

平成 31 年 5 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K18053

研究課題名(和文)微量溶液評価用高感度近接場テラヘルツセンサーの開発とその応用

研究課題名(英文) Development of highly sensitive near-field terahertz sensors for the measurement of trace amount of solutions

研究代表者

芹田 和則 (Serita, Kazunori)

大阪大学・レーザー科学研究所・特任助教

研究者番号：00748014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：テラヘルツ(THz)電磁波(周波数：0.1-10 THz)を利用した新しいバイオセンシング技術の創製を目指し、微量溶液評価用THzチップの開発を行った。非線形光学結晶へのフェムト秒レーザー照射による光-THz波変換で生成される微小THz波光源と試料を直接相互作用させることで、ピコリットルオーダーの溶液中の溶質濃度変化をフェムトモルオーダーの感度で検出できることを示した。また、より実用的な反射型THz近接場システムを開発し、チップと組み合わせることで生体組織のTHz分光やイメージングを数 μm の空間分解能で行えることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病などの初期診断を患者がほぼ無痛で行える波及効果の高い診断の提供が期待できる。また、タンパク質などの複雑な高次構造や機能性発現メカニズムに関する新規知見取得にもつながる可能性がある。非線形光学結晶も比較的安価でウエハ単位での入手が可能であることから衛生的な使い捨てタイプのチップとして利用可能である。本研究が、これまで困難であったバイオ・医療分野におけるTHzセンシング技術の産業応用発展と生体機能に関する新規知見取得に大いに貢献すると考えている。

研究成果の概要(英文)：We have proposed and developed a nonlinear optical crystal (NLOC)-based THz sensors for the ultra-trace measurements of solutions. The proposed sensors operate on the basis of near-field interaction between samples and a local emission of a point-like THz source that is generated in the process of optical rectification in the NLOC on a sub-wavelength scale. Using these sensors, we successfully detected femtomole order of solute in a less than 100 picoliter volume of the solutions. We also developed a reflection type THz near-field spectroscopic imaging system equipped with the THz sensors and succeeded in obtaining highly spatial resolution images of biological tissue samples.

研究分野：テラヘルツ波工学

キーワード：テラヘルツ 非線形光学 マイクロ流路 メタマテリアル バイオセンシング

1. 研究開始当初の背景

バイオ・医療分野において、生体分子間の相互作用を知ることはその物質の構造形成や様々な機能発現の機構を解明する上で重要であるとされている。しかし、一般にその分析や評価には試料のラベル化などの多大な手間と技術が要求されるとともに、ラベル開発にも多額の費用がかかるという問題点がある。また、このような生体分子のダイナミクスの観測には、溶媒に埋もれた溶質が検出対象であり、微量の溶液試料を高速かつ高感度で検出可能なセンサー素子開発の必要性が取り上げられている。

一方、テラヘルツ (THz) 周波数帯 (0.1THz~10THz) には、生体分子を初めとする高分子化合物の揺らぎ、水素結合、疎水性相互作用、水和、大域構造変位に由来した吸収などが存在し、これらは分子固有のスペクトルとして現れるため、THz 分光がその同定・検出において有用であることが分かっている [1, 2]。こうした THz バイオセンシングの最大の強みは、これらの評価を非侵襲かつラベルフリーで行える点にあり、新しいセンシング技術の創製に注目が集まっている。バイオセンシングでは、微量な溶液中の溶質情報を高感度かつ高速に測定可能なセンサーの開発が必須である。しかしながら、THz 波は水を代表とする極性分子・溶媒による吸収が非常に大きく、水分量の多い試料や溶液の測定が困難である上、THz 波の回折限界 (1THz \approx 300 μ m) によってマイクロサイズの微小な試料の測定が困難である点から、そのようなセンサー開発が遅れているのが現状である。一方で、基礎研究では、がん細胞をはじめとする細胞や生体組織、血糖値、DNA、バクテリア、ウイルスなどの非侵襲・ラベルフリー評価に利用可能であることが明らかになってきており [2]、そのセンシング基盤技術の創製と実用的なセンサーならびにシステム開発が次の大きな課題であるといえる。

