

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 7 日現在

機関番号：15401
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23651138
 研究課題名（和文） 危険ウイルス検知用超小型光導波路を使用した高速フォトニックセンサネットワーク構築
 研究課題名（英文） High-speed photonic sensor network using ultra-small waveguide devices to detect dangerous virus
 研究代表者
 榎波 康文（Enami Yasufumi）
 広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学研究所・特任教授
 研究者番号：90377474

研究成果の概要（和文）：ゾルゲルシリカで作製した光導波路内部に緑色蛍光タンパク質等の生体を配置し、外部からの有機リン化合物等の危険物質に対して蛍光パワーが 1 分以内に半分に減少することが可能であることを示した。抗体抗原反応をゾルゲルシリカ内部で観測し、これらの成果により生体をゾルゲルシリカ光導波路に用いてバイオセンサ作製を可能とした。

研究成果の概要（英文）：We detected organophosphorus compound using a planar waveguide sensors doped with green fluorescent proteins. The fluorescent power from the waveguide was reduced to half value within a minute when organophosphorus compound was applied on the waveguide. We also observed antibody-antigen reaction in the sol-gel silica thin-film. These results enabled the biophotonic waveguide sensor doped with living materials.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・マイクロ・ナノデバイス

キーワード：光導波路

1. 研究開始当初の背景

ウィルスを検知する方法は簡易検査キットと遺伝子検査による組み合わせが一般的であり、人に感染後に体液からの検出によりその存在を知るため検出までの時間を要し、正確なりアルタイムその場検出は困難であった。一方で、空気中に漂うウィルスを直接検知するための方法として電気的手法や光学的手法が研究されてきた。電気的手法として電界効果トランジスタ構造を利用した例や光学的手法として表面プラズモン(SPR)

を利用した検出方法が提案されてきた。SPRは電気的手法に比べ検出感度が高く、医学及び生物学の基礎研究に広く利用されてきた。SPRはプリズム表面に金属層を蒸着しその上に配置した抗体が抗原を捕捉した際プリズムへ入射した光の反射角が微小変化することを利用し抗原捕捉を検出する。この方法は実験室内部においては有効であるが、光学アライメントを必要とするため外部振動に弱くシステムが大きい(約 50cm x 50cm)。したがって、室内数 cm サイズへの配置に限界が

あり広範囲に亘るセンサネットワーク構築実用化は容易ではない。

本研究では光導波路のクラッド表面でなく、マッハツェンダ(MZ)導波路の一方の分岐コア内部に抗体をドーピングすることにより、抗体が抗原を捕捉する際の屈折率変化を高い消光比で光強度変化へと変換可能とする。波長 1.5 μm 帯光通信用単一モード(SM)光ファイバの直径 10 μm コア中心の光強度は直径 250 μm クラッド表面に比べ、 10^5 以上高い。したがって、SM 光導波路コアに抗体をドーピングすることにより複雑なシステムや増幅装置を用いることなく、光ファイバクラッド表面への付着に比べ 5 桁高い光強度と 100%に近い消光比(20dB 以上)で検出し、低いビットエラー率での SM 光ファイバ伝送を実施する。さらに、図 1 に示すように本抗体ドーピング光導波路デバイス(5~10mm 長)を光ファイバにより直列接続し、超高速検出し、レーザパルス光の反射時間測定により検出位置を特定し抗体捕捉のための高速広範囲分布型ファイバセンサネットワークを構築する。

2. 研究の目的

H1N1 新型や猛毒 H5N1 危険ウィルスのワクチン作製まで半年以上有することが明らかとなった現在、ワクチン作製と接種までの間、空港、病院、公共施設等内部において危険ウィルスをその場検出するシステム構築が必要である。ウィルスを高速監視するため、従来の電氣的装置による方法を用いることなく作製する新規超小型光導波路バイオセンサと光ファイバネットワークを組み合わせることにより簡易で広範囲にわたるセンサネットワークを構築する。センサ部光導波路を光ファイバと接続(butt-coupling)し、ウィルス検出光信号を直接光のままの状態伝達する。パルス光源を使用し、センサ部からの反射時間によりウィルス検出場所を特

定する。これにより広範囲で建物内部の狭い場所にまで敷設可能な超高速リアルタイムウィルス監視を可能とする。

3. 研究の方法

本研究においては、SM 光ファイバ(100km 長距離光通信可能)と容易に接続可能な SM 光導波路(光ファイバとの接続損失 0.1dB)をセンサ部として使用しウィルス検出用光ファイバ-光導波路センサネットワークを構築する。コア内部に抗体をドーピングしウィルスがコア内部に進入可能な光導波路を作製すれば可能となれば、従来に比べ検出感度向上が可能となる。しかしながら、半導体デバイス作製の際の加熱処理や通常の半導体プロセスによりタンパク質を容易に死滅させるため、半導体と生体との融合は極めて困難であり、生体を半導体等の無機材料にドーピングする報告はなされてこなかった。

