(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7266035号
(P7266035)

(45)発行日　令和5年4月27日(2023.4.27)

(24)登録日　令和5年4月19日(2023.4.19)

(51)国際特許分類		FI		
C12M	*1/34 (2006.01)*	C12M	1/34	D
G01N	*27/00 (2006.01)*	G01N	27/00	J

請求項の数　14　（全17頁）

(21)出願番号　特願2020-531128(P2020-531128)
(86)(22)出願日　平成30年12月3日(2018.12.3)
(65)公表番号　特表2021-505163(P2021-505163A)
(43)公表日　令和3年2月18日(2021.2.18)
(86)国際出願番号　PCT/EP2018/083305
(87)国際公開番号　WO2019/110485
(87)国際公開日　令和1年6月13日(2019.6.13)
審査請求日　令和3年10月29日(2021.10.29)
(31)優先権主張番号　1761651
(32)優先日　平成29年12月5日(2017.12.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
フランス(FR)

(73)特許権者　311016455
サントル ナシオナル ドゥ ラ ルシェルシェ シアンティフィク
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
フランス国，エフ－７５７９４ パリ セデックス １６，リュ ミシェル－アンジュ，３
(74)代理人　100099623
弁理士　奥山 尚一
(74)代理人
松島 鉄男
(74)代理人　100125380
弁理士　中村 綾子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　細胞とのインタフェースのためのナノ構造プラットフォーム及び対応する製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

細胞とのインタフェースのためのプラットフォーム（Ｐ１、Ｐ２）であって、

細胞と接触するための導電性端部を有する少なくとも１つのナノワイヤに基づいた少なくとも１つのナノプローブ（１００－１、．．．１００－ｎ）と、

ナノセンサの組と

を備え、

各ナノセンサは、ナノプローブと、前記ナノプローブから所定の間隔を置いて配置された、ナノＦＥＴと呼ばれる電界効果トランジスタ（２００－１、２００－ｍ）とのペアを有することを特徴とするプラットフォーム。

【請求項２】

各ナノセンサにおいて、１マイクロメートルから５マイクロメートルの間隔を置いてナノプローブ（１００－１）とナノＦＥＴ（２００－１）とが配置されていることを特徴とする請求項１に記載のプラットフォーム。

【請求項３】

前記プラットフォーム上に分散したナノプローブの組及びナノＦＥＴの組を備え、

少なくとも１つの所定の経路を含む少なくとも１つの、ナノセンサのアレイが構成されることを特徴とする請求項１に記載のプラットフォーム。

【請求項４】

前記ナノプローブ及び少なくとも１つの前記ナノＦＥＴのレベルに置かれた親水性の領

域を更に備えることを特徴とする請求項１に記載のプラットフォーム。
【請求項５】
複数の所定の経路を有し、
所定の各経路は、前記ナノプローブのアレイ内の少なくとも２つのナノプローブをつなぐものであることを特徴とする請求項３に記載のプラットフォーム。
【請求項６】
前記所定の経路のレベルに置かれた親水性の領域を更に有することを特徴とする請求項５に記載のプラットフォーム。
【請求項７】
２つのナノプローブ間の所定の各経路は、複数のナノＦＥＴを含み、
各ナノＦＥＴは、前記経路に沿って規則的な間隔で埋め込まれていることを特徴とする請求項５に記載のプラットフォーム。
【請求項８】
２つのナノプローブ間の所定の各経路は、複数の経路上ナノプローブを含み、
各経路上ナノプローブは、前記経路に沿って規則的な間隔で埋め込まれていることを特徴とする請求項５に記載のプラットフォーム。
【請求項９】
少なくとも１つの前記ナノプローブは、１つから９つのナノワイヤを有することを特徴とする請求項１～８のいずれか１項に記載のプラットフォーム。
【請求項１０】
前記ナノＦＥＴが、フィンＦＥＴ型のフィン型トランジスタであることを特徴とする請求項１～９のいずれか１項に記載のプラットフォーム。
【請求項１１】
トップダウン型の、細胞とのインタフェースのためのプラットフォームを製造する方法であって、
少なくとも１つの、ナノワイヤに基づいたナノプローブの垂直構造化のステップと、
前記ステップに続き、少なくとも１つの、ナノＦＥＴと呼ばれる電界効果トランジスタの平面構造化のステップと
を含み、
前記プラットフォームはナノセンサの組を有し、各ナノセンサは、ナノプローブ（１００－１）と、前記ナノプローブから所定の間隔を置いて配置されたナノＦＥＴ（２００－１）とのペアを有することを特徴とする方法。
【請求項１２】
少なくとも１つの前記ナノＦＥＴの平面構造化のステップに続き、
少なくとも１つの前記ナノプローブと、少なくとも１つの前記ナノＦＥＴのソース領域（Ｓ）及びドレイン領域（Ｄ）とに対するケイ化白金（ＰｔＳｉ）層の注入を促進する白金ケイ素化のステップを含むことを特徴とする、請求項１１に記載の細胞とのインタフェースのためのプラットフォームを製造する方法。
【請求項１３】
導電性有機材料を、少なくとも１つの前記ナノプローブの前記ナノワイヤに付加するステップを更に含むことを特徴とする、請求項１１に記載の細胞とのインタフェースのためのプラットフォームを製造する方法。
【請求項１４】
少なくとも１つの前記ナノＦＥＴの平面構造化のステップに続き、複数の親水性領域を定める前記プラットフォームの表面機能処理のステップを含むことを特徴とする、請求項１１に記載の細胞とのインタフェースのためのプラットフォームを製造する方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本技術は、ナノ構造の分野に関し、より具体的には、生物学的現象を検知するためのナ

ノ構造に関する。より具体的には、本技術は、神経系細胞若しくは更に心筋細胞、又はより一般的には、電気的若しくは電気生理学的な活動の検知を想定することができる任意のタイプの細胞を測定及び刺激するためのプラットフォームに関する。これらは、解離細胞の培養（ニューロン、筋細胞、心細胞など）、臓器組織の培養若しくは組織（海馬、小脳、脊髄、網膜など）のスライス、又は幹細胞に由来する細胞の培養とすることができる。

【背景技術】

【０００２】

興奮性細胞（ニューロン、心筋細胞）並びにこれらの細胞によって形成されるグループ及びネットワークの電気生理学的状態の観察により、これらの細胞が関係する臓器の機能状態及び病理的状態の理解が向上する。細胞の電気生理学的状態は、従来、細胞の内部（細胞質）へのアクセスすることができるプローブを用いて調べられ、これにより、細胞のネットワークにおける１つ以上の細胞の電位変動の測定が可能になる。これらのプローブは、「パッチクランプ」を含む。パッチクランプは、ガラスマイクロピペットと、マイクロ電極アレイ（ＭＥＡ）・ナノ電極アレイ（ＮＥＡ）と、電界効果トランジスタのナノワイヤ（ナノプローブ）とを用いるとともに、ケイ素（Ｓｉ）、白金（Ｐｔ）及び酸化イリジウム（ＩｒＯｘ）でできた垂直ナノワイヤアレイ等の、複数の材料を用いる。

