遺伝学で利用されるマイクロ LED においては素子温度が極めて重要なパラメータとなる。これはわずか 1°C の上昇であったとしても脳への熱刺激やダメージへとつながってしまうためである。そこで今回作製したマイクロ LED 駆動時における素子温度の上昇を赤外線サーマルカメラにより評価した。カメラの温度分解能が 0.05°C であるため温度変化を十分に観測できるよう光出力 $100\text{mW}/\text{mm}^2$ 、 0.5Hz 、デューティ比 0.5 にて駆動したところ $0.3\sim 0.4^{\circ}\text{C}$ の上昇が観察され、連続動作においては 1°C の上昇が観察された。実際に光遺伝学において必要となる $10\text{mW}/\text{mm}^2$ において温度変化を評価したところ 0.1°C 以下とカメラの温度分解能程度の変化のみが観測され、この結果は実際に利用する場合には大きな問題とならないことを示唆する結果であった。実際に本デバイスを用いて、マウスの脳へと刺入し光刺激をする試みを行った。そのままでは刺入しても駆動できないため、作製したプローブ型 LED デバイスを PCB 基板に配置しワイヤボンディングを用いて配線を行った後にエポキシ樹脂を用いて固定した。その後、コーティング装置を用いて生体適合性のあるパリレンをデバイスおよび PCB 基板実装部にコーティングした。このような簡易な実装プロセスを経て、協力研究者(名古屋市立大学、大澤准教授)の協力を得て、マウスの脳へとプローブ型 LED の埋植を行い、生体中におけるマイクロ LED の発光を確認した。生体中における LED の駆動に成功した一方で、LED 刺入におけるマウスへの影響に課題が残った。刺入における問題を解決するには低侵襲に刺入できるプローブ形状へと加工する必要がある。しかしながら、青色 LED ウェハとして一般的に知られるサファイア基板は硬く任意の形状への加工が困難である。そこで、Si 基板上にエピタキシャル成長された特殊な青色 LED ウェハを用意し、従来のダイシング加工からフォトリソグラフィとディープドライエッチング法を組み合わせた新たな手法へと変え、任意形状を作ることを試みた。

マイクロ LED は先に示した手法とほぼ同様の手順にて作製した。ただし、Si 基板上 LED ウェハの加工においてはベースとなる Si 基板の加工自由度が高いため、6 つの集積化された

マイクロ LED をもつ 4 つの針(シャンク)をもつ多チャンネルで光刺激可能な LED プローブを設計した。また今回作製したマイクロ LED のサイズは直径および間隔はそれぞれ $20\mu\text{m}$, $150\mu\text{m}$ であり, それぞれのシャンクの長さとは幅はそれぞれ 2.0mm , $150\mu\text{m}$ である。従来報告されてきた Si プロブの加工方法はディープドライエッチング法を用いたボッシュプロセスによる異方性エッチングが一般的であった。しかしながら, 図 5 に示すようにこの異方性エッチングでは垂直性がよく加工をするため 2 次元的な加工となってしまう, 3 次元的な針構造とならないために細胞への刺入ダメージが課題となる。そこで, 今回は従来の異方性エッチング法に加えて, 追加で XeF_2 ガスを用いた等方性エッチングを行うことで先端の 3 次元的な針構造の形成にチャレンジした。プローブ構造の加工は作製したマイクロ LED への影響が出ないように, チップ裏面から加工を行った。またプロセス中に作製した LED プロブがばらばらにならないように, パッドを配置した広いシリコン領域にエッチングしない部分を作ることで架橋構造とし, 物理的に架橋部分を折ることでプローブを取り出すこととした。

