

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成27年度研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月30日現在

ナノスロットレーザの極限的な光局在を利用する超高感度バイオマーカーセンサ

Ultra-high sensitivity biomarker sensor with extreme light
localization of nano-slot lasers

課題番号：24226003

馬場 俊彦（BABA TOSHIHIKO）

横浜国立大学・大学院工学研究院・教授



研究の概要

GaInAsP フォトニック結晶ナノスロットナノレーザは、付着物に対して発振波長を変化させ、センサとして動作する。本研究はその超高感度の物理を調査すると共に、扱いやすいセンサチップとして確立することを目指している。これまでに癌やアルツハイマー病の関連因子の超高感度センシングに成功し、マルチセンサ、細胞イメージング素子としての可能性も実証した。

研究分野：光工学・光量子科学、ナノマイクロシステム

キーワード：フォトニック結晶、ナノマイクロ光デバイス、ナノマイクロセンサー

1. 研究開始当初の背景

本研究代表者は、単純なプロセスで製作でき、光励起で容易に室温単一モード発振する GaInAsP 半導体フォトニック結晶ナノレーザを開発してきた。このナノレーザは共振器が空气中に露出されており、付着物があると発振波長が変化する。これを測定すれば、付着物のセンサとして働く。本研究代表者はタンパク質センサとしての動作を世界で初めて実証したが、特に共振器にナノスロットを付与したデバイスは、非特異的なタンパク質吸着ではあるものの、他のフォトニックセンサと比べて4桁も低濃度の試料からタンパク質を検出できることがわかった。これは癌、アルツハイマー病といった重篤疾病の診断をつなぐ極低濃度血中バイオマーカータンパク質を、蛍光標識なしに手軽に検出できる可能性を表している。

2. 研究の目的

本研究は以下の3点を目的としている。すなわち、(1) ナノスロットナノレーザセンサが超高感度を生む機構を解明し、さらに高性能化、安定化させると共に、ラマン増強などナノスロットモードのマルチ機能を探求する、(2) ナノレーザをアレイ集積し、使い捨てセンサチップとして完成させ、簡易流路や自動測定系を組み込んだセンサシステムを構築する、(3) 抗原抗体モデル的なタンパク質、および具体的なバイオマーカーを超高感度でセンシングし、本ナノレーザの有効性、医療応用の可能性を実証する。

3. 研究の方法

ナノレーザは GaInAsP/InP ウェハに電子ビーム描画、HI ICP エッチング、HCl エッチングを施して製作される。工程が少なく、各ナノレーザが小さいので、電子ビーム描画を用いても低コストが可能と思われ、使い捨てセンサチップの期待がある。また集積が容易で、多数のデバイスを自動測定し、センシング結果を統計処理することもできる。

このナノレーザは室温光励起で発振する。特に負の熱光学効果をもつ水中では、半導体の正の熱光学効果が相殺されて温度無依存化し、数時間の波長揺らぎは 60 pm 以下である。液体屈折率感度は約 400 nm/RIU であり、プラズモニックセンサより小さいが、発振スペクトル幅は狭いので、より高いセンシング分解能が得られる。バイオセンシングでは塩や非中性成分を含む溶液中で動作させるが、その場合、半導体表面の酸化やエッチングで波長が短波長側にドリフトする。本研究では原子層堆積 (ALD) 法により ZrO_2 をデバイス全体に被膜し、この問題を解決した。

4. これまでの成果

(1) ナノレーザの物理の探究

ALD によるドリフト抑制の結果、様々な現象が観測されるようになった。まずタンパク質に対する感度が ALD 膜厚に依存する。レーザモードは溶液中に約 120 nm 浸み出し、一方、ALD 膜厚は 5 nm 以下なので、感度の膜厚依存性は、ナノレーザが単なる屈折率センサではないことを意味する。また発振強度が溶液の pH や表面電荷に依存する。フォト

ルミネセンスの強度と寿命の測定から表面再結合が変調されることが判明し、ALD膜をトンネル／リークする電子の授受がセンシングに關与することも示唆された。

この効果を用いて屈折率／表面電荷同時検出を試みた。異なる極性の帯電性高分子膜を交互吸着させたところ、発振波長は単調にシフトし、強度は交互に増減した。また負に帯電する DNA ハイブリダイゼーションでは波長シフトと強度の減少が起こった。つまりこれは、分子吸着とその電子物性を同時に検出できる世界初のバイオセンサーといえる。

(2) バイオセンサシステムの開発

まずナノレーザの大規模集積を試み、ピッチ 3~5 μm で 1 万個の集積で約 90%の発振歩留まりを得た。これはあらゆるレーザの集積としては過去最大である。また、自動測定で統計評価が常に行える環境を構築した。