【０００３】

従来、「パッチクランプ」法を用いたガラスマイクロピペット電極が用いられている。これらの電極により、高品質の測定が可能になる。しかし、一方で、電極は、（これらのプローブを実装することが困難であるために）多くの細胞に対して同時に用いることができず、他方で、電極は、マイクロピペットの細胞への貫通により比較的短期間での細胞の死をもたらす。

【０００４】

より最近では、技術の発展により、平面マイクロ電極アレイの開発が可能になっている。これは、長い期間（数週間）にわたる細胞ネットワークの電気生理学的反応の研究のための標準的なプラットフォームになっている。これらのマイクロ電極アレイは、細胞の外皮にダメージを与えないため、これらの細胞の早期の死をもたらさないという利点を有する。しかし、平面マイクロ電極アレイは、細胞質へのアクセスができないため、マイクロピペット電極と同程度の精度で細胞内の電位変動を測定することができないという欠点を有する。ところで、電位の変動は、測定しなければならない重要なデータを構成する。しかし、これらの既存のアレイ及びプラットフォームにおける主な課題は、振幅の点で大幅に劣化するために利用が困難な信号（活動電位）をもたらす、細胞とマイクロ電極との低い相互作用性である。

【０００５】

マイクロ電極ベースのプラットフォーム及びアレイは、主な技術発展の対象であり、これは、例えば、特許文献１及び特許文献２に示されている。

【０００６】

特許文献１の例では、導電層上で誘電層が選択的にウェットエッチングされ、誘電層内で傾斜壁を有するコンタクトホールが形成されて、導電層の領域が露出する。次に、導電層の露出領域からＩｒＯｘナノワイヤの神経界面を成長させる。ＩｒＯｘナノワイヤの神経界面の各々は、断面が０．５マイクロメートル～１０マイクロメートルであり、高さが平均で１０ナノメートル（ｎｍ）～約１０マイクロメートル（μｍ）であり、近位端部の平均直径が約１ｎｍ～約１μｍの範囲にある。特許文献１の発明者らは、１平方ミリメートル～１００平方ミリメートルの範囲のチップにプローブのクラスタをアタッチしている。クラスタは各々が、５マイクロメートル～５０マイクロメートルの範囲のクラスタ直径内に位置する２個から１２個の電極を有し、チップ上のクラスタ数は２～１００の範囲である。

【０００７】

特許文献２の例では、神経プローブセンサのアレイが記載されている。このようなアレイは、表面に金属パターンを有する基板を備える。半導体である垂直ナノワイヤプローブ

のアレイは基板から離れるように延び、プローブは金属パターンを通じて電気的に個々にアドレス指定される。金属パターンは、誘電体を用いて絶縁され、ナノワイヤのベース部及びステム部も絶縁されることが好ましい。このプラットフォームは、ナノワイヤ上に位置する細胞を個々に刺激することを可能にする。

【０００８】

これらのプラットフォームは、電気的活動を有する細胞又は更には細胞の規則性のあるネットワーク内のこれらの細胞のクラスタリングの電位の測定を可能にするものであるが、細胞外電位及び細胞外イオン濃度を全て同時に測定するために用いることはできない。細胞ネットワークを通過する電気化学現象のより良好な解析を可能にするために、これらの２つの情報を得ることが好ましい。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００９】

【文献】米国特許第７，９０５，０１３号
国際公開第２０１７／１２７５５１号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【００１０】

本技術は、かかる従来技術の問題に基づいてなされたものである。より具体的には、本技術は、神経系細胞若しくは更に心筋細胞、又はより一般的には、電気的若しくは電気生理学的な活動の検知を想定することができる任意のタイプの細胞を測定及び刺激するためのプラットフォームに関する。より具体的には、このタイプのプラットフォームは、単一細胞の分解能で電位及びイオン濃度の双方の測定を可能にするという点で、従来技術のプラットフォームを改善するものである。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

より詳細には、細胞と接触するための導電性端部を有するナノワイヤに基づく少なくとも１つのナノプローブを備える、細胞とのインタフェース（cellular interfacing）のためのプラットフォームが提案される。プラットフォームは、ナノプローブから所定の間隔を置いて配置された少なくとも１つの、ナノＦＥＴと呼ばれる電界効果トランジスタを備えることを特徴とする。

【００１２】

したがって、このプラットフォームを用いて、同一のデバイス（プラットフォーム）上での電位とイオン濃度との検出及び／又は測定のために利用可能なナノデバイスを得ることができる。より詳細には、このプラットフォームは、これらの細胞についえ測定された電位及びイオン電流を関連付けることを可能とする。

【００１３】

１つの特定の実施形態によれば、プラットフォームは、ナノセンサの組を備える。各ナノセンサは、１マイクロメートルから５マイクロメートルの間隔を置いたナノプローブ及びナノＦＥＴのペアを有する。

【００１４】

そして、例えば所定のスキームに従って分散したナノセンサを備えるプラットフォームが提案される。このプラットフォームは、培養下（in culture）及び発生下の細胞の電気生理学的活動の検出及び／又は測定を、これらの細胞の増殖及び発生に合わせる必要なく、可能とする。このタイプのプラットフォームは、ナノプローブとナノＦＥＴとの組み合わせによる、従来技術のプラットフォームよりも感度が向上した、細胞の組の電位及びイオン濃度の測定を可能にする。

