

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04883

研究課題名（和文）光熱変換光位相差検出法によるマイクロ分光光度計の実現と一細胞スペクトル計測

研究課題名（英文）Realization of Micro Spectrophotometer and Measurement of Single Cell Spectra by Photothermal Optical Phase Shift Detection Method

研究代表者

清水 久史 (Shimizu, Hisashi)

東京大学・大学院工学系研究科（工学部）・特任助教

研究者番号：60631281

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 17,100,000円

研究成果の概要（和文）：化学やバイオ、医療分野における研究ツールとしてマイクロ流体デバイスが普及してきたが、微小空間では吸光度法を用いて光吸収を直接測定するのが難しい。そこで試料が光を吸収した際に発生する熱を検出する光熱変換分光法が研究されてきたが、吸収スペクトルの測定ができなかった。そこで、研究代表者らが開発してきた光熱変換光位相差（POPS）検出をもとに、光ファイバを用いた干渉計をマイクロ流体デバイス内に構築した。ガラス基板上に、フッ酸およびプラズマエッチングを用いて測定用流路と光ファイバを挿入するガイドを作製し、干渉計として動作することを確認した。さらに、原理検証としてレーザー光源を用いた信号検出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ガラス製マイクロ流体デバイスに光ファイバを用いた検出光学系を集積化することに初めて成功した。本研究で用いた干渉光学系はもちろん、より単純な熱レンズ検出光学系を集積化も期待できる。本研究実施中に並行して進めていたマイクロ流体化学プラントの研究が大きく進展したことから、プラントが正常に稼働していることの確認や、生産したポリマーや高機能化成品の品質評価などに応用できる可能性が生まれている。

研究成果の概要（英文）：Microfluidic devices have become widespread as research tools in the fields of chemistry, biology, and medicine. However, it is challenging to directly measure light absorption using absorbance spectroscopy in the small spaces. Therefore, research has been conducted on photothermal spectroscopy, which detects the heat generation followed by light absorption, while measurement of absorption spectrum was difficult. Therefore, based on the photothermal optical phase shift (POPS) detection developed by our group, we constructed an interferometer by incorporating optical fibers into a microfluidic device. Guides for optical fibers with a measurement channel were fabricated on a glass substrate using hydrofluoric acid and plasma etching. The device was verified to work as an interferometer and a photothermal signal was detected using a laser light source as a proof of principle.

研究分野：マイクロ流体工学

キーワード：マイクロ流体デバイス 光熱変換検出

1. 研究開始当初の背景

化学、バイオや医療などの分野においてマイクロ流体デバイスが研究ツールとして普及し、微小空間を分析場として取り扱うケースが増えてきた。吸光光度法は化学やバイオの基礎をなす分析法の一つであるが、Lambert-Beer の法則に従う限り、マイクロメートルの光路長では原理的に検出が難しい。そこで、Cavity enhanced absorption に代表されるように光路長を増幅することで感度の向上が試みられているが、決定的な手法は未だ存在しない。

微小空間における吸収分析法として、光吸収に伴う無放射緩和によって発生する熱を検出する光熱変換分光法が研究されてきた。特に、熱レンズ分光法を顕微鏡下で実現した熱レンズ顕微鏡 (TLM) は、マイクロ流体デバイスと組み合わせることによって金属イオンやバイオマーカー、ナノ粒子などの高感度分析を実現した。しかし、原理的に測定対象の吸収波長に対応したレーザーが必要であることから、白色光源を用いた吸収スペクトルの測定は困難であった。