本研究の先行研究として生体である緑色蛍光タンパク質(GFP)を加熱処理することなく多孔性ゾルゲルシリカ光導波路コアにドーピングし、光導波路からの緑色蛍光を出射光としての取り出しに成功し有機リン検出用光導波路型センサを作製した。(参照:Y. Enami et al. *Applied Physics Letters*, 91, 203507(2007).) 本研究においては実証した有機リン化合物検出用光導波路型バイオセンサを発展させたウィルス検出用光導波路型バイオセンサを実証する。熱処理が困難な抗体を光導波路コア内部にドーピングしてウィルス探知用バイオセンサを作製可能とした例は代表者の実証報告以外ない。ゾルゲルシリカへの UV 照射量調整やグルセロール添加によるゾルゲルシリカの多孔穴直径の制御後、有機リン化合物の進入速度を向上させ検出時間を短縮することにも成功した。抗体を含んだゾルゲルシリカコアへの UV 照射のみによりゾルゲルシリカ側鎖のための加水

分解を加速させゾルゲルシリカコアを固体化すると同時に多孔性を維持し、生体ドープ光導波路を作製可能とする。さらに、本研究において実証する光導波路型バイオセンサは実証済み GFP ドープ光導波路と同様に単一モード(モードフィールド径 10 μm)での出入力を行う。したがって、長距離光通信用 SM 光ファイバ(波長 1.5 μm 帯伝搬距離 100km、モードフィールド径 10 μm)とのモード整合が容易であり接続を低損失(結合損失 0.1dB+導波損失 0.5dB=全挿入損失 0.6dB)とし、光導波路を 1本のファイバ途中に多数配置することが容易となる。マルチモード光ファイバを使用した場合光伝搬損失は大きく伝搬距離は 1km 以下であり、また FBG 使用も困難となる。しかしながら、SM 光ファイバと SM 光導波路を使用することにより飛躍的にセンサ部数を増加させるだけでなく、ファイバブラッググレーティング (FBG) の使用を可能としファイバネットワークシステムの高度化を可能とする点においても優位性がある。更に研究内容と計画で示す OTDR(光時間領域反射測定装置)を用いた検出位置特定を可能とする。また、光ファイバと光導波路との接続を長距離光通信で使用されている光学用 UV 硬化樹脂により直接接続(butt-coupling)するため、SPR 等に使用される振動に弱いレンズ等の光学部品を使用することなく堅牢で長期安定なパッケージングを行う。

これらの点から本研究で使用する光導波路とパッケージングは、長距離伝搬性能や検出速度において優れているだけでなく小型化及び長期安定性の面でも優れており、研究を進めることにより実用化への移行が容易である。数ヶ月で抗体が死滅した後は光導波路センサ部に接続した光ファイバを切断しセンサ部を交換可能とする。その際に可搬性に優れた汎用光ファイバ融着装置を使用可

能であるため保守メンテナンスも容易であり、病院等建造物内部におけるウィルス検出にも有効である。

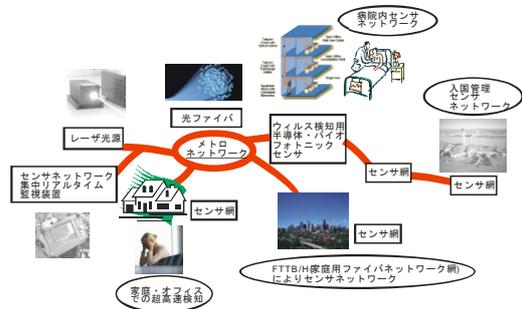


図1 光導波路を用いた光ファイバネットワーク

4. 研究成果

MZ 型光導波路を作製し、MZ アームの片方の導波路のゾルゲルコアとクラッドをエッチング除去し、その部分に抗インフルエンザ抗体と多孔径調整用グリセロールをドープした抗体ドープゾルゲルコア溶液をスピコートした後 UV 照射 (i 線 9mW/cm²) した。ゾルゲルコア内部に抗原が進入する程度の多孔状態となるよう UV 照射量を調整してシリカコアを作製した。更にグリセロール量調整によりゾルゲルシリカコア内部の多孔径を制御し、抗原のコア内部への浸透速度を増加し高速検知可能とした。抗体抗反応最適化、光挿入損失低減及び光導波路デバイス構造最適化を行い、ウィルス反応に対する出力光変化を測定した。

光導波路の作製法は光通信用ハイブリッド型ゾルゲルシリカ・ポリマ導波路型光変調器と同様の方法で行った [※マスクアライナに設置したフォトマスクを通じての UV (i 線 9mW/cm² 10 分) 照射によるゾルゲルシリカ溶液の加水分解加速に基づくシリカネットワーク形成により、UV 照射部分がイソプロピルアルコールに溶解しなくなることを利用しレジストを使用することなくアルコ