2. 研究の目的

本研究課題では、バイオ・医療分野における THz 技術開発促進に向けて、溶液中の溶質情報を微量でかつ高感度に検出可能な THz センサーの開発とその評価を行うことを目的とする。また、本センサーが利用可能な高感度 THz 計測システムとして、反射型 THz 近接場分光イメージングシステムの開発を行い、各種生体組織のオンサイト評価への応用可能性について検討を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

本研究課題では、非線形光学結晶へのフェムト秒パルスレーザー光照射による光整流で、レーザースポット径の局所領域で THz 波が発生することに注目し、これと試料を密接させることで回折を起こす前の THz 波を試料に照射し、その透過強度やスペクトルから高感度分析を行う。この手法により、これまで THz 波の波長の 10 分の 1 以下のサイズの微小試料に対しても高感度かつ高空間分解能で分光・イメージングを行うことができることが分かっている [3]。したがって、結晶表面にウェル構造やマイクロ流路構造を作製することで、フロー中の微量溶液を高感度に測定できる可能性がある。

THz センサー開発では、まず、下地基板に用いる非線形光学結晶材料の選定から行った。本研究では、THz 波の発生と検出用の励起光源として、産業分野で広く利用されている中心は長 1.56 μ m のフェムト秒ファイバーレーザーを用いた。この励起波長帯で最も効率的に THz 波を発生させることができる非線形光学結晶として、有機系の DAST [4] があるが作製に時間がかかる上、品質や結晶表面状態にムラが出るという問題がある。そこで、有機結晶より THz 波放射効率は低下するものの、十分な SN 比での THz 波放射が期待でき、比較的安価で表面加工も可能な非有機系の GaAs を軸に THz センサー開発に取り組んだ。ここでは、溶液フロー用のマイクロ流路構造や貯蔵用のウェル構造を作製するとともに、メタマテリアル構造を取り入れ、FDTD 電磁界解析と実測の両アプローチから最も効率良く THz 波とサンプルとの相互作用が起こる構造条件を検討した。興味深い点として、従来の遠方場 THz 波による測定ではメタマテリアル全体を励起するため数ミリメートル~数センチメートルの照射面積が必要であったが、本技術では THz 波の回折限界以下の局所領域で THz 波が発生するため (数マイクロメートル程度)、共振応答がメタマテリアルの構造のみならず、個数や配列周期の最適化も行う必要がある。これらを通して THz チップのプロトタイプを作製し、糖類水溶液やイオン水溶液を使った感度評価を行った。その後、血液などの実際の生体関連試料の測定を行いその有用性について検証した。

システム開発においては、これまで利用してきた透過型レーザー走査型近接場 THz 分光イメージングシステムから、より実用的な反射型システムの構築を行い、微量溶液の高感度分光イメージング評価を行っていくとともに、生体組織サンプルの測定を試み、システムと本手法全体の有用性について検討した。

4. 研究成果

4-1 THz センサーの開発

開発を行った THz センサーは、(1) 微小ウェル型 (2) マイクロ流路型の 2 種類である。以下にそれぞれの成果について詳述する。

(1) 微小ウェル型 THz チップ

図 1a に微小ウェル型 THz チップの概略図を示す。GaAs の表面に、 $\phi 200 \mu\text{m}$ 、深さ $40 \mu\text{m}$ の 2 つのウェル (Reference 用と Sample 用) を作製し、結晶下部からこれらの底面に対してレーザーを集光し THz 波を発生させ、ウェル内の溶液を透過した THz 波の強度を時間領域分光法により検出する。これら得られた時間領域信号をフーリエ変換することでスペクトルデータを得ることができ、両者の差分を取った差分吸光度スペクトルにより、溶質濃度を検出することができる。図 1 b は、本チップにより異なる濃度のイオン水溶液の差分吸光度スペクトルを示したものである。なお Reference には蒸留水 (DW, 0mg/L) を使用している。これより、濃度の増大に伴い約 1.1THz を中心に $0.5\text{THz} \sim 1.5\text{THz}$ の帯域で差分吸光度が減少していることが確認できる。これは、溶液内に含まれる粒子量 (カルシウムイオン、マグネシウムイオンなど) の増加により、それらの周りの水分子が水和により束縛されることで水分子の振動が抑制されたためである。このことから本チップが微量溶液評価に利用できることを示すことができた。図 1c は、本チップで Reference にカラ (空気)、Sample にヒト全血 1 滴をセットしたときの血糖値と 1.56THz における屈折率の関係プロットしたものである。これより血糖値が増大するとともに屈折率が減少していることがわかり、本チップが血糖値センサーとしても利用できる可能性を示すことができた。