一方、研究代表者は、熱レンズ顕微鏡による高感度検出法をさらに小さいナノ空間に適用しようとする過程において、光熱変換光位相差 (POPS) 検出法を新たに開発した。従来の TLM は、ガウシアン型の強度分布を有するレーザー光 (励起光) を対物レンズを用いて集光することによって試料溶液内に凹レンズに相当する屈折率分布 (熱レンズ効果) を誘起し、熱レンズによる光の屈折量を測定していた。しかし、POPS は屈折率変化の絶対値を干渉光学系を用いて検出することから、原理的に励起光がレーザーである必要がなく、インコヒーレントな白色光源を用いた光熱変換スペクトルの測定が可能になるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、インコヒーレントな白色光源を励起光として用いる POPS 検出デバイスの開発とする。図 1 に示すように、光ファイバをガラス製マイクロ流体デバイス内部に挿入することにより Mach-Zehnder 干渉計を構築する。励起光源としてインコヒーレントな白色光源を測定用流路に集光し、熱を発生させることによって生じた屈折率変化を検出する。モデル試料として非蛍光性の色素を用い、光熱変換スペクトルの測定ができることを実証する。また、細胞一個の吸収スペクトルを測定することを目指す。

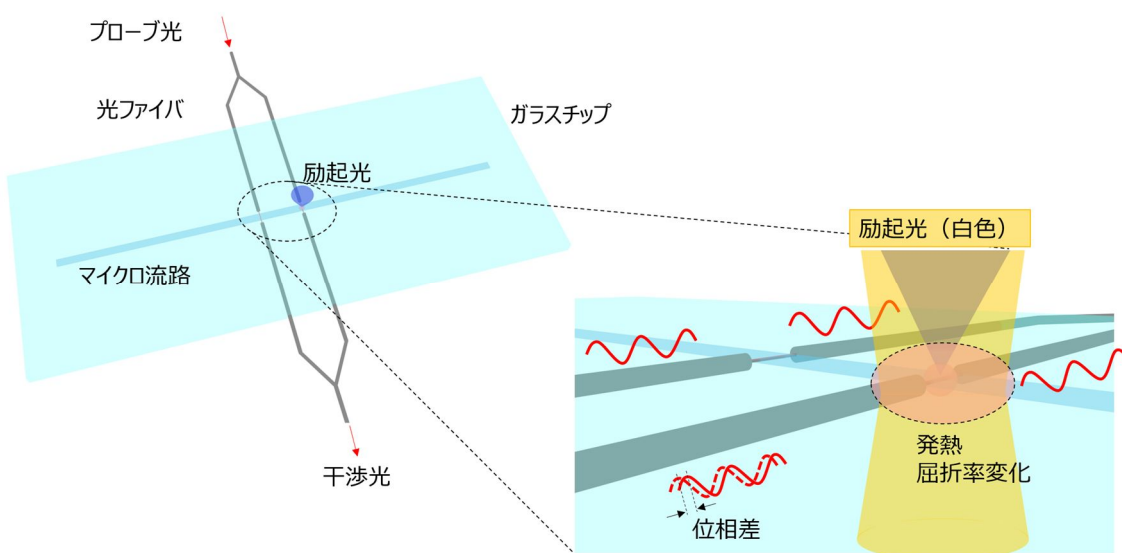


図 1. 本研究で開発する POPS 検出デバイス

3. 研究の方法

デバイスの設計図を図 2 に示す。直径 250 μm のファイバを、折れないように被覆付きのままデバイスに挿入する設計とした。ファイバの先端同士の距離は、プロブ光の再結合効率がおおよそ 8% となるように 200 μm とした。また、ファイバ先端から放出されたプロブ光が深さ 20 μm 、幅 50 μm の測定用流路の中心を通るように設計した。ファイバとガラスの隙間を埋めるため、屈折率整合流体 (流動パラフィン) を導入するための流路も設けた。ファイバガイドと屈折率整合流体用流路はフッ酸を用いたウェットエッチング、試料用流路は RIE エッチングを用いて石英ガラス基板上に作製した。

実験装置を図 3 に示す。プロブ光として波長 1550 nm 帯の波長可変レーザーを用い、偏波面保持 (PM) カプラを用いて光を分割、干渉させた。励起光は白色光源に加え、原理検証のためレーザーも導入できるようにした。信号発生器を用いてレーザーを強度変調し、ロックインアンプで信号処理を実施した。

