

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：14202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650278

研究課題名(和文)低ドースイオン注入によるバイオイメージング用ナノダイヤモンドの創成

研究課題名(英文)Creation of nanodiamond for bioimaging by low-dose ion implantation

研究代表者

犬伏 俊郎 (Inubushi, Toshiro)

滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・名誉教授

研究者番号：20213142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ナノダイヤモンド粒子は低細胞毒性および高生体適合性を示すことから、医学・生物学の分野に応用性が追求されている。本研究では蛍光プローブの開発を目的として、ナノダイヤモンドにイオン注入の手法を用いて不純物、あるいは損傷(空孔)を効率よく導入して発光センターを形成する研究をおこなった。はじめ市販ナノダイヤモンドにSiVセンター形成を目指してSi+Heの共注入をおこなったが、SiVセンターの作製には至らなかった。そこで、高純度の単結晶および多結晶のダイヤモンドにSiを始め様々な元素のイオン注入、アニールをおこなった結果、シャープな発光分布を持ちかつ強い発光強度を持つ発光センターの形成が確認された。

研究成果の概要(英文)：Nanodiamond(ND) has received increasing attention for its promising biomedical applications. The fluorescence of ND can be substantially enhanced when vacancy is introduced by high-energy particle beam and then annealing to form negatively charged nitrogen-vacancy centers. In this project bright color center in diamond was explored by low-dose ion implantation. To create fluorescent SiV center, He and Si were co-implanted to commercially available ND. However, trace of SiV center was not detected in regular implantation and annealing conditions. This is probably because the formation of NV due to the originally contaminated nitrogen may hinder the creation of SiV center. Considering from these results, single- and polycrystalline diamonds were chosen. As a result, the key techniques concerning the color center associated with vacancy in diamond have been developed and the possible avenues have been introduced for their application to biomedicine.

研究分野：生体医工学

キーワード：ナノダイヤモンド イオン注入 蛍光 空孔 イメージング

1. 研究開始当初の背景

微小な（直径数 nm から数 10 nm の範囲）ダイヤモンドの結晶であるナノダイヤモンドの表面は化学的な活性が低く、生体中でもサイズによる効果を除いてはきわめて安定な材料であることが予想できるので、生体のイメージングプローブの母材としての応用が考えられる。しかし表面が安定であることは化学反応を用いて表面を修飾し機能を持たせることに制限が生じることをも意味する。我々はイオン注入技術によりナノダイヤモンドの内部に所望の元素および欠陥を導入する手法に注目し、磁性あるいは蛍光発光の機能を発現する新規なナノダイヤモンドを創成してきた。しかしながら、イオン注入の量は 10 mg のナノダイヤモンドあたり $1 \times 10^{16} / \text{cm}^2$ と高ドーズであり、試薬生産としては高コストなうえ、熱処理における蛍光発光強度の再現性が悪い、イオン注入ナノダイヤモンドにおいては高い溶解度が得られていない等の課題が残されている。そこで、低ドーズで効率よくバイオイメージングに適したナノダイヤモンドの開発が望まれていた。

2. 研究の目的

ナノダイヤモンドは化学的に安定な材料であり、生体イメージングプローブの母材として最適な材料であることに注目し、化学的な手法では内部あるいは表面に導入することが困難な元素をイオン注入技術を用いて導入する試みをおこなってきた。その結果、一定の感度を有する磁性材料、蛍光材料としての性能を得ることに成功し、プローブへの応用を試みるに至っている。しかし、イオン注入の条件としては高ドーズ量に偏っており、いくつかの観点から、より低ドーズ側にも感度的に有利でありかつ生産性の良い条件が存在する可能性がある。本研究では、低ドーズ領域における磁性・蛍光ナノダイヤモンドを創成するためのイオン注入条件、熱処理条件を探索し、同時にその原理について明らかにしていく。また、生体計測に用いることの出来る蛍光プローブの開発を目指し、ナノダイヤモンドにイオン注入の手法を用いて不純物、あるいは損傷（空孔）を効率よく導入して発光センターを形成する技術開発を行った。

