

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月22日現在

イオン感応性を原理とする超高感度ナノレーザバイオセンサ

High-performance nanolaser biosensor
with an ion-sensitivity

課題番号: 16H06334

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（4行以内）

ガリウムインジウムヒ素燐半導体フォトリソニック結晶ナノレーザは簡単に製作・動作でき、その光出力や波長が周囲環境に応じて変化する特性を用いることで、センサとして機能する。本研究は特に、溶液中のイオンの影響を受けて変化するナノレーザ表面の電気化学的な効果によるセンシング原理を探索し、高性能なバイオセンサを実現することを目指している。

研究分野： 光工学・光量子科学

キーワード： バイオセンシング

1. 研究開始当初の背景

近年、小型なバイオ化学センサとして様々なフォトリソニックデバイスが研究開発されている。それらは基本的に、付着する媒質がもつ屈折率により、デバイスの光学共鳴がシフトするのを捉えるという、屈折率センシングを原理としている。ただしこの場合、例えば健康診断などに使われるバイオマーカー検査で、重度疾病を早期発見するといった目的では十分な性能または簡便さに至らない。

本研究代表者は、ガリウムインジウムヒ素燐半導体フォトリソニック結晶ナノレーザを開発し、タンパク質などのバイオ分子、生細胞、環境毒素などを発振波長シフトからセンシングすることに成功してきた。特にバイオ分子を含む溶液中でこれを動作させると、従来の屈折率センシングより2桁以上も低濃度から発振波長シフトが現れるという超高感度を見出してきた。その後、このナノレーザは、溶液中のイオンなどの影響を受けて変化する表面電荷に依存して、光出力が変化することを発見し、これをイオン感応性と名付けた。すなわち、上記の超高感度の起源も、従来の屈折率センシングではなく、イオン感応性にあることが強く示唆された。

2. 研究の目的

本研究ではイオン感応性の原理に基づくナノレーザセンサの理論構築を進展させ、完全な解明により、センサ自体や抗原抗体反応

のための表面の最適化を進める。また、チップ製作技術、自動評価システムなどの完成度を高め、医療用バイオマーカーに対する実用レベルのセンサシステムに近づける。

3. 研究の方法

ナノレーザは前記の半導体に電子線描画と誘導結合プラズマエッチングにより製作される。また化学耐性を確保するため、原子層堆積法により、数ナノメートルの酸化ジルコニウムでナノレーザを覆う。その後、樹脂製微小流路中にナノレーザチップを配置し、自動分注システムにより所望の溶液を注入して、光励起により動作させる。このときの光出力と発振波長からセンシングを行う。

特に本研究では、電気化学測定システムとゼータ電位測定システムを導入して、溶液中のナノレーザの電気化学特性を把握した。さらに後述するスクリーンプリントセルを導入することで、電気化学測定とセンシングを同時に行うことも可能にした。また、原子層堆積装置に自己組織化単分子膜形成用プリカーサを導入し、抗原抗体反応検出のようなバイオセンシングの際の表面処理の一括プロセスを目指した。

4. これまでの成果

まず光出力におけるイオン感応性は、半導体表面近傍のショットキー障壁が増大させる表面再結合を起源とすることが自然放出

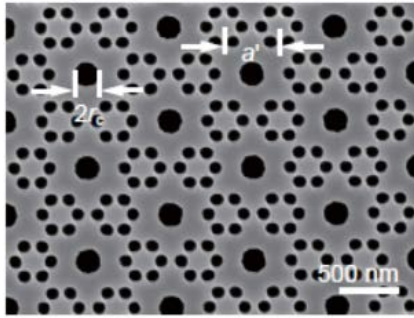


図 1 pH 分解能を最大化する蜂の巣構造フォトニック結晶レーザ

強度と寿命の測定から明らかになった。そこでこれに関する理論を構築し、この効果を最大化する蜂の巣構造フォトニック結晶レーザ (図 1) を設計、製作、評価した。その結果、イオン感応性の指標となる pH 分解能で 0.0038 という値が評価された。これはナノレーザより 10 倍優秀であり、理論の正しさが証明されたほか、市販の pH センサを上回る実用デバイスの可能性が示された。

