



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106133507 B

(45)授权公告日 2018.06.15

(21)申请号 201580015959.5

赤堀玲奈 武田健一

(22)申请日 2015.03.26

(74)专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司 11243

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106133507 A

代理人 范胜杰 曹鑫

(43)申请公布日 2016.11.16

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

2014-075880 2014.04.02 JP

G01N 27/00(2006.01)

B82Y 40/00(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

G01N 21/65(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.09.23

(56)对比文件

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2015/059424 2015.03.26

CN 102628832 A, 2012.08.08,

WO 2013167952 A1, 2013.11.14,

WO 2012043028 X, 2014.02.06,

JP 2013090576 A, 2013.05.16,

WO 2004077503 A2, 2004.09.10,

JP 2009063402 A, 2009.03.26,

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/152003 JA 2015.10.08

(73)专利权人 株式会社日立高新技术

地址 日本东京都

审查员 郭欣悦

(72)发明人 板桥直志 右高园子 柳至

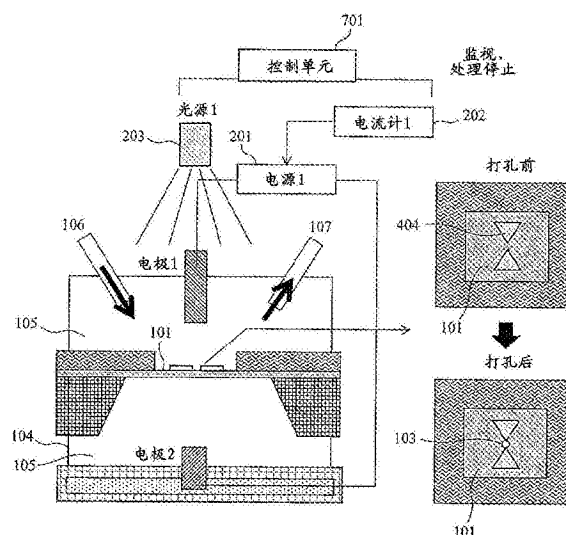
权利要求书2页 说明书13页 附图23页

(54)发明名称

孔形成方法以及测量装置

(57)摘要

针对载置了近场光产生元件的绝缘性的膜，在电解液中对膜照射光的同时，或在对膜照射光之后将膜设置于电解液之中，对在电解液中隔着膜设置的两个电极之间施加第一电压，之后对两个电极之间施加第二电压，在电流值到达或超过预先设定的阈值的情况下使检测通过施加第二电压而在两个电极之间流动的电流值的过程停止，由此在薄膜的期望位置打孔。



1. 一种孔形成方法,对膜形成孔,其特征在于,反复进行以下工序:

第一工序,针对载置了近场光产生元件的绝缘性的膜,在电解液中对上述膜照射光的同时,或在对上述膜照射光之后将上述膜设置于上述电解液之后,对在上述电解液中隔着上述膜设置的第一电极与第二电极之间施加第一电压;以及

第二工序,在上述第一工序之后,对上述第一电极与上述第二电极之间施加第二电压,检测通过施加上述第二电压而在上述第一电极与上述第二电极之间流动的电流值,

在上述电流值到达或超过预先设定的阈值的情况下停止反复进行上述第一工序和上述第二工序的过程。

2. 根据权利要求1所述的孔形成方法,其特征在于,
上述第二电压小于上述第一电压。

3. 根据权利要求1所述的孔形成方法,其特征在于,
以与上述过程的第 n 次相比在第 m 次上述第一电压增大或上述第一电压的施加时间变长的方式进行上述过程,其中, $n < m$ 。

4. 根据权利要求1所述的孔形成方法,其特征在于,
在上述第一工序与上述第二工序之间具有施加与上述第一电压极性相反的电压的工序。

5. 一种测量装置,其特征在于,具备:

光源,其对载置了近场光产生元件的绝缘性的膜照射光;

将上述膜设置于腔室内的机构;

导入口,其对设置了上述膜的腔室内导入电解液和测量对象物质;

隔着上述膜而设置的第一电极和第二电极;

电源,其对上述第一电极与上述第二电极之间施加电压;

电流计,其检测通过施加上述电压而得到的电流值;

控制部,其控制上述光源和上述电源;以及

存储部,其存储了通过对上述膜施加电压而形成的孔的大小与电流值的关系,

上述控制部反复进行以下控制:在对上述膜照射光的同时或在照射之后对上述第一电极与第二电极之间施加第一电压,在施加上述第一电压之后对上述第一电极与上述第二电极之间施加第二电压,检测通过施加上述第二电压而在上述第一电极与上述第二电极之间流动的电流值,

并且,在上述电流值到达或超过被存储于上述存储部并预先设定的阈值的情况下,视为在上述膜上形成了孔而停止反复进行上述控制。

6. 根据权利要求5所述的测量装置,其特征在于,

上述测量装置具有光检测器,其具备颜色识别机构,该颜色识别机构检测通过所形成的上述孔的上述测量对象物质或对上述测量对象物质附加的标识发光体接收来自上述光源的光而放出的光,

上述存储部存储有构成上述测量对象物质的每种物质的光检测值。

7. 根据权利要求5所述的测量装置,其特征在于,

针对随着上述测量对象物质通过上述孔而流动的电流值,上述存储部存储有构成上述测量对象物质的每种物质的值,通过对上述第一电极与上述第二电极之间施加电压而形成

上述孔。

8. 根据权利要求5所述的测量装置,其特征在于,

上述绝缘性的膜是氮化硅膜、氧化硅膜、氮氧化硅膜、氧化铝膜、氧化铪膜、氮氧化铪膜、 HfSiON 、氧化钛膜、氧化锆膜、 ZrSiO_4 、氧化钇膜、聚合物膜中的某一种。

9. 一种孔形成方法,对膜形成孔,其特征在于,反复进行以下工序:

第一工序,将隔着间隙载置了电极对的绝缘性的膜设置于电解液中,在对上述电极对施加电压的同时或施加电压之后,对隔着上述膜设置的第一电极与第二电极之间施加第一电压;以及

第二工序,在上述第一工序之后,对上述第一电极与上述第二电极之间施加第二电压,检测通过施加上述第二电压而在上述第一电极与上述第二电极之间流动的电流值,

在上述电流值到达或超过预先设定的阈值的情况下,停止反复进行上述第一工序和上述第二工序的过程。

10. 根据权利要求9所述的孔形成方法,其特征在于,

上述第二电压小于上述第一电压。

11. 根据权利要求9所述的孔形成方法,其特征在于,

以与上述过程的第 n 次相比在第 m 次上述第一电压增大或上述第一电压的施加时间变长的方式进行上述过程,其中, $n < m$ 。

12. 根据权利要求9所述的孔形成方法,其特征在于,

在上述第一工序与上述第二工序之间具有施加与上述第一电压极性相反的电压的工序。

13. 一种测量装置,其特征在于,具备:

将隔着间隙载置了电极对的绝缘性的膜设置于腔室内的机构;

导入口,其对设置了上述膜的腔室内导入电解液和测量对象物质;

隔着上述膜而设置的第一电极和第二电极;

第一电源,其对上述第一电极与上述第二电极之间施加电压;

第二电源,其对上述电极对施加电压;

第一电流计,其检测通过上述第一电源施加电压而得到的电流值;

控制部,其控制上述第一电源和第二电源;以及

存储部,其存储有通过对上述膜施加电压而形成的孔的大小与上述电流值的关系,

上述控制部反复进行以下控制:从上述第二电源对上述电极对施加电压的同时或施加之后,对上述第一电极与第二电极之间施加第一电压,在施加上述第一电压之后对上述第一电极与上述第二电极之间施加第二电压,通过上述第一电流计检测通过施加上述第二电压而在上述第一电极与上述第二电极之间流动的电流值,

并且,在上述电流值到达或超过被存储于上述存储部并预先设定的阈值的情况下,视为在上述膜上形成了孔而停止反复进行上述控制。

14. 根据权利要求13所述的测量装置,其特征在于,

所述测量装置具有第二电流计,该第二电流计检测随着上述测量对象物质通过所形成的上述孔而流过上述电极对的电流值,

上述存储部还针对上述电流值,存储有构成上述测量对象物质的每种物质的值。

孔形成方法以及测量装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于对生物体分子,特别是DNA进行计测的纳米孔技术。

背景技术

[0002] 在非专利文献1中作为纳米孔形成方法记载了以下内容:使用TEM(transmission electron microscope:透射电子显微镜)装置,在使用氮化硅膜(Si_3N_4)等的膜片上缩小电子束直径而照射,通过控制能量和电流,形成10nm以下直径的孔。

[0003] 在非专利文献2中公开了其它纳米孔的形成方法。在该方法中,在隔着厚度10nm的未打孔的膜片(Si_3N_4 膜)而在上/下充满水溶液(氯化钾),在上/下的腔室的KCl水溶液中分别浸入电极与电极,对两个电极之间持续施加电压。而且,在贯通膜片的方向的电流超过某一电流阈值时使电压施加停止。如非专利文献2中的图2的f所示,在电极之间持续施加5V,在400s至500s之间电极间电流到达电流阈值,因此使电压施加停止,由此形成孔径5nm左右的纳米孔。

[0004] 现有技术文献

[0005] 非专利文献

[0006] 非专利文献1:Jacob K Rosenstein,et al.,“Integrated nanopore sensing platform with sub-microsecond temporal resolution”,Nature Methods,Vol.9,No.5,487-492(2012)

[0007] 非专利文献2:Kwok,H.,Briggs,K.,and Tabard-Cossa,V.,“Nanopore Fabrication by Controlled Dielectric Breakdown”,PLOS ONE,Vol.9,Issue 3,e92880(2014)

发明内容

[0008] 发明要解决的课题

[0009] 使用纳米孔的计测技术,在薄膜膜片的区域101内设置与DNA分子102的粗细相同程度的纳米级尺寸的孔(纳米孔103),用水溶液105充满薄膜膜片的上/下的腔室104,在上/下腔室中的任一个中放入成为测量对象的DNA 102,在该DNA通过纳米孔时进行计测,由此决定DNA的结构特征、碱基序列(图1)。作为在DNA通过纳米孔时进行计测的方法,存在光学计测方法(进行光激发108而对光信号109进行计测)或电计测方法(对电信号110进行计测)。

[0010] 使用非专利文献1的通过TEM装置进行的打孔方法和非专利文献2的通过电压施加进行的打孔方法,以下说明特别是研究了用于光学计测和隧道电流计测的纳米孔形成而变得明确的课题。

[0011] 在使用纳米孔的光学计测中存在以下方法:在分子通过纳米孔时进行光激发,对来自该激发分子或附加到分子的标识被激发的部分的发光进行计测。作为对该光进行计测的单元,存在在纳米孔位置的极近处设置产生近场光的等离子体激元(plasmon)增强结构

的设备。在等离子激元增强结构中,存在在绝缘膜膜片401上形成导体薄膜402,并在该导体薄膜402上打开孔403的结构(孔阵列)、接近配置两个导体点的领结(Bowtie)404(领结阵列)、将两个导体的点406上下纵向堆叠并将其之间通过绝缘体薄膜407进行绝缘的结构(两层堆叠点阵列)等(图4)。当对设备照射光时,例如如果是孔结构则其孔403的底部的中心位置为近场光发生位置408,如果是领结结构则其两个导体点之间的间隙405的位置成为近场光发生位置408,如果是两层堆叠点阵列则点结构之间407成为近场光发生位置408,因此能够将其用作用于进行光计测的激发光。

[0012] 作为孔形成的一例,以膜片上的领结结构的两个导体点之间的间隙位置(间隙的中点)为目标,尝试通过TEM装置来打开孔径5nm的孔。该位置为在进行计测时产生近场光的位置。然而,尝试多次进行相同打孔并调查工序尺寸的结果,可知针对目标孔径5nm以 3σ 产生了2nm左右的孔径偏差。另外,通过TEM装置的位置调整机构准确地进行了在领结间隙的中点的位置上形成孔的操作,但是没有准确地在间隙的中点的位置打孔。在多次的打孔中,从目标的位置以 3σ 产生了5nm左右的错位(位置的偏差)。

[0013] 接着,将通过这些TEM装置进行的孔形成而孔径、孔位置产生偏差的设备依次装入于评价用腔室,注入含DNA的水溶液并照射激发光,对DNA通过纳米孔时发出的光信号的强度进行了测量。其结果可知,从DNA发出的光信号强度基于设备个体的偏差极大,光信号最强的设备与光信号最弱的设备实际上具有2位数以上的差。通过等离子激元增强而产生的近场光局部变强,例如在此例举的领结中,在间隙间隔5nm的情况下,仅在该间隙的5nm的区域内近场光局部地增强。因而,在孔扩大而DNA分子通过孔内的位置不确定的情况下、孔位置与间隙的中点位置偏离的情况下,分子所接受的激发光减弱,因此不可避免光信号的显著下降。在原理上认为与孔径扩大而DNA通过位置不确定的情况相比,孔位置本身偏离的情况对强度下降带来的影响更大,但是例如还考虑即使位置正确也扩大孔径(例如到7nm)的同时领结的前端部也被消减而间隙扩大(从原来的5nm至7nm),光信号强度下降等其它不良影响。总之,孔径、孔位置仅偏离几nm,得到的信号强度就会发生相当大的变化。难以通过基于TEM的打孔来再现性良好地制造性能均匀的光计测方式的纳米孔设备。

[0014] 另一方面,作为在纳米孔附近设置结构物来对通过纳米孔的分子进行计测的设备的另一代表性例子,存在隧道电流计测方式。在隧道电流计测方式中,在绝缘膜膜片的平面上设置隧道电流计测用电极对501(图5(a)),在该电极对的前端部之间的间隙502中设置孔,对电极之间施加电压的同时对DNA分子通过孔时流过DNA分子的隧道电流进行计测。关于以一对导体结构物之间的间隙为目标而打孔的加工这一点,与上述领结相同,作为一例可看作是对领结的两个点分别实施电气布线503而连接到电源并用于计测这一点不同的设备(图5(b))。

[0015] 因此,与领结的情况同样地,以一对导体结构物之间的间隙位置502(间隙的中点)为目标,通过TEM装置来尝试进行多次孔径5nm的打孔。但是,与领结时同样地,在孔径中,针对目标5nm以 3σ 产生了2nm左右的偏差,在孔位置中,从目标的间隙的中点位置以 3σ 产生了5nm左右的错位(位置的偏差)。

[0016] 对这些孔径、孔位置产生了偏离的隧道电流方式纳米孔设备的性能进行了评价。其结果可知,在隧道电流方式中也同样地,计测性能的偏差极大。在间隙的正好中点的位置上碰巧形成孔的芯片个体中,高精度地对隧道电流进行了计测,但是在孔径扩大2nm的设备

或孔位置偏离2nm的设备中,DNA分子通过纳米孔所引起的隧道电流的变化显著下降,成为检测界限以下而无法确认有效的信号。DNA分子通过纳米孔时的隧道电流的变化,在DNA分子从对配置于纳米孔最近的电极对之间进行连结的电流路径稍微偏离时急剧减弱。另外,由于孔变大而孔最近的两侧电极的前端部被消减而间隙扩大,也急剧减弱。因此,在用于隧道电流计测方式的纳米孔设备的制作中也认为,孔径、孔位置仅偏离几nm,在之后的计测中得到的信号强度就发生相当大的变化。

[0017] 以上,在针对与上述任意计测方式对应的纳米孔设备都使用TEM装置的打孔方法中,对计测的应用无法得到足够的加工精度。并且,在使用TEM装置的方法中,不仅是精度,装置成本高以及生产能力低也是问题。

[0018] 因此,期待精度、装置成本、生产能力的改善,接着,尝试进行非专利文献2的打孔方法。在该方法中,只要得到足够的打孔性能,则与使用TEM装置的方法相比,电源装置廉价,另外,由于不使用真空系统,因此能够期望生产能力显著改善。

[0019] 与上述TEM装置的打孔加工同样地准备厚度10nm的未打孔的膜片(Si_3N_4 膜),隔着该膜片向上下充满氯化钾水溶液(KCl水溶液),在上下腔室的KCl水溶液中浸入电极,对两个电极之间施加了电压(图2)。监视电极之间电流的变化的同时继续施加电压时,用440秒电流值超过阈值,因此使处理停止。其结果,第一次,在比膜片区域的中央靠左侧偏离40nm左右的位置上形成了孔径5nm的纳米孔。因此,进一步准备多个未打孔的膜片,以相同条件设定来依次实施打孔,调查了孔的工序尺寸的偏差。其结果,可知针对目标的孔径5nm以 3σ 产生1nm左右的孔径偏差。即使将偏差抑制到1nm还不够,但是与TEM装置的打孔相比,在该非专利文献2的方法中可知至少改善孔径偏差。

[0020] 然而,关于孔的位置,如非专利文献2中所示那样,针对没有配置特征性结构物的平坦的膜片,在膜片中央附近的位置上没有直接打孔。第二次(第二芯片)在比膜片中央向右上角偏离35nm的位置上形成孔,第三次在接近中央的位置上形成孔,第四次在从中央位置倾斜右下方45nm左右的距离的位置上形成孔。这样,在上/下腔室中充满水溶液而通过电压施加来打孔的方法中,与使用TEM装置的方法相比,具有孔径的偏差被抑制得小且成为高精度的优点,但另一方面,孔位置不确定。