3. 研究の方法

はじめ数種類のナノダイヤモンド（製法は高温高圧法、爆発法、天然材料、サイズは平均 25nm ~ 50nm）を材料として損傷を導入するための He 注入、NV センターの形成を意識して N + He の共注入、生体計測に有利な赤外領域にシャープな発光特性を持つ SiV センター形成を目指して Si + He の共注入をおこない、アニールの条件を変えながら最適なイオン注入条件、アニール条件の探索をおこなった。その結果、形成される発光センタ

ーは天然ダイヤモンド由来のナノダイヤモンドを除きすべて NV センターに限られ、材料の種類、サイズにより発光強度が影響されること、N、Si の注入は発光センター形成には影響がないこと、損傷導入のイオン注入には損傷濃度（計算による推定値）において $1 \times 10^{20} / \text{cm}^3$ くらい（注入量としては $1 \times 10^{14} / \text{cm}^2$ 程度）に最適値があること、アニール温度としては 700 ~ 800 に最適値があることが見出された。この結果は低ドーズイオン注入により生体計測用のナノダイヤモンド形成が可能であることを実証したものであり、当初の目的の主要な部分は達成した。

しかし任意の元素をイオン注入で導入し、その元素により発光センターを形成する手がかりは得られなかった。この原因を入手可能なナノダイヤモンドにおいてはもともと不純物として存在する N の量が多すぎることで、および導入した少数の元素により発光センターを形成するには結晶性が悪すぎる懸念が考えられたので、高純度の単結晶および多結晶の基板を入手し、これに対して Si、Al、Ni、Cu、Au 等のイオン注入、アニールをおこなった。この結果、Si および他の元素（未発表なので X とする）においてシャープな発光分布を持ちかつ強い発光強度を持つ発光センターの形成を確認した。特に X 原子関連センターは未発表の発光センターであり、特許出願をおこなった。その特性、構造、応用分野等の説明は今後の課題である。

4. 研究成果

(1) ナノダイヤモンドに対する発光センター形成技術

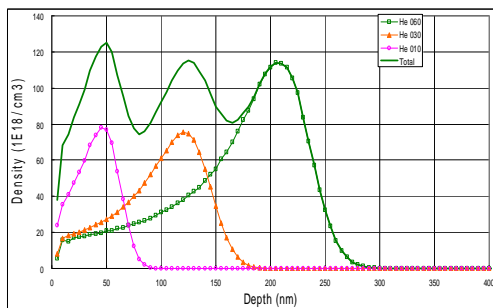
ナノダイヤモンド中に NV センターを形成するには He ビームの注入（損傷のみの導入）で良いことは先行研究でわかっていたので、購入可能な各種のナノダイヤモンド材料（表 1 参照）を入手して、最適な He 注入条件、アニールの条件を探索した。また、原子の導入によりその原子に関わる発光センター形成が可能かどうかを、NV センター形成を想定して N 注入で、また赤外領域にシャープな発光特性を持つ SiV センターの形成を試みて Si 注入をおこなった。

表 1. 評価に使用した市販ナノダイヤモンド

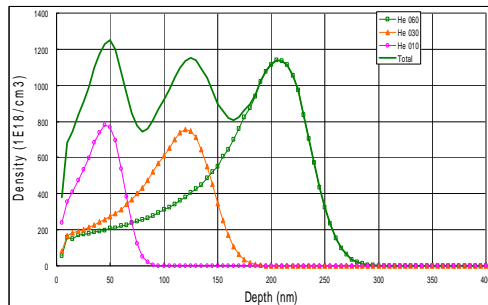
メーカー	製品名	サイズ	製法	略称
トーマスダイヤ	MD30	~ 30nm	高温高圧法	MD30
Microdiamant	MSY0-0.05	~ 25nm	高温高圧法	MSY0.05
Microdiamant	MSY0-0.1	~ 50nm	高温高圧法	MSY0.1
Microdiamant	NAT0-0.1	~ 50nm	天然ダイヤモンド破砕爆発法	NAT
Microdiamant	DP0-0.1	~ 50nm	爆発法	DP