【００１５】

１つの特定の実施形態によれば、プラットフォームは、当該プラットフォーム上で分散されたナノプローブの組及びナノＦＥＴの組を有し、少なくとも１つの所定の経路又はト

ラックを有する少なくとも１つの、ナノセンサのアレイが形成される。
【００１６】
したがって、本発明は、少なくとも１つのナノプローブによる電位と、トランジスタによるイオン電流との細胞外測定を同時に実行することを可能にするプラットフォームを提案するものである。そのため、このようなプラットフォームを通じて行われる測定は、従来技術のプラットフォーム及び方法を用いて行われる測定よりも精度が良く、かつ信頼性がある。
【００１７】
１つの特定の特徴によれば、プラットフォームは、ナノプローブ及び少なくとも１つの上記ナノＦＥＴのレベルに置かれた親水性ゾーンを更に有する。
【００１８】
１つの特定の特徴によれば、プラットフォームは、複数の所定の経路を有する。各所定の経路は、上記ナノプローブのアレイ内の少なくとも２つのナノプローブを接続するものである。
【００１９】
１つの特定の特徴によれば、プラットフォームは、上記所定の経路のレベルに置かれた親水性領域を更に有する。
【００２０】
したがって、親水性領域での細胞の増殖を促進することが可能であり、したがって、細胞を測定及び刺激するナノプローブが配置された場所において細胞の増殖及び発生に適合することができる。
【００２１】
１つの特定の特徴によれば、２つのナノプローブ間の各所定の経路は、複数のナノＦＥＴを含み、各ナノＦＥＴは、経路に沿って規則的な間隔で埋め込まれる。
【００２２】
１つの特定の特徴によれば、２つのナノプローブ間の各所定の経路は、複数の経路上ナノプローブを含み、各経路上ナノプローブは、経路に沿って規則的な間隔で埋め込まれる。
【００２３】
１つの特定の実施形態によれば、上記少なくとも１つのナノプローブは、１つ～９つのナノワイヤを含む。
【００２４】
したがって、１つ～９つのナノワイヤに基づくこれらのナノプローブの構成は、プローブと細胞との相互作用を促進し、実際には、本発明者らは、１つのプローブに対する限られた数のワイヤ（及びしたがってより低い密度のワイヤ）が、細胞及びより詳細には体細胞がプローブに、より完全に合致することを可能にし、最終的には測定又は刺激に有利であることに言及している。１つの特定の実施形態では、体細胞ナノプローブは、４つのナノワイヤを含む。
【００２５】
１つの特定の実施形態によれば、ナノＦＥＴは、フィンＦＥＴ型のフィン型トランジスタである。
【００２６】
別の態様によれば、本発明は、トップダウン型の方法である細胞内インタフェースのためのプラットフォームを製造する方法にも関する。本発明における方法は、少なくとも１つのナノワイヤに基づいたナノプローブの垂直構造化のステップと、それに続き、少なくとも１つの、ナノＦＥＴと呼ばれる電界トランジスタの平面構造化のステップとを含む。
【００２７】
１つの特定の特徴によれば、上記方法は、上記少なくとも１つのナノＦＥＴの平面構造化のステップに続き、上記少なくとも１つのナノプローブと、上記少なくとも１つのナノＦＥＴのソース領域（Ｓ）及びドレイン領域（Ｄ）とに対するケイ化白金（ＰｔＳｉ）層の注入を促進する白金ケイ素化のステップを含む。

【００２８】
１つの特定の特徴によれば、上記方法は、ＰＥＤＯＴ：ＰＳＳ等の導電性有機材料を、上記少なくとも１つのナノプローブのナノワイヤに付加するステップを更に含む。
【００２９】
１つの特定の特徴によれば、本方法は、上記少なくとも１つのナノＦＥＴの平面構造化のステップに続き、複数の親水性領域を定める上記プラットフォームの表面機能処理のステップを含む。
【００３０】
他の特徴及び利点は、例示的であって網羅しているわけではないシンプルな例として与えられた好ましい実施形態の以下の説明と、添付の図面とからより明らかになる。
【図面の簡単な説明】
【００３１】
【図１】本技術のプラットフォーム上で、必要に応じて行われる表面の特別処理の原理を示す説明図である。
【図２】本技術のプラットフォームの第１実施形態を示す説明図である。
【図３】本技術のプラットフォームの第２実施形態を示す説明図である。
【図４ａ】本技術のナノプローブの顕微鏡写真である。
【図４ｂ】本技術のナノＦＥＴの顕微鏡写真である。
【図５】ナノプローブ及びナノＦＥＴを有するナノセンサの顕微鏡写真である。
【図６】１つの特定の実施形態におけるプラットフォームを製造する方法を簡略化して示す説明図である。
【発明を実施するための形態】
【００３２】
［５．１　原理の再確認］
先に説明したように、本技術は、個々の細胞のレベルにおける細胞内インタフェースのための検出、測定及び刺激のプラットフォームに関する。このプラットフォームは、非常に大きい表面と体積の比を有するナノ構造（ナノワイヤ（ＮＷ）、垂直アレイ（クランプ）及び水平アレイ（ナノトランジスタ）を組み合わせたナノフィン（フィン））に基づくナノデバイスに依拠するものである。これらのナノデバイスは、高感度測定を行うために用いられる。
【００３３】
したがって、ナノ構造は、培養基からの絶縁を維持しながら超高分解能記録を可能にする、本発明による記録ナノデバイス（ナノプローブ、ＰｔＳｉベースの界面を有するナノＦＥＴ）の基礎をなす。より詳細には、本技術のプラットフォームは、垂直ナノワイヤに基づく測定及び細胞刺激のナノプローブと、細胞を通過するイオン濃度を測定する電界効果トランジスタ（ナノＦＥＴ）とを備える。ナノ構造の低い貫入性と、細胞の培養基とプラットフォームとの間の絶縁とに起因して、プラットフォーム上のこれらの２つのタイプのナノデバイスの組み合わせにより、長期（数日又は更には数週間）にわたる細胞の生存を確実にしながらより高い精度の測定の性能が可能となる。活動電位を測定するナノプローブを、同じプラットフォーム上であるが、とりわけ、互いに非常に小さい距離（対象の細胞が何であれ、個々の細胞のサイズに等しい距離）をおいてイオン種の濃度を測定するナノトランジスタと結合することは、生物学における研究の新たな分野を開拓するものである。２つのナノデバイス間の距離は、対象となる細胞に応じて定められる。この距離は、数十ナノメートル～数マイクロメートルの範囲である可能性がある。このようなセンサのペアは、電気的興奮性の細胞若しくは組織又は電気的興奮性の細胞を含む臓器のスライスのネットワーク内の電気活動を測定するためにプラットフォーム上に分散させることができる。同デバイスは、同時に、細胞又は細胞ゾーンの局所興奮（すなわち電気刺激）を行い、次に、この刺激後の同細胞及びネットワーク全体上での活動を測定することができる。
【００３４】

本技術によれば、プラットフォームの第１実施形態は、（第２実施形態とは異なり、）培養の適合を伴うことなく、研究対象の細胞及び／又は臓器片のネットワークの空間分解能を得ることができるように、プラットフォーム表面の有用部分上で均一に分散したセンサのペア（互いから例えば１μｍ～５μｍ離れた、垂直ナノプローブと平面型などの電界効果トランジスタ）によって構成される。この実施形態では、自己組織化細胞を研究することが可能となる。「プラットフォームの有用部分」という用語は、細胞の培養を行うように機能する部分を意味するものと理解される。

【００３５】

本技術によれば、プラットフォームの第２実施形態は、細胞培養及び／又は細胞増殖の生物学的プロセスの実施時に、プラットフォームのナノデバイスのアレイに合った細胞のネットワークが形成されるように、細胞の伸長の増殖の位置決め場所及び経路（ルート）を定めるナノデバイスの１以上のアレイを定める。この技術により、細胞の組織化した培養が可能になる。

【００３６】

実施形態を問わず、本発明の対象であるプラットフォームは、電位及びイオン濃度の検出及び／又は測定のプラットフォームとして、また刺激のプラットフォームとしても全て同時に用いることができる。