[0021] 因此,接着,关于用于光学计测方式和隧道电流计测方式的结构物(领结或电极对)被配置于膜片上的设备,在非专利文献2的方法中研究了打孔。如上所述,使用于光学计测方式、隧道电流方式的纳米孔需要形成于领结的间隙的位置或电极对的间隙的位置。制作在厚度10nm的膜片区域101的中心部形成光学测量方式用的领结404的设备以及形成隧道电流测量方式用的电极对的间隙结构的设备,将其装入腔室104并注入水溶液105并施加电压,由此实施打孔。此外,领结等等离子激元增强设备为使近场光增强的元件,因此在明亮场所中的试验中或许存在某种光的影响。因此,在对这些领结和电极对的打孔加工的研究中,为了排除光的影响来确认电压施加的效果,在暗室(屏蔽盒)内实施打孔试验。

[0022] 但是,尽管在膜片的平面上存在领结、电极对这种导体结构物,也并没有特别观察到在结构物的边缘附近、间隙部等特征性形态的最近位置上打孔的趋势,在与结构物的配置无关的随机的部位高精度地形成了孔径5nm的纳米孔103。针对孔形成的位置,观察不到形成于膜片上的结构物的影响(图6)。

[0023] 以上,在膜片的表面上形成使用于光学测量方式的领结结构以及使用于隧道电流

方式的电极对,研究了非专利文献1的基于TEM装置的打孔方法、非专利文献2的基于电压施加的打孔方法。但是,在基于TEM装置的打孔方法中,由于漂移而产生了2nm (3 σ)左右的孔径偏差和5nm (3 σ)左右的孔位置的错位。另一方面,在基于电压施加的打孔方法中,孔径的偏差被改善为1nm (3 σ)并且是还能够期望低成本化、高生产能力化的方式,但是在无结构的膜片、在表面形成了领结或电极对的膜片的任一个中均未确定打孔位置。在非专利文献2示出的封锁电流方式(在膜片中纳米孔以外不具备结构,对贯通纳米孔而流动的离子电流的分子的封锁进行计测的方式)中,孔位置不需要必须准确地确定,但是在使用基于等离子激元增强结构的近场光的光学测量方式、使用电极对的间隙的隧道电流方式中,当然需要孔径的缩小、高精度化,也需要在结构物的某一确定的位置上打孔的位置控制。

[0024] 用于解决课题的手段

[0025] 为了解决上述课题,本发明的孔形成方法的特征在于,反复进行以下工序:第一工序,针对载置了近场光产生元件的绝缘性的膜,在电解液中对膜照射光的同时,或在对膜照射光之后将膜设置于电解液中之后,对在电解液中隔着膜设置的第一电极与第二电极之间施加第一电压;以及第二工序,在第一工序之后,对第一电极与第二电极之间施加第二电压,检测通过施加第二电压而在第一电极与第二电极之间流动的电流值,在电流值到达或超过预先设定的阈值的情况下停止反复进行第一工序和第二工序的过程。

[0026] 另外,本发明的测量装置的特征在于,具备:光源,其对载置了近场光产生元件的绝缘性的膜照射光;将膜设置于腔室内的机构;导入口,其对设置了膜的腔室内导入电解液和测量对象物质;隔着膜而设置的第一电极和第二电极;电源,其对第一电极与第二电极之间施加电压;电流计,其检测通过施加电压而得到的电流值;控制部,其控制光源和电源;以及存储部,其存储了通过对膜施加电压而形成的孔的大小与电流值的关系,控制部反复进行以下控制:在对膜照射光的同时或在照射之后对第一电极与第二电极之间施加第一电压,在施加第一电压之后对第一电极与第二电极之间施加第二电压,检测通过施加第二电压而在第一电极与第二电极之间流动的电流值,并且,在电流值到达或超过被存储于存储部并预先设定的阈值的情况下,视为在膜上形成了孔而停止反复进行控制。并且,为了测量生物体分子等测量对象物质,测量装置具有以下特征,具有光检测器,其具备颜色识别机构,该颜色识别机构检测通过所形成的孔的测量对象物质或对测量对象物质附加的标识发光体接收来自光源的光而放出的光,存储部存储有构成测量对象物质的每种物质的光检测值。另外,作为对测量对象物质进行测量的其它结构,具有以下特征:针对随着测量对象物质通过孔而流动的电流值,存储部存储有构成测量对象物质的每种物质的值,通过对第一电极与第二电极之间施加电压而形成孔。

[0027] 并且,孔形成方法的特征在于,反复进行以下工序:第一工序,将隔着间隙载置了电极对的绝缘性的膜设置于电解液中,在对电极对施加电压的同时或施加电压之后,对隔着膜设置的第一电极与第二电极之间施加第一电压;以及第二工序,在第一工序之后,对第一电极与第二电极之间施加第二电压,检测通过施加第二电压而在第一电极与第二电极之间流动的电流值,在电流值到达或超过预先设定的阈值的情况下,停止反复进行第一工序和第二工序的过程。

[0028] 另外,本发明的测量装置的特征在于,具备:将隔着间隙载置了电极对的绝缘性的膜设置于腔室内的机构;导入口,其对设置了膜的腔室内导入电解液和测量对象物质;隔着

膜而设置的第一电极和第二电极;第一电源,其对第一电极与第二电极之间施加电压;第二电源,其对电极对施加电压;第一电流计,其检测通过第一电源施加电压而得到的电流值;控制部,其控制第一电源和第二电源;以及存储部,其存储有通过对膜施加电压而形成的孔的大小与电流值的关系,控制部反复进行以下控制:从第二电源对电极对施加电压的同时或施加之后,对第一电极与第二电极之间施加第一电压,在施加第一电压之后对第一电极与第二电极之间施加第二电压,通过第一电流计检测通过施加第二电压而在第一电极与第二电极之间流动的电流值,并且,在电流值到达或超过被存储于存储部并预先设定的阈值的情况下,视为在膜上形成了孔而停止反复进行控制。并且,为了对测量对象物质进行测量,测量装置具有以下特征,具有第二电流计,该第二电流计检测随着测量对象物质通过所形成的孔而流过电极对的电流值,存储部还针对电流值,存储有构成测量对象物质的每种物质的值。

[0029] 发明效果

[0030] 在本说明书中公开的发明中,通过代表性的发明得到的效果如下。在以往的纳米孔设备形成方法中,即使要在目标位置上形成孔,也无法避免孔位置、孔尺寸的几nm的偏差,但是,根据本发明的方法,能够与计测所对应的位置一致地进行孔形成,孔尺寸也能够高精度地监视的同时以埃数量级进行控制。由此,使用光计测方式、隧道电流计测方式的纳米孔,能够进行再现性良好的计测。方法简单且还能够期望实现低成本。

附图说明

[0031] 图1是表示纳米孔计测的原理的图。

[0032] 图2是说明打孔方法的课题的图。

[0033] 图3是说明DNA分析方法的图。

[0034] 图4是表示等离子激元增强结构和近场光发生位置的示例的图。

[0035] 图5是表示隧道电流测量用电极对与其布线的示例的图。

[0036] 图6是说明打孔方法的课题的图。

[0037] 图7是说明本发明的等离子激元增强结构的打孔的实施例的图。

[0038] 图8是说明本发明的隧道电流计测用电极对的打孔的实施例的图。

[0039] 图9是说明本发明的等离子激元增强结构的DNA计测的实施例的图。

[0040] 图10是说明本发明的隧道电流计测用电极对的DNA计测的实施例的图。

[0041] 图11 (a) 是表示本发明的向多个传感器阵列的打孔的实施方式的图。图11 (b) 是表示本发明的多个传感器阵列的计测的实施方式的图。

[0042] 图12是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0043] 图13是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0044] 图14是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0045] 图15是说明本发明的打孔的机制的图。

[0046] 图16是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0047] 图17是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0048] 图18是用于说明本发明的打孔的实施例的数据。

[0049] 图19是说明实施例(打孔和孔径计测的条件以及打孔成果)的图。

[0050] 图20是说明实施例(反向电压施加)的图。

[0051] 图21(a)是表示本发明的向多个传感器阵列的打孔的实施方式的图。图21(b)是表示本发明的多个传感器阵列的计测的实施方式的图。

[0052] 图22(a)是说明实施例(DNA分析)的图。图22(b)是说明实施例(DNA分析结果)的图。

[0053] 图23(a)是说明实施例(DNA分析)的图。图23(b)是说明实施例(拉曼光谱)的图。图23(c)是说明实施例(DNA分析结果)的图。

具体实施方式

[0054] 在用于说明本发明的实施方式的全部图中,对具有相同功能的部分施加相同的附图标记,尽可能省略其反复的说明。以下,根据附图详细说明本发明的实施方式。实施例所记载的设备结构和材料为用于实现本发明的思想的一例,并不严格地确定材料和尺寸等。

[0055] 第一实施例

[0056] 通过使用以下实施例示出的方法,能够解决上述课题。

[0057] 首先,作为第一实施例,示出在膜片上具有等离子激元增强结构,该等离子激元增强结构作为一例为领结结构,在领结结构的间隙中高精度地形成了孔的示例。

[0058] 图7表示整体装置,腔室104具备用于导入包含电解液等的水溶液105的水溶液入口106和出口107,具有用于通过电极1和电极2夹着来设置绝缘性的膜101的机构。从该水溶液入口106能够将电解液、测量对象物质等导入到腔室104。在该绝缘性的膜101上载置有如图4所示通过照射光而产生近场光的近场光产生元件404。该装置具备对该近场光产生元件404照射光的光源203。并且,具备用于对电极1与电极2之间施加电压的电源1(201)以及检测通过施加电压而在第一电极与第二电极之间流动的电流的电流计1(202),具有对这些进行控制的控制单元701。控制单元701具有控制电源、光源等所需的处理器、存储器等。

[0059] 接着,示出具体的示例。

[0060] 将形成了在厚度10nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片101上接近配置了大小为40nm左右的两个导体点而得的领结结构404的芯片装入于腔室,在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液105,在这两侧的腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2。为了向膜片形成孔,在用屏蔽盒对腔室104的周围进行了遮光的暗环境下,首先,对电极1、电极2之间通过电源1将4V的电压施加了2分钟。接着,为了测量孔的直径,对两个电极之间将4V的电压施加30秒钟,准确地测量了电流值。反复进行该过程(过程1)的结果是,在第6次中用于测量孔的直径的施加4V时的电流值上升至800pA,因此预先将孔径与电流值的关系与求出的数据进行对照,能够确认在膜片上打孔而到达孔径2nm。

[0061] 然而,在测量用的4V的电压刚施加之后为800pA(孔径2nm相当)的电流值在开始施加测量用电压起30秒钟之后增加到1060pA(孔径2.3nm相当)(图12)。在施加用于测量孔径的电压的期间,期望孔不会扩大。通过液中的电压施加,在开始的2分钟能够形成2nm的孔,但是之后用于孔径测量而施加的4V的电压变得过高,因此认为在该追加的30秒钟孔径扩大。另外,孔的位置形成于与形成于膜片上的领结结构无关系的位置。

[0062] 因此,在通过屏蔽盒遮光的暗环境下,在电极1、电极2之间通过电源1将4V的电压施加2分钟之后,这次降低用于测量孔径的电压,在两个电极之间将1V的电压施加30秒钟,

准确地测量了电流值。反复进行该过程(过程1)的结果是,在第8次,施加用于打孔的电压4V时的电流值上升至800pA(孔径2nm相当)。紧接其后,将孔径测量用电压1V施加30秒钟,但是根据使电压下降的效果,从开始测量孔径时起30秒钟后的测量结束时为止,流过孔的电流保持200pA(孔径2.0nm相当)而大致不变(图13)。认为在开始的2分钟期间能够形成孔,并且在之后的30秒钟使电压下降而测量流过孔的电流,由此不使孔径扩大而能够准确地测量2.0nm的孔径。然而,孔的位置尝试几次也形成于与膜片上领结结构的位置无关的随机位置。

[0063] 至此,孔形成的位置未确定,但是关于施加电压、要施加的时间,得到以下说明的方针。在使用于孔形成的厚度10nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片中,当继续施加4V的电压时,打孔后孔径被逐渐扩大,另一方面,在1V的电压施加中通过孔而流过离子电流,能够根据电流值来估计孔径,但是孔径不扩大。在本例中,通过反复进行6~8次的电压施加而完成2nm左右的孔形成,但是,例如在该膜片的厚度的状态下使施加电压高于4V的情况下、更薄的膜片的情况下,一次2分钟的电压施加引起的孔的扩大量变大,通过更少的次数到达期望的孔径。另外,在材料变为绝缘强度低的材料的情况下,也以较少次数来容易地打孔。这样,当次数变少时,无法在目标的孔径停止,有时超过目标的孔径。在这种情况下,将2分钟刻度的打孔用的电压施加变更为1分钟刻度等,每次以1V的电压来测量孔径而进行确认的同时以小刻度使孔径扩大,由此能够更高精度地与目标的孔径一致。另一方面,在本次的示例中,将测量孔径的时间固定为30秒,但是在下降至1V的情况下,在孔径测量过程中孔不会扩大,因此测量孔径的时间30秒钟也可以适当地改变。在本实施例中,在所测量的离子电流中掺杂着噪声,在几秒钟的测量中孔径的误差大到10%以上,但是将电流测量30秒钟而使噪声平均化,由此能够以小于10%的误差来估计孔径。

[0064] 因此,接着,在屏蔽盒内设置光源1并开启,对形成于膜片101上的等离子激光增强结构(领结结构404)照射光,使领结的间隙位置产生近场光。在本实施例中作为光源使用了波长785nm、输出50mW的激光器。在该状况下,在通过膜片隔离的两侧腔室104的KCl水溶液105中分别浸入电极1、电极2(图7),通过电源1对两个电极之间将4V的电压施加2分钟,从而尝试打孔。另外,之后,为了估计孔径,关闭光源1并对两个电极之间将1V的电压施加30秒钟,准确地测量了电流值。将该动作反复进行6次的结果是,施加用于打孔的电压4V时的电流值上升至800pA(孔径2nm相当),确认打出了孔。紧接其后,施加孔径测量用的1V的电压时流过孔的电流为200pA(孔径2.0nm相当)且30秒钟未变化而变得稳定(图14),与在通过屏蔽盒遮光的暗环境下实施时同样地能够准确地形成孔,另外,在测量中能够不扩大地估计孔径。

[0065] 在此,细心地观察领结结构附近,搜索形成了孔的位置的结果是,可知2.0nm的孔形成于领结的间隙位置。照射的光通过领结在间隙位置上相当大地增强而使间隙附近的膜片材料的电子状态高密度激发,容易引起绝缘击穿,由此认为通过向电极1与电极2之间的电压施加,在近场光最强的间隙位置上形成了孔(图15)。

[0066] 此外,在估计孔径时,还能够在不关闭光源而照射光的状态下,通过电源1对电极1与电极2之间施加1V的电压,对流过孔的电流进行计测,但是还考虑由于由光导致的充电的影响等而缺乏值的准确性,因此在施加孔径测量电压时优选关闭光源。

[0067] 另外,如上所述,一边照射光一边进行电压施加而形成了孔,但是还能够预先对膜

片上的近场光产生元件照射光,通过在近场光产生元件附近使光增强,使预定的位置劣化,在该状态下在腔室的电解液中设置膜片而进行电压施加,从而形成孔。

[0068] 另一方面,还对在厚度15nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片上形成领结结构的芯片尝试实施相同的打孔。来自光源1的光照射强度、对电极1与电极2之间施加的电压均应用与厚度10nm的膜片的情况完全相同的条件的结果是,即使将4V的2分钟的打孔与1V的30秒钟的孔径测量的过程反复进行20次,也不容易打孔。因此,在每次反复进行用于打孔的电压施加与用于孔径测量的电压施加的一系列过程(过程1)时,进行将用于打孔的电压(第一电压)从4V每隔+0.1V增加的控制的结果是,在第7次打孔电压成为4.7V时电流值上升,能够确认打出了孔(图16)。还考虑膜片厚度的偏差、要贯通的位置的膜片材质的绝缘强度的偏差,但是,这样在无法打孔时,作为一个优选方法,如果采取从低值起使打孔电压逐渐增加的方法,则能够吸收打孔难易度的偏差,能够以高成品率来制造打出期望的孔的膜片芯片。

[0069] 另外,另一方面,为了调查激光的强度与波长的影响,尝试对在厚度10nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片上形成领结结构的芯片,进行了将激光强度设为10倍并使打孔用电压下降至2V的试验、将激光的波长切换为短波长638nm并使打孔用电压下降至2V的试验这两种试验的结果是,可知尽管电压下降至2V,也在领结间隙位置上打孔。认为或许是由于领结间隙位置上的激发密度的提高或激发到高能级的能级而导致。另外,可知为了简单起见,此时即使将以2V将打孔电压施加2分钟之后的30秒钟的孔径测量用电压设定为与打孔用电压相同的2V,如果在孔径测量中关闭激光,则在30秒钟期间孔径也不会扩大。这样,作为反复进行打孔与孔径测量的过程,除了在孔径测量时使电压下降的方法以外,可知在打孔时和孔径测量时的电压简单地相同的状态下,在打孔时照射光,另一方面,在孔径计测时仅关闭光照射,也能够设定在孔径计测时孔不会扩大的期望的打孔条件。