評価の工程は、(1) 4インチ Si 基板上に上記ナノダイヤモンドの分散液をスプレー法で塗布、(2) イオン注入、(3) ナノダイヤモンドが基板上に乗ったままでおよそ 10mm 角に劈開、(4) 真空炉の中で 600 ~ 980 でアニール、(5) 大気中で 470 で表面酸化、(6) 生体用イメージング装置または Raman 散乱測定装置により蛍光発光の強度評価、という手順でおこなった。イオン注入は株式会社イオンテクノセンターの 200keV イオン注入装置(日新イオン機器製 NR20) 評価に用いたのは蛍光イメージング装置(島津製作所製 ClairvivoOPT) および Raman 散乱測定装置(堀場製作所製 LabRamHR-CNT) である。

イオン注入の条件を以下図 1 ~ 図 4 に示す。いずれも SRIM と呼ばれるシミュレーションソフトを用いた損傷(空孔)密度および導入した原子密度を示している。目的の分布を得るために、エネルギーと注入量を何段階かに分けて注入する多段注入の手法を用いている。図 1 は He 注入により一定濃度の混晶密度を得る例を示しており、注入量に係数をつけることにより濃度の調整が可能である。原子を導入す場合には、原子の注入により損傷が発生するために両方を所望の濃度には出来ない(図 2)、原子の注入に加えて損傷を導入する He 注入(共注入)をおこない図 3、図 4 に示すように両方に所望の濃度分布を得る。

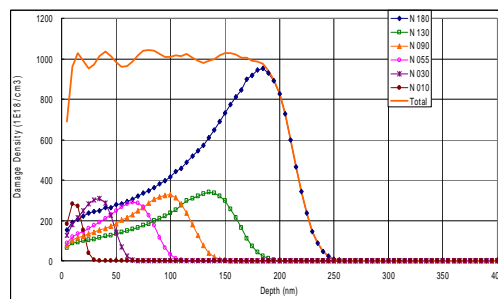


(a) 濃度 $1 \times 10^{20}/\text{cm}^3$ 条件

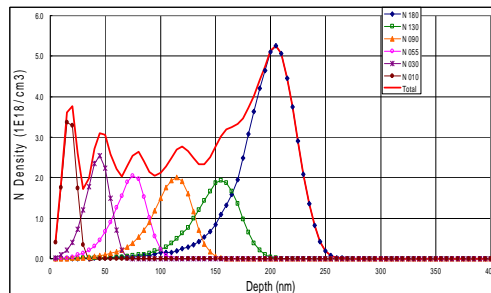


(b) 濃度 $1 \times 10^{21}/\text{cm}^3$ 条件

図 1 . He 注入における損傷濃度分布(シミュレーション)例

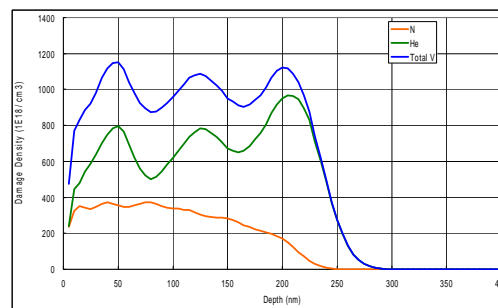


(a) 損傷濃度分布

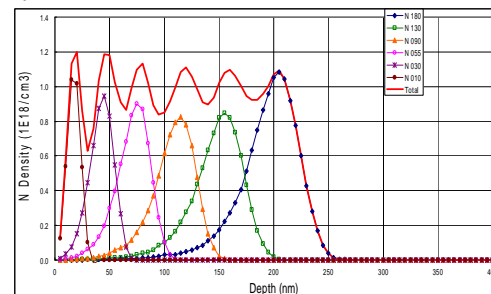


(b) N 濃度分布

図 2 . N 単独注入(損傷濃度 $1 \times 10^{21}/\text{cm}^3$ 条件)における N 濃度分布と損傷濃度分布(シミュレーション)例

