

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2009～2011

課題番号：21246014

研究課題名（和文） ナノレーザーによる超高分解能センシング

研究課題名（英文） Super-resolution sensing using nanolasers

研究代表者 馬場 俊彦(TOSHIHIKO BABA)

横浜国立大学・工学研究院・教授

研究者番号：50202271

研究成果の概要（和文）： ナノスロットを有するフォトニック結晶ナノレーザーにより生体分子を高感度検出するセンサーを実現した。まず吸着が弱い BSA タンパク質に対して極低濃度 255 fM を検出し、従来にない高感度が示唆した。さらに吸着が強い SA タンパク質に対しては驚異的な低濃度 60 zM を検出し、不純物として BSA を 1 μM 混ぜても 1 aM の SA が選択検出することを示した。これは血中から極低濃度バイオマーカーを検出できるレベルであり、医療応用が有望となった。

研究成果の概要（英文）： We developed high-sensitivity bio-sensor based on photonic crystal nanolasers with a nano-slot structure. In a test experiment against BSA protein with a low attachment force, a very low detection limit of 255 fM was achieved, suggesting an excellent sensitivity. In a more practical experiment against SA protein, an ultralow concentration of 60 zM was detected without contaminants and < 1 aM even with 1 trillion higher concentration BSA as contaminants. These results satisfy the requirements from medical diagnoses for detecting low-concentration bio-markers in human blood.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	14,300,000	4,290,000	18,590,000
2010 年度	10,300,000	3,090,000	13,390,000
2011 年度	9,200,000	2,760,000	11,960,000
総計	33,800,000	10,140,000	43,940,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目： 応用物理学・工学基礎 ・ 応用光学・量子光工学

キーワード：ナノレーザ、フォトニック結晶、バイオフォトニクス、バイオセンシング

1. 研究開始当初の背景

近年、医療、バイオなどライフサイエンス分野の注目度が高まり、DNA やタンパク質に代表される生体分子の分析技術の高効率化、高速化、低コスト化が強く求められるようになってきている。そのため、小さなチップ上で必要な分析を一括して行なう「ラボオンチップ」、光による分析や遠隔操作を利用した「バ

イオフォトニクス」が盛んに研究されている。バイオフォトニクスセンサーはこの中核となる構成要素の一つであり、最終的には 1 分子単位を検知する高感度・高分解能、小型・低コスト、オンチップ集積性、汎用性が要求されると考えられた。代表者が研究してきた屈折率センサーも、最終的にはこのような分析応用が期待された。類似のセンサーでは、

多層膜反射鏡や回折格子を用いたもの、シリカ微小球、シリコンマイクロリングといった微小光共振器を用いたものが数多く研究されている。しかしこれらはいずれも光が閉じ込められる領域（モード体積）が大きく、1分子を捕らえる高い空間分解能が期待できなかった。また前者は集積性に乏しく、後者は高精度な入出力光学系が要求されて高コストになるという問題があった。

これらの問題を克服すべく、カリフォルニア工科大学の Scherer 教授のグループは、フォトニック結晶ナノレーザを用いた屈折率センサーを提案している。ここでは空気に露出されているレーザ共振器に媒質が付着すると発振波長が長波長化するため、逆に波長を測定すれば媒質の付着が検知できるという原理でセンシングを行うことができる。ナノレーザは極めて小さく、集積可能で、光励起による遠隔的な動作ができるため高精度な入出力光学系を必要としないという利点があり、センサー応用に最適と思われた。ただし当時、ナノレーザはパルス動作しか実現されていなかった。実はこのレーザをパルス動作させると、熱チャープにより数 nm と極めて大きな発振スペクトル幅広がりが生じることがわかっていた。そのため、センサーとして用いる場合、十分な屈折率分解能が得られないことが、その後の発展の大きな障害であった。

2. 研究の目的

微小半導体レーザ（ナノレーザ）により特定の生体分子の吸着をリアルタイム検出するセンサーを作製することを目的とした。特に本研究代表者が実現したフォトニック結晶ナノレーザの高い検出分解能と空間分解能を生かし、従来は不可能であった単一分子レベルの感度の実現を目指した。またラボオンチップとなる微小流路（マイクロフルイデックス）デバイスも光造形して同センサーの大規模アレイと集積化し、光放射圧による生体分子の搬送・補足により、きわめて少量・多種の分子を短時間で一括分析する使い捨て可能なセンサーシステムを組み上げることも検討した。

これらは生体反応の機能解析という学術分野のみならず、医療診断、DNA の複製や試験、免疫反応検出、薬品の発見、食品の安全検査、環境ホルモンの検出など、幅広い応用分野に大きなインパクトをもたらすと期待した。

3. 研究の方法

まずナノレーザの高分解能化を重点的に追求した。分解能を決める要因は、生体分子の付着に対するレーザ波長の感度、スペクトル線幅、化学的安定性であり、以下の (1)

～ (3) ように研究した。また、高感度や高分解能を実証するため、当初は DNA 間相互作用のセンシングを計画したが、実際の研究ではより医療迫うように向けたインパクトが大きい微量のタンパク質検出について (4) のように目指した。

(1) 周囲環境に対するセンサー感度の向上

代表者が開発してきた格子シフトナノレーザでは、極小体積に光が強く閉じ込められ、周囲の環境に特に敏感となる。既に波長シフト 400nm/屈折率変化という過去最大の屈折率感度を得ている。本研究では、この感度をさらに大幅に高めることを目指した。

(2) 温度無依存化による超狭線幅化

ナノレーザ特有のスペクトル広がり回避する方法を考案し、高分解能センシングを可能にする必要がある。通常の単一モードレーザと同じ 0.1 nm 以下の線幅を確認し、上記の感度と併せて、単一分子級の検出分解能が可能にすることを目指した。狭線幅を妨げる最大要因は、環境の温度変化や光励起による温度上昇による波長揺らぎであるため、温度無依存化のための構造最適化を検討した。

(3) 化学的安定性の向上

不要な化学反応を抑制し、必要な反応のみ起こさせることも高分解能のために重要である。レーザ材料の GaInAsP に対してタンパク質検出実験に使う処理剤や抗体を詳細に調べ、化学的に安定な吸着を目指した。

(4) タンパク質吸着検出実験

無作為にタンパク質を吸着させる接着剤、もしくは目標タンパク質のみを特異的に吸着する抗体を形成する。これによりナノメートルサイズの生体分子に対する基本的な感度、特異吸着による選択性などを評価し、バイオマーカーなど今後の医療応用を可能にする知見を得ることを目指した。

4. 研究成果

本研究ではまず、これまでの格子シフト型ナノレーザの中央にナノスロットという細い溝を導入することを検討した。ナノスロットは、これと直交するモード電界ベクトルに不連続を生じさせ、高屈折率境界近くにおいて電界を極端に増強する。結果としてナノスロットの中に局在するレーザモード分布を作る。この状況は境界面に付着する生体分子に対して高いセンシング感度を生み出すと期待された。

モード電界の増強はスロット幅に反比例し、エネルギーはさらにその二乗で増強されるため、スロットの狭幅化が重要である。これまでに報告されていたスロットは幅 100nm

程度であったが、このようなスロットをナノレーザ中央に形成すると、 Q 値が低下してレーザ発振が得られなくなるという問題があった。そこで本研究ではまず 50nm 以下のスロット幅の形成を目指した。具体的にはレーザ材料である GaInAsP に対して高アスペクト比が得られるヨウ化水素系誘導結合プラズマエッチングを最適化した。その結果、図 1 に示すように、40 を超える高アスペクト比で幅 30nm までのスロットを形成することに成功した。またこれを搭載したナノレーザにおいて発振を得ることに併せて成功した。このような狭幅スロットは世界初である。

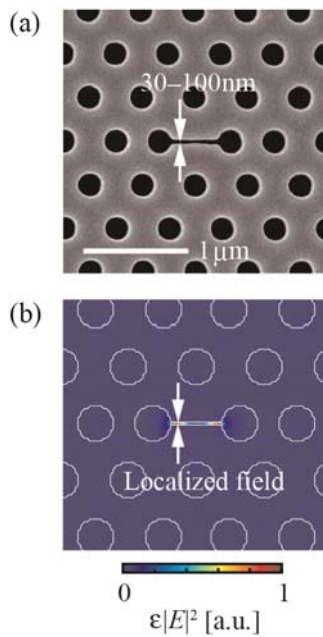


図 1 ナノスロットナノレーザ。(a) 製作したデバイス。(b) 計算される局在モード。

ナノスロットレーザの発振モードが理論的に予測される局在モードかどうかについては、小さすぎて近視野像観察などで直接確認はできない。そこでまず、発振波長のスロット幅依存性が理論値と一致することを確認した。またデバイスを水中に置いて、発振波長の温度依存性を測定した。これは、水が負の熱光学係数をもち、半導体とは正負が逆なので、水で満たされたスロット中に局在するモードは負の係数の影響をより受け、波長の温度依存性が相殺されると期待されたためである。実際、そのような温度依存性の相殺が明確に観測された。結果として、従来問題となっていた熱チャープによるスペクトル広がり効果が効果的に抑制され、スペクトル幅が本研究の測定限界である 10pm 近くまで狭幅化された。さらにデバイスを浸漬する液体を変えて液体屈折率依存性を調査したところ、スロットがないデバイスに比べておよそ 2 倍の感度が得られ、これも理論とよく一致

した。以上の結果より、少なくとも液体屈折率に対してはセンシング分解能が 2 桁向上した。

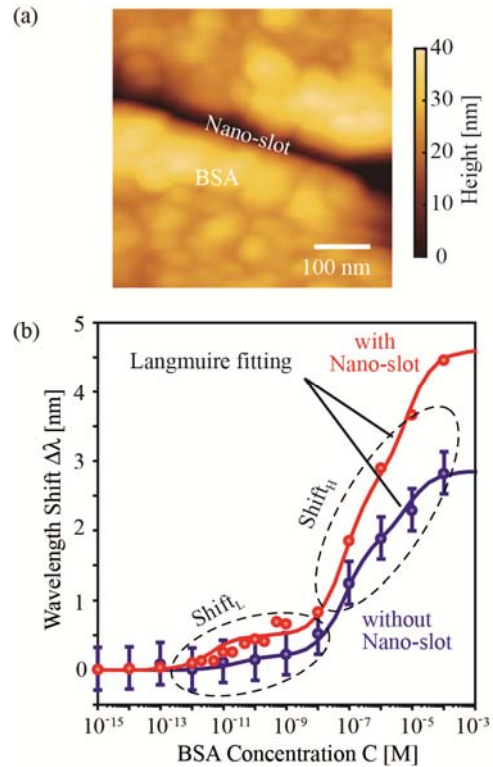


図 2 タンパク質検出実験。(a) 高濃度 BSA を付着させたときのナノスロット周辺の原子間力顕微鏡像。(b) BSA 濃度に対する波長シフト。実線は Langmuir フィッティング曲線。

こうしてナノスロットレーザが完成したため、次に生体分子検出を試みた。当初は DNA を検討したが、DNA については PCR 法によって大量複製し、容易にセンシングする技術が既に確立されており、インパクトが小さいことがわかった。そこで血中バイオマーカーなど医療応用が期待される一方でいまだに決定的なセンシング技術がないタンパク質の検出に目標を絞った。そしてまず汎用的なタンパク質として牛血清アルブミン (BSA) を選び、選択性がない非特異検出を試みた。具体的にはデバイス表面をアミノ基で覆った後、ホスト分子であるグルタルアルデヒドを付けた。これはゲスト分子である BSA と非特異吸着する。実際にデバイスを溶液に浸漬した後の測定、ならびにデバイスに溶液を導入しながらのリアルタイム測定のいずれにおいても波長シフトが観測された。そこでどの程度の低濃度までを検知できるか、限界を調査したところ、1pM 以下が検知された。濃度と波長シフトの関係を図 2 のようにグラフ化し、Langmuir の吸着等温式によりパラメータフィッティングを行ったところ、検出限界は 255fM と評価された。BSA は

グルタルアルデヒドに対して親和定数が 10^7 M^{-1} と比較的小さく、他の手法でも pM オーダーの検出はほとんど報告例がない。本研究と類似のナノ共振器においても限界濃度は 10nM オーダーとされていた。従って、本研究の限界濃度は異常に低い。ナノスロットがないデバイスの限界濃度は 10nM オーダーとなったこと、 pM オーダーの検出の後にデバイスを電子顕微鏡観察したところナノスロット内に顕著な堆積物が見られたことなどから、この極めて低い限界濃度はナノスロットによりもたらされたものであることが明らかになった。

なぜこのような超高感度が得られたかを考察した。候補は光勾配力と温度勾配効果である。前者については、強く局在するレーザモードが電磁界エネルギーの大きな勾配を生み、分子を強く吸着するもので、実効的に親和定数を高める作用が考えられる。実際、実験と計算の考察から、このレーザで得られる光勾配力のポテンシャルエネルギーは温度による熱エネルギーの3~10倍と見積もられ、分子を細くすることは可能と考えられた。一方、励起光や発振光による温度勾配はむしろ分子を排除する方向に作用するため、本ナノレーザの原理には適合しないことが示唆された。

そこで次に医療応用にとって重要な特異吸着の検出を試みた。ここではホスト分子として、抗体モデルによく使われるビオチンを、ゲスト分子には抗体となるストレプトアビジンタンパク質 (SA) をもちいた。この抗原抗体反応は親和定数が 10^{14} M^{-1} と大きく、BSA よりも低濃度の検出が期待された。実際、Langmuir フィッティングを行った結果、検出限界濃度は 60 zM となった。これは他のあらゆる手法においても報告例がないほどの低濃度であり、単分子検出が可能なレベルである。さらに医療応用に重要な実験として、大量の不純物中で上記の抗原抗体反応を選択的に検出することを試みた。ここでは不純物として $10\mu\text{M}$ の BSA を用い、評価を安定させるために 25 個のナノレーザをアレイ集積して標準誤差評価を行った。その結果、 1aM の SA が有位に検出された。この低濃度自体も驚異的であるが、このときの不純物に対する選択比も 1 兆倍と極めて大きい。血中の低濃度バイオマーカー検出では 10 億倍の選択比が期待されており、本研究の成果はこれを満たすため、近い将来の医療応用が有望になったといえる。

以上の実験を安定的に行うため、本研究では簡易なマイクロフルイディクスデバイスの製作とポータブルセンシングシステムの構築にも取り組んだ。前者については PDMS 流路を形成し、デバイスの搭載、センシングを試みたが、正しい測定のためには流路内へ

のタンパク質吸着を抑制する必要があることがわかった。また後者では自動ステージと顕微鏡システムを特に小型化することがキーとなることがわかった。これらは今後の医療応用システム構築の上で重要な知見になると考えられる。

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] (計 14 件)

- ① M. Narimatsu, S. Kita, H. Abe and T. Baba, "Enhancement of vertical emission in photonic crystal nanolasers", Applied Physics Letters, 査読有, vol. 100, no. 12, pp. 121117, 2012, DOI:10.1063/1.3696056
- ② S. Kita, S. Otsuka, S. Hachuda, T. Endo, Y. Imai, Y. Nishijima, H. Misawa and T. Baba, "Photonic crystal nanolaser bio-sensors", IEICE Transaction on Electronics, 査読有, vol. E95-C, no. 2, pp. 188-198, 2012, DOI:10.1587/transele.E95.C.188
- ③ M. Shinkawa, N. Ishikura, Y. Hama, K. Suzuki and T. Baba, "Nonlinear enhancement in photonic crystal slow light waveguides fabricated using CMOS-compatible process", Optics Express, 査読有, vol. 19, no. 22, pp. 22208-22218, 2011, DOI:10.1364/OE.19.022208
- ④ N. Inoue and T. Baba, "Spectral and polarization characteristics of photonic crystal under normally incident light and their tuning with liquid crystal control", Japanese Journal of Applied Physics, 査読有, vol. 50, no. 10, pp. 102203, 2011, DOI:10.1143/JJAP.50.102203
- ⑤ S. Kita, S. Otsuka, S. Hachuda, T. Endo, Y. Imai, Y. Nishijima, H. Misawa and T. Baba, "Super-sensitivity in label-free protein sensing using nanoslot nanolaser", Optics Express, 査読有, vol. 19, no. 18, pp. 17683-17690, 2011, DOI:10.1364/OE.19.017683
- ⑥ S. Kita, K. Nozaki, S. Hachuda, H. Watanabe, Y. Saito and T. Baba, Photonic crystal point-shift nanolaser with and without nanoslots --- design, fabrication, lasing and sensing characteristics, IEEE Journal of Selected Topics in Quantum

Electronics, 査読有, vol. 17, no. 6, 2011, 1632-1647, DOI:10.1109/JSTQE.2011.2134837

- ⑦ K. Suzuki and T. Baba, “Nonlinear light propagation in chalcogenide photonic crystal slow light waveguides”, Optics Express, 査読有, vol. 18, no. 25, pp. 26675-26685, 2010, DOI: 10.1364/OE.18.026675
- ⑧ S. Kita, S. Hachuda, K. Nozaki and T. Baba, “Nanoslot laser”, Applied Physics Letters, 査読有, vol. 97, no. 16, pp. 161108, 2010, DOI:10.1063/1.3505139
- ⑨ T. Baba, H. Abe, T. Asatsuma, and T. Matsumoto, “Photonic crystal negative refractive optics”, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 査読有, vol. 10, no. 3, pp. 1473-1481, 2010, DOI: 10.1166/jnn.2010.2026
- ⑩ T. Baba, J. Adachi, N. Ishikura, Y. Hamachi, H. Sasaki, T. Kawasaki, and D. Mori, “Dispersion-controlled slow light in photonic crystal waveguides,” Proceeding of Japan Science Academy Series B, 査読有, vol. 85, no. 10, pp. 443-453, 2009, DOI: 10.2183/pjab.85.443
- ⑪ K. Suzuki, Y. Hamachi and T. Baba, “Fabrication and characterization of chalcogenide glass photonic crystal waveguides”, Optics Express, 査読有, vol. 17, no. 25, pp. 22393-22400, 2009, DOI: 10.1364/OE.18.018866
- ⑫ Y. Hamachi, S. Kubo and T. Baba, “Slow light with low dispersion and nonlinear enhancement in a lattice-shifted photonic crystal waveguide,” Optics Letters, 査読有, vol. 34, no. 7, pp. 1072-1074, 2009, DOI: 10.1364/OL.34.001072
- ⑬ M. Buresi, R. J. P. Engelen, A. Opheij, D. van Oosten, D. Mori, T. Baba and L. Kuipers, “Observation of polarization singularities at nanoscale,” Physical Review Letters, 査読有, vol. 102, no. 3, pp. 033902, 2009, DOI: 0.1103/PhysRevLett.102.033902
- ⑭ R. J. P. Engelen, D. Mori, T. Baba and L. Kuipers, “Subwavelength structure of the evanescent field of an optical Bloch wave”, Physical Review Letters 査読有, Lett., vol.

102, no. 2, pp. 023902, 2009, DOI:10.1103/PhysRevLett.102.023902

[学会発表] (計 16 件)

- ① T. Baba, “Slow light and bio-sensing with photonic crystals”, IEEE Photonics Conference, Virginia, 13/10/2011
- ② T. Baba, “Photonic crystal nanolasers with nanoslot structure for sensing applications”, SPIE Optics and Photonics, San Diego, 21/08/2011
- ③ 馬場俊彦, “フォトリック結晶ナノレーザ---究極のナノスロット構造とその応用”, 応用物理学会春季講演会, 東京 26/03/2011
- ④ T. Baba, “Nano-slot photonic crystal nanolaser and its bio-sensing applications”, German-Japanese Scientific Technical Workshop on Quantum Dot and Nano-engineered Semiconductor Lasers and Nanoanalytics, Tokyo, 15/02/2011
- ⑤ T. Baba, “Why must nanolasers be so small?”, IEEE International Semiconductor Laser Conference, Kyoto, 27/09/2010
- ⑥ S. Kita, “Nano-slit photonic crystal nanolaser with mode localization in air”, IEEE International Semiconductor Laser Conference, Kyoto, 27/09/2010
- ⑦ 北翔太, “ナノスロット構造フォトリック結晶ナノレーザを用いたバイオセンサ”, 応用物理学会秋季講演会, 長崎, 15/09/2010
- ⑧ 北翔太, “ナノスロット構造フォトリック結晶ナノレーザを用いたバイオセンサ”, 応用物理学会秋季講演会, 長崎, 15/09/2010
- ⑨ T. Baba, “Bio-sensing and nonlinear enhancement using photonic crystals”, IEEE International Nano-Optoelectronics Workshop (iNOW), Beijing, 02/08/2010
- ⑩ T. Baba, “Photonic crystal nanolaser --- its fabrication, laser characteristics and bio-sensing applications”, International Conference on Laser Optics, St. Petersburg, 26/06/2010
- ⑪ 馬場俊彦, “フォトリック結晶ナノレー

ザと超高感度センシング応用”，科学技術振興機構ワークショップ「無機発光素子を用いた高機能照明・次世代レーザー技術」，東京，26/04/2010

- ⑫ 北翔太，“ナノスリット構造フォトニック結晶 HO ナノレーザによる高分解能バイオセンシング”，応用物理学会春季講演会，茨城，19/03/2010
- ⑬ 北翔太，“フォトニック結晶ナノレーザによるバイオセンシング”，応用物理学会秋季講演会，富山，10/09/2009.
- ⑭ S. Kita, “Biosensing applications of photonic crystal nanolaser”, IEEE International Nano-Optoelectronics Workshop (iNOW), Stockholm, 08/08/2009
- ⑮ S. Kita, “Label-free biosensing utilizing ultrasmall photonic crystal nanolaser”, OSA Integrated Photonics and Nanophotonics Researches and Applications Topical Meeting, Hawaii, 13/07/2009
- ⑯ T. Baba, “Photonic crystal nanolaser and its applications”, International Conference on Material Advanced Technology, Singapore, 01/07/2009

〔図書〕（計 2 件）

- ① 馬場俊彦，シーエムシー出版，フォトニックナノ構造の最近の進展，2011，pp. 81-97
- ② 馬場俊彦，オーム社，電子情報通信学会ハンドブック知識情報ベース，2012（出版確定）

〔産業財産権〕

特許取得状況（計 1 件）

名称：屈折率センサおよび屈折率測定装置
発明者：馬場俊彦，野崎謙悟，北翔太
権利者：横浜国立大学
種類：特許
番号：4867011
取得年月日：2011 年 11 月 25 日
国内外の別：国内

〔その他〕

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 俊彦 (BABA TOSHIHIKO)
横浜国立大学・工学研究院・教授
研究者番号：50202271

(2) 研究分担者

なし ()
研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()
研究者番号：