一方、波長におけるイオン感応性についても様々な調査を行ったところ、プラズマ曝露によって表面を強制的に帯電させることで波長がシフトすること、大量の抗体修飾よりも電荷移動を伴う微量の抗原抗体反応の方が大きなシフトを示すことなどから、こちらも電荷が関与することが明らかになり、ショットキー障壁に捕獲された励起キャリアによるプラズマ効果が、シフトの一因である可能性が示唆された。

そこで電荷の効果をより直接的に把握するため、半導体のフラットバンド電位やショットキー障壁高さを見積もる電気化学測定とゼータ電位測定を導入したところ、それらの経時変化が波長シフトとよく対応した。またナノレーザを組み込んだスクリーンプリントセル (図 2) にバイアスを印加して特性を評価したところ、障壁が大きくなる逆バイアスでは光出力が変化し、障壁が消失する順バイアスでは波長がシフトすることを見出した。種々の考察から、固液界面にある電気二重層がバイアスで変化し、これがポッケルス効果を介して波長シフトを引き起こす可能性も明らかになった。

以上の考察を実際のバイオセンシングに反映させた。光出力におけるイオン感応性の利用では、アルツハイマー病等の神経疾患のバイオマーカー候補である CRMP2 タンパク質を生化学的手法により製作し、イオン感応性を用いた抗原抗体反応センシングに利用した。ここでは一切のスペクトル分析を行わない簡単な光強度測定で、健常者の末梢血中の CRMP2 濃度以上を定量測定することに成功した。また生細胞を基板上に培養したところ、細胞がもつ電荷分布を反映させた発光パタ

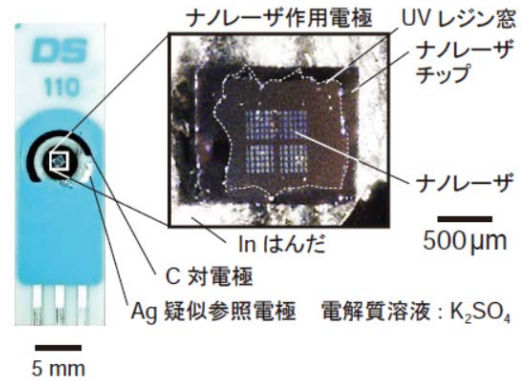


図 2 ナノレーザを組み込んだスクリーンプリントセルによる光電気化学回路。

ーンが観測され、非標識細胞イメージングや異なる細胞の識別の可能性が出てきた。一方、波長におけるイオン感応性の利用では、上記のスクリーンプリントセルのバイアス印加により抗体修飾時の配向を制御することで、1fM という低濃度の PSA タンパク質を安定して検出することに成功した。

5. 今後の計画

波長シフトの機構を明確に理論化し、バイアスや溶液成分の最適化により、さらに高効率な抗原抗体反応の検出を目指す。また検出立ち上がり濃度を特定し、希釈率が異なる試料を調べることで、試料の定量評価を狙う。さらに原子層堆積による一貫した表面処理により、全プロセスの簡易化を図る。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- [1] T. Baba, Conf. Laser and Electro-Optics (CLEO), S&I-7 (2019, Tutorial).
- [2] 羽中田祥司ら, 応用物理学会春季講演会予稿集, 10p-S421-5 (2019).
- [3] 渡邊敬介ら, 応用物理学会春季講演会予稿集, 10p-PB3-8 (2019).
- [4] 西條義人ら, 応用物理学会春季講演会予稿集, 11p-W631-11 (2019).
- [5] K. Watanabe, et al., Biosen. Bioelectron. **117**, 161 (2018).
- [6] T. Watanabe, et al., Opt. Express **25**, 24469 (2017).
- [7] 馬場俊彦ら, 電子情報通信学会論文誌 **J100-C**, 61 (2017) (電子情報通信学会招待論文賞受賞)
- [8] S. Hachuda, et al., Opt. Express **24**, 12886 (2016).
- [9] M. Sakemoto, et al., Opt. Express **24**, 11232 (2016).

7. ホームページ等

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