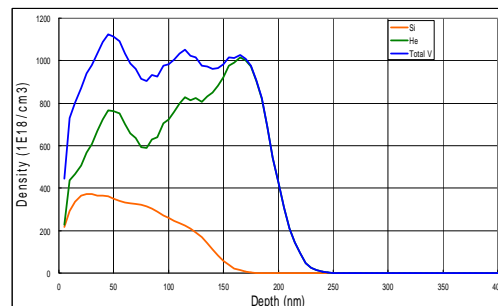


(a) 損傷濃度分布

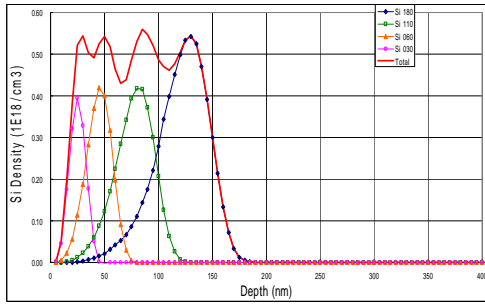


(b) N 濃度分布

図 3 . N、He 共注入(N 濃度 $1 \times 10^{18}/\text{cm}^3$ 条件、損傷濃度 $1 \times 10^{21}/\text{cm}^3$ 条件)における N 濃度分布と損傷濃度分布(シミュレーション)例



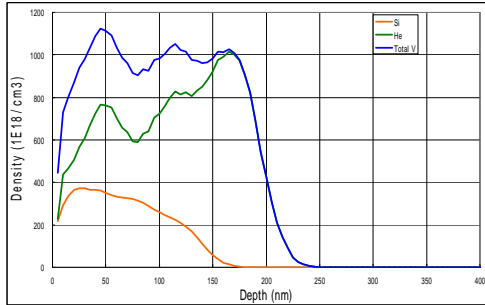
(a) 損傷濃度分布



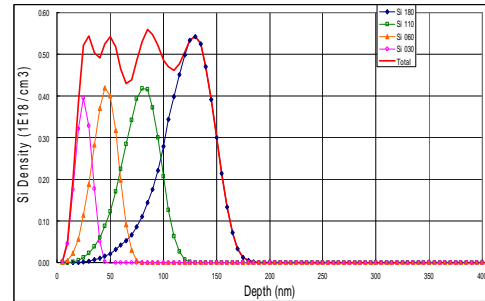
(b) N 濃度分布

図3 . N、He 共注入 (N 濃度 $1 \times 10^{18}/\text{cm}^3$ 条件、損傷濃度 $1 \times 10^{21}/\text{cm}^3$ 条件) における

N 濃度分布と損傷濃度分布 (シミュレーション) 例



a) 損傷濃度分布



(b) Si 濃度分布

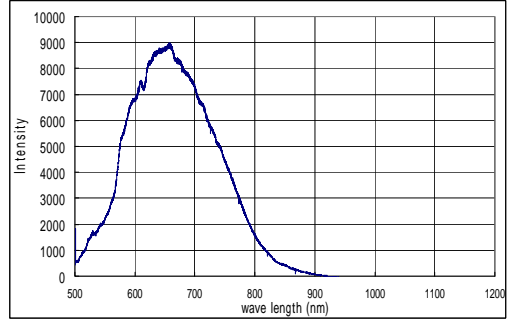
図4 . Si、He 共注入 (Si 濃度 $5 \times 10^{17}/\text{cm}^3$ 条件、損傷濃度 $1 \times 10^{21}/\text{cm}^3$ 条件) における

Si 濃度分布と損傷濃度分布 (シミュレーション) 例

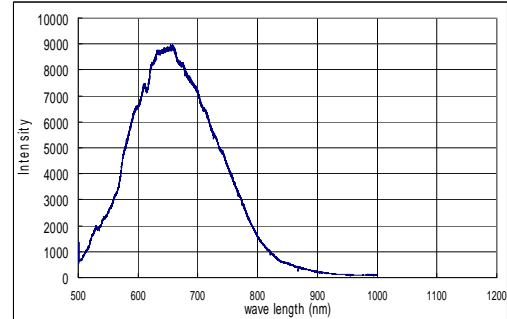
アニールも重要な工程であり、これがないと発光センター形成が行なわれず、発光しない。イオン注入直後 (あるいはナノダイヤモンド形成時) にはナノダイヤモンド内には多くの損傷があり、乱れのない結晶中に格子位置の不純物と隣接する空孔がカップリングしないと NV センターが形成されないと考えられるので、空孔の拡散が始まると言われている。600 以上の温度でのアニールは必須である。またもともとナノダイヤモンドは微小なダイヤモンドの周辺はグラファイトかアモルファスカarbonで覆われていると言われている。イオン注入による損傷でグラファイト化したカーボンが存在すると予想されるので、それらの表面のカーボン層を除去しないと、励起光も蛍光も吸収されてしまう。そのために酸素雰囲気中でこの層を酸化して除去することも必須となる。アニールについては 30 分程度で効果が飽和すること、酸化

については 2 時間程度で効果が飽和することより、これらの時間を熱処理の標準条件とした。

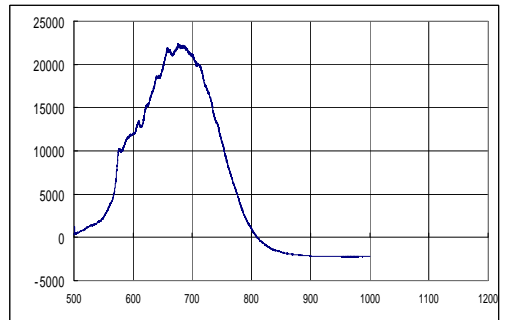
このようにしてイオン注入、熱処理を完了したナノダイヤモンドの発光特性の例を図 5 に示す。測定は Raman 装置で励起光の波長は 488nm である。MD30、MST は典型的な NV センターの発光分布を示しているが NAT は異なる分布を示す。これは H3 センターと呼ばれる発光センターで N 分子と空孔



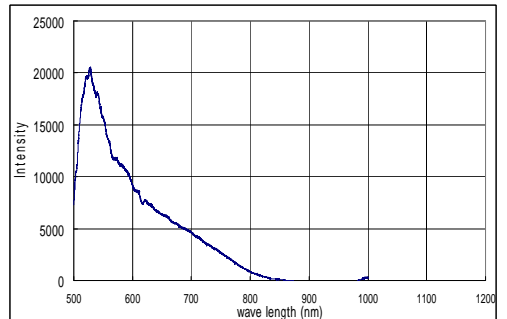
(a)MD30



(b)MSY0.05



(c)MSY0.1



(d)NAT

図5 . 各種ナノダイヤモンドの発光特性例

(He 注入 3×10^{20} 損傷濃度条件。800 30 分アニール

の後大気中酸化)

で構成されるとされており、天然由来のダイヤモンド中に存在する N は分子状であるとされていることと矛盾しない。DP についてはここには発光特性は示していないが弱い NV センターの発光特性を示している。MSY に関してはサイズの大きいほうが強くてきれいな(バルクからの発光特性に近い)発光分布を示しており、サイズが大きいほうがきれいな結晶のダイヤモンドの部分が多いことを反映しているものと考えられる。ただ、サイズはその用途により制限されるので、選択肢とは一般にならない。

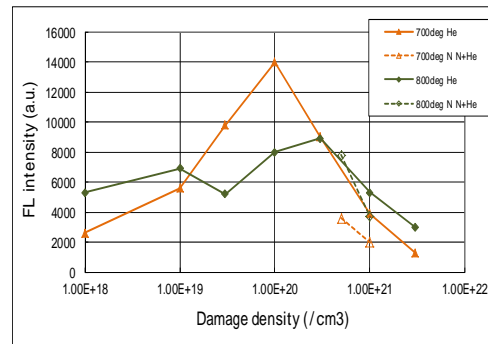
次に各材料について He 注入による損傷濃度とアニール温度が発光強度に対して与える影響について検討した。どの材料についてもイオン注入による損傷濃度が $1 \times 10^{20}/\text{cm}^3$ 前後、アニール温度は 700 ~ 800 くらいに NV センターの形成される最適条件があることが示されている。損傷濃度が大きすぎると無傷なダイヤモンドの部分が少なくなるために損傷濃度に最適値があり、アニール温度が高過ぎると拡散する空孔がすぐにナノダイヤモンドに表面に達してしまうためにアニール温度にも最適値があるものと考えられる。

さらに He 注入のみの試料と N 注入 (N + He 共注入) の試料の NV センター発光強度を比較してみる。図 6 にその結果を示している。図中の実線は He 注入のみの場合を示し、点線は共注入の場合を示している。このように N を注入することにより損傷濃度が同じ位置で比較した時、NV センターの発光強度は全く増えてはいないことが示されている。つまりイオン注入により導入した N 原子は全く NV センターの形成には寄与していないということである。これは Si を注入した場合も同様であった。Si、He の共注入を行った場合、SiV センターの発光波長 738nm の位置には全くピークは認められず、SiV センターは形成されていないものと考えられる。

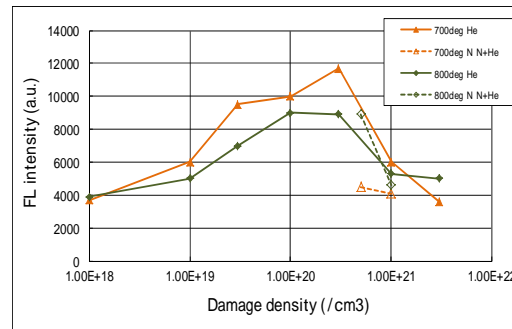
ここまでの結果を眺めてみると、現在入手可能なナノダイヤモンドはすべてともとも相当量の N を含有しており、それに対して N を注入しようが Si を注入しようがともとも存在する N 濃度に対して少量であるがために発光センター形成には影響をあたえることができていないものと推定することが出来た。いくつかのメーカーに高純度のナノダイヤモンドについて問合せたがそのようなものは市場にはなく、ただ最近電子デバイス用の基板として海外のメーカーが単結晶・多結晶の試料を販売していることがわかった。

(2) 高純度ダイヤモンド材料を用いた発光センター形成技術

イオン注入法により任意の原子をダイヤモンド中に導入し、その原子に起因する発光センターを形成する試みは、材料をナノダイ



(a) MD30



(b) MSY0.05

図 6 . He 注入と N 注入 (N + He 注入) の比較

ヤモンドに限定する限りは困難であることが判明した。一方で非常に高価ではあるが高純度のバルクダイヤモンドは市販が始まっている。現状ではコスト的に産業利用には直結しないものの、原理的に高純度のダイヤモンドであれば任意の発光センター形成が可能であるかどうかを検証するために多結晶 CVD 合成ダイヤモンド (エレメントシックス社製、両面研磨、EL 規格) (長さ: 5 mm、幅: 5 mm、厚さ: 0.3 mm) および単結晶 CVD 合成ダイヤモンド (エレメントシックス社製、Electronic Grade, EL SC Plate) (長さ: 2 mm、幅: 2 mm、厚さ: 0.5 mm) を用いて発光センター形成を試みた。狙ったのは 738nm の波長にシャープな発光ピークを持つ SiV センターを中心に、Al、Ni、Cu、Au 等に由来する発光センターであり、イオン注入には株イオンテクノセンターに設置されている低エネルギー-FIB 装置 (島津製作所製開発装置) を用いた。熱処理に関してはナノダイヤモンドと同様の手法、装置を用いた。図 7 に Si40keV を注入量 $1 \times 10^{13}/\text{cm}^2$ で注入するときの濃度分布シミュレーション結果を示す。

その結果 Si、原子 X において顕著な蛍光発光を観察した。その他の元素に関しては弱い蛍光発光を認めたものの、NV センターに匹敵するような強度の発光は認められなかった。Si 注入試料においては予想通り 738nm にシャープなピーク (ZPL に対応) を持つ発光を観察し、原子 X 注入試料からは 602nm に ZPL と思われるシャープなピークの強い発光を観察した (図 8)。励起波長は 488nm である。原子 X 関連の発光センターに関して

は未発表のものであり、発光センター生成条件の最適化、その構造等を解析しつつ特許の申請をおこなった。(「蛍光ダイヤモンド及びその製造方法」特願 2014-259175)。図9にSiV センター、原子 X 関連センターに関し、イオン注入の条件とアニールの条件が発光強度に与える影響について現状得られている結果を集計している。単結晶基板と多結晶基板では差が生じており、これはイオン注入時の注入方向に起因するものと推定している。

今後は発光特性を活かした生体イメージングプローブへの応用、ODMR への応用可能性などを探索しながら一方で低コストのSiV センター等含有ナノダイヤモンドの製法の開発も継続する予定である。