[0070] 在图19中整理地示出目前的评价结果。在打孔时在光照射关闭的条件A、B中,未确定孔位置,但是在光照射开启的条件C、D、E中,在孔径计测时使电压下降的方法(C)中或在打孔时使光的输出(D)、能量(E)提高并在孔径计测时不使电压下降而仅关闭光的方法中,都在期望的位置上进行了期望直径的打孔。

[0071] 第二实施例

[0072] 接着,作为第二实施例,使用图8示出在膜片上具有隧道电流计测用电极对并在该隧道电流计测用电极对之间的间隙中形成孔的示例。

[0073] 图8示出整体装置,与图7重复之处省略说明。在图8中,在绝缘性的膜101上具有电极对501,具有用于对电极对501施加电压的电源2(204)。对该电极对501施加电压的同时或在施加后实施如第一实施例所说明那样的电压施加法,由此在电极对501的间隙中形成孔。以下,示出具体例。

[0074] 在厚度10nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片上形成电极对501,将在该电极对的前端相对的位置上具有3nm的间隙502的芯片装入到腔室。另外,连接了用于对该电极对501施加电压的电源2。在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液,在这两侧的腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2,将该电极连接于电源1。与在第一实施例中示出的光激发设备不同,因此或许不存在光的影响,但是为了在相同试验环境下向膜片形成孔而进行比较,在与第一实施例中使用的屏蔽盒相同的屏蔽盒内的遮光的暗环境下进行了试验。

[0075] 首先,在不对隧道电流计测用电极对施加电压(电源2)的状态下,通过电源1对电

极1、电极2的两个电极之间将4V的电压施加2分钟。接着,为了测量孔径,对两个电极之间将1V的电压施加30秒钟,准确地测量电流值。通过反复进行该动作,能够与第一实施例的形成领结的膜片的情况同样地,在膜片上形成2nm的孔,但是孔形成位置为与隧道电流计测用电极对分离的无关系的位置。

[0076] 因此,接着,通过电源2 (204) 对隧道电流计测用电极对501施加2V的电压,对未打孔的膜片上的电极对的前端部的3nm的间隙502施加电压。在间隙之间充满了KCl水溶液,因此电流流过电极对的间隙502。在该状况下,在通过膜片隔离的两侧腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2,通过电源1对两个电极之间将4V的电压施加2分钟,从而尝试打孔。另外,之后,为了估计孔径,将对隧道电流计测用电极对501的前端部的间隙施加的电压关闭,通过电源1对电极1、电极2的两个电极之间将1V的电压施加30秒钟,准确地测量电流值。其结果,为250pA且30秒钟大致不变,确认形成了孔。此时,细心地观察隧道电流计测用电极对的电极前端部的间隙附近,搜索形成了孔的位置的结果是,确认为接近长径2.2nm且短径2.0nm的椭圆的孔被形成于电极前端部的间隙位置。

[0077] 与在领结的间隙中形成孔的情况相比,孔的形状成为在一些隧道电流计测用电极对的前端部之间向两个电极前端的方向延伸的形状。通过电源2施加的电压在电极前端部的间隙中感应出电流,膜片材料的电子激发状态、带电状态发生变化,而容易引起绝缘击穿,由此认为在电极前端部之间的间隙位置形成了孔。

[0078] 第三实施例

[0079] 以上,如第一实施例、第二实施例所示,通过能够实现光的增强、局部电流激发等的功能结构来对膜片上的特定位置进行激发,从而确定了打孔位置。接着,作为第三实施例,示出以下示例:在膜片上作为等离子激元增强结构而具有领结的结构和在膜片上具有隧道电流测量用电极对的结构中,作为一例,使用在膜片上作为等离子激元增强结构而具有领结的结构,调查了打孔电压、电压施加次数、孔完成为止所需时间(生产能力)的关系。

[0080] 将形成了在厚度10nm的未打孔的 Si_3N_4 膜片上接近配置了大小为40nm左右的两个导体点的领结结构的芯片装入腔室,在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液,在这两侧腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2。在本第三实施例中,以打开3nm的孔为目标。为了向膜片形成孔,开启设置于屏蔽盒内的光源1,对形成于膜片上的等离子激元增强结构(领结结构)照射光,在领结的间隙位置产生近场光。在该状态下,通过电源1对电极1、电极2的两个电极之间将4V的电压施加2分钟。接着,为了测量孔径,对两个电极之间将1V的电压施加30秒钟,准确地测量电流值。反复进行该过程(过程1),到达450pA(孔径3nm相当)时要使处理停止。然而,反复实施而以3nm的完成为目标,但是如图17所示,可知即使将过程1反复进行10次,也在第8次、第9次、第10次,存在310pA附近电流值的增加饱和的趋势。当根据电流值来计算孔径时,解释为直到孔径2.5nm附近为止孔的扩大饱和。

[0081] 因此,将过程1进行10次,在用于孔径测量的1V施加时的电流成为310pA的时间点,切换为增加了施加电压的处理(过程2)。从第11次的电压施加起,使用于打孔的施加电压设定从4V增加到5V,之后,将以1V对孔径进行计测的过程(过程2)追加实施6次(总共到第16次为止)的结果是,如图17的第11~16次所示,示出从310pA起增加的趋势,在第16次的孔径测量用的1V的电压施加时判断为到达了450pA(孔径3nm)。

[0082] 尝试地再准备一个芯片的厚度10nm的未打孔的带领结的膜片,从第1次起将用于

打孔的施加电压设为较高5V而反复进行过程1的结果是,直到第8次为止,孔径测量用的1V的电压施加时的电流到达450pA(孔径3nm相当)。

[0083] 如上所述,在电源1的施加电压固定并反复进行过程1来打孔的情况下,当增加次数时存在孔的扩大饱和的趋势,在要追加地扩大孔的情况下、开始以大孔为目标的情况下,仅增加次数也不容易到达期望的孔径。在追加的孔径扩大或以稍大的孔为目标而形成的情况下,可知当提高打孔用电压而实施时,直到孔完成为止所需的时间缩短。但是,当开始起使电压过高时,仅较少次数实施过程1,还担心超过期望的孔径。一旦过度扩大的孔,无法再变窄,因此从稍小的孔起作为目标,在途中切换电压,稍微扩大而完成的制法最佳。

[0084] 此外,如图17所示,通过将电压从4V提高至5V,最终能够到达3nm的孔径,但是例如即使提高至5V,仍然具有逐渐饱和的趋势。因此,越接近到达3nm,一次的孔径扩大量越小,次数增加因此效率差。在预先掌握这种饱和特性的基础上,进行在每次重复进行处理时使处理时间逐渐延长的控制,由此减少处理后半部的次数,高效率地到达期望的孔径的控制方法也可以有效地使用。

[0085] 第四实施例

[0086] 接着,作为第四实施例,说明完成打孔之后施加孔径测量用电压而测量孔径时的精度提高的示例。

[0087] 图18(a)示出向厚度10nm膜片形成直径2nm的孔时的电流变化,图18(b)示出向厚度10nm膜片形成直径3nm的孔时的电流变化。在此,图18(c)示出使打孔加工的负荷进一步增加并以在厚度20nm的膜片上形成直径4nm的孔为目标而实施打孔时的电流变化。

[0088] 在此,详细观察完成打孔之后施加孔径测量用电压来测量孔径的工序的电流波形,特别是,在图18(c)中,在施加孔径测量用电压的定时,确认为电流值暂时偏向图表的下方然后稳定于固定值的行动(在图中用箭头指示)。在图18(a)和图18(b)中,对电极1与电极2之间施加的电压分别为4V和5V,但是在图18(c)中,膜片厚且以稍大的孔径为目标,因此施加稍高的8.5V的电压。或许由于在打孔时施加稍高的电压,因此在膜片材料表面积蓄很多电荷,在下降至孔径测量用的1V的电压值的瞬间,积蓄电荷被释放,由此推定成为这种电流值暂时偏向图表的下方之后稳定的波形。

[0089] 因此,为了消除作为推定原因的表面电荷的积蓄,紧接着在图18(c)的条件(打孔电压8.5V、孔径测量电压1V)的打孔之后,将反向的电压-2V施加5秒钟,之后,变更为过渡到孔径测量的条件。其结果,在施加孔径测量电压1V时,电流值暂时偏向图表的下方,然后稳定于固定值的行动没有再被观察到,孔径测量过程中的电流成为固定值。

[0090] 这样,如果以反向电压使表面积蓄电荷复位,则原理上孔径测量精度提高,结果认为能够以更严格的孔径来形成。本试验的结果是,表面电荷积蓄的影响特别显著出现的是特别将电压增加到8.5V的事例,但是或多或少在表面存在电荷积蓄,因此作为带电消除步骤,在施加孔形成电压的工序之后,加入施加反向电压的处理即可。图20示出在存在由打孔用电压引起的带电的影响的情况下,通过施加反向电压,积蓄在表面的电荷被消除,由此能够高精度地对孔径进行计测的情况。

[0091] 第五实施例

[0092] 接着,说明通过纳米孔设备使用光来测量DNA分子的示例。作为整体结构,如图9所示,使用光源1(203)和光检测器1(206),从光源对近场光产生元件404的领结照射光,在检

测器中测量来自通过孔的DNA分子的光。

[0093] 作为一例,如图11所示,将在厚度5nm的膜片上形成了光计测方式用的领结结构的元件以10个×10个并列地形成100个的芯片装入腔室,在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液,在这两侧腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2而固定。通过膜片隔离的上/下的区域中,上侧区域的电极1对应于100个并列元件,对每个元件设置一个,合计设置100个,另一方面,膜片的下侧区域的电极2为公共电位即可,因此针对100个膜片成为公共的一个电极。对100个元件照射光,通过上述方法对该1个元件1个元件施加电压来形成孔。对所有100个同时施加电压,同时形成孔在原理上也是可能的,但是在本实施例中,通过对100个膜片所对应的100个电极1分别设置的开关505,一个一个地依次施加电压,一个一个地检查孔径的同时在各领结间隙位置上形成了100个孔。之后,不将膜片芯片从腔室取出,直接继续将含DNA的水溶液注入于上侧腔室,过渡到DNA分子的计测。

[0094] 如图11(a)(b)所示,从光源1对膜片上的领结照射光,产生以领结间隙增强后的近场光,将通过孔的DNA分子激发。可知对DNA分子的四种碱基分别专门地附加标识色素,因此在DNA分子通过孔时,由作为分光设备而使用滤色器的光检测器1分别观测来自各色素的荧光,得到用于分析所通过的分子信号。使孔位置与通过在本说明书中说明的方法将分子激发的位置一致,并且高精度地控制孔径来形成,由此首次实现本实施例的测量。此外,在该评价中,在对用于分析DNA所具有的四种碱基(A、G、C、T)的荧光色素进行激发的光中使用了波长505nm和642nm的激光的混合光。是用于使后文中示出的四种荧光均发光的通常的波长选择之一。在等离子激光增强设备中激发光的强度被增强,因此还基于增强度,但是在本次的试验中,作为激光器的输出,波长505nm、波长642nm这两者均50mW左右即足够。原理上,只要能够输出相同激发波长的光,则也可以不是激光器而是非相干的光源。此时,认为通过用于四种碱基的分析的色素的选择,能够使用各种波长,但是作为一例,在此作为分析用的波长,对A使用520nm、对G使用666nm、对C使用567nm、对T使用702nm。

[0095] 如果构建具备对这四种光进行识别的功能,并依次记录得到的光信号的系统,则能够用作DNA测序器。图22(a)示出其概要框图。作为一例,图22(b)示出在颜色挑选功能的部分使用滤色板来分析的信号。关于颜色识别功能,只要能够识别四种,则也可以是使用棱镜、衍射光栅的分光设备。在图22(b)的示例中,得到G、A、G、T、C、T的结果。

[0096] 收集很多这种数据信息,通过分析部来进行从重复的特征、多个数据的叠加进行的推定等计算,根据分析出的片段的拼接,能够弄清楚四种碱基的原排列顺序,从而能够构成、确认作为DNA测序器的基本功能。

[0097] 另外,另一方面,在光学的测量方法中,除此以外,作为不使用标识色素的方法,还存在拉曼分光。DNA分子的四种碱基,即使被以同一波长的光激发,由于分子结构的差异,激发状态的能量能级也不同,因此发出分别不同波长的拉曼光。因此,还尝试对没有对四种碱基附加标识色素的DNA分子进行计测。通过作为分光设备而具备衍射光栅分光器的光检测器1使四种各碱基的特定波长一致而能够观测拉曼光。此外,在该评价中,作为拉曼分光的评价,在使DNA所具有的四种碱基(A、G、C、T)激发的光中使用了638nm或785nm的激光。在任意波长中,均能够得到后述那样的四种碱基分离的拉曼光谱。与荧光色素的情况同样地,通过等离子激光增强设备使激发光的强度增强,因此作为激光器的输出而50mW左右即足够。但是,在拉曼分光中,需要高分辨率的识别,因此期望使用激光器以锐化的单一波长来激

发。从四种碱基得到稍微具有波长差的峰(在能量的值中,最多具有几 100cm^{-1} 左右的差的峰)。由于分子的结构不同,振动光谱结构不同,这在拉曼分光中的观测波长域内成为光谱的峰波长的差而显现。在拉曼分光的领域内,被称为拉曼位移。即,在四种碱基中拉曼位移分别不同,因此这在拉曼光谱上成为能够识别四种碱基的分离的峰而显现。

[0098] 如果制作具备对这四种光(由拉曼位移的差异而波长不同的光)进行识别的功能并依次记录得到的光信号的系统,则与荧光方式同样地,能够用作DNA测序器。图23(a)示出使用拉曼分光的情况下的概要框图。图23(b)示出作为一例在颜色挑选功能的部分使用衍射光栅分光器和使观测点成像的(通常作为名称被称为拉曼显微镜)光学系统,并以638nm的波长激发的情况下得到的光谱。另外,图23(c)示出这样峰波长分离,因此使用这四个峰来尝试进行DNA的分析的结果。在图23(c)的示例中得到A、T、G、C、T、A的结果。

[0099] 收集这种数据信息,通过分析部来进行重复的特征、从多个数据的叠加进行的推定等计算,根据分析出的片段的拼接,能够弄清楚四种碱基的原排列顺序,能够构成、确认作为DNA测序器的基本功能。

[0100] 第六实施例

[0101] 接着,说明通过纳米孔设备并根据封锁电流来测量DNA分子的示例。作为整体结构,图9示出的结构中不使用光源1(203)和光检测器1(206),在对膜片上下电极施加电压时通过电流计1(202)来监视流过纳米孔的电流,同时对DNA分子通过时的电流的变化进行计测。是对DNA分子封堵纳米孔的封锁率的差异进行测量并对所通过的碱基的种类进行识别的方法。作为一例,以图11示出的结构中不使用光源1(203)、光检测器(206)以及其附带的光学系统(透镜、颜色识别)的结构进行说明。

[0102] 将在厚度5nm的膜片上形成光计测方式用的领结结构的元件以10个 $\times$ 10个并列地形成100个的芯片装入腔室,在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液,在这两侧腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2而固定。通过膜片隔离的上/下的区域中、上侧区域的电极1对应于100个并列元件,对每个元件设置一个,合计设置100个,另一方面,膜片的下侧区域的电极2为公共电位即可,因此对100个膜片成为公共的一个电极。对100个元件照射光,对该1个元件1个元件,通过上述方法来施加电压而形成2nm的孔。通过对100个膜片所对应的100个电极1分别设置的开关,一个一个地依次施加电压,一个一个地检查孔径,同时在各领结间隙位置上形成100个孔。之后,不将膜片芯片从腔室取出,直接继续将含DNA的水溶液注入于上侧腔室,过渡到DNA分子的计测。

[0103] 在本实施例中,不通过光学测量对DNA分子进行计测,在分子通过孔时使孔封锁,由此对流过孔的电流的减少量进行测量(封锁电流方式)。首先,在光源1被关闭的状态下,通过电源1对电极1和电极2施加电压,通过安装于电源1的电流计来持续监视通过孔而流动的离子电流的结果是,在DNA分子通过孔时,出现特征性的离子电流的减少(封锁),能够捕捉到水溶液中的DNA分子通过孔的情况。

[0104] 第七实施例

[0105] 接着,说明通过纳米孔设备并根据隧道电流来测量DNA分子的示例。作为整体结构,如图10所示,通过隧道电流测量用电极501,对随着DNA分子通过孔而流动的电流进行测量。