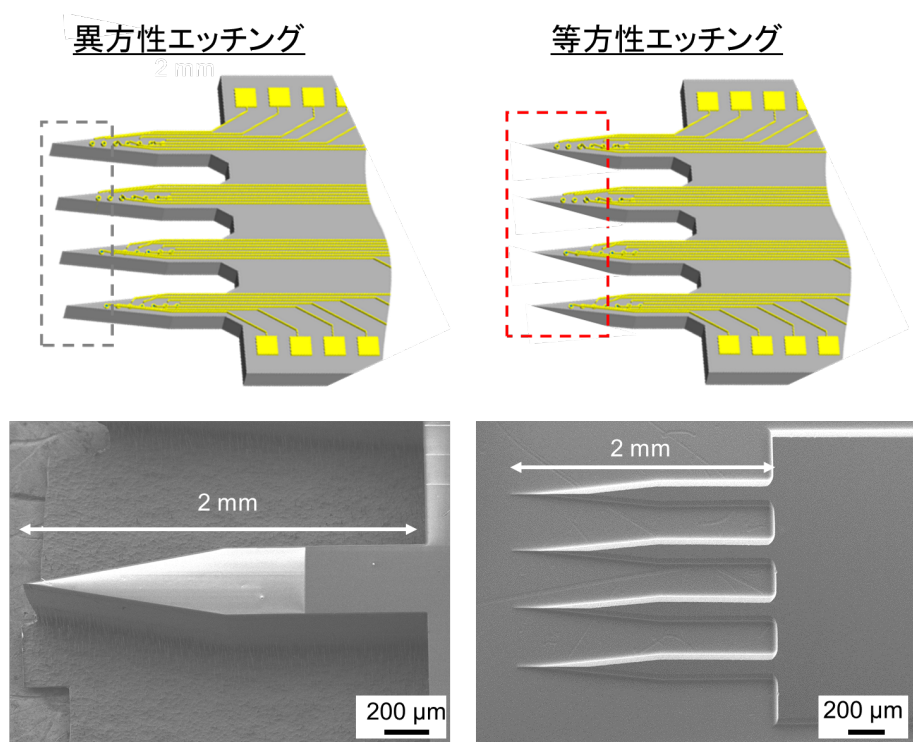


図 5. 異なるドライエッチング法を用いて作製したシャンク構造

最後に, 作製したチップを取り外し, その形状や発光像の観察を行った。図 6 に示すように 4 つのシャンクが並んだプローブを作製することに成功した。実際に SEM 観察を行ったところ, 狙い通り先端が鋭利化された構造となっていることが確認された。またプローブステーション下ではあるが, 各 LED を独立して駆動できることを確認した。発光出力を調べてみると, 先のサファイア基板と異なり基板の吸収があるために, その発光効率 $3\sim 4\%$ とや

や低い値を示したが、 $100\mu\text{A}$ で $10\text{mW}/\text{mm}^2$ を達成できていることが確認できた。

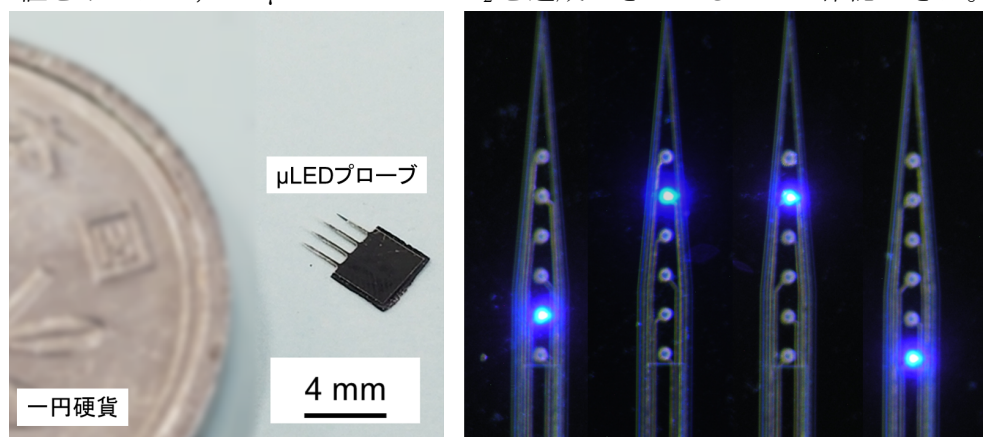


図6. 作製したシリコン基板 LED プローブの写真と発光像

本研究成果は光遺伝学分野の発展に向けた新たなツールの提案と作製であり、一部のデバイスについては実際にマウスへと利用することを開始しつつある。協力研究者を始めとしてバイオ分野の研究者に広く利用できるようなデバイスの開発を進めていく必要がある。今後の進め方としては、今回シリコン上 LED ウェハを用いて作製したマイクロ LED プローブに実装プロセスをすることで、サファイア基板では課題となったマウスへの刺入に対して解決につながったかどうかの検証を行う。また LED の機能性の向上としてはマイクロレンズ導入による光の指向性制御や光刺激による神経の反応を調べるための神経電極やセンサとの一体集積化を検討していく予定である。