(2) マイクロ流路型 THz チップ

図 2a に、THz マイクロ流路チップの概略図を示す。本チップは、単一マイクロ流路と 11×11 アレイのメタアトム (メタマテリアル基本素子) によって構成されている。マイクロ流路底面で生成した局所 THz 波が励起点周辺のメタアトムと相互作用し、LC 共振を発現させる。ポイントは、1 個のメタアトムを THz 波で局所的に励起する手法をとっており、その応答が隣接するメタアトムへと影響を与えることから、少ないメタアトム数でも十分な共振応答を利用できることである。このような形式での共振応答の取得は従来の遠方場 THz 波計測では困難であり、チップのコンパクト化にもつながる。今回メタアトムには 2 つのギャップを有するスプリットリング共振器 (サイズ: $84 \mu\text{m}$ 、ギャップ幅: $20 \mu\text{m}$ 、線幅: $10 \mu\text{m}$ 、厚み: チタン 1nm /金 200nm) を用い、このギャップを貫く方向に深さ $10 \mu\text{m}$ 、幅 $26.5 \mu\text{m}$ 、長さ 2mm のマイクロ流路を作製した。流路の両端には、溶液注入およびドレイン用として $\phi 500 \mu\text{m}$ のウェルを備えている。実験では、マイクロ流路部分を厚み $560 \mu\text{m}$ の石英でカバーし、溶液注入用のウェルからマイクロシリンジを利用して $\sim 50\text{nL}$ の溶液サンプルを注入する。これにより、毛細管現象により流路内へ均一に溶液が導入される。マイクロ流路内に溶液が流れると、SRR ギャップ部分の静電容量が溶液の濃度変化によって変化するため、SRR の共振周波数が変化する。この時の微小な周波数シフト量を検出することで高感度なバイオセンシングを行うことができる。図 2b は、本チップにより測定したイオン溶液の濃度変化と共振周波数シフト量の関係をプロットしたものである。これより濃度が増大するほど、共振周波数が高周波側へシフトしていくことがわかる。本チップの感度を、炭酸カルシウムのモル質量 (CaCO_3 : 100.087g/mol) と流路内でメタアトムと相互作用を起こす溶液の体積から算出したところ、溶液の実量としてわずか 318pL 中に含まれ

