

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25248033

研究課題名(和文) 波動光学に基づいた拡張ナノ空間のための熱レンズ検出デバイスの創出

研究課題名(英文) Creation of Thermal Lens Detection Device for Extended-Nano Space Based on Wave Optics

研究代表者

北森 武彦 (Kitamori, Takehiko)

東京大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60214821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,700,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロ化学チップに代表されるように近年分析場の微小化が進行している。研究代表者らは、10-1000nmスケールの拡張ナノ空間を活用した新しい分析デバイスの研究を進めており、これまで検出のできなかつた非蛍光性分子を高感度に検出する微分干渉熱レンズ顕微鏡(DIC-TLM)を開発してきた。しかし、システムが大型であること、光学系の設計が困難であることが問題であった。そこで本研究では、ガラスチップ上に光導波路を用いてマッハ-ツェンダー干渉計を作製し、DIC-TLMを集積デバイス化した。本研究で開発したデバイスは、液体クロマトグラフィーの検出器として用いられている吸光光度計を置き換えると期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, analytical chemistry has been miniaturized as represented by microchemical chips and single cell analysis. Our group studies novel analytical devices including immunoassay and chromatography using extended-nano (10-1000 nm) space and developed a differential interference contrast thermal lens microscope (DIC-TLM) to detect nonfluorescent molecules. Although the DIC-TLM can detect heat that is produced by nonfluorescent molecules through optical absorption and nonradiative relaxation sensitively, the problem was that the system was large and design of the optics was difficult. Therefore, in this study, a Mach-Zehnder interferometer was fabricated using optical waveguide on a glass chip for device integration of DIC-TLM. The device developed in this study is expected to replace spectrophotometers which are used as detectors of liquid chromatography. Furthermore, the device explores a new field of device engineering which integrates fluidics, optics and electronics.

研究分野：分析化学、レーザー分光分析、マイクロ化学システム

キーワード：光熱変換分光 マイクロ化学チップ ナノフルイディクス

1. 研究開始当初の背景

近年マイクロ化学チップや単一細胞分析をはじめとして、分析場および分析の対象がますます微小化している。特に研究代表者らは、10-1000 nm スケールの空間（拡張ナノ空間）に着目し、単一分子免疫分析やアト・フェムトリットルスケールのクロマトグラフィなど、革新的分析デバイスの研究を推進してきた。微小空間では検出対象の分子数も少なくなることから、絶対的に高感度な分析手法が要求される。これまでに研究代表者らは、マイクロ空間で非蛍光性分子を高感度に検出できる熱レンズ顕微鏡 (TLM) を開発してきたが、原理的に幾何光学に基づいていたため、光の波長と同じかそれよりも短い拡張ナノ空間では適用困難であった。そこで、波動光学の原理に基づき、光線の分離干渉を利用した微分干渉熱レンズ顕微鏡 (DIC-TLM) の開発に成功し、拡張ナノ空間内で非蛍光性分子を高感度に定量することに初めて成功した。しかし、従来の TLM はグラジエントオプティクスを用いた小型化、デバイス化に成功しているのに対して、DIC-TLM は同じ手法で小型化するのが困難であった。

2. 研究の目的

本研究は DIC-TLM のデバイス化を目的とした。光導波路を用いて Mach-Zehnder 干渉計を構築し、DIC-TLM と同様に光線の分離干渉を実現して波動光学に基づいたデバイス化を実現した。具体的な研究項目は以下の通りである。

研究項目 1. 基盤技術の確立

光導波路と拡張ナノ流路を組み合わせたチップを製作するための基盤技術を確立した。具体的には、光導波路の形成法および光導波路と拡張ナノ流路の接合技術を確立した。

研究項目 2. デバイスの設計・製作

光導波路を用いて拡張ナノ空間内の非蛍光物質を高感度に計測する光熱干渉デバイスを設計・製作した。具体的には、有限要素法を用いた熱拡散のシミュレーションなどを駆使してデバイスを設計し、製作したデバイスの原理検証と性能評価を実施した。

研究項目 3. 多機能化

光導波路の特徴を生かし、従来の TLM および DIC-TLM では実現が困難であった機能を付加した。具体的には、白色光を励起光源とした熱レンズスペクトルの測定に取り組んだ。

3. 研究の方法

本研究で開発したデバイスの原理を図 1 に示す。1 枚のガラス基盤上に Mach-Zehnder 干渉計型の光導波路を作製し、その上に拡張ナノ流路を接合する。光導波路と拡張ナノ流路の交点に励起光を照射すると、流路内の測定対象分子が光を吸収し、無輻射緩和に伴っ

て熱を発生する。この熱が導波路に到達すると導波路内部の屈折率が変化し、導波路内を伝播するプローブ光の位相が変化して、干渉光の強度が変化する。この強度変化を検出することで、試料の濃度を定量する。

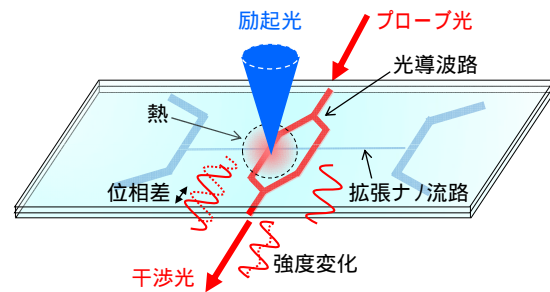


図 1. 本研究で開発したデバイスの原理

て熱を発生する。この熱が導波路に到達すると導波路内部の屈折率が変化し、導波路内を伝播するプローブ光の位相が変化して、干渉光の強度が変化する。この強度変化を検出することで、試料の濃度を定量する。

デバイスを設計するため、有限要素法によるシミュレーションを実施した。図 2 に用いたジオメトリを示す。後述するように、フェムト秒パルスレーザーを用いて製作した光導波路は断面が縦 25 μm 、横 15 μm の楕円形状をしている。これを幅 20 μm 、深さ 5 μm のマイクロ流路底面から d μm の深さに製作したと仮定し、2 本の導波路間隔は 100 μm とした。そして、励起光をマイクロ流路内に集光したときに発生する熱の拡散をシミュレーションし、これによって導波路内に誘起される屈折率の変化を積分することで信号値を計算した。この結果より最適な深さ d を算出した。

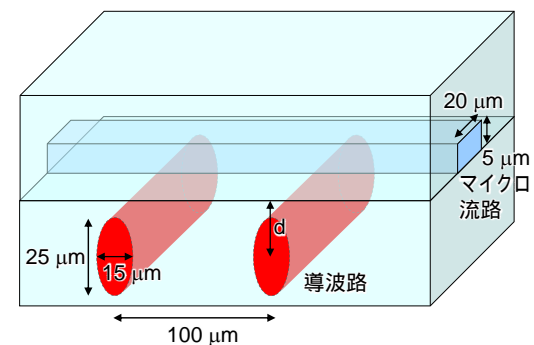


図 2. シミュレーションに用いたジオメトリ

光導波路は、京都大学三浦研究室の所有するフェムト秒パルスレーザーを用いて作製した。石英ガラス基板の内部にフェムト秒パルスレーザーを照射すると、ガラスの密度変化に伴って高屈折率の領域が発生し、光導波路が形成された。

マイクロ流路はフォトリソグラフィとプラズマエッチングを用いてもう 1 枚のガラス基板上に作製した。また、拡張ナノ流路は電子線リソグラフィとプラズマエッチングを用いて作製した。マイクロ・拡張ナノ流路を作製したガラス基板は、光導波路を作製したガラス基板と低温接合法で接合することでデバイスを作製した。

実験装置を図3に示す。励起光として波長488 nmのアルゴンイオンレーザー、プローブ光として波長633 nmのヘリウムネオンレーザーを用いた。プローブ光の位相を制御するため、2本の導波路の下部にペルチェヒーターを設置して導波路内部の温度を制御した。

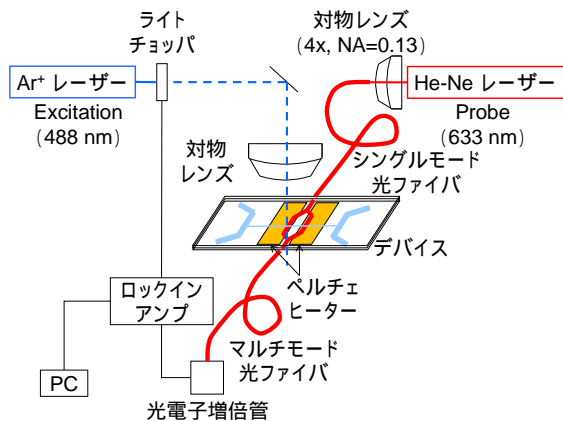


図3. 実験装置

4. 研究成果

熱拡散シミュレーションの結果、導波路を深さ $d=7\ \mu\text{m}$ に作製するのが最適であるという結論が得られた。しかし、従来のフェムト秒パルスレーザーを用いた光導波路作製法では、ガラス内部に光導波路を作製することは可能であったが、ガラス基板表面付近に光導波路を作製することはアブレーションを起こすために困難であった。そこで、図4(a)に示すようにまず光導波路を作製したいガラス基板にカバーガラスを低温接合法で貼り合わせた。ガラス基板表面に酸素プラズマ

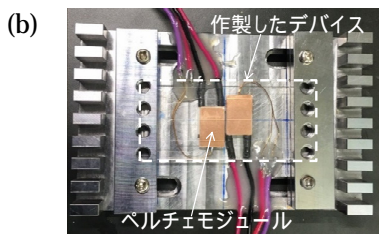
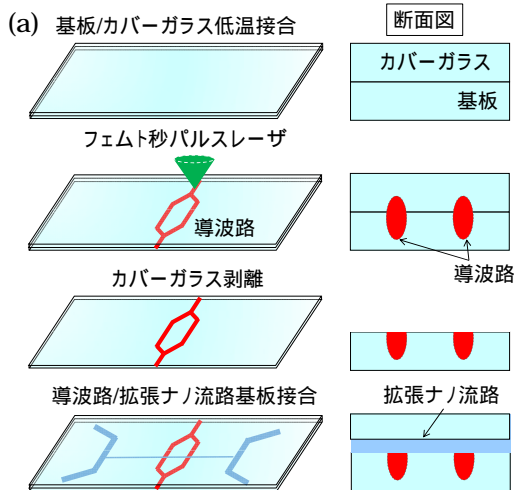


図4. (a)デバイスの製作法 (b)写真

をフッ素雰囲気下で照射し、カバーガラスを貼り合わせて5000 N、200 の条件で2時間加圧して接合した。次に、ガラス基板とカバーガラスの接合界面付近にフェムト秒パルスレーザーを照射して光導波路を作製した。最後に、水中でガラス基板とカバーガラスを剥離させ導波路を表面に露出させた。この方法により、中心がガラス基板表面から $7\ \mu\text{m}$ の位置にくるように導波路を作製することに成功した。完成したデバイスの写真を図4(b)に示す。

まず、本デバイスの原理を検証した。ペルチェヒーターを用いて2本の導波路間の温度差を変化させながら干渉光の強度変化を測定したところ、図5(a)に示すようなサインカーブが得られた。これは、ヒーターを用いて外部から与えた温度差によって2本のプローブ光の間に位相差が生じ、干渉光の強度が変化したことを示している。従って、励起光を用いてマイクロ流路内部で熱を発生させた場合も、同様に干渉光の強度が変化することが期待される。このとき、信号値は微小温度変化あたりの干渉光の強度変化であるから、信号値は図5(a)の微分値に比例すると考えられる。励起光照射によって得られた信号を、温度差に対してプロットしたものを図5(b)に示す。図5(a)と重ね合わせると、確かに微分値が最大となる温度差において信号値が極大(正の最大値)および極小(負の最大値)を取ることを確認した。

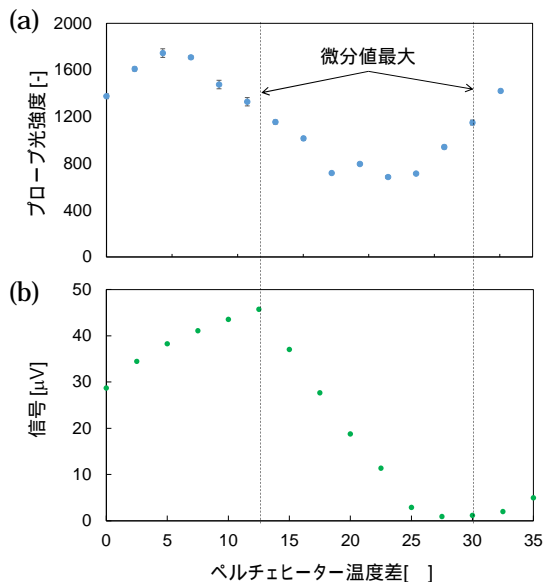


図5. (a)ペルチェヒーターの温度差に対する干渉光強度の関係 (b)信号強度の関係

次に、信号値が極大となる温度で測定した非蛍光性色素サンセットイエロー水溶液の検量線を図6(a)に示す。S/N=2の条件で算出した検出限界は $15\ \mu\text{M}$ であった。また、この条件で深さ $500\ \text{nm}$ の拡張ナノ流路内の測定を実施した。結果を図6(b)に示す。従来のTLMデバイスでは測定することのできなかった波長よりも短い空間で検量線を取

ることに成功し、波動光学に基づいた本デバイスの原理の有効性を実証した。

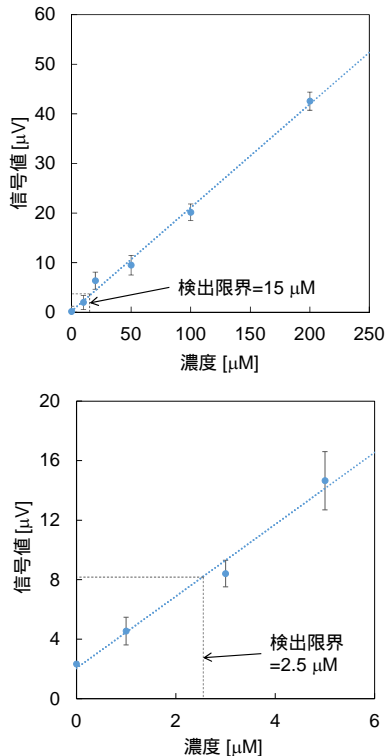


図 5. (a)深さ 5 μm のマイクロ流路 (b)500 nm の拡張ナノ流路におけるサンセットイエロー水溶液の検量線

最後に、本デバイスをマイクロ流路内の非蛍光性分子のスペクトル取得に応用することを試みた。マイクロ流路のサイズが導波路よりも大きい場合、図 7 に示すように導波路から出射した光がマイクロ流路内を通過して、再び導波路に結合する光学配置が最も高感度となる。このような構造を作製し、通常光源を模擬したレーザー光を用いて信号の検出を試みた。100 W ハロゲンランプを対物レンズで集光し、488 nm のバンドパスフィルタを通したところ、スポット径はおよそ 100 μm、強度は数 mW であった。そこで、レーザー光を同様に数 mW に減衰し、100 μm 径に集光して信号の取得を試みたところ、濃度数 mM のサンセットイエロー水溶液で信号の取得に成功した。この結果より、ハロゲンランプなどの白色光源を励起光として使用した場合も信号の取得が可能であるから、光熱変換スペクトルの取得が可能と期待される。現在、LED を分光し光熱変換スペクトルを取得する実験系の構築に取り組んでいる。

結論として、本研究では DIC-TLM のデバイス化に成功した。光導波路の形成法および光導波路と拡張ナノ流路の接合技術を確立し、有限要素法を用いた熱拡散のシミュレーションを駆使することによって拡張ナノ空間内の非蛍光物質を検出することに成功した。また、白色光を励起光源とした熱レンズスペクトルの測定に向けたデバイスを設

計製作しその原理を実証した。このように、光導波路を用いることによって、フルイデックスによる流体操作とオプティクスによる検出の機能を 1 枚のガラスチップ内に集積化することに成功した。将来的には、同じ基板上にレーザーダイオードやフォトダイオードなど光源や検出器、信号処理回路などのエレクトロニクスも集積化することによって、分析に必要な機能を全て兼ね備えたデバイスへと発展していく可能性があり、マイクロ・ナノデバイス工学に新しい潮流をもたらすと期待される。また、白色光の導入によりスペクトルの測定が実現すれば、液体クロマトグラフィーの検出器などに用いられている吸光度検出器を置き換えることも期待され、産業上の利用価値も極めて高いと考えられる。

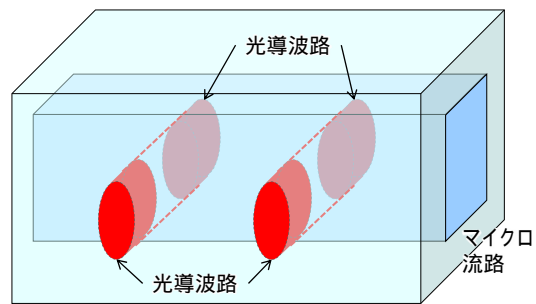


図 6. 光熱変換スペクトル測定のためのマイクロ流路および光導波路の設計

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 12 件)

C. Cassano, K. Mawatari, T. Kitamori, H.Fan, Thermal Lens Microscopy as a Detector in Microdevices, Electrophoresis, 査読有, 35, 2279 - 2291 (2014)
DOI: 10.1002/elps.201300430

K. Mawatari, Y. Kazoe, Y. Pihosh, H. Shimizu, T. Kitamori, Extended-nanofluidics: Fundamental Technologies, Unique liquid properties, and Application in Novel Chemical and Bio Analysis Methods and Devices, Analytical Chemistry, 査読有, 86, 4068 - 4077 (2014)
DOI: 10.1021/ac4026303

馬渡和真, 北森武彦, 拡張ナノ空間を用いた aL-fL 高機能分析デバイスの開発、生体の科学、査読無、65(2)、127 - 132 (2014)

H. Morita, H. Shimizu, M. Sakakura, Y. Shimotsuma, K. Miura, K. Hirao, K. Mawatari, T. Kitamori, THERMAL

LENS DETECTION DEVICE USING MACH-ZEHNDER INTERFEROMETER WAVEGUIDE, Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2014, 査読有, 1, 2306 - 2308 (2014)

H. Morita, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori, FABRICATION OF MACH-ZEHNDER WAVEGUIDE BASED THERMAL LENS DETECTION DEVICE FOR SENSITIVITY IMPROVEMENT, Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2015, 査読有, 1, 1795 - 1797 (2015)

N. Miyawaki, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori, YOCTOMOLE NON-LABELED PROTEIN DETECTION IN EXTENDED NANO CHANNEL BY UV EXCITATION DIFFERENTIAL INTERFERENCE CONTRAST THERMAL LENS MICROSCOPY, Proceedings of Micro Total Analysis Systems 2015, 査読有, 1, 1798 - 1800 (2015)

[学会発表] (計 62 件)

T. Kitamori, Micro and Extended-nano ELISA: Practical Application and Future, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015 (Pacifichem 2015) (Invited), 2015/12/15-20 Honolulu, USA

宮脇直也、清水久史、馬渡和真、北森武彦、紫外励起微分干渉熱レンズ顕微鏡を用いた無標識タンパク質分子の高感度検出、化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 32 回研究会、2015/11/26-27、北九州国際会議場、福岡県北九州市

N. Miyawaki, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori, YOCTOMOLE NON-LABELED PROTEIN DETECTION IN EXTENDED NANO CHANNEL BY UV EXCITATION DIFFERENTIAL INTERFERENCE CONTRAST THERMAL LENS MICROSCOPY, The 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2015), 2015/10/25-29, Gyeongju, Korea

H. Morita, H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori, FABRICATION OF MACH-ZEHNDER WAVEGUIDE

BASED THERMAL LENS DETECTION DEVICE FOR SENSITIVITY IMPROVEMENT, The 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2015), 2015/10/25-29, Gyeongju, Korea

宮脇直也、清水久史、馬渡和真、北森武彦、紫外励起微分干渉熱レンズ顕微鏡によるサブzeptomol無標識タンパク質の検出、日本分析化学会 第 64 年会、2015/9/9-11、九州大学伊都キャンパス、福岡県福岡市

H. Morita, H. Shimizu, M. Sakakura, Y. Shimotsuma, K. Miura, K. Hirao, K. Mawatari, T. Kitamori, Integration of Thermal lens detection with Mach-Zehnder interferometer, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015/9/3-4, Makuhari Messe, Chiba, Chiba, Japan

T. Kitamori, Separation Techniques in Extended-nano Fluidics, The 22nd International Symposium on Electro- and Liquid Phase-Separation Techniques (ITP2015) (Invited), 2015/8/30-9/2, Helsinki, Finland

H. Morita, H. Shimizu, M. Sakakura, Y. Shimotsuma, K. Miura, K. Hirao, K. Mawatari, T. Kitamori, Thermal Lens Detection Device Using Mach-Zehnder Interferometer Waveguide, 7th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM2015), 2015/6/8-10, Kyoto University, Kyoto, Kyoto, Japan

T. Kitamori, Extended nanofluidics for novel functional devices, International Workshop on Extended-Nano Fluidics (IWENF) 2015 (Invited), 2015/3/26-27, The University of Tokyo, Bunkyo, Tokyo, Japan

H. Morita, H. Shimizu, M. Sakakura, Y. Shimotsuma, K. Miura, K. Hirao, K. Mawatari, T. Kitamori, THERMAL LENS DETECTION DEVICE USING MACH-ZEHNDER INTERFEROMETER WAVEGUIDE, MicroTAS 2014, 2014/10/26-30, San Antonio, USA

T. Kitamori, Single Molecule Immunoassay at Femto Liter on Extended-Nano Fluidic Device: A

Crazy ELISA, ITP-LACE 2014
(Invited), 2014/10/4-8, Natal, Brazil

森田裕樹、清水久史、坂倉政明、下間靖彦、三浦清貴、平尾一之、馬渡和真、北森武彦、集積化マツェンダー型干渉計素子による熱レンズ検出デバイスの開発、日本分析化学会第63年会、2014/9/17-19、広島大学東広島キャンパス、広島県東広島市

北森武彦、極端に狭い空間を利用するという、日本分析化学会第63年会(招待講演)、2014/9/17-19、広島大学東広島キャンパス、広島県東広島市

T. Kitamori, Micro and Extended-nano Fluidic Device Technology for Chemical and Physical Study at Femto to Atto Liter, From Solid State to BioPhysics (Invited), 2014/6/7-14, Dubrovnik, Croatia

T. Kitamori, Single molecule ELISA in Extended-Nano Fluidic Device, 30th International Symposium on Microscale Separation (MSB 2014) (Invited), 2014/4/27-5/1, Pecs, Hungary

T. Kitamori, Surface Control for Extended-Nano Fluidics for Liquid Phase Separation, The 40th International Symposium on High-Performance-Liquid-Phase Separations and Related Technique (HPLC2013) (Invited), 2013/11/18-21, Hobart, Australia

T. Kitamori, Surface Modification of Chanel Inside for Analytical Application of Extended-Nano Fluidics, 20th International Symposium on Electro- and Liquid-Phase Separation Techniques (Invited), 2013/10/6-9, Canary Island, Spain

T. Kitamori, Extended-Nano Fluidics for Novel Functional Devices, The 5th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM 2013) (Invited), 2013/5/16-19, Xiamen, China

T. Kitamori, Micro and Extended-Nano Fluidics for Chemistry and Novel Functional Devices, The 2nd conference Implementation of Microreactor Technology in Biotechnology (Invited), 2013/5/5-8,

Dubrovnik, Croatia

〔図書〕(計2件)

H. Shimizu, K. Mawatari, T. Kitamori, "Thermal lensing, detection", in Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics, 2nd edition, Springer Reference, 2014

北森武彦、“吸収イメージング”、発光の事典、朝倉書店、2014

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称:機能性デバイス、機能性デバイスの製造方法、分析システムおよび分析方法
発明者:清水久史、馬渡和真、北森武彦
権利者:マイクロ化学技研株式会社
種類:特許
番号:2014-137772
出願年月日:2014年7月3日
国内外の別:国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/kitamori/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

北森 武彦 (KITAMORI, Takehiko)
東京大学・大学院工学系研究科・教授
研究者番号:60214821

(2)研究分担者

馬渡 和真 (MAWATARI, Kazuma)
東京大学・大学院工学系研究科・准教授
研究者番号:60415974

嘉副 裕 (KAZOE, Yutaka)

東京大学・大学院医学系研究科・特任講師
研究者番号:20600919

清水 久史 (SHIMIZU, Hisashi)

東京大学・大学院工学系研究科・助教
研究者番号:60631281

(3)連携研究者

(4)研究協力者

三浦 清貴 (MIURA, Kiyotaka)
京都大学・大学院工学系研究科・教授
研究者番号:60418762

坂倉 政明 (SAKAKURA, Masaaki)

京都大学・産官学連携本部・特定准教授
研究者番号:90402958