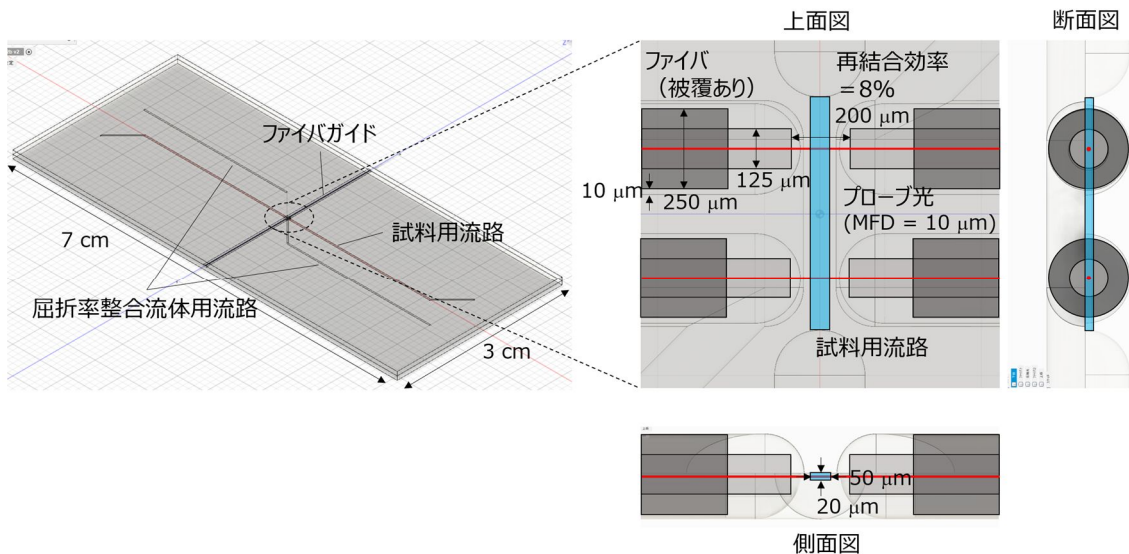


図 2. デバイスの設計図

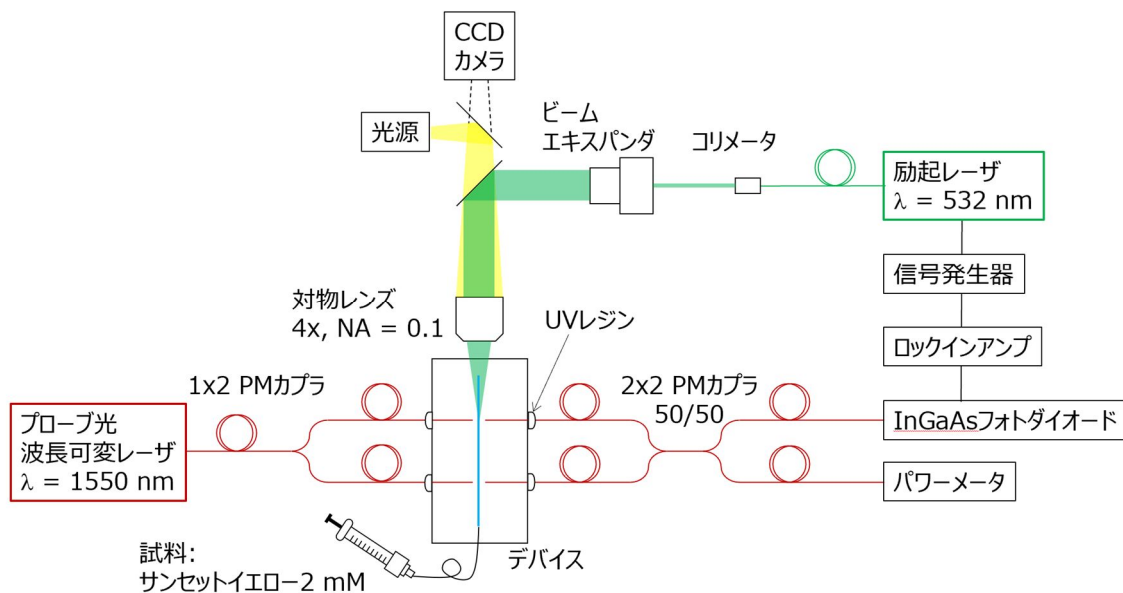


図 3. 実験装置とデバイスの写真

4. 研究成果

作製したデバイスを図 4 に示す。ファイバガイドをウェットエッチングで作製する際に、ガイド間の間隔が設計値よりも小さくなったり、チッピングが発生して測定用流路と重なってしまったりすることがあったが、2 枚中 1 枚程度の割合でデバイスの作製に成功した。摩擦抵抗を減らすため、先に流動パラフィンを導入してからファイバを注意深く挿入した。顕微鏡下でファイバがガイドの奥までしっかり挿入されていることを確認し、パワーメータで光強度を測定しておよそ 100 μW になっていることを確認した。入射光の出力が 3.9 mW であったことを考慮すると、測定用マイクロ流路における再結合の効率は 5-10% であり、ほぼ設計通りにデバイスを製作することができたと結論づけた。この状態で挿入したファイバの根元を UV レジンで接着固定し、気流などの外乱による影響を低減するためファイバの分岐部にカバーを掛けて測定を実施した。

干渉の安定性を評価した結果を図 5 に示す。プローブ光の波長を変えながら干渉光の強度を測定し、数時間単位干渉パターンが変化するかを確認した。その結果、位相の揺らぎが発生するものの振幅や周期はほぼ変化しなかったことから、ファイバの固定等に関しては問題ないことが分かった。

レーザーを励起光源として取得した光熱変換信号を図 6 に示す。図 5 と同様にプローブ光の波長を変えながら信号を取得したところ、信号強度が図 5 と同じ周期 (~ 0.1 nm) で変化したことから光熱変換効果で発生した位相差由来の信号が干渉を通じて検出されていることが示唆された。ただし、図 5 において弱め合う干渉の場合でも光強度がゼロになっていないことも踏まえ

ると、検出された信号が 100% 干渉によるものであるとは断言ができない。つまり、従来の熱レンズ効果による光の屈折量を測定している可能性がある。これを確かめるためには、2 対ではなく 1 対の光ファイバを挿入したデバイスを作製し、従来の熱レンズ効果による信号強度の評価を進めていく必要がある。