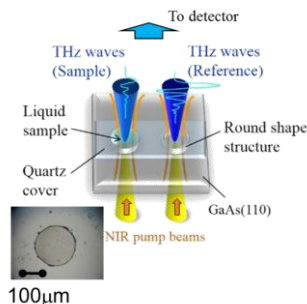


図 1a 微小ウェル型 THz チップ概略図

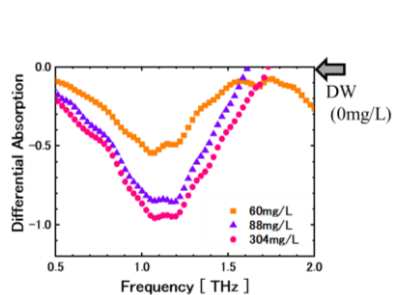


図 1b イオン濃度の差分吸光度スペクトル

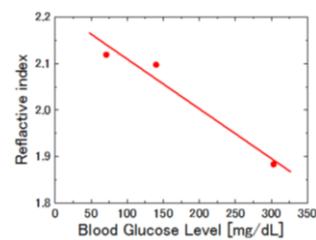


図 1c 1.56THz におけるヒト全血の血糖値の THz 屈折率

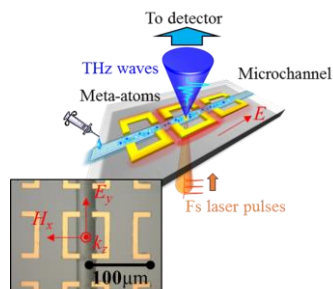


図 2a マイクロ流路型 THz チップ概略図

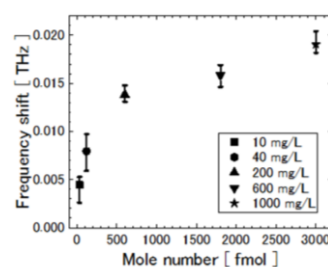


図 2b イオン濃度の共振応答特性

る 31.8fmol のイオン成分を検出できていることが分かった。これは、従来の THz 領域において流路を使った溶液実験で使用する溶液の実量の約 100 分の 1 以下で、1000 倍以上の検出感度に匹敵するものであり、THz 微量センシングのための有用なツールとして利用可能であることを示すことができた。

4-2 反射型近接場 THz 分光イメージングシステムの開発

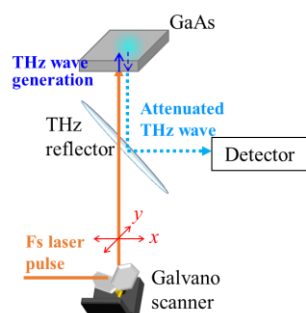


図3 反射型レーザー走査近接場 THz 分光イメージングシステムの概略図

THz チップを組み合わせたより実用的な測定システムとして、レーザー走査型近接場 THz 分光イメージングシステム[3]の反射型構成システムの開発を行った(図3)。本システムでは、非線形光学結晶への励起光照射点で光整流によって局所的に発生した THz 波が、その近傍にセットした試料で反射し、その反射光の減衰から分光・イメージング評価を行うことができる。システム性能として、空間分解能最大 $9\mu\text{m}$ を達成し、この空間分解能での THz 分光が行えることを示した。近接場プローブや金属アパーチャを使わない反射型システムとしては、従来技術と比べてもトップレベルの分解能を誇るシステムである。実際の生体関連試料として乳房組織片を取り上げて測定したところ、鮮明な

組織構造の THz イメージング像と分光データを取得することに成功した。将来的には、わずかな量の組織片でもその病態を分析することが可能となるほか、正常/病変組織部位の極めて正確なオンサイト診断を提供できる可能性がある。以上のことから、本研究課題を通して THz 波による微量バイオセンシングのための有益な成果を挙げることができたと考えている。

参考文献

- [1] P. Jepsen et al., “Terahertz spectroscopy and imaging-Modern techniques and applications,” *Laser Photonics Rev.* **5**, 124 (2011).
- [2] J. H. Son (ed), “Terahertz Biomedical Science and Technology,” CRC Press (2014).
- [3] K. Serita et al., “Scanning laser terahertz near-field imaging system,” *Opt. Express* **20**, 18397 (2012).
- [4] T. Matsukawa et al., “Synthesis and terahertz-wave generation of mixed crystals composed of 1-methyl-4-{2-[4-(dimethylamino) phenyl] ethenyl} pyridinium p-toluenesulfonate and p-chlorobenzenesulfonate,” *J. Cryst. Growth* **299**, 344 (2007).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

- ① 【Invited paper】**K. Serita** and M. Tonouchi, “An ultra-high sensitive THz microfluidic chip with asymmetric meta-atoms for measurements of trace amount of liquid solutions,” *Proc. SPIE* **10917**, p.109170J (2019). 査読有、DOI: 10.1117/12.2517413
- ② **K. Serita**, H. Murakami, I. Kawayama, and M. Tonouchi, “A terahertz-microfluidic chip with a few arrays of asymmetric meta-atoms for ultra-trace sensing of solutions,” *Photonics* **6**, No.1, p.12 (2019). 査読有、DOI: 10.3390/photonics6010012
- ③ 【総説】**芹田和則**、斗内政吉、“微量センシングのためのテラヘルツマイクロ流路チップ”, *日本レーザー医学会誌*, 第 39 巻, 4 号, pp.329-334 (2019). 査読有、DOI: 10.2530/jslsm.jslsm-39_0025
- ④ 【Invited article】**K. Serita**, E. Matsuda, K. Okada, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “Terahertz microfluidic chips sensitivity-enhanced with a few arrays of meta-atoms,” *APL Photonics* **3**, No.5, p.051603 (2018). 査読有、DOI: 10.1063/1.5007681
- ⑤ 【Invited article】**K. Serita**, J. Darmo, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “Direct measurements of terahertz meta-atoms with near-field emission of terahertz waves,” *J. Infrared Milli. Terahz. Waves* **38**, No.9, pp.1107-1119 (2017). 査読有、DOI: 10.1007/s10762-017-0417-7
- ⑥ R. Rakshit, **K. Serita**, M. Tonouchi, and K. Mandal, “THz conductivity of semi-insulating and magnetic CoFe_2O_4 nanohollow structures through thermally activated polaron,” *J. Appl. Phys.* **120**, No.20, p.203901 (2016). 査読有、DOI: 10.1063/1.4967923
- ⑦ M. Razanoelina, **K. Serita**, E. Matsuda, I. Kawayama, H. Murakami and M. Tonouchi “Magnetic resonance of terahertz metamaterials in parallel plate waveguide,” *Appl.*