[0106] 是在DNA分子通过纳米孔时对流过各碱基的隧道电流进行测量并根据其差异对所

通过的碱基的种类进行识别的方法。作为一例,如图21所示,将在厚度5nm的膜片上形成有隧道电流计测用电极对的元件以10个×10个并列地形成100个的芯片装入腔室,在通过膜片隔离的腔室的两侧充满KCl水溶液,在这两侧腔室的KCl水溶液中分别浸入电极1、电极2而固定。通过膜片隔离的上/下的区域中、上侧区域的电极1对应于100个并列元件,对每个元件设置一个,合计设置100个,另一方面,膜片的下侧区域的电极2对应于100个膜片成为公共的一个电极。通过电源2对100个元件的隧道电流计测用电极对施加电压而使电极对的间隙激发,对该1个元件1个元件,通过上述方法,通过电源1施加电压而形成孔。对所有100个同时施加电压,同时形成孔在原理上也是可能的,但是在本实施例中,通过对100个膜片所对应的100个电极1分别设置的开关505,一个一个地依次施加电压,一个一个地检查孔径,同时在各电极对的间隙位置上形成100个孔。之后,不将膜片芯片从腔室取出,直接继续将含DNA的水溶液注入于上侧腔室,过渡到DNA分子的计测。

[0107] 如图21(a)(b)所示,从电源2对膜片上的电极对施加电压,在DNA分子通过孔时,对流过各碱基的隧道电流进行测量。能够观测由DNA分子的四种碱基的分子结构的差异引起流动的隧道电流分别不同的情况,可知通过该方法能够得到DNA的碱基序列。使孔位置与正好与通过在本说明书中说明的方法使隧道电流流过分子的电极对间隙一致的位置一致,另外,高精度地控制孔径而形成,由此首次实现了本实施例的测量。

[0108] 第八实施例

[0109] 在Si₃N₄膜片以外,还将使用第一至第七实施例的方法的纳米孔形成方法应用于SiON膜片、SiO₂膜片、氧化铝膜片、HfO₂膜片、HfSiON膜片、TiO₂膜片、氧化锆膜片、ZrSiO₄膜片、氧化钇膜片等无机材料膜片、其它聚合物膜等。由于带隙等材料特性的差异,打孔所需的电压根据材料不同而不同,但是只要是上述材料,则基本上确认能够应用本技术。

[0110] 另外,针对近场光产生用光源和基于光计测的DNA分析用光源,能够使用公共的光源,只要能够以适合于测量的方式改变功率、波长即可。

[0111] 符号说明

[0112] 101:薄膜膜片的区域;102:DNA分子;103:纳米孔;104:腔室;105:水溶液;106:水溶液入口;107:水溶液出口;108:光激发;109:光信号;110:电信号;201:电源1;202:电流计1;203:光源;204:电源2;205:电流计2;206:光检测器;401:绝缘膜膜片;402:导体薄膜;403:孔;404:领结;405:间隙;406:导体点;407:上下导体点之间的绝缘体薄膜;408:近场光产生位置;501:电极对;502:电极对间的间隙;503:电气布线;504:电流产生位置;505:选择开关;701:控制单元。

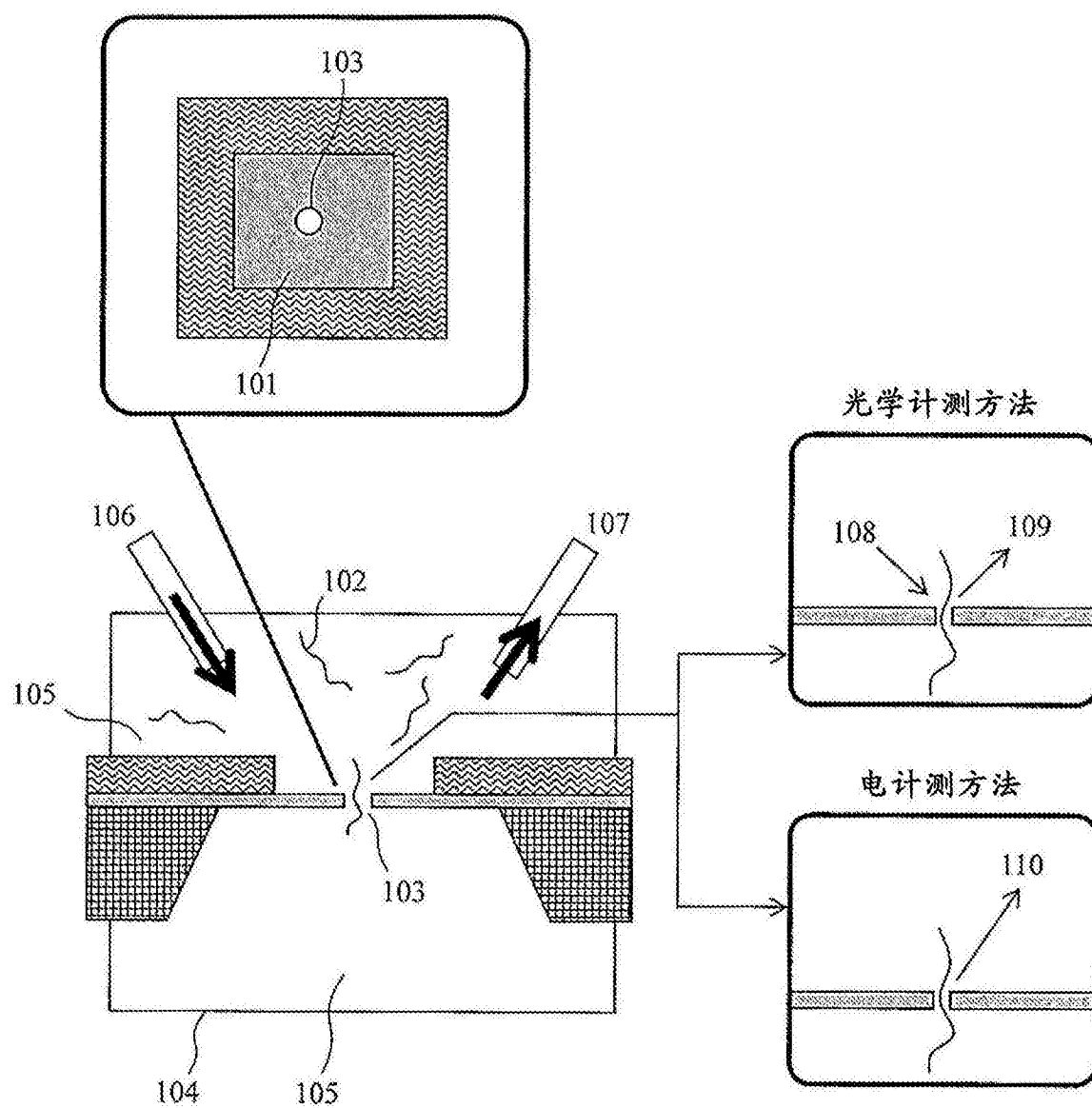


图1

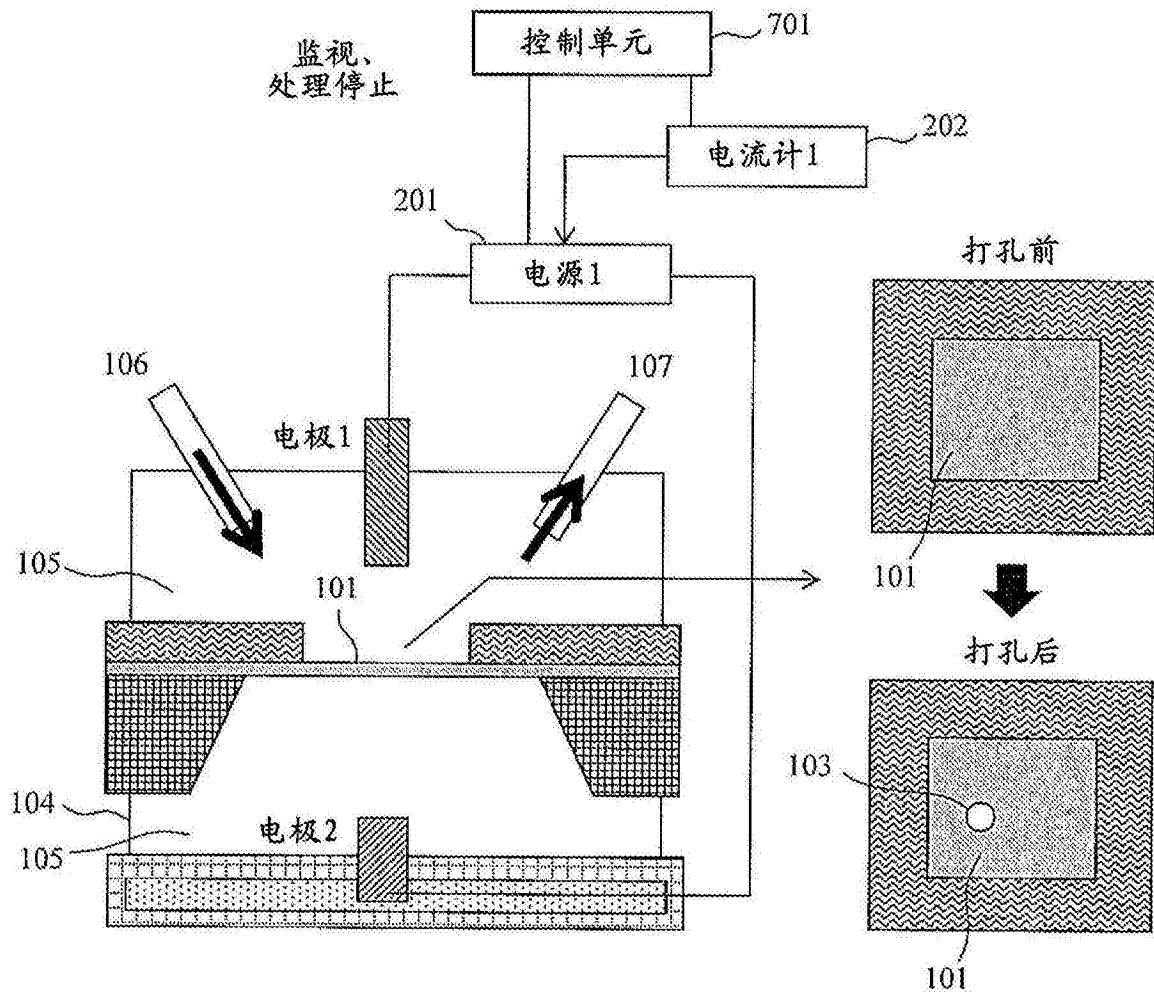


图2

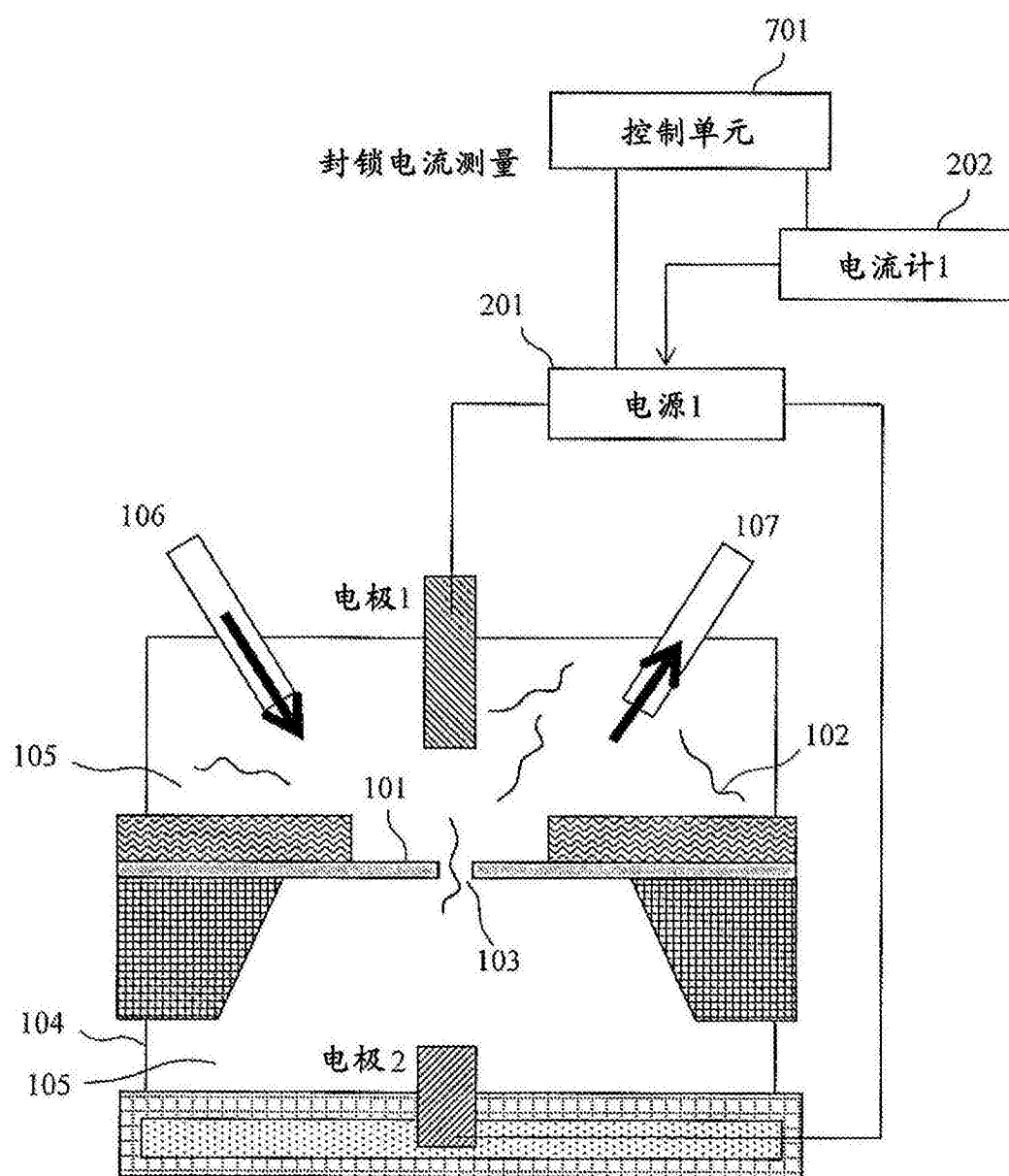
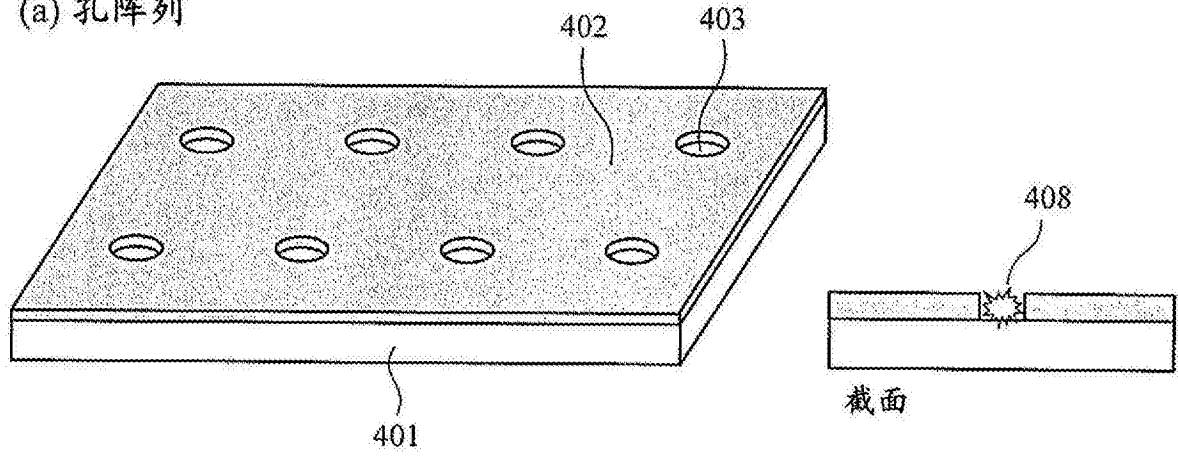
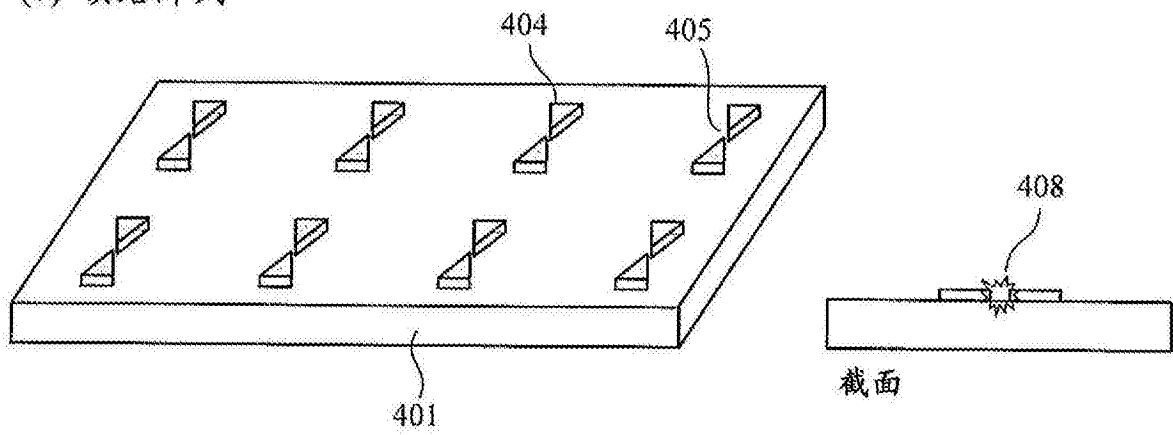


图3

(a) 孔阵列



(b) 领结阵列



(c) 两层堆叠点阵列

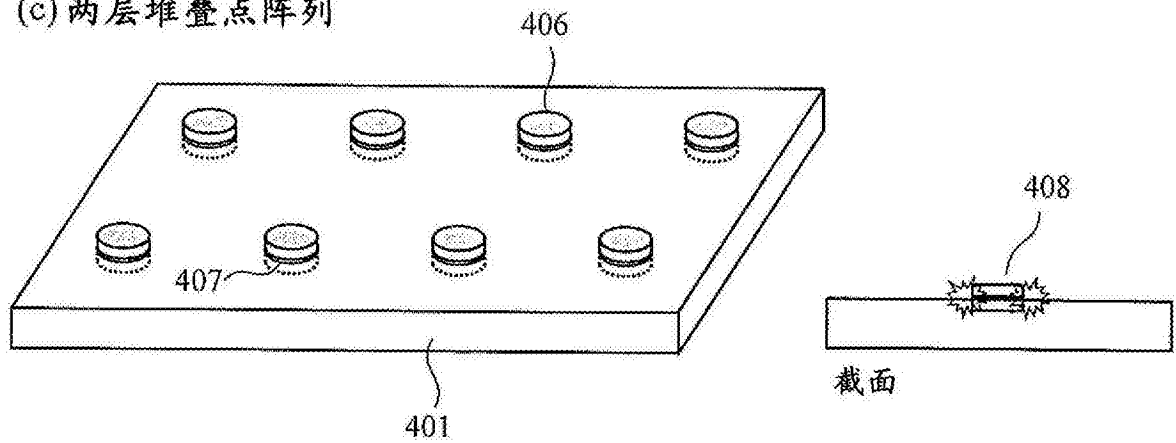
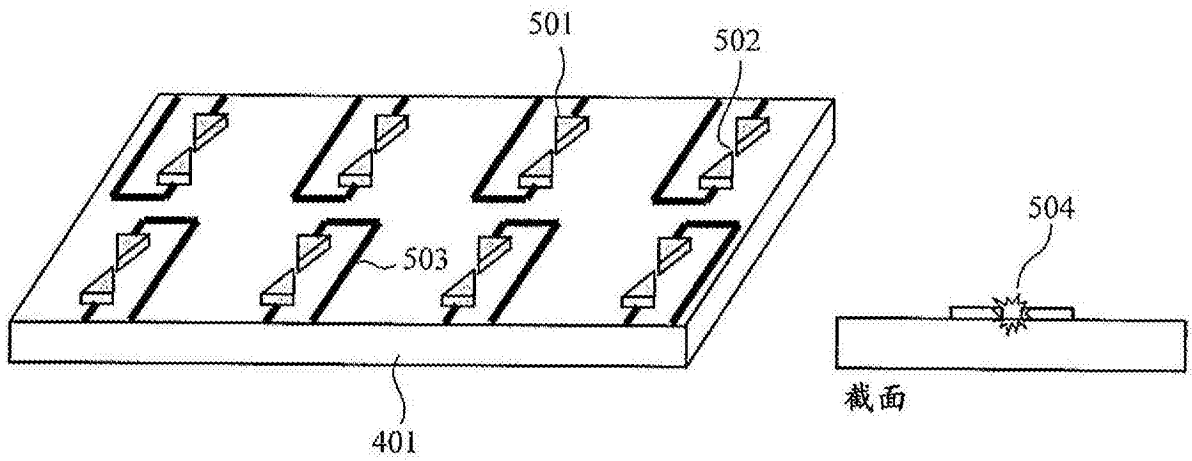