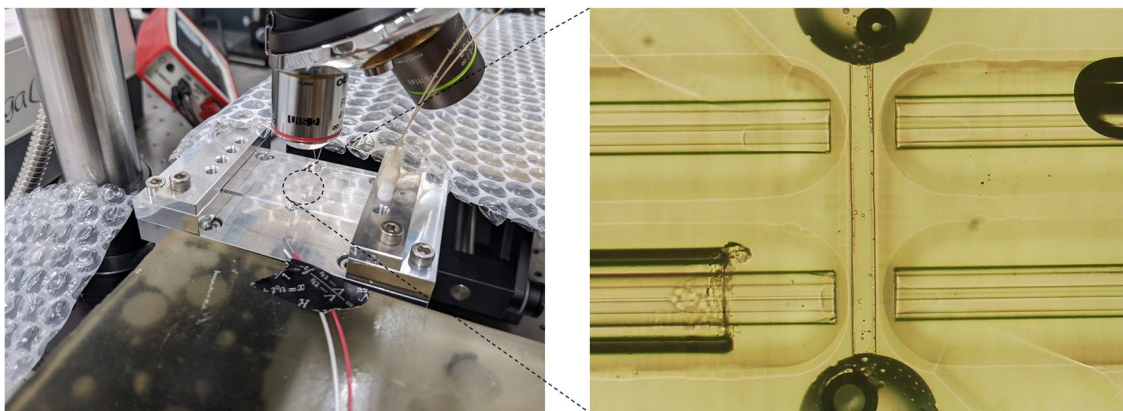


図 4. 作製したデバイス

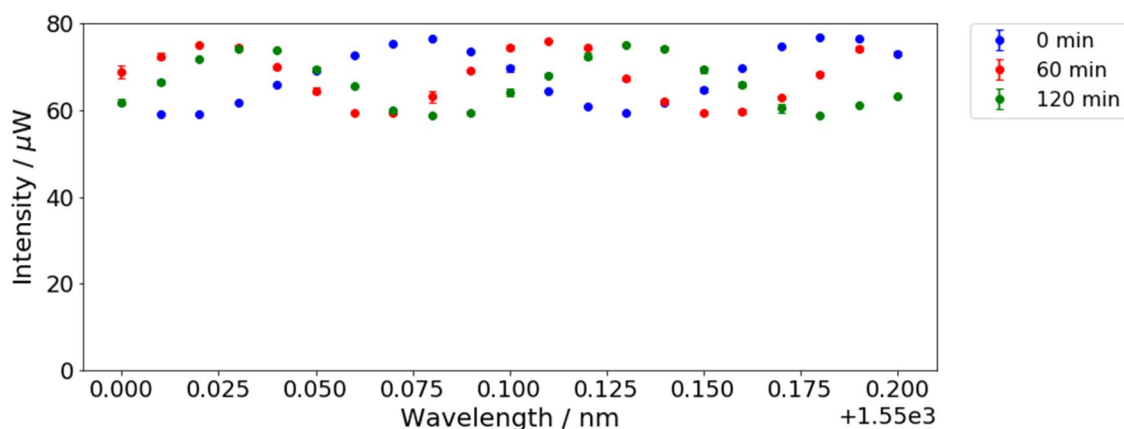


図 5. 干渉光の強度測定結果

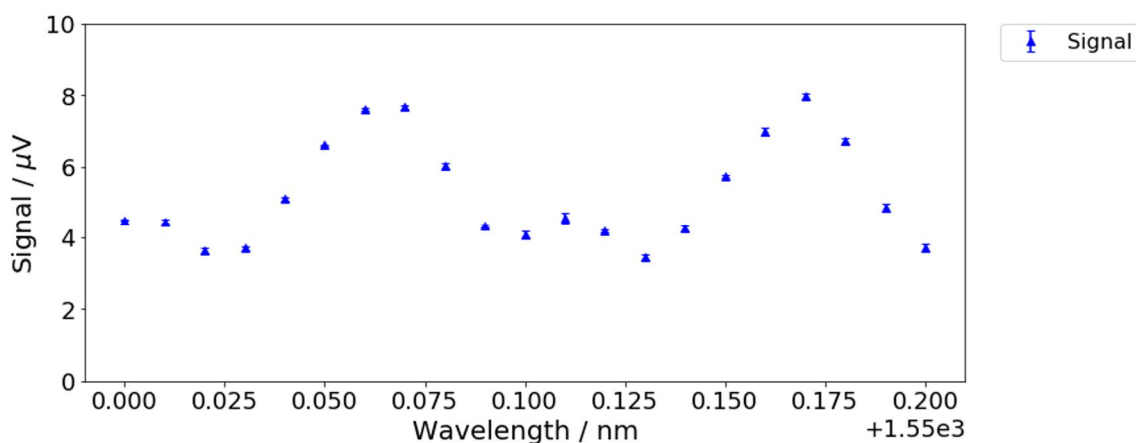


図 6. 信号の測定結果

また、白色光を励起光とした実験をする前に、測定条件の最適化を試みた。図 7(a)は信号強度の周波数依存性である。他の光熱変換検出法と同様に、信号強度は変調周波数 f の逆数に比例して大きくなった。信号/ノイズ (S/N) 比を考慮すると、100-200 Hz が最適な変調周波数であった。これは、これまでに研究されてきた TLM および POPS と比べても 1 桁低い周波数である。また、(b)は対物レンズの倍率による信号強度の違いである。4 倍の対物レンズを用いた方が信号値が大きくなった。これらを踏まえると、レーザー光を μm のスポットに集光することで高感