Phys. Express **9**, No. 3, p. 032002 (2016). 査読有、DOI: 10.7567/APEX.9.032002

- ⑧ R. Rakshit, M. Pal, **K. Serita**, A. Chaudhuri, M. Tonouchi, and K. Mandal, “Evaluation of $\text{SiO}_2/\text{CoFe}_2\text{O}_4$ nano-hollow spheres through THz pulses,” *AIP Conf. Proc.* **1728**, p. 020084 (2016). 査読有、DOI: 10.1063/1.4946135
- ⑨ R. Sourav, **K. Serita**, I. Kawayama, H. Murakami, Y. Avetisyan, and M. Tonouchi, “Characterization of terahertz imagers using a narrowband time-domain terahertz radiation and detection system,” *IEICE Trans. Electron.* **98**, No. 12, pp. 1128–1130 (2015). 査読有、DOI: 10.1587/transele.E98.C.1128
- ⑩ R. Rakshit, D. Sarkar, M. Pal, **K. Serita**, M. Tonouchi, and K. Mandal, “Acoustic vibration induced high electromagnetic responses of Fe_3O_4 nano-hollow spheres in THz regime,” *J. Phys. D: Appl. Phys.* **48**, No. 24, p. 245301 (2015). 査読有、DOI: 10.1088/0022-3727/48/24/245301

(他 5 件)

[学会発表] (計 46 件)