图4

(a)隧道电流计测用电极对阵列



(b)布线

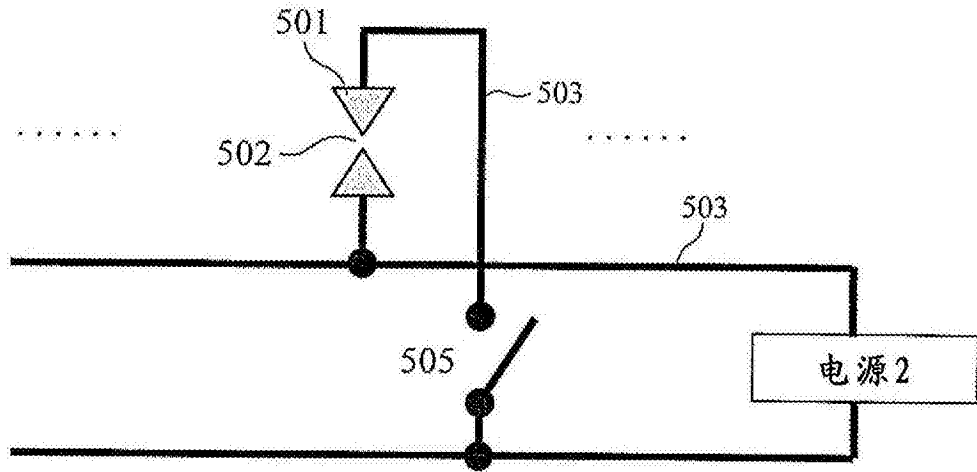


图5

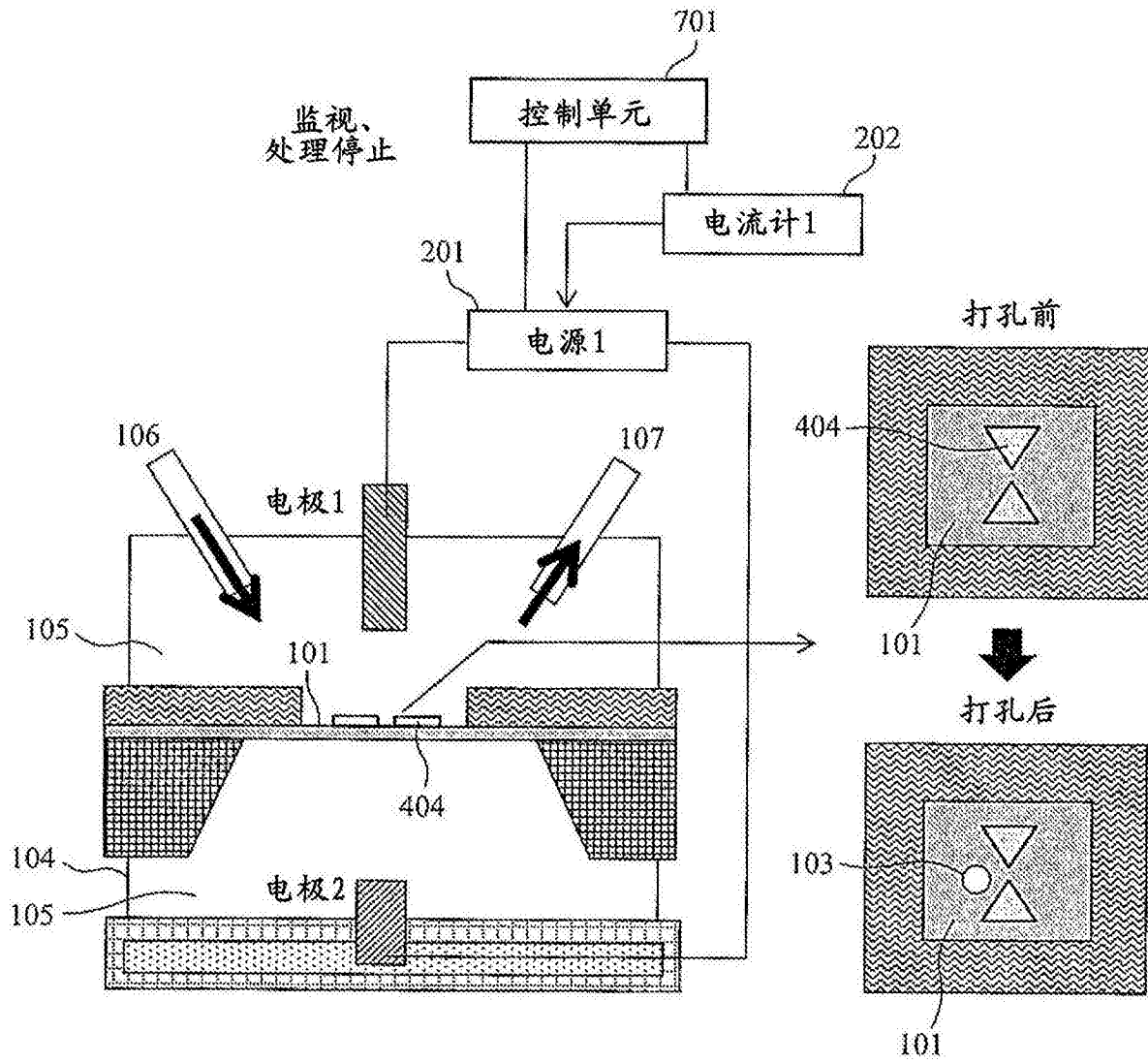


图6

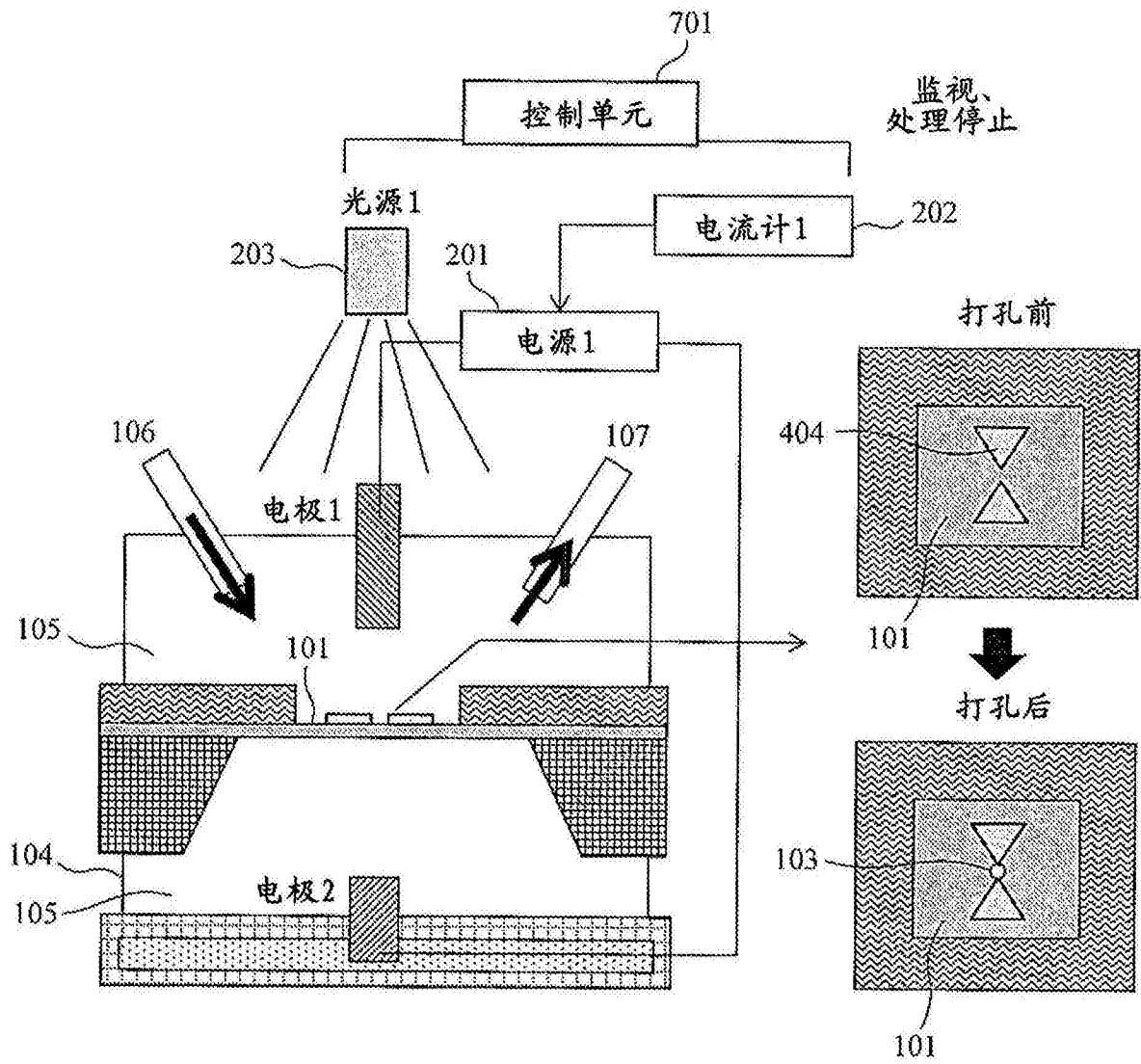


图7

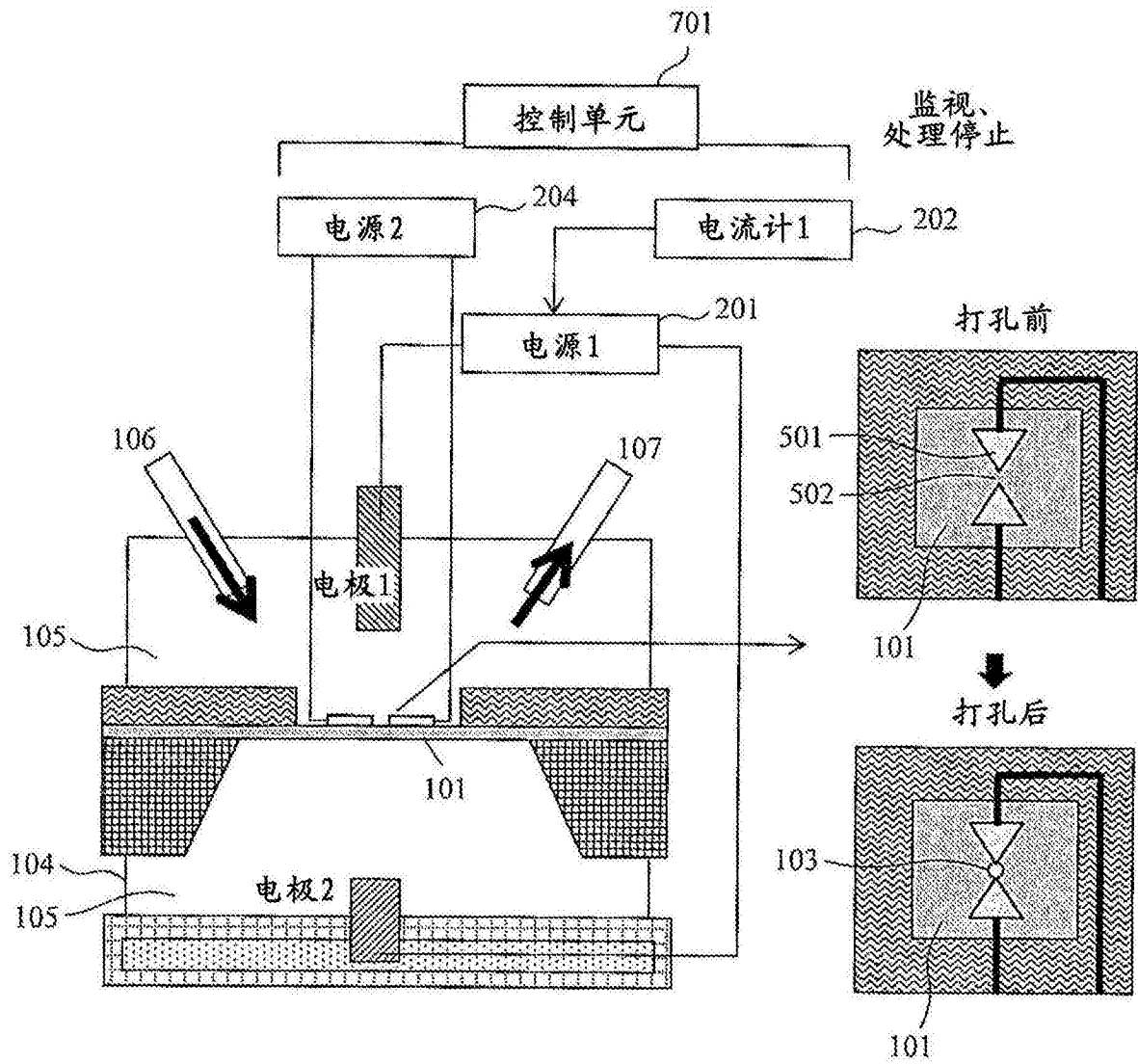


图8

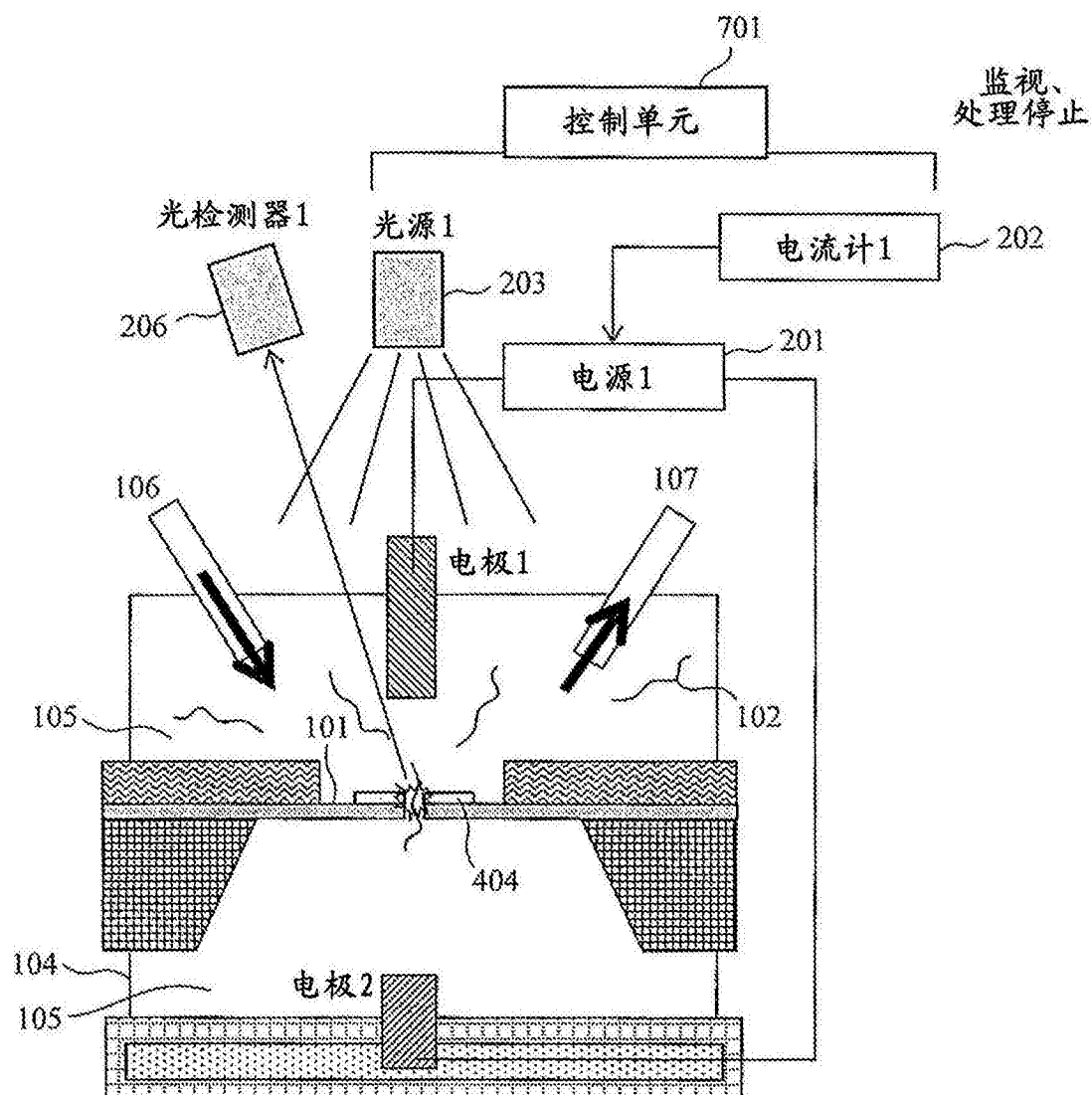


图9

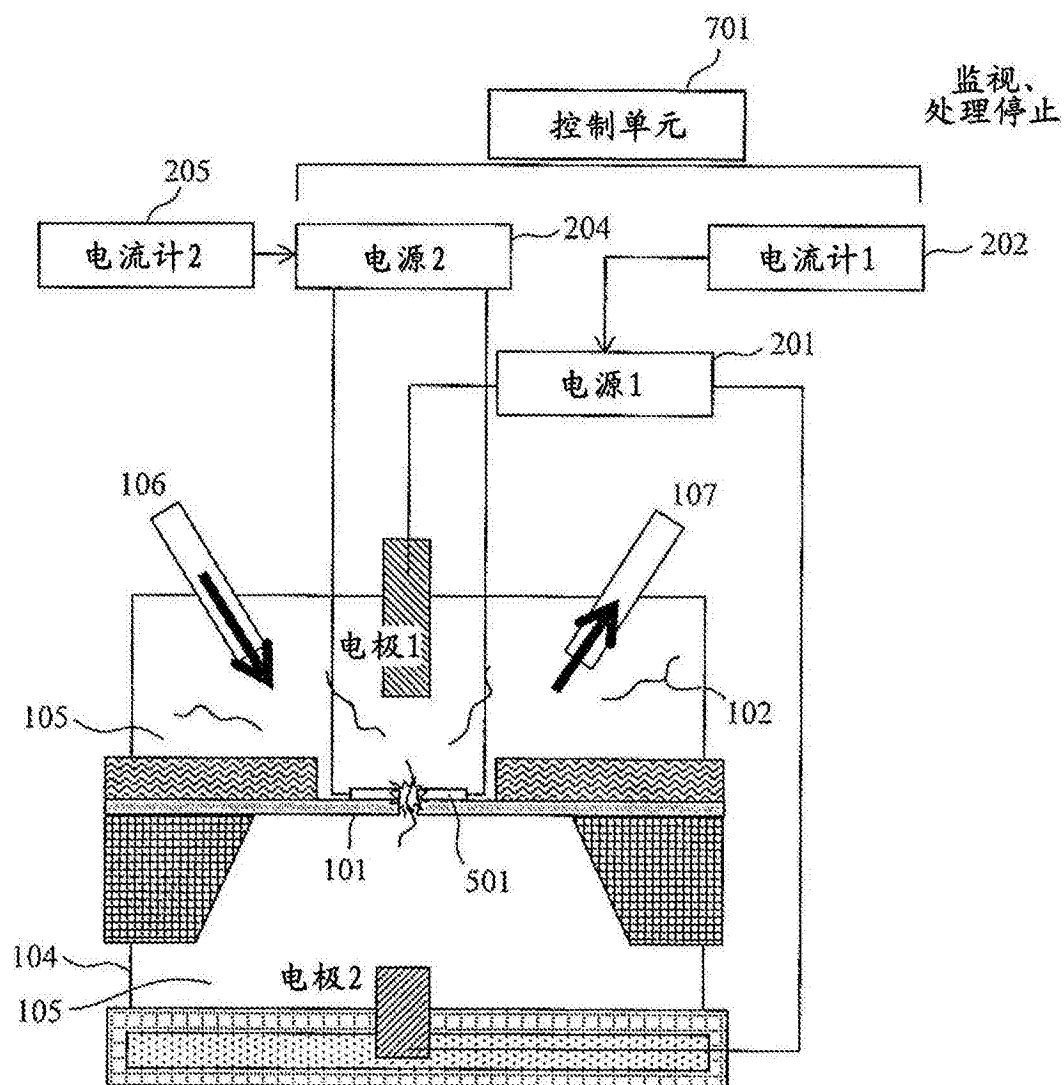


图10

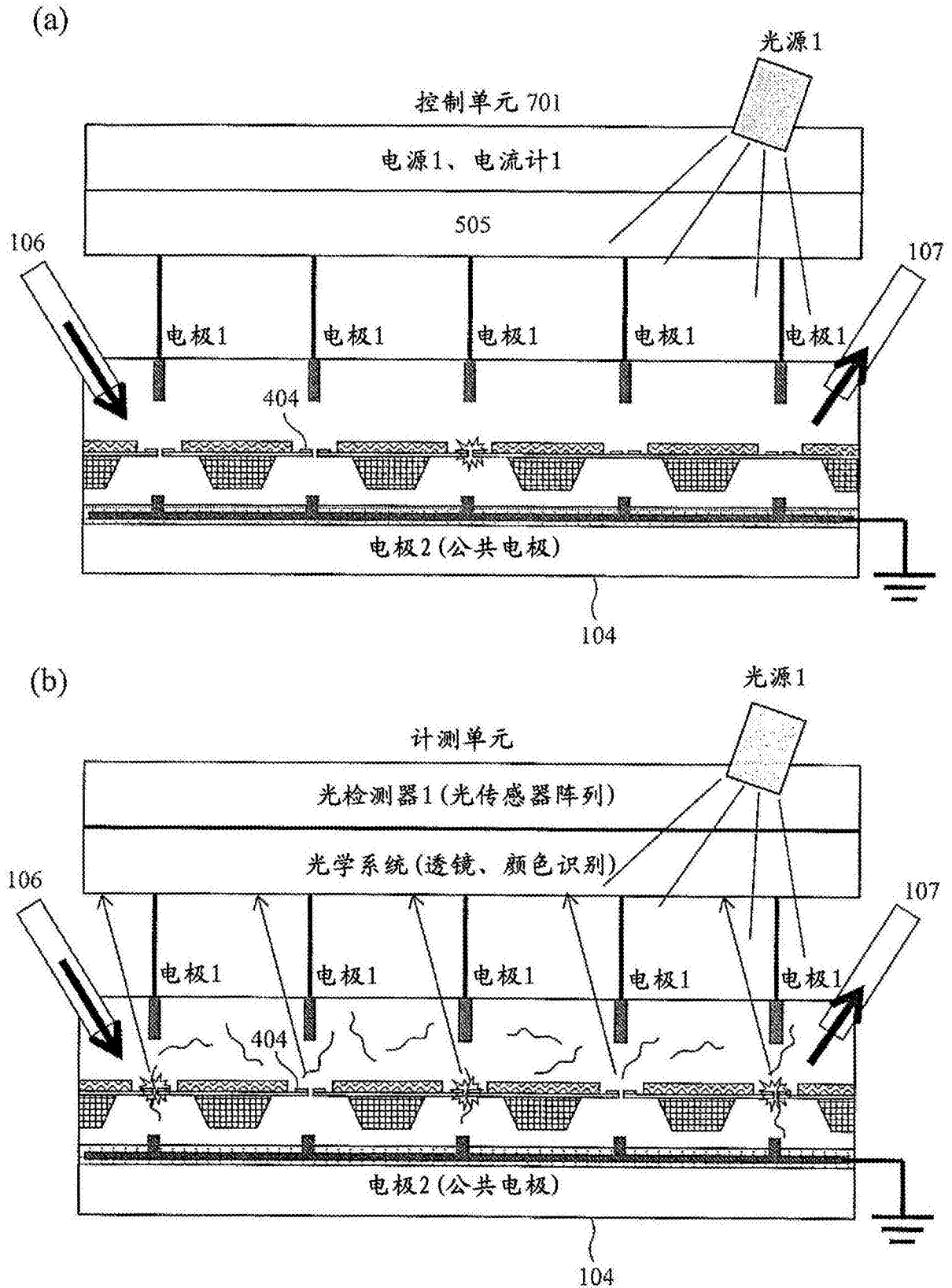


图11

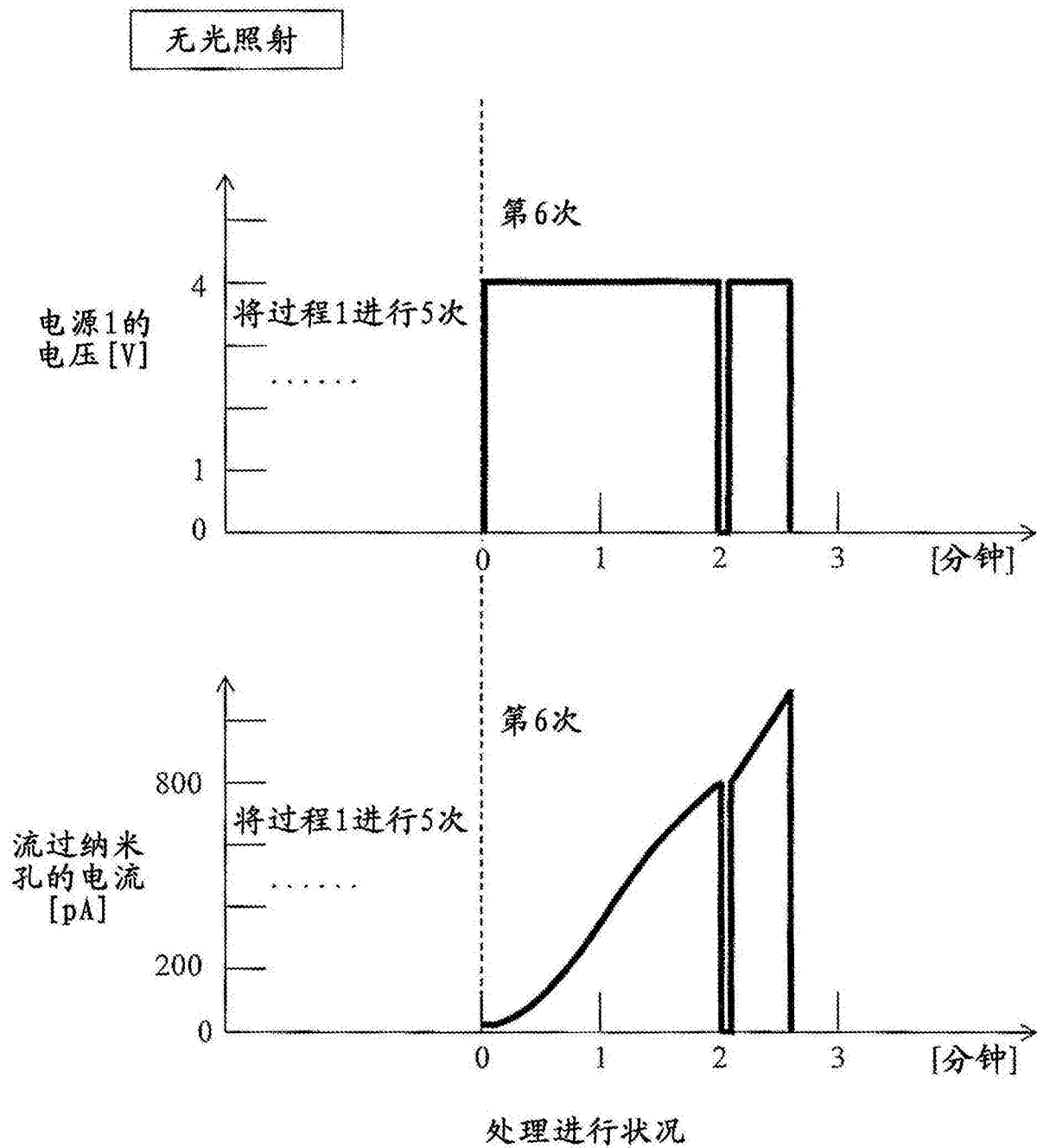


图12

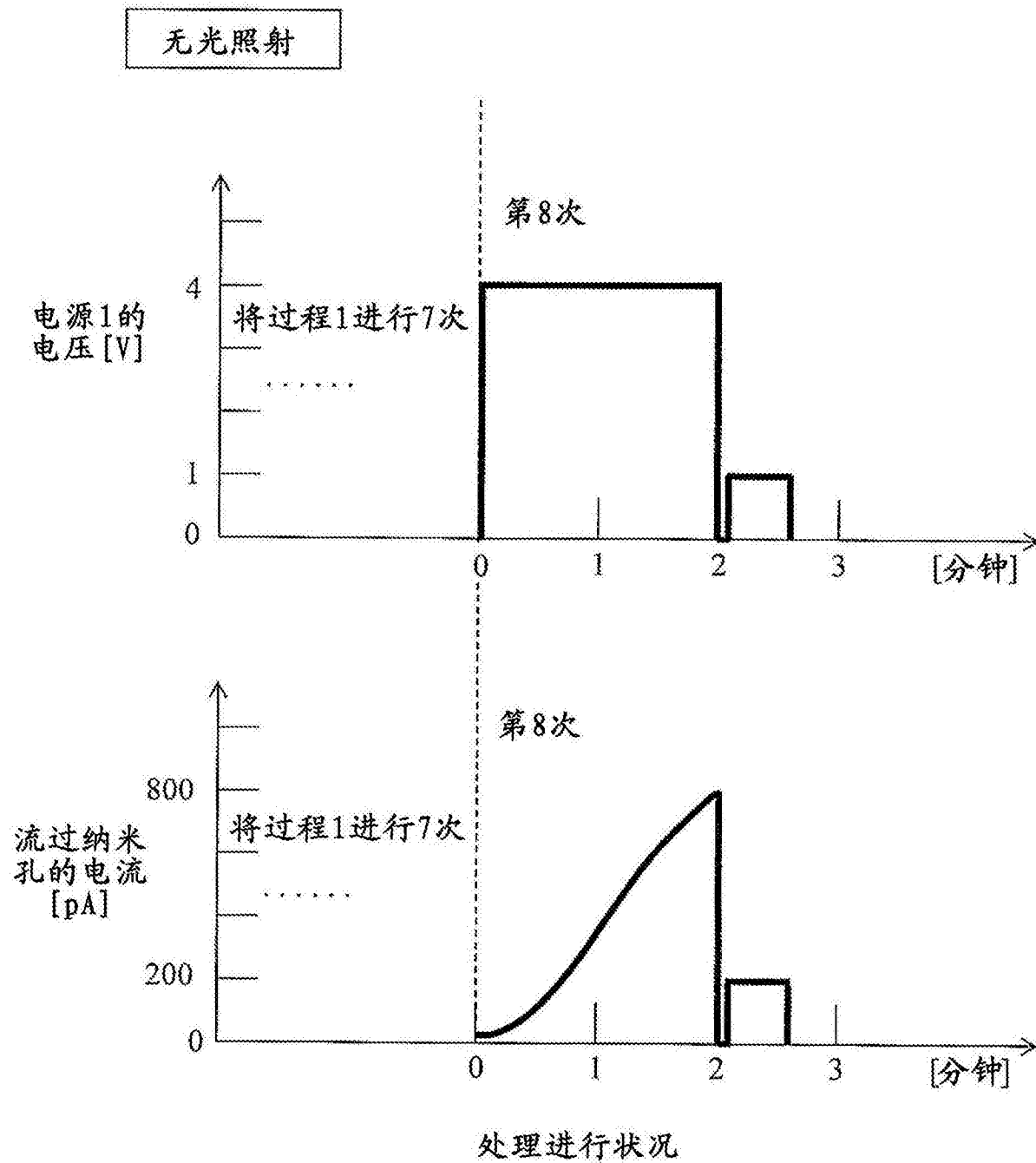