度検出を実現していた従来の TLM や POPS と本デバイスが全く異なることが分かる。本デバイスにとって最適な光熱変換効果のサイズは $100\ \mu\text{m}$ 程度であり、これはインコヒーレントな白色光源を集光することで得られるスポットの直径とほぼ同じである。したがって、本デバイスは原理的には白色励起光源を用いた測定に適している可能性がある。しかし、本デバイスを用いて一般的な濃度の試料の測定をするには感度が足りない。例えば弱め合う干渉の状態において光強度をゼロにする(バックグラウンドフリー)などして、高感度な光検出器を用いれば感度を大幅に増幅することができると思われる。

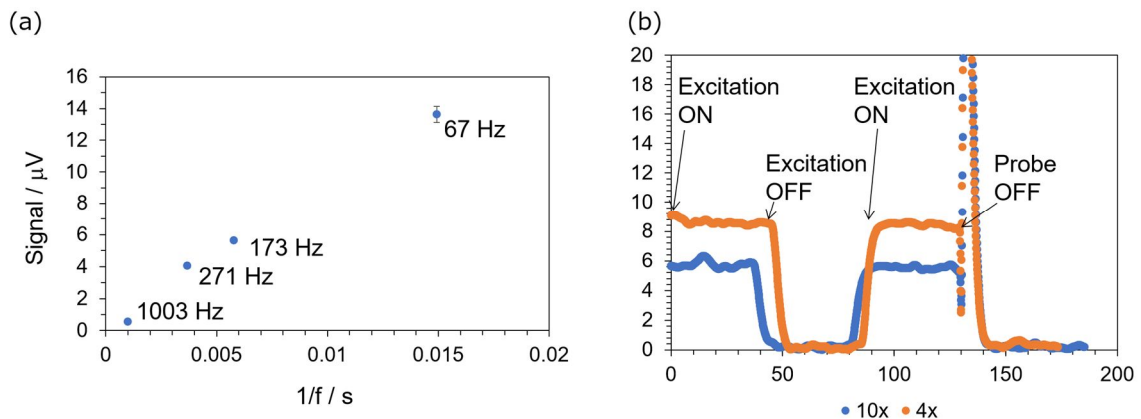


図 7. (a)信号値の周波数依存性 (b)対物レンズの違いによる信号値の変化

また、位相の揺らぎによって干渉状態が変動していることも課題である。例えば、検出した光の強度をフィードバックすることによって干渉状態を安定させるシステムや、ヘテロダイン干渉法を導入することによって信号値を安定させれば信号値の S/N を大幅に改善できる可能性がある。これら本研究で得られた知見を踏まえ、システムの改良に今後取り組んでいく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shimizu Hisashi、Kitamori Takehiko	4. 巻 25
2. 論文標題 Numerical modeling of photothermal effect in nanofluidic channels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microfluidics and Nanofluidics	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10404-021-02458-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chen Chihchen、Shimizu Hisashi、Kitamori Takehiko	4. 巻 1
2. 論文標題 Review of ultrasensitive readout for micro-/nanofluidic devices by thermal lens microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Optical Microsystems	6. 最初と最後の頁 20901
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/1.JOM.1.2.020901	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Le Thu、Shimizu Hisashi、Morikawa Kyojiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Advances in Label-Free Detections for Nanofluidic Analytical Devices	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 885~885
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/mi11100885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Hisashi、Takeda Shigenori、Mawatari Kazuma、Kitamori Takehiko	4. 巻 145
2. 論文標題 Ultrasensitive detection of nonlabelled bovine serum albumin using photothermal optical phase shift detection with UV excitation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Analyst	6. 最初と最後の頁 2580~2585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D0AN00037J	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hisashi Shimizu and Takehiko Kitamori	4. 巻 1
2. 論文標題 NUMERICAL AND EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS OF PHOTOTHERMAL EFFECT IN NANOFUIDIC CHANNELS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS 2021	6. 最初と最後の頁 1557 ~ 1558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naoki Wada, Hisashi Shimizu, Kazuma Mawatari, Takehiko Kitamori	4. 巻 1
2. 論文標題 PHOTOTHERMAL OPTICAL PHASE SHIFT DETECTION USING OPTICAL FIBER	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS 2018	6. 最初と最後の頁 964-965
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 F. Sugino, H. Shimizu, M. Sakakura, K. Miura, K. Mawatari, T. Kitamori	4. 巻 1