- ① **【招待講演】** 芹田和則、斗内政吉、“微量での医療診断応用に向けたテラヘルツ μTAS ”、日本レーザー医学会シンポジウム“新しい診断・治療モダリティへの挑戦”、S7-2、京王プラザホテル (2018 年 11 月 1 日–2 日)。
- ② **【招待講演】** **K. Serita**, E. Matsuda, K. Okada, H. Murakami, I. Kawayama and M. Tonouchi, “A terahertz microfluidic chip for ultra-trace measurement of solution”, The 9th International Symposium on Ultrafast Phenomena and Terahertz Waves (ISUPTW2018), TuF2, Changsha, China (Apr. 23–26, 2018)。
- ③ **【招待講演】** 芹田和則、“微量溶液分析に向けたテラヘルツバイオチップとその計測基盤技術の開発”、「レーザーバイオ医療」技術専門委員会、長崎県工業技術センター (2018 年 3 月 9 日)。
- ④ **【招待講演】** **K. Serita**, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “Highly-sensitive terahertz microfluidic chip with a few arrays of symmetry broken resonators,” The 8th International Symposium on Terahertz Nanoscience (TeraNano 8), TuC2-3, Okayama, Japan (Nov. 19–23, 2017)。
- ⑤ **【招待講演】** 北岸恵子、**芹田和則**、“高空間分解能、高感度テラヘルツ分光のバイオ分野への応用の試み”、先端テラヘルツ研究とその応用展開、大阪大学中之島センター (2017 年 5 月 26 日)。
- ⑥ **【招待講演】** 芹田和則、松田栄輝、岡田航介、村上博成、川山巖、斗内政吉、“近接場テラヘルツ放射顕微鏡/分光による微量液体分析”、第 6 回高強度レーザー施設共用促進セミナー ~テラヘルツ波研究の最前線~、大阪大学中之島センター (2016 年 1 月 27 日)。
- ⑦ K. Okada, **K. Serita**, Z. Zang, H. Murakami, I. Kawayama, Q. Cassar, A. Al-Ibadi, G. MacGrogan, T. Zimmer, J. Guillet, P. Mounaix, and M. Tonouchi, “Scanning laser terahertz near-field reflection microscope for biological analysis,” OSA Biophotonics Congress, DT2B.5, Tucson, AZ, USA (Apr. 15–17, 2019)。
- ⑧ **K. Serita**, J. Darmo, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “Near-field Measurements of Terahertz Meta-atoms with Localized Terahertz Sources,” The 78th Autumn Meeting, JSAP-OSA Joint Symposia 2017, 7p-A409-3, Fukuoka, Japan (Sep. 5–9, 2017)。
- ⑨ **K. Serita**, K. Okada, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “A Small Aperture Terahertz Chip for Ultra-trace Blood Glucose Level Measurement,” Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO2017), ATu4A, San Jose, CA, USA (May 14–19, 2017)。
- ⑩ **K. Serita**, E. Matsuda, K. Okada, I. Kawayama, H. Murakami, and M. Tonouchi, “Development of THz- μTAS for measurement of Trace amount of liquid,” Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO2016), Ath1N.5, San Jose, CA, USA (Jun. 5–10, 2016)。
- ⑪ 芹田和則、村上博成、川山巖、斗内政吉、“非対称メタアトムアレイ型テラヘルツチップによる微量溶液測定”、第 66 回応用物理学会春季学術講演会、12a-S421-2、東京工業大学 (2018 年 3 月 9 日–12 日)。
- ⑫ 芹田和則、北岸恵子、川井隆之、村上博成、斗内政吉、“PDMS マイクロチップ流路一体型テラヘルツチップの開発と微量溶液測定”、化学とマイクロ・ナノシステム学会第 38 回研究会、3P24、札幌市民交流プラザ (2018 年 10 月 30 日–11 月 1 日)。
- ⑬ 芹田和則、濱田輝、北岸恵子、川井隆之、斗内政吉、“テラヘルツ分光に適した新規マイクロ流路デバイス作製の試み”、第 78 回応用物理学会秋季学術講演会、8p-A405-9、福岡国際会議場 (2017 年 9 月 5 日–8 日)。
- ⑭ 岡田航介、**芹田和則**、村上博成、川山巖、斗内政吉、“微小開口型テラヘルツチップによ

る血糖値の微量測定”、第77回応用物理学会学術講演会、16a-B2-1、朱鷺メッセ（2016年9月13日－16日）。

- ⑮ 松田栄輝、**芹田和則**、岡田航介、村上博成、川山巖、斗内政吉、“テラヘルツ波集光メタマテリアルによる微量液体の評価”、第76回応用物理学会学術講演会、14a-2S-9、名古屋国際会議場（2015年9月13日－16日）。

（他 31 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：測定用デバイス、及びそれを用いた測定装置

発明者：**芹田和則**、斗内政吉、村上博成、川山巖、北岸恵子

権利者：発明者と同じ

種類：特許

番号：特願 2017-537862

出願年：2016年8月26日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

【プレスリリース】

- ① “～次世代医療を強力にサポートするバイオセンシングの新技术～テラヘルツ波を用いた超高感度バイオケミカルセンサーチップの開発”、大阪大学研究リリース速報（2018年2月14日） http://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2018/20180214_1
“Microanalysis of biological samples for early disease detection,” EurekaAlert! (Feb. 20, 2018). https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2018-02/ou-mob021918.php
“Microanalysis of biological samples for early disease detection,” Alpha Galileo (Feb. 19, 2018).
<https://www.alphagalileo.org/ViewItem.aspx?ItemId=183709&CultureCode=en>

【展示会出展】

- ① “試料1滴からの測定を可能とする超高感度ラベルフリーバイオセンサーチップ”，出展番号 315, M-58, イノベーションジャパン 2018 シーズ展示, M-58, 東京ビックサイト, 東京（2018年8月30日－31日）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

芹田 和則 (SERITA, Kazunori)

大阪大学・レーザー科学研究所・特任助教

研究者番号：00748014