【００３７】

本技術によれば、別の態様では、これらのナノデバイスの実装は、細胞の具体的な位置特定とこれらの細胞の伸長の増殖のガイドとが可能な表面機能処理と結び付けられる。したがって、プラットフォーム上に設けられるデバイスのアレイは、体細胞において直接、また樹状の伸長及び軸索の伸長に沿って、これらの細胞の刺激とこれらの細胞によって生成される活動電位の正確な記録とを可能にし、これらは数週間にわたって得られる。

【００３８】

本技術によれば、これらの伸長に沿って配置される水平ナノワイヤトランジスタは、細胞内記録と細胞外記録の比較をも可能にする。

【００３９】

したがって、本技術によれば、プラットフォーム上に形成されたアレイは、表面処理を受け、その具体的な特徴は、それが、プラットフォーム上の所定の場所における細胞の移植及び増殖に有利であるということである。より詳細には、プラットフォームには、培養下で、体細胞の位置を特定するとともに神経伸長の増殖をガイドすることを可能にする表面機能処理がなされる。したがって、正確に、プラットフォーム上のこれらのニューロンを刺激し、同ニューロンによって生成される活動電位を記録することができる。

【００４０】

より詳細には、必要に応じて、自己整列表面（Ｓ－Ａ－Ｆ）機能がプラットフォーム上に実装される。本技術によれば、この機能処理は、プラットフォームの作成に続いて行われる。より詳細には、表面機能処理は、プラットフォーム上でのナノデバイスの構築後に行われる。実際、これらの組織化された培養をナノメトリック記録デバイスと結び付けることを可能にするために体細胞及びそれらの伸長の場所を制御することに関連した問題及び課題は新しくないものの、従来の手法は、プラットフォームのマイクロ製造と生物学的プロトコル（細胞の発生を促進するために親水性表面上に誘引層（ペプチド）を配置することから構成される）とを組み合わせる傾向がある。

より詳細には、従来の手法（図１の符号ＡＣ）（M. Kwiat, R. Elnathan, A. Pevzner, A. Peretz, B. Barak, H. Peretz, T. Ducobni, D. Stein, L. Mittelman, U. Ashery, and F. Patolsky, “Highly Ordered Large-Scale Neuronal Networks of Individual Cells Toward Single Cell to 3D Nanowire Intracellular Interfaces,” ACS Appl. Mater. Interfaces, vol. 4, no. 7, pp. 3542-3549, Jul. 2012.）では、チップ上の誘引ゾーン及び反発ゾーンを定めるのに用いられるフォトリソグラフィのステップを、基板全体の疎水処理（ＨＰｈｏｂ）の後に行わなければならない。これは、必須のステップである。なぜならば、樹脂（ＲＥＳ）は、このような表面（ＨＰｈｏｂ）に接着するのに多

大な困難が伴うためであり、かつ、フォトリソグラフィのステップに対応する疎水性のレベルを達成するために処理の品質をダウングレードさせなければならないためである。

本技術（図１の符号ＡＰ）によれば、イオン濃度及び電位の測定の能力に加えて、また、従来の手法の制限を考慮すると、相補的な化学機能処理方法が構築され、マイクロ製造プロトコル（ＦＡＢ）及び生物学的プロトコル（ＢＩＯ）を完全に切り離すと同時に、ダウングレードのない疎水処理を利用することが可能となる。接着分子（ＡＭ）が、リソグラフィによって形成される樹脂で覆われていないゾーンのみに配置される従来の手法とは異なり、接着分子の場所は、表面の親水性・疎水性のコントラストによってのみ制御される。

【００４１】

現像は、（ＳｉＯ２）センサのプラットフォームを構成するチップの最終的な表面に可能な限り近づけるために、約６００ｎｍの酸化ケイ素（ＳｉＯ２）でコーティングされたケイ素（Ｓｉ）基板上で得られる。パターンの形成は、ｉ線ステッパフォトリピータを用いたＥＣＩ陽樹脂（ECI positive resin）（１．１μｍ）上でのリソグラフィによって行われ、１ミクロン未満の分解能だけでなく、優れた配列精度も得ることができる。その後、気相における疎水性処理（ＨＰｈｏｂ）が基板上で行われ、樹脂で覆われていないゾーンにのみ固定される。その後、樹脂は、連続した、アセトンの洗浄槽と、その後のピラニア（Ｈ２Ｏ２／Ｈ２ＳＯ４が１：１）溶液の洗浄槽によって除去される。機能処理方法のこのステージにおいて、ＳｉＯ２の表面は、親水性ゾーン（樹脂により前もって保護されたゾーン）と、疎水性ゾーン（覆われていないゾーンのＨＰｈｏｂ）とを示す。その後、（接着溶液、例えばポリリジン、ポリオルニチンの）接着分子（ＡＭ）の接合が、親水性部分上で選択的に行われる。自己整列機能処理のこの方法により、クリーンルームでのマイクロ製造プロトコルと生物学的プロトコルとが完全に切り離される。接着溶液は、培養時にのみ吐出され、樹脂の除去時に劣化が起こるリスクがない。加えて、フォトリソグラフィは、表面の疎水性処理の前に行われる。これにより、この表面の疎水性基板への付着不良に関する問題を防止し、考えられ得る最高の性能での疎水性処理を利用できる。

【００４２】

かかるプラットフォームを用いて、化学剤（神経毒性ガスを刺激するか又は脱分極を誘起するタイプ）又は生物剤によって神経刺激を引き起こし、もたらされる反応及びプロセスを培養下の細胞に可能な限り近づいて調べ、そしてこれを、疾患及び特に神経変性疾患の治療に適した処置又は分子を見いだすとともに完全なものにするという目標をもって行うことができる。ナノプローブは、主に細胞外測定によって電位をピックアップする。いくつかの事例では、プローブは、（非常に少数の事例において）細胞膜を自発的に穿孔し、細胞内電位を測定することができる。電気刺激を通じて脂質膜を開口することにより、プローブを強制的に進入させることができる。

【００４３】

細胞内電位又は細胞外電位は、同じ測定値を示す（異なる２つの電位ではない）ことに留意しなくてはならない。違いは、細胞外測定の場合、電位の値は、細胞膜によって減衰し、その分解能が理論的に低下するということである。しかし、ナノプローブによれば、ナノプローブと細胞との親和性は非常に高い。これは、測定が細胞外であるものの、従来のマイクロ電極を用いて測定された信号分解能よりもはるかに高い、非常に高品質の信号分解能を得ることができるということを意味する。想定される実施形態を問わず、本発明の対象であるプラットフォームは、２つの異なるタイプのナノデバイスを用いて同一の細胞をインタフェースする可能性を提供し、したがって、細胞研究の新規な可能性を提供するものである。

【００４４】

［５．２　第１実施形態の説明］

先に説明したように、本技術は、細胞、より詳細には電気反応性細胞（electro-sensitive cells）の検出、測定及び刺激のためのプラットフォームが定められるように実施される。本技術は、ナノプローブに基づく、検出、測定、刺激の少なくともいずれかのプラッ