2. 論文標題 Development of Wavelength-Tunable Photothermal Optical Phase Shift Detection Device	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS 2017	6. 最初と最後の頁 569-570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Miyake, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori	4. 巻 1
2. 論文標題 ON-GLASSCHIP INTEGRATION OF PHOTONICS FOR PHOTOTHERMAL OPTICAL PHASE SHIFT DETECTION	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proceedings of MicroTAS 2017	6. 最初と最後の頁 563-564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Hisashi Shimizu and Takehiko Kitamori
2. 発表標題 NUMERICAL AND EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS OF PHOTOTHERMAL EFFECT IN NANOFUIDIC CHANNELS
3. 学会等名 MicroTAS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水久史、北森武彦
2. 発表標題 有限要素法によるナノ流路内の光熱変換現象の数値解析
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第43回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoki Wada, Hisashi Shimizu, Kazuma Mawatari, Takehiko Kitamori
2. 発表標題 PHOTOTHERMAL OPTICAL PHASE SHIFT DETECTION USING OPTICAL FIBER
3. 学会等名 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Shimizu, K. Miyake, K. Mawatari, T. Kitamori
2. 発表標題 Planar integration of photothermal detection device using optical fiber
3. 学会等名 9th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 K. Miyake, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori
2 . 発表標題 ON-GLASSCHIP INTEGRATION OF PHOTONICS FOR PHOTOTHERMAL OPTICAL PHASE SHIFT DETECTION
3 . 学会等名 The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 F. Sugino, H. Shimizu, M. Sakakura, K. Miura, K. Mawatari, T. Kitamori
2 . 発表標題 PHOTOTHERMAL OPTICAL PHASE SHIFT DETECTION DEVICE FOR MEASUREMENT OF ABSORPTION SPECTRUM IN MICROSPACE
3 . 学会等名 The 21st International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 F. Sugino, H. Shimizu, M. Sakakura, K. Miura, K. Mawatari, T. Kitamori
2 . 発表標題 Development of Wavelength-Tunable Photothermal Optical Phase Shift Detection Device
3 . 学会等名 46th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 H. Shimizu, K. Miyake, K. Mawatari, T. Kitamori
2 . 発表標題 Integration of optical fiber for photothermal detection devices
3 . 学会等名 46th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC 2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 杉野文俊、清水久史、坂倉政明、三浦清貴、馬渡和真、北森武彦
2. 発表標題 吸収スペクトルを取得可能な光熱変換光位相差検出デバイスの開発
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第36回研究会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉野文俊、清水久史、坂倉政明、三浦清貴、馬渡和真、北森武彦
2. 発表標題 マイクロ空間における吸光度分析に向けた波長可変光熱変換光位相差検出デバイスの開発
3. 学会等名 日本化学会 第98春季年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関