次に従来は幅 1 m 角と大きかった測定系を、約 30 cm 角の小型化した可搬測定系を設計、試作し、動作を確認した。また PDMS 流路の製作プロセスを立ち上げた。さらに Si フォトニクスファウンダリにより Si/Si₃N₄ センシング回路を試作中で、ナノレーザとの集積、一括励起／読み出し系などを検討している。

(3) バイオマーカーセンシング

既に汎用タンパク質 BSA の非選択的なセンシングを報告していたが、本研究では別の汎用タンパク質ストレプトアビジンをサブ aM という極低濃度から選択的に検出した。1 μM の BSA を含む不純物試料においても同等の検出に成功し、選択比 10 兆倍を達成した。同様に前立腺癌マーカー PSA に対しても、10 μM の不純物試料で 1 fM を選択検出した。PSA の親和定数が 5 桁以上も低いことを考えると、これは同等以上の高感度に相当する。

次にアルツハイマー病の血中バイオマーカーと目される CRMP2 を検出した。まずマウスの脳由来の CRMP2 を 10 pM から検出した。これは汎用 ELISA を 100 倍上回る高感度である。さらにヒト血液リンパ球からも同様のセンシングに成功した。

このような高性能が確認されたので、環境バイオ毒素エンドトキシンにも適用した。エンドトキシンは医療機器の管理上、そのセンシングに多くの需要がある。ここでは通常用いられるリムルス試薬の反応をナノレーザで捉え、要求される 0.001 EU/ml という低濃度を従来の半分という短時間で検出した。

また大規模ナノレーザアレイに HeLa 細胞を培養し、波長変化をマッピングすることで細胞をイメージングし、試薬反応の変化も捉えた。高感度を生かせば、細胞のわずかな挙動の可視化に役立つと期待している。

5. 今後の計画

(1)は続けてナノレーザの表面物性を調査し、超高感度の物理モデルを確立する。また

塩や pH の最適化等による高性能化、安定化をはかる。屈折率／電荷マルチセンシング、イメージングの展開を検討する。(2)は簡易フローシステムも付加してシステムの完成度を高める。(3)は抗体に至る各修飾手順の完成度を高め、センシング確度を向上させると共に、(1)の研究を相互にフィードバックしながら、究極のセンシング性能を目指す。

6. これまでの発表論文等

- (1) H. Abe, M. Narimatsu, S. Kita, K. Nakamura, S. Ota, Y. Takemura, and T. Baba, "Label-free imaging of live cell using large-scale photonic crystal nanolaser array," SPIE Proc. 8594-4 (2013).
- (2) S. Hachuda, S. Otsuka, S. Kita, T. Isono, M. Narimatsu, K. Watanabe, Y. Goshima and T. Baba, "Selective detection of sub-atto-molar streptavidin in 10¹³-fold impure sample using photonic crystal nanolaser sensors," Opt. Express 21 (10), 12815-12821 (2013).
- (3) K. Watanabe, S. Hachuda, T. Isono and T. Baba, "Photonic crystal nanolaser sensors with ALD coating," Tech. Dig. CLEO Pacific Rim, TuJ2-2 (2013).
- (4) 馬場俊彦, "フォトニック結晶ナノレーザによる超高感度バイオセンシング," オプトロニクス 381, 104-108 (2013).
- (5) T. Isono, S. Hachuda, K. Watanabe, N. Yamashita, Y. Goshima, and T. Baba, "Specific detection of marker protein related with Alzheimer's disease using photonic crystal nanolaser sensor array", MRS Fall Annual Meet., K5.09 (2013).
- (6) T. Watanabe, H. Abe, Y. Nishijima and T. Baba, "Array integration of thousands of photonic crystal nanolasers," Appl. Phys. Lett. 104 (2), 121108 (2014). (Nature Photonics 誌にて報道)
- (7) 馬場俊彦, "フォトニック結晶のバイオ応用," メディカル&イメージング 1, 37-41 (2014).
- (8) K. Watanabe, Y. Kishi, S. Hachuda, T. Watanabe, M. Sakemoto, Y. Nishijima and T. Baba, "Simultaneous detection of refractive index and surface charges in nanolaser biosensors," Appl. Phys. Lett. 106(2), 021106 (2015). (米国物理学会 AIP ほか世界 30 機関以上が報道)
- (9) D. Takahashi, S. Hachuda, T. Watanabe, Y. Nishijima and T. Baba, "Detection of endotoxin using a photonic crystal nanolaser," Appl. Phys. Lett. (2015, accepted for publication).

ホームページ等

<http://www.baba-lab.ynu.ac.jp/>