トフォームと、電気生理学的な測定を行うためのこのようなプラットフォームを使用する方法とに関する。本技術のプラットフォームのこの第１実施形態では、図２に示すように、ナノプローブとナノＦＥＴのペアは、プラットフォーム上で一様に埋め込まれている。この実施形態における目標は、細胞内の活動電位の測定値及びイオン濃度の測定値を得ることである。ナノプローブとナノＦＥＴの各ペアは、独立したナノセンサをなす。センサ内で、各ナノデバイスは別個にアドレス指定することができる。すなわち、各ナノデバイスは、必要に応じて、プラットフォームの周辺部からのアクセスラインを有する。この実施形態では、ナノＦＥＴは、フィンＦＥＴとも呼ばれるフィン型電界効果トランジスタである。ナノセンサは、必要に応じてレイアウトされる。すなわち、ナノセンサ同士の間隔は、特に、プラットフォームの目的に応じたものとすることができ、すなわち、プラットフォームの特化処理、特に、培養する細胞のタイプのレベルにおける目的に応じたものとすることができる。すなわち、或る特定のタイプの細胞では、例えば、２つのセンサが単一の細胞の下に位置しないようにするために、センサ同士の、より大きい間隔又はより小さい間隔が求められる可能性がある。ナノプローブは、互いに別々に作られた２つのナノデバイスによって構成されるのではなく、実際には、一緒に製造された２つのナノデバイスによって構成されるということがいえる。

【００４５】

本技術のプラットフォームのこの第１実施形態では、図２に示すように、プラットフォームＰ１は、必要に応じて、一組のナノプローブ（１００－１，．．．１００－ｎ）を有する。ナノプローブは、導電性アクセスライン（１０１－１，．．．１０１－ｎ）と直に接触した１つから９つの垂直ナノワイヤ（例えば、ナノプローブに対する細胞の降下に有利になるようにするために、４つ）を有する。かかる組は、培養下又は観察下で細胞を受け取るように設計される。各ナノプローブは、その先端部及び導電性アクセスライン（１０１－１…）を除き、絶縁層（不図示）でコーティングされている。ナノプローブ（１００－１，．．．１００－ｎ）は、電気信号を生成又は検出する機器（同様に不図示）と電気的に接続可能な（接続されている）専用の導電性アクセスライン（１０１－１，．．．１０１－ｎ）により、プラットフォームの周辺部と接続している。したがって、このプラットフォームは、例えば、電気信号を、神経回路網のニューロンと電気的に接触している１つ以上のナノプローブを介してこのニューロンに送り、その神経回路網の別のニューロンと接触しているナノプローブを介して当該別のニューロンの電気信号を検出することにより、ニューロン間の相互作用を調べるために用いることができる。

【００４６】

プラットフォームＰ１は、これらのナノプローブに加え、イオンの濃度（イオン濃度）の細胞外での検出及び測定を可能にするシリコンのフィン型トランジスタ（フィンＦＥＴ）を備えている。これらのフィンＦＥＴ（２００－１，．．．２００－ｍ）は、結果として得られるイオン濃度を測定するために、ナノプローブに可能な限り近接して配置される。各フィンＦＥＴはナノプローブに関連付けられて、ナノセンサと呼ばれる、ナノプローブとフィンＦＥＴとのペアが構成される。ナノＦＥＴ（２００－１，．．．２００－ｍ）は、電気信号、より詳細には、細胞外測定によるイオン濃度を検出する機器（同様に不図示）と電気的に接続可能な（接続されている）専用の導電アクセスライン（２０１－１，．．．２０１－ｍ）によりプラットフォームの周辺部とつながっている。したがって、電気的活動が細胞内で伝播する場合、ナノプローブは、或る細胞から別の細胞に伝播した電位（及び特にこの電位の伝播速度）と、発出電位及び到来電位と、イオン濃度とを測定することができる。この図では、読解を容易にするために、少数のセンサのみを表している。図４ａは、４つの垂直ワイヤを有する、プラットフォームのナノプローブの顕微鏡写真である。図４ｂは、プラットフォームのフィンＦＥＴの顕微鏡写真である。図５は、先に述べたように、ナノセンサを構成するためにフィンＦＥＴに関連付けられる、１つの垂直ワイヤを有するナノプローブの顕微鏡写真である。

【００４７】

この第１実施形態の目的は、細胞に対する制約なく、増殖中及び／又は培養下にあるこ

れらの細胞群の挙動の観察を可能にすることである。
【００４８】
［５．３　第２実施形態の説明］
本技術のプラットフォームのこの第２実施形態では、図３に示すように、神経細胞ＣＮ０（その軸索又は樹状突起をＣＮ０ａとする）が、プラットフォームＰ１の表面と接触した状態に置かれる。このプラットフォームは、体細胞ナノプローブ（１００－１，．．．１００－ｎ）のアレイを有する。体細胞ナノプローブは、導電アクセスライン（１０１－１，．．．１０１－ｎ）と直に接触した、１つ～９つ（例えば４つ）の垂直ナノワイヤを有する。基本となるこのアレイを、体細胞ナノプローブのアレイと呼ぶ。その理由は、以下に説明するように、経路上ナノプローブとは異なり、複数の細胞のうち体細胞を受け入れるためのものであるからである。各ナノプローブは、その先端部及び導電アクセスラインを除いて、絶縁層（不図示）でコーティングされている。体細胞ナノプローブ（１００－１，．．．１００－ｎ）は、電気信号を生成又は検出する機器（同様に不図示）に電気的に接続可能な（接続されている）専用の導電アクセスライン（１０１－１，．．．１０１－ｎ）を通じて、プラットフォームの周辺部とつながっている。したがって、かかるプラットフォームは、例えば、電気信号を、神経回路網のニューロンと電気的に接触している１つ以上のナノプローブを介して当該ニューロンに送り、その神経回路網の別のニューロンと接触しているナノプローブを介して当該別のニューロンの電気信号を検出することにより、ニューロン間の相互作用を調べるために用いることができる。
【００４９】
プラットフォームＰ１は、これらのナノプローブに加えて、イオンの濃度（イオン濃度）の細胞外での検出及び測定に用いられるシリコン製フィン型トランジスタ（ナノＦＥＴ）を備えている。これらのナノＦＥＴ（２００－１，．．．２００－ｍ）は、結果として得られるイオン濃度を測定するために、体細胞ナノプローブに可能な限り近接して配置されている。また、センサ（ナノプローブ又はナノＦＥＴ）は、伝播を辿れるように経路上に分散されている。これらの経路により、複数の体細胞ナノプローブ（１００－１，．．．１００－ｎ）を互いに接続し、体細胞ナノプローブのアレイを構成することができる。先に説明した、あらかじめ設定されたこれらの経路（ルート）の目的は、所定のパラメータにしたがって細胞の培養をガイドすることである。このガイドの目的は、細胞がナノプローブのアレイ上で配置される（培養される）場合、かつ、樹状突起又は軸索が或る細胞から別の細胞への電流の伝播を可能にする場合に、これらの細胞間のイオン電流の電位の値及び量の値を測定することができるように、互いに接続された細胞のネットワークを構成することである。精密な測定を行うために、ナノプローブ又はナノＦＥＴは、プラットフォームの表面特化処理により、細胞の増殖中に細胞の樹状突起又は軸索のレセプタクルとなることが知られている経路（パス）に沿って配置される。ナノＦＥＴ（２００－１，．．．２００－ｍ）は、電気信号、より詳細には、イオン電流を検出する機器（同様に不図示）に電気的に接続可能な（接続されている）専用の導電性アクセスライン（２０１－１，．．．２０１－ｍ）を介してプラットフォームの周辺部とつながっている。したがって、電気的活動が細胞内で伝播する場合、ナノプローブは、或る細胞から別の細胞に伝播した電位（及び特にこの電位の伝播速度）、並びに発出電位及び到来電位、また並びにイオン濃度を測定することができる。
【００５０】
図３を参照して示す実施形態等の少なくとも１つの実施形態において、２つの体細胞ナノプローブ間の経路は、ナノＦＥＴ（３００－１，．．．，３００－ｌ）と、経路上ナノプローブ（４００－１，．．．，４００－ｊ）との少なくとも一方を有する。これらの経路上ナノプローブにより、樹状突起又は軸索の異なる場所における電位を測定することができる（わかりやすくするためにパスを２つのみ図示している）。
【００５１】
本技術において用いられるナノプローブ及びナノＦＥＴ（シリコンフィン型トランジスタ）は、任意の導電性材料、好ましくは、無機材料、例えば、ケイ素、金属、化合物半導

体、導電性酸化物及びケイ化物によって形成することができる。このプラットフォームのコンポーネントを覆う絶縁層は、低細胞毒性を有する材料、例えば、酸化ケイ素、酸化アルミニウム及び窒化ケイ素によって形成される。ナノプローブの先端部は、トップダウンのアプローチに従って、上記プラットフォームの製造方法の提示の文脈で以下に説明するように、露出させられる（すなわち、例えば絶縁コーティング層がない）か、又は、導電層で覆われるかのいずれかである。導電層も、低細胞毒性を有する材料、例えば、金、銀及び白金、これらの材料の合金又は導電性有機材料（例えば、ｐｅｄｏｔ：ｐｓｓ）によって形成される。

【００５２】

［５．４　プラットフォームの共同統合製造（co-integrated fabrication）の方法の詳細］

先に述べたナノワイヤに基づく測定のプラットフォームは、４インチの、シリコン・オン・インシュレータ（ＳＯＩ：silicon-on-insulator）（活性Ｓｉが４μｍ、埋め込み酸化膜が１μｍ、基板が４００μｍ）基板を用いて得られる。製造コストを削減し大量生産を容易にするために、ｉ線ステッパフォトリピータを用いたＵＶフォトリソグラフィと、それに続くＲＩＥプラズマエッチングとによる製造方法を用いたトップダウン手法が用いられる。基板全体の方法の再現性を高めるために、感光樹脂の下に反射防止膜（ＢＡＲＣ）が用いられる。

【００５３】

より詳細には、図６に示すように、本製造方法は、基板を備えるベース部にて行われる以下のステップを含む。基板上には、１μｍの二酸化ケイ素（SiO_2）層が堆積し、この二酸化ケイ素層は、４μｍの単結晶シリコン（Ｓｉ）層でコーティングされている。

【００５４】

－垂直ナノワイヤの作製（Ｅ１０）、すなわち、プラットフォームの垂直構造化

○この作製は、フォトリソグラフィ技術に基づくものであり、従来の有機樹脂（例えば、ＥＣＩ　３０１２タイプのもの）を用いた、保護マスク（直径５００ｎｍの抵抗性ナノパッド）として機能する樹脂パターンの局所的な堆積を含む。

○３．５μｍのＲＩＥエッチング（深掘り反応性イオンエッチング（deep reactive ion etching））、すなわち、（プラズマから由来する）イオン衝撃によるドライエッチング。この技術は、高エッチング異方性の利点を有する。エッチングされるエリアとエッチングされないエリアとの境界は、ほとんどの場合矩形及び垂直となり、残りの樹脂（先行するサブステップから由来する樹脂）は、化学エッチングによって除去される。

○この第１ステップの最後において、プラットフォームは、１つ～４つのナノワイヤによって構成されるとともにプラットフォーム上で分散するグループを構成する垂直ナノワイヤを有する。これにより初期のアレイが形成される。この初期のアレイは、求められている特性をナノワイヤに付加するために以下のステップにおいて再加工される。

【００５５】

－ナノＦＥＴ及びアクセスラインの作製（Ｅ２０）、すなわち、プラットフォームの平面構造化

○前段階で得られたナノワイヤを保護するとともにこのナノワイヤの損傷を回避するための厚い樹脂感光層（resin photo-layer）（５μｍ）を堆積させる。

○ナノＦＥＴ（チャネル及びアクセスライン）、及びナノプローブのアクセスラインをプロットする前段階のステップの方法と同一の方法に従ってマスキングされることになるゾーンを定めるフォトリソグラフィ

○ＳＯＩの埋め込み酸化膜（ＢＯｘ）に到達する、すなわち、シリコンが約０．５μｍの深さに穿孔されるまでエッチングする

○この第２ステップの最後において、プラットフォームは、プラットフォームの縁部において、電気コンタクトへのアクセスラインによって接続された、垂直ナノワイヤ及びナノＦＥＴの初期構造体（embryo）を有する。これは、ナノワイヤのように、プラットフォーム上で分散され、ナノワイヤのグループの１以上のアレイが完成する。

【００５６】
－犠牲酸化によるナノワイヤ及びナノＦＥＴのフィンの体積の同時薄膜化（Ｅ３０）
○プレート全体上で、約８５０℃で６０分間、湿式酸化が行われる。この処理により、ナノワイヤの直径の約５００ｎｍから約２００ｎｍへの減少の用意を整えるとともに、ナノＦＥＴのチャネルの約２０ｎｍへの薄膜化の用意を整えることができる。
○この処理により、プラズマエッチングによってもたらされる表面の欠陥を防ぐとともに、ナノプローブの異方性を向上させることも可能となる。
○その後、各ナノＦＥＴのチャネルは、フォトリソグラフィによって樹脂で保護される。
○その後、ＨＦによる緩衝ウェットエッチング（５％）が行われる。これにより、ナノＦＥＴチャネルの表面を除き（樹脂は浸食されないため）、全ての表面上の酸化膜の除去が可能となる。加えて、各チャネルが酸化膜（SiO_2）によりコーティングされる。
【００５７】
－ナノＦＥＴのソースゾーン（Ｓ）及びドレインゾーン（Ｄ）と、ナノワイヤと、アクセスラインとのＰ型ドーピング（Ｅ４０）
○本ステップは、ナノＦＥＴのチャネルを除くプラットフォーム全体への10^{20}ａｔｍ／ｃｍ^{3}でのホウ素の注入からなる。ナノＦＥＴのチャネルは、前段階のステップの樹脂によって保護されたままである。
○チャネルは、その感度を保つためにドーピングされない。
【００５８】
－ナノＦＥＴのチャネルのマスキング樹脂の除去及びドーパントを活性化させるためのアニーリング
○樹脂は、チャネルから除去され、ドーパントは、温度（約１０００℃で約３０分間）によって活性化する
○このアニーリング段階は、シリコン内のドーパントを電子的に活性化させる
○このステップの最後において、プラットフォームは、垂直ナノワイヤ、ナノＦＥＴのソース領域及びドレイン領域並びにドーピングされたＳｉ製のアクセスラインを含む。チャネルのみが酸化膜によりコーティングされたままである。
【００５９】
－白金のケイ素化（Ｅ５０）
○弱抵抗性のソース領域及びドレイン領域（ナノＦＥＴ）を作製するとともに、ナノプローブと液体媒体との界面を改善するために、白金の等方性プレートの全体的な堆積のステップが行われる。
○この場合、合金であるＰｔＳｉを作製するために活性化アニーリング（５００℃で３分間）が用いられる。ここでの利点は、ＰｔＳｉは、ＰｔがSiO_2とではなくＳｉと直に接触している場合にのみ作製されることである。したがって、用いられる技術により、ＢＯｘ（SiO_2によって構成される）上にも、ナノＦＥＴのチャネル上にもＰｔＳｉがないようにすることができ、したがって、これらの要素の測定の感度が保たれる。
【００６０】
ここで、提案される製造方法の利点に留意されたい。金属上への注入のためにリソグラフィのステップを行う必要がない。チャネルは、Ｓｉ酸化膜によって既に保護されているため、樹脂でカバーする必要がない。しかし、これは、唯一の利点というわけではない。白金ケイ素化のこのステップにより、ナノデバイスの統合性が大幅に高まると同時に、生物媒体との高い生体適合性が提供される。これは、Ｓｉ上の白金を活性化させるためのアニーリングのプロセスを通して達成される。
【００６１】
－王水（ＨＣｌとHNO_3とＤＩ水との化学混合物である。金属である場合にのみエッチングが可能となる。シリコンは浸食されない。）を用いたＰｔＳｉに対するＰｔの選択的エッチング（Ｅ６０）
○これは、ＰｔＳｉを浸食することなく、変わっていないＰｔ（前段階のステップか

ら由来する）のエッチングを可能にする選択的化学エッチングのステップである。したがって、（変わっていない）Ｐｔは、ＢＯｘ及びナノＦＥＴのチャネルから除去される。

○ＰｔＳｉの有用性は２点ある。ナノプローブの観点でみれば、ＰｔＳｉは（Ｓｉ単体と比較して）酸化されず、時間が経過しても電解質とプローブとの界面において低インピーダンスを保つ。ナノＦＥＴの観点でみれば、ＰｔＳｉは、ナノＦＥＴの感度を改善する表面と体積の低い接触抵抗をもたらす。

【００６２】

－アクセスラインの抵抗を低減するアルミニウム（Ａｌｕ）の金属化（Ｅ７０）

○Ａｌｕ（５００ｎｍ）のプラットフォーム全体上に適合した堆積と、それに続く、フォトリソグラフィ、及び、「エッチバック（etch-back）」樹脂によって保護されていないアルミニウムの化学エッチングが行われ、アクセスラインが金属化される。

○アルミニウムがアクセスライン上でのみ保たれる。

【００６３】

－培地に対するプラットフォームの絶縁（Ｅ８０）

○その後、（未来の）培地のナノワイヤ及びナノＦＥＴを絶縁するために、適合したやり方で酸化膜（絶縁酸化膜）が堆積される。用いられる酸化膜は、ＳｉＯ２、ＡＬ２Ｏ３若しくはＨｆＯ２、又は特定の誘電体とすることができる。

【００６４】

－ナノワイヤの先端部、外部のコンタクト、及びナノＦＥＴ（コアシェル構造）のチャネルに対する開口（Ｅ９０）

○（アクセスラインの）外部のコンタクト及びナノＦＥＴのチャネル（ソースとドレインとの間）において前段階で堆積した（絶縁）酸化膜をエッチングするために、厚い樹脂（５μｍ）によるフォトリソグラフィのステップが用いられる。

○その後、ナノプローブの頂部をクリアするためのＯ２プラズマエッチングにより、残りの樹脂の厚さが低減する。

○樹脂の高さは、ナノプローブのために求められる感応コンタクトの寸法に応じて１μｍ～３μｍで変わり得る。

【００６５】

－開口酸化膜の化学エッチング（Ｅ１００）

○樹脂の開口ゾーンは、ＨＦ緩衝液（５％）によって化学エッチングされる。このエッチングを用いて、ナノプローブの先端部をクリアし、外部コンタクトを還元し、チャネル上の酸化膜の厚さを低減させて、検出及び／又は測定を向上させる。

○その後、樹脂が排除される。

○このステップの最後において、プラットフォームは、ナノワイヤのグループ（１つのグループは１つ～４つのナノワイヤを含む）を構成するナノワイヤのアレイと、ナノプローブに近接して配置されたナノＦＥＴと、プラットフォームの周辺部からこれらの全要素へのアクセスラインとを有する。これは、そのマッピングを問わず達成される。

【００６６】

実際、この酸化化学エッチングステップの最後において、先に説明した方法に従って製造されるこのプラットフォームは、同一のプラットフォームを用いて、少なくとも１つのナノプローブを用いた電位と、１つ以上のトランジスタ（ナノＦＥＴ）を用いたイオン濃度との、同時の細胞外測定に関連した課題を解決する。これらの全てのステップにより、単一のしょりにおいてデバイス又はプラットフォームを得ることができる。これは、従来技術の製造方法では可能ではない。続いて、プラットフォーム上での細胞の方向付けられた増殖を用いた神経細胞培養（neural cultures）に対する実験を可能にするために、本発明者らは、プラットフォームの表面の特化処理の追加ステップを実施している。この追加ステップは、先に述べたように、所定の場所における細胞の培養及び増殖に対する制約を可能にする。より詳細には、本技術によれば、本製造方法は、細胞の付着パターン及びより具体的には親水性パターンを定めるフォトリソグラフィ処理を含む化学機能処理のステップ（Ｅ１１０）を更に含む。

【００６７】
これらのパターンは、細胞の増殖を促進することが望まれる特定のプラットフォームゾーンにおいて作製される。ナノプローブの、体細胞の注入を促進することが望まれる場所において、より広い表面積の親水性ゾーンが作製される。親水性ゾーンは、細胞伸長（必要に応じて、軸索、樹状突起）を可能にし、他の体細胞が固定される他のナノプローブにこれらの伸長の増殖を向けるために、ナノプローブの延在部においても作製される。
【００６８】
［５．５　その他］
説明された全ての特徴は、組み合わせることができ、これは、任意の組み合わせで行うことができる。本明細書において開示される各特徴は、同じ目的に役立つ均等な特徴に置き換えることができる。したがって、特段の指定がない限り、説明される各特徴は、一般的な連続した均等な又は類似の特徴の１つの例にすぎない。
【００６９】
本明細書において上記で説明された態様への補足として、本発明の対象であるプラットフォームは、種々の方法で実施することができる。各ナノデバイスがアドレス指定可能であることによって提供されるこのプラットフォームの１つの利点は、このプラットフォームは、堆積した（及び／又は増殖状態に置かれた）細胞の、プラットフォーム上の非常に正確な場所での位置特定を行うために用いることができることである。これは、従来技術では可能ではない。加えて、プラットフォームの使用は、神経系細胞に限定されず、ナノプローブのコンポーネント間の距離を変更して、任意の種類の細胞のために実施することができる。ナノプローブは、一方では電位を測定するために、他方では電気インパルスを細胞に送るために用いることができる。このインパルスの送信は、刺激された細胞壁を正確にかつ可逆に、局所的に開口するのに用いることができる。インパルスの送信は、いくつかの特定の条件では、細胞の励起を引き起こすのにも用いることができる。

【図面】

【図１】

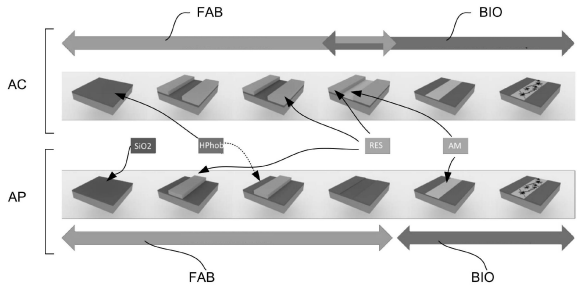


Figure 1

【図２】

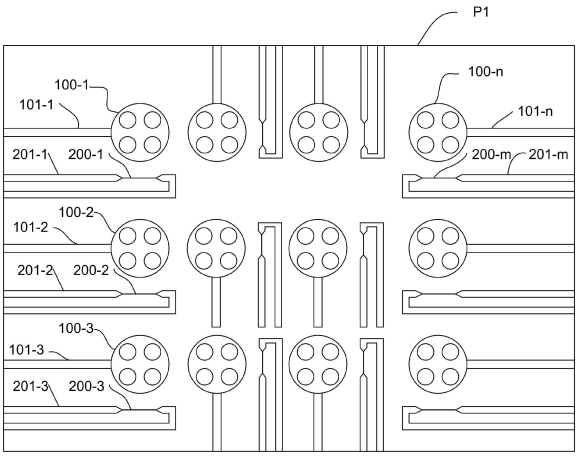


Figure 2

【図３】

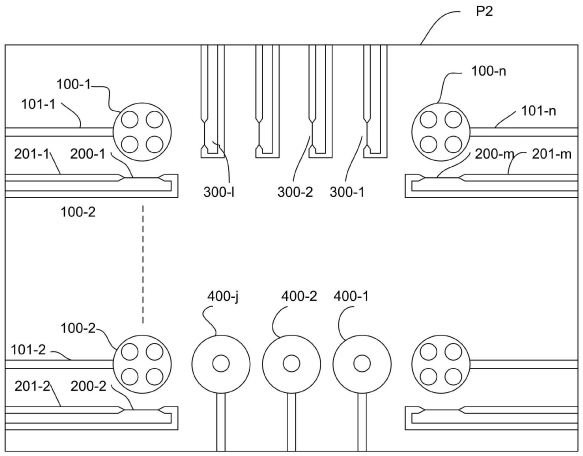


Figure 3

【図４ａ】

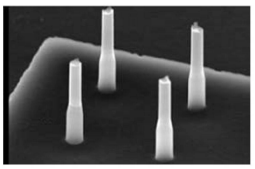


Figure 4a

【図４ｂ】

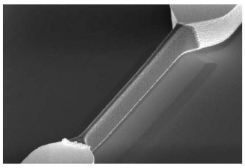


Figure 4b

【図５】

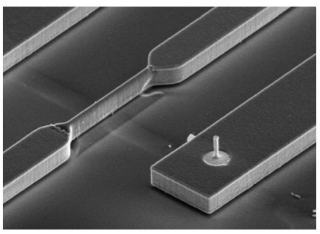


Figure 5

【図６】

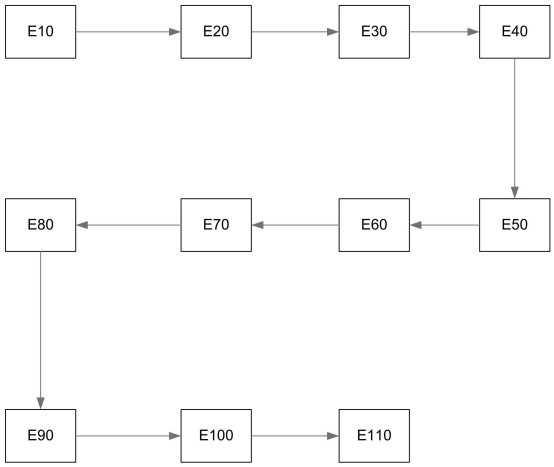


Figure 6

フロントページの続き

(74)代理人　100142996
弁理士　森本 聡二
(74)代理人　100166268
弁理士　田中 祐
(74)代理人　100170379
弁理士　徳本 浩一
(74)代理人　100180231
弁理士　水島 亜希子
(74)代理人
有原 幸一
(72)発明者　ラルリュー，ギレーム
フランス国，３１４００ トゥールーズ，アヴニュ・デュ・コロネル・ロシュ ７，エルアアエス内
(72)発明者　カサノヴァ，アドリアン
フランス国，３１４００ トゥールーズ，アヴニュ・デュ・コロネル・ロシュ ７，エルアアエス内
審査官　福間 信子
(56)参考文献　特表２００９－５４０７９８（ＪＰ，Ａ）
特表２０１１－５１９１５２（ＪＰ，Ａ）
CASANOVA A. et al.，Probing electrical activity of single neurons based on 1D nanostructures: from extra to intrecellular interfacing, 2016 IEEE Nanotechnology Materials and Devices Conference(NMDC), 2016, p. 1-2
KWIAT M. et al.，Highly Ordered Large-Scale Neuronal Networks of Individual Cells -Toward Single Cell to 3D Nanowire Intracellular Interfaces, ACS Appl. Mater. Interfaces 2012, vol. 4, p. 3542-3549
(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｍ　１／００－３／１０