图13

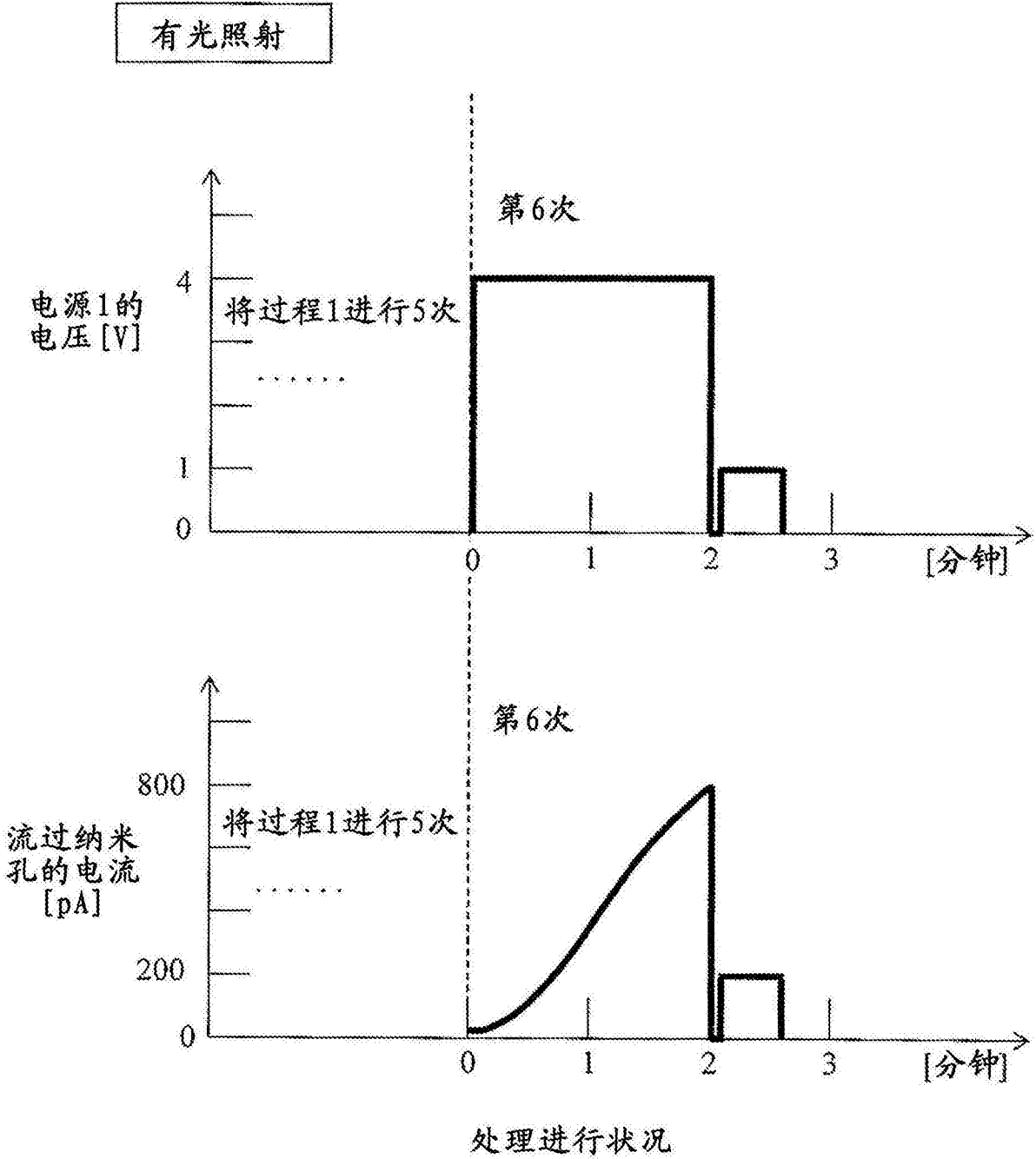


图14

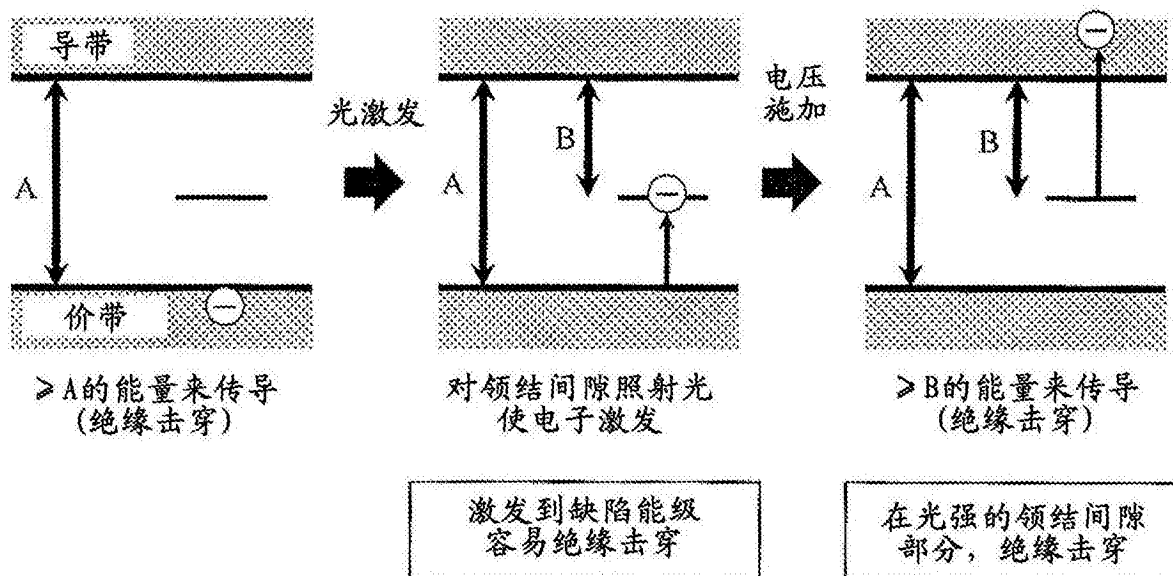


图15

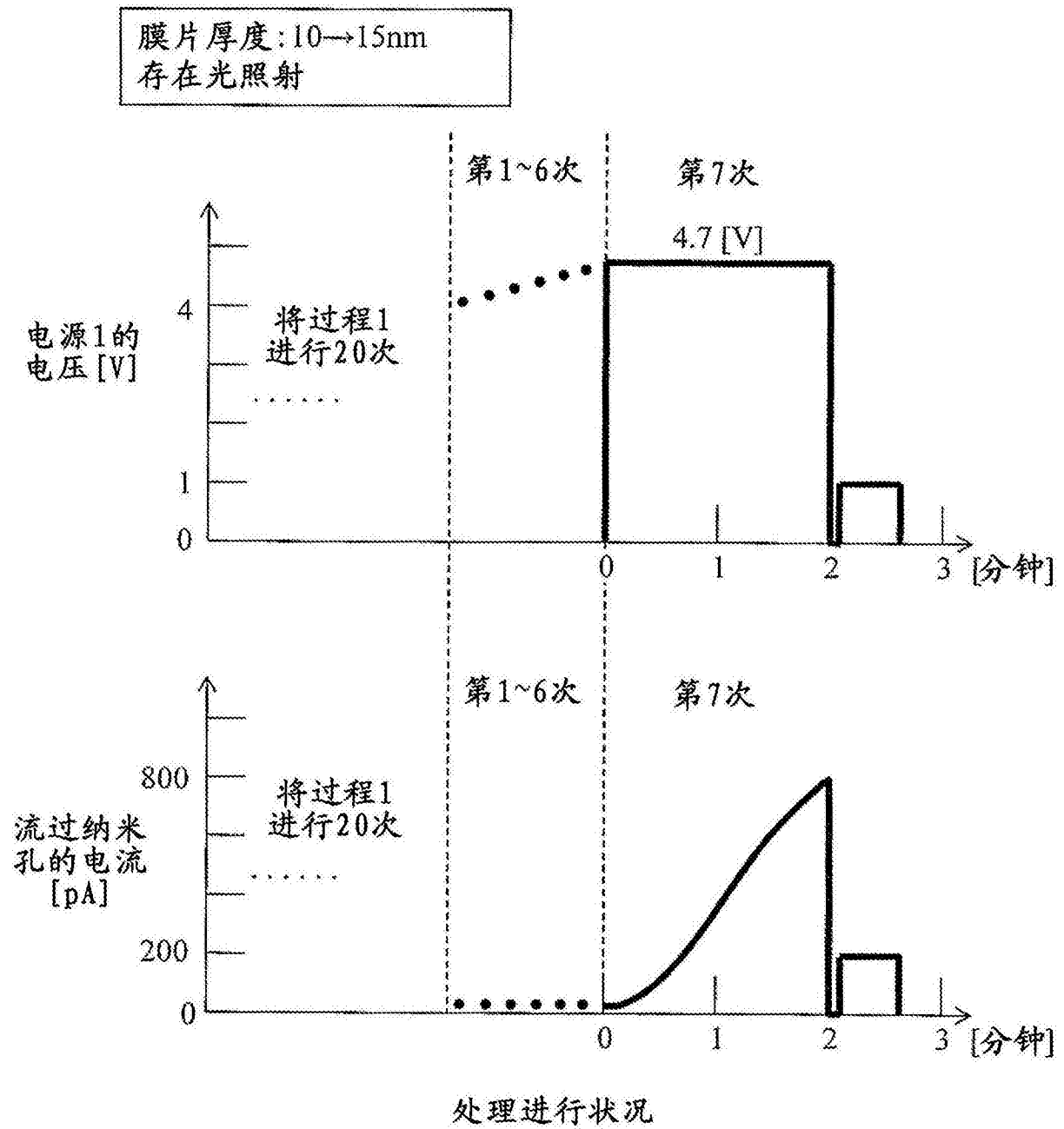


图16

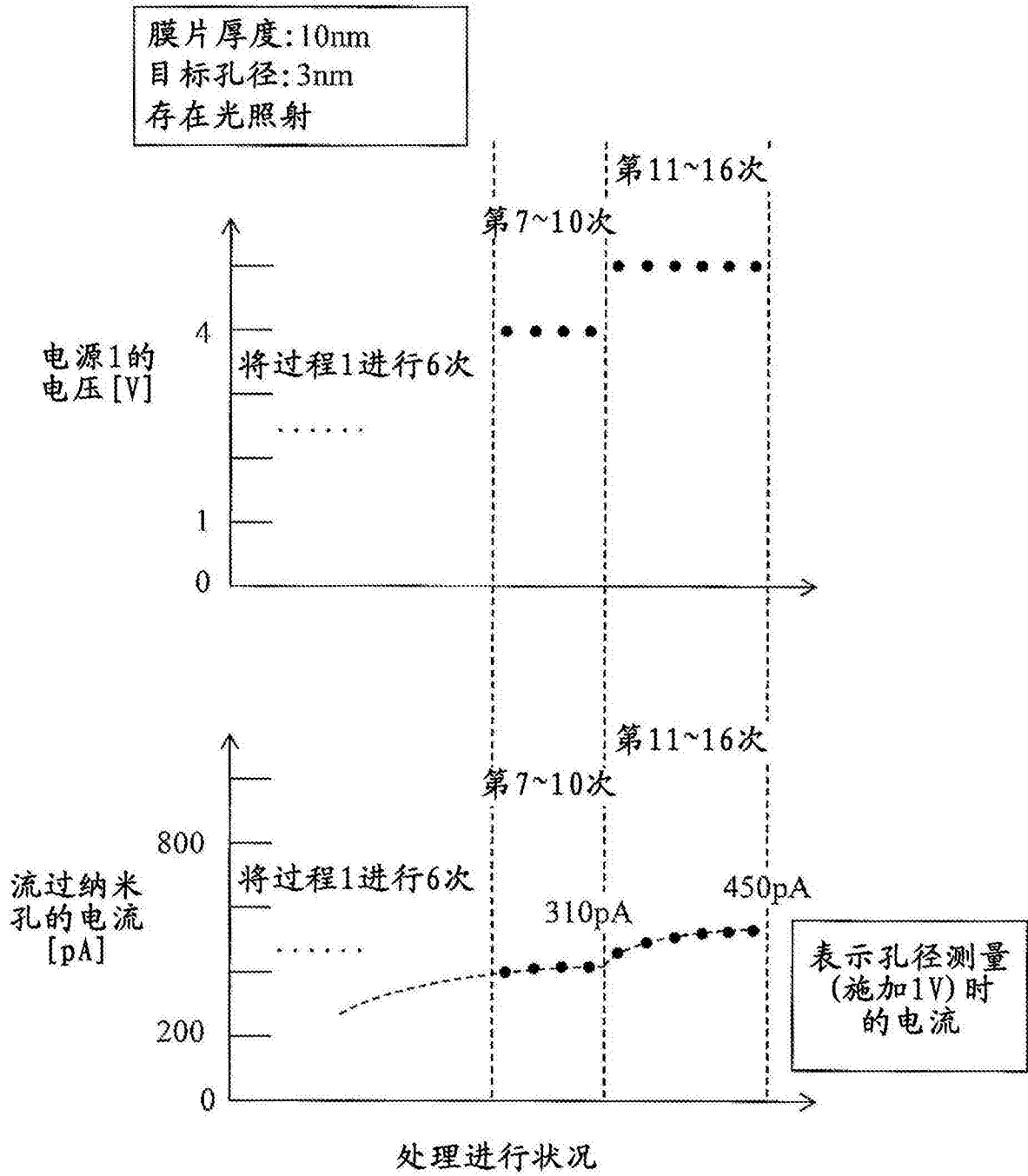


图17

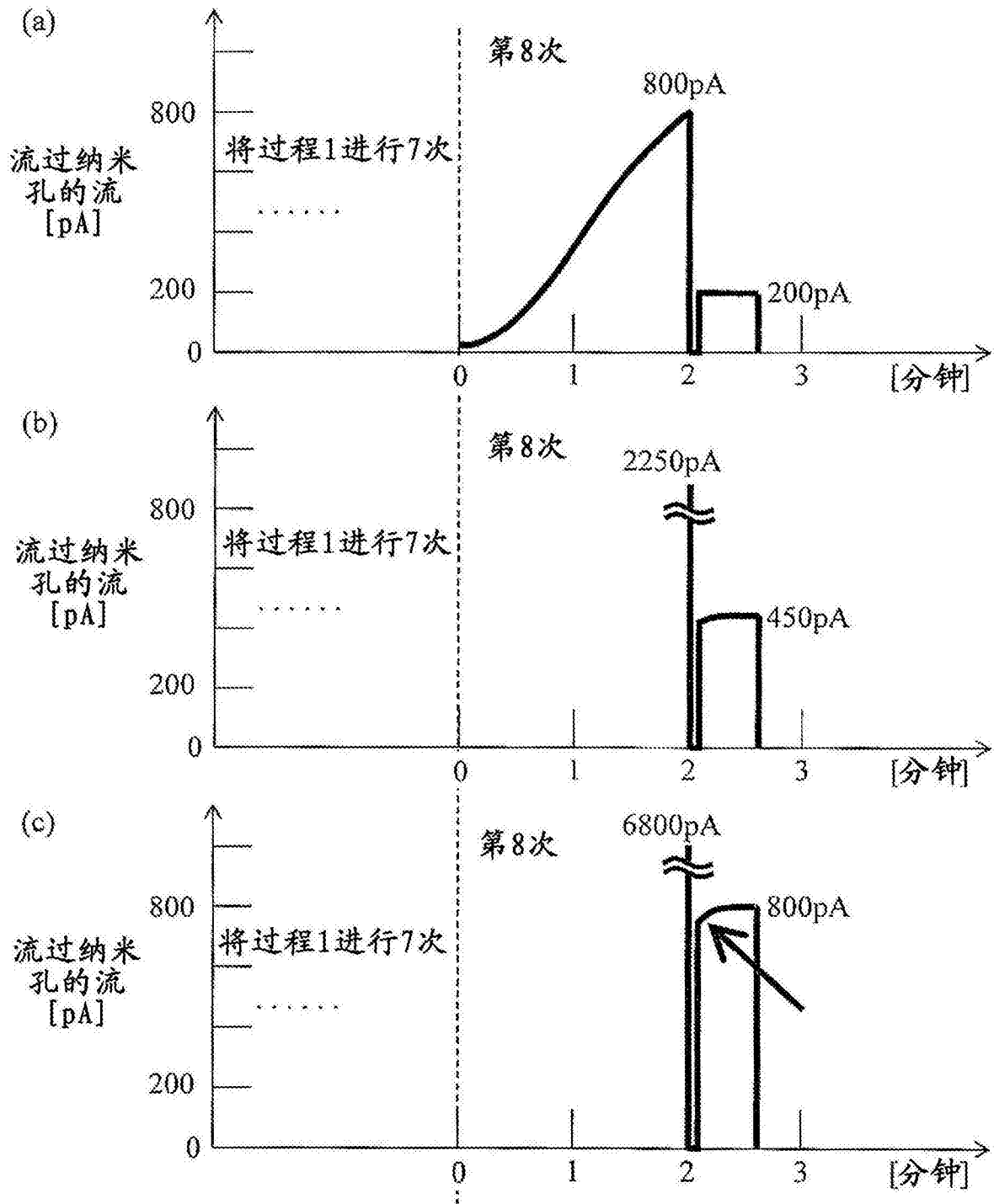


图18

项目 \ 条件		A	B	C	D	E
打孔	光照射	关闭	关闭	开启	开启 (高输出化)	开启 (短波长化) (高能量化)
	电压	4V	4V	4V	2V	2V
	孔形成	○	○	○	○	○
	孔位置	×	×	○	○	○
孔径 计测	电压	4V	1V	1V	2V	2V
	光照射	关闭	关闭	关闭	关闭	关闭
	孔扩大	有	无	无	无	无
综合评价		×	×	○	○	○

图19

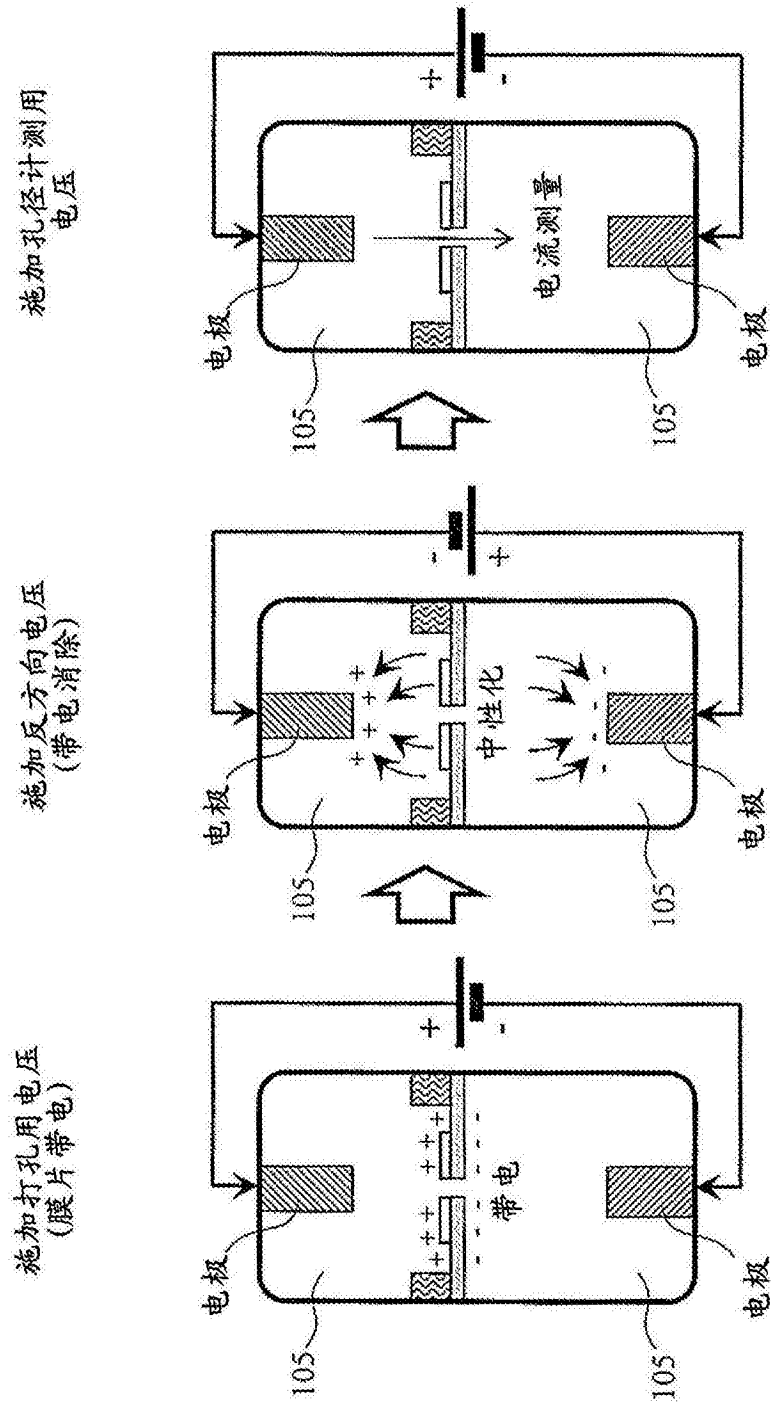


图20

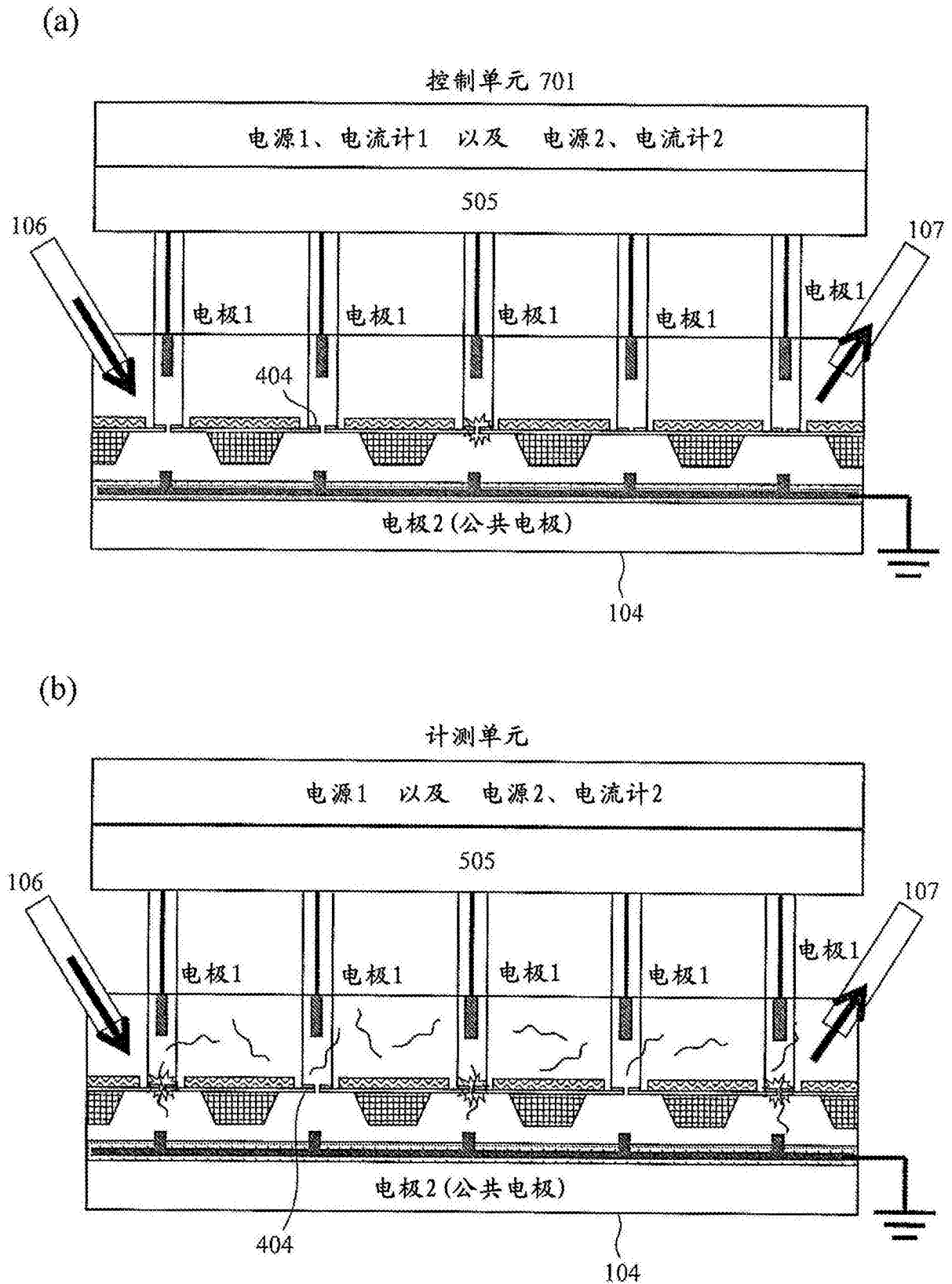


图21

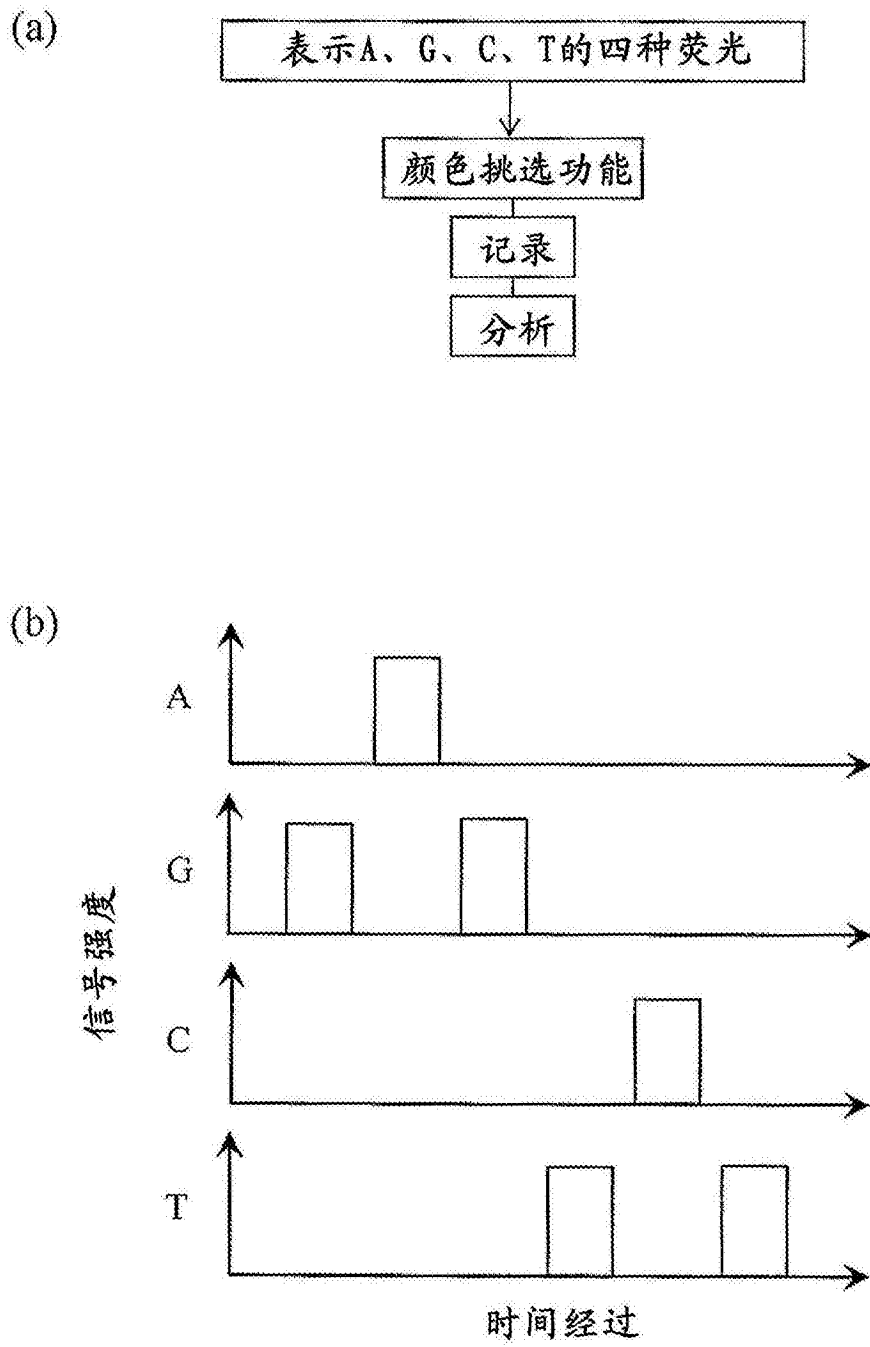
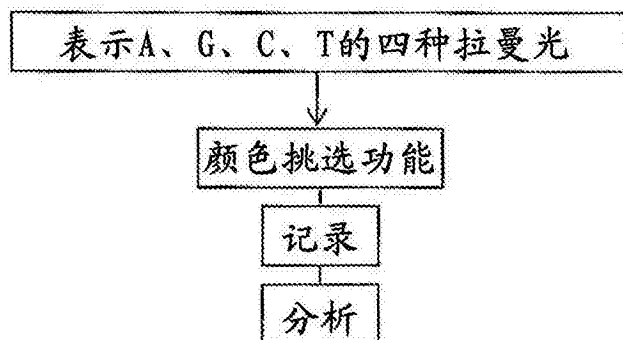
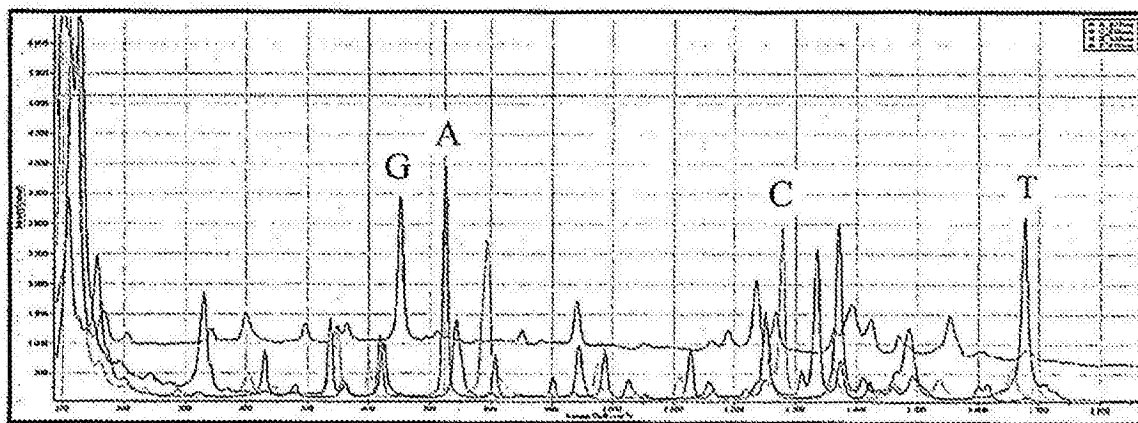


图22

(a)



(b)



(c)

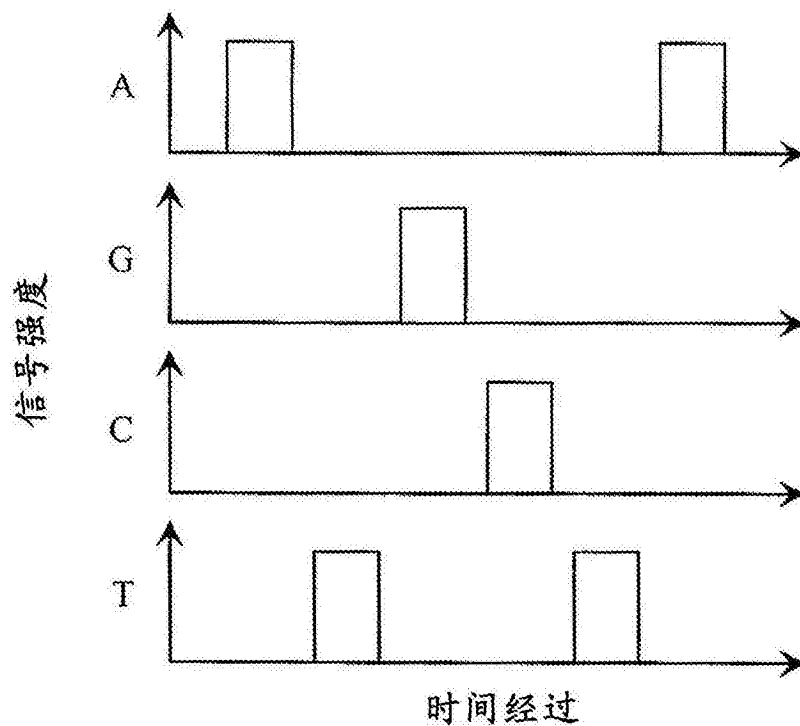


图23