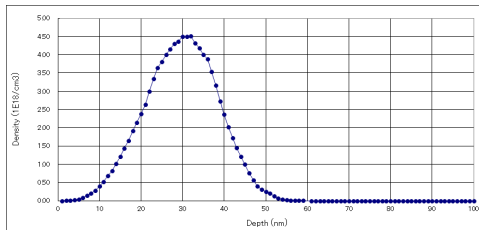
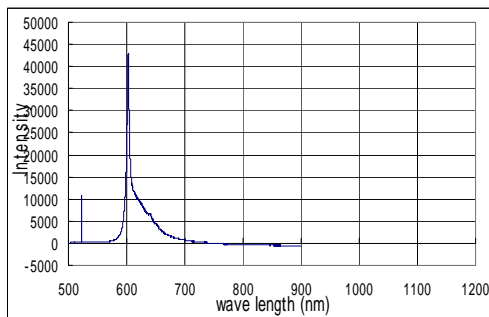
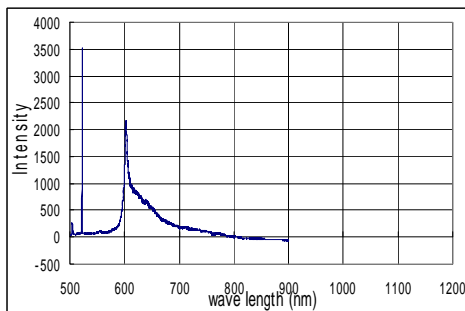


図7 . Si40keV をダイヤモンドに注入するときの濃度分布計算値 ($1 \times 10^{13}/\text{cm}^2$ を仮定)

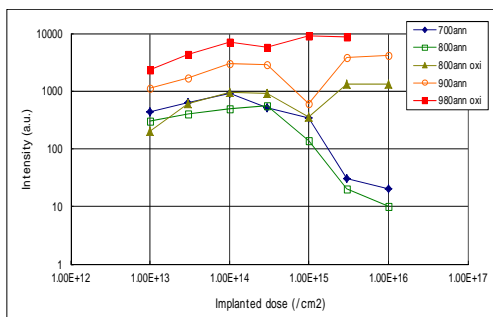


(a) 多結晶基板 (注入量 $2 \times 10^{14}/\text{cm}^2$)

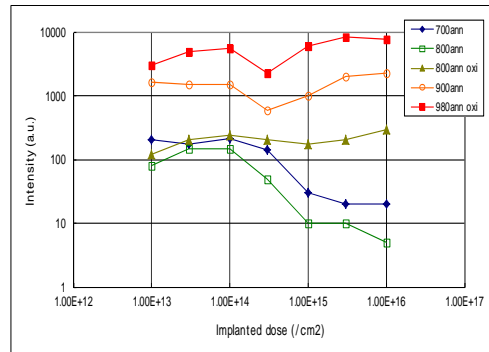


(b) 単結晶基板 (注入量 $3 \times 10^{15}/\text{cm}^2$)

図8 . 原子 X 注入試料で得られた発光特性の例



(a) SiV センター強度 (単結晶基板)



(b) 原子 X 関連センター強度 (単結晶基板)

図9 . SiV センター、原子 X 関連センター発光強度とイオン注入量、アニール条件との関係

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

A polymer-based magnetic resonance tracer for visualization of solid tumors by ^{13}C spectroscopic imaging. Suzuki Y, Iida M, Miura I, Inubushi T, Morikawa S.

PLoS One. 2014;9(7):e102132. 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0102132

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 蛍光ダイヤモンド及びその製造方法
発明者: 長町信治、犬伏俊郎、波多野睦子、岩崎孝之

権利者: 滋賀医科大学、東京工業大学

種類: 特許

番号: 出願番号 2014-259175

出願年月日: 2014 年 12 月 22 日

国内外の別: 国内

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

犬伏 俊郎 (INUBUSHI, Toshiro)

滋賀医科大学 分子神経科学研究センター・名誉教授

研究者番号: 20213142

(2) 研究協力者

長町信治 (NAGAMACHI, Shinji)

滋賀医科大学 分子神経科学研究センター・客員教授

研究者番号: 80447002