ール内部でのパターンニングを行った。(参照 Y. Enami et al. *Nature Photonics*, 1(3), 180, 2007)] 生体である緑色蛍光タンパク質 (GFP) を導波路コアにドープした光導波路から1ヶ月以上緑色蛍光を遠視野観測した結果から、生体タンパク質を光導波路内部に保持する方法としては本方法が最適であることを見出した(参照: Y. Enami et al. *Applied Physics Letters*, 91, 203507(2007).)。本デバイスは従来のクラッド表面に抗体を付着させた光導波路や光ファイバに比べて高い消光比と高いS/N比で光ファイバ伝送が可能となる。さらに光導波路を単一モード伝搬可能なコア寸法 (8-10 μm) で作製することにより、100km の長距離通信用単一モード光ファイバとの接続を0.1dB以下で行うことができた。これら複数の抗体ドープ光導波路を光ファイバと低光損失で直列接続可能し、長距離多点分散型バイオフォトニックセンサネットワークを構築可能とするための光導波路を作製した。

本デバイス実験の前に、分担者により抗体をドープしたゾルゲルシリカ薄膜(膜厚3-4 μm)内部における抗体抗原反応の予備実験を行いゾルゲル内部における最適反応条件を見出した。分担者は実証済のGFPドープ光導波路による数分以内での有機リン化合物検出結果を利用し、本研究においてはさらなる検出時間短縮実証のための最適化を行った。

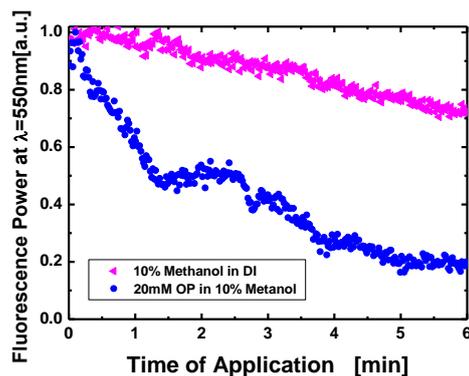


図2 有機リン化合物検出結果

ゾルゲルシリカ薄膜内部に配置したGFPと加水分解酵素は有機リン加水分解酵素に対し反応し緑色蛍光が変化する。これを利用してゾルゲルシリカコア内部にGFPと加水分解酵素を配置した酵母生体を混入し、さらにゾルゲルシリカコアを多孔性にして光導波路を作成した。その光導波路に波長488nmレーザ光を入射し、緑色蛍光(中心波長550nm)を測定した。20mM濃度の有機リン加水分解酵素をこの光導波路コアに滴下し、図2に示すように蛍光強度が1分後に半分の値まで変化することを実証した。本研究成果により生体を光導波路に直接混入し、バイオセンサとして機能させることができることを示せた。したがって、抗体を光導波路にドープして抗原を検知するセンサとして同様に機能させることが可能であることを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (査読有り 計5件)

- [1] Y. Enami, B. Yuan, M. Tanaka, J. Luo, and A. K-Y. Jen, "Electro-optic polymer/TiO₂ multilayer slot waveguide modulators", *Applied Physics Letters*, vol. 101, pp. 123509 (2012).
DOI: 10.1063/1.4754597 (査読有り)

[2] Y. Enami, K. Tsuchiya, and S. Suye, “Detection of organophosphorus compound based on a sol-gel silica planar waveguide doped with a green fluorescent protein and an organophosphorus hydrolase”, *Applied Physics Letters*, vol. 98, pp. 233503 (2011).

DOI: 10.1063/1.3596448 (査読有り)

[学会発表] (計 15 件)

[1] Y. Enami and S. Suye, “Green Fluorescent Protein-Doped Sol-gel Silica Planar Waveguide to Detect Organophosphorus Compound”, *3rd Asia Pacific Optical Sensors Conference (APOS2012), Sydney, Australia, Jan (2012)*, 2nd of Feb, 2012, *Proceedings of the SPIE*, Vol. 8351, pp. 83512B-83512B-6 (2012).

シドニー オーストラリア、2012 年 2 月 2 日

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

[1] 名称: ポリマー光変調器の製造方法
発明者: 榎波康文、竹内浩史
権利者: 広島大学、三菱レイヨン共同
種類: 特許
番号: 特願 2011-162418
出願年月日: 2011 年 7 月 25 日
国内外の別: 国内

[2] 名称: 光変調器
発明者: 榎波康文
権利者: 広島大学
種類: 特許
番号: 特願 2012-209631
出願年月日: 2012 年 9 月 24 日
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

[1] 名称: 光導波路スイッチ
発明者: 榎波康文
権利者: 広島大学
種類: 特許
番号: 特許第 5135244 号
取得年月日: 2012 年 11 月 16 日
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

<http://www.sceng.kochi-tech.ac.jp/yenami>

/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榎波 康文 (Enami Yasufumi)
広島大学・ナノデバイス・バイオ融合科学
研究所・特任教授
研究者番号: 90377474

(2) 研究分担者

末 信一郎 (Suye Shin-Ichiro)
福井大学・工学研究科・教授
研究者番号: 90206376

(3) 連携研究者

()
研究者番号: