

# 光導波路型マイクロアフィニティセンサの構築

内 山 田 健

2018年 3月

筑波大学大学院博士課程

数理物質科学研究科博士論文

博士（工学）

光導波路型マイクロアフィニティセンサの構築

内 山 田 健

ナノサイエンス・ナノテクノロジー専攻

# 目次

## 第1章 序論

1.1 バイオセンサの現状と課題	1
1.2 微小化学分析システム ( $\mu$ -TAS) の必要性	2
1.3 光導波路干渉計を用いたバイオセンシング	3
1.4 光導波路干渉計の応用例	3
1.5 分子鑄型ポリマー (MIP)	7
1.6 MIP を用いた測定センサ	8
1.7 本研究の目的	9
1.8 本論文の構成	10
参考文献	11

## 第2章 SU-8 方向性結合型光導波路の設計・作製

2.1 はじめに	15
2.2 平面導波路の電磁気学的取扱い	15
2.3 シミュレーション原理	18
2.3.1 FD-BPM	19
2.3.2 FDTD	20
2.3.3 FEM	20
2.4 近接場光センサ	21
2.5 モード結合理論における方向性結合器 (DC)	22
2.5.1 DC のモード結合方程式	22
2.5.2 固有モード (偶・奇モード) と DC の光強度分布	24
2.5.3 光干渉計としての DC	25
2.6 DC センサのシミュレーションによる設計	26
2.6.1 SU-8 導波路のカットオフ条件	27
2.6.2 DC 間ギャップ距離と結合長の関係	27
2.6.3 バルク屈折率と結合長の関係	27
2.7 DC センサの作製	31
2.7.1 SU-8 の電子線リソグラフィー	31
2.7.2 DC チップのレイアウト	32
2.7.3 DC センサの作製プロトコル	33
2.8 実験方法	35
2.8.1 光実験装置の構成	35
2.8.2 最小二乗法による測定値のフィッティング	36
2.8.3 SU-8 DC 表面のビオチン修飾	37
2.9 結果と考察	37
2.9.1 SU-8 導波路の断面観察	37
2.9.2 バッファー送液状態で DC センサの性能評価	37
2.9.3 ビオチン・ストレプトアビジン反応を用いた測定	38

2.10	まとめ	38
	参考文献	43

### 第3章 分子鑄型ポリマーを用いたバイオセンシング

3.1	はじめに	45
3.2	MIP 修飾 DC センサの数値計算による設計	45
3.2.1	DC センサのカットオフ条件	45
3.2.2	DC 間ギャップ距離と結合長	46
3.2.3	MIP 修飾 DC センサの MIP 膜厚 $t_{ad}$ ・屈折率 $n_{ad}$ 依存性	47
3.3	DC センサの作製	53
3.3.1	DC チップレイアウト	53
3.3.2	DC チップへのパターン形成プロセス	53
3.3.3	DC センサの作製プロトコル	55
3.4	ポリマー薄膜の DC 上への形成	61
3.4.1	MIP の成膜プロセス	61
3.4.2	DC チップ上への MIP 作製プロトコル	62
3.5	実験方法	63
3.5.1	光実験装置の構成	63
3.5.2	光計測における流体制御	64
3.6	結果と考察	65
3.6.1	DC センサの断面観察	65
3.6.2	ポリマー薄膜形成 DC の出射光強度からの膜厚測定	66
3.6.3	ヒト血清アルブミン (HSA) のポリマー修飾 DC を用いた測定	66
3.6.4	MIP-DC センサを用いた繰り返し測定	67
3.6.5	MIP-DC センサの感度および検出限界	67
3.7	まとめ	67
	参考文献	73

### 第4章 エアホール型光導波路の作製と MIP への統合

4.1	はじめに	75
4.1.1	フォトニック結晶導波路	75
4.1.2	マルチモード (MMI) 干渉計	76
4.1.3	エアホール導波路 (AHW) センサ	77
4.2	AHW センサの数値計算による設計	77
4.2.1	SiO <sub>2</sub> 膜厚と透過率の関係	77
4.2.2	AHW の単一モード条件	78
4.2.3	エアホール配列設計による AHW センサの設計	78
4.2.4	タンパク質層屈折率と結合長の関係	78
4.3	実験方法	88
4.3.1	AHW チップのレイアウト	88
4.3.2	光学実験装置	88

4.4	結果と考察	88
4.4.1	作製した AHW チップの観察	88
4.4.2	AHW センサのバルク屈折率 $n_{\text{clad}}$ 依存性	89
4.4.3	MIP 膜厚と結合長の関係	89
4.4.4	AHW センサ感度のエアホールおよびセンサ全長依存性	89
4.4.5	AHW センサの感度および検出限界	89
4.5	まとめ	90
	参考文献	97
<b>第5章</b>	<b>総括</b>	<b>98</b>
	謝辞	100
	業績一覧	102
	付録	104

# 第1章 序 論

## 1.1 バイオセンサの現状と課題

近年、医療・診断、環境、食品、細胞工学など様々な分野においてバイオ・化学的な分析の需要が高まっている。そのような中で、酵素、抗体、DNA などの生体関連物質を用いた化学物質の測定を行うバイオセンサは、その高度な物質選択性から注目が集まっている<sup>1-3</sup>。バイオセンサは測定対象分子を認識する分子識別素子と、それによって生じた化学物質濃度、熱、質量、光、屈折率などの変化を電気信号に変換するトランスデューサーからなる。これまでトランスデューサーとして、電気化学（酵素電極、イオン選択性電極）、磁気（ビーズによる検体分離）、水晶振動子、カンチレバー、光学的手法（蛍光ビーズ、表面プラズモン共鳴）が、分子識別素子として酵素、DNA、抗体、細胞などを用いたものが報告されている。この中でも光を用いた分析手法は、実時間での測定が可能、高感度、ラベリングが不要であるといった利点から多くの分野で用いられており、特に医療・診断においては吸光、蛍光、分光分析が多くの割合を占める。

ラベリングとは検体に蛍光、放射性同位体、磁性体粒子などによって標識をつけることで、検体からのシグナルを増幅する手法である。これにより微量の検体も高感度に測定可能となるため、バイオセンシングにおいて広く用いられているが、ラベリングを行うことでコストの増加や測定時間の増長につながる。また、検体を標識することで機能や反応を損ねるたり、変化させてしまうことがある。光を用いた測定は、吸光度や分光、屈折率変化などを測定することでラベリングを行わずに測定が可能である。代表的なラベルフリーセンサとして表面プラズモン共鳴、エバネッセント場や水晶振動子を用いたものがある。この中でもエバネッセント場を用いた光導波路センサは、デバイスの小型化が容易である、作製が比較的安価に行えるという利点がある。

バイオセンサの課題として、生体由来の酵素や抗体などの分子識別素子や測定に用いられる試薬が一般的に高価、化学的・物理的（pH 変化や熱など）に不安定であり、繰り返しでの測定が不可能という点がある。また、医療・診断の分野においては、患者の負担を減らすために、センシングに用いるサンプル量の低減が求められている。これらの課題を解決するために種々の研究が報告されている。その一つとして、マイクロチップ技術の組み合わせがある。近年、半導体製造分野の微細加工技術の進歩に伴い、ナノ・マイクロスケールでのチップ作製が可能となってきている。これに伴い、マイクロチップ上で様々な分析化学反応などを行う微小化学分析システム（Micro Total Analysis System:  $\mu$ TAS）や Lab-on-a-chip と呼ばれる概念が提唱されるようになった。これによって、少量のサンプルや試薬を用いて、同時に大量の測定が可能となる。例として、細胞工学の分野では、アレイ化したマイクロウェルへの細胞のトラップと蛍光測定を用いた解析により、単一細胞内外の分子の存在の確認に成功した<sup>4</sup>。

バイオセンサの課題のもう一つの解決策として、センサの小型化が検討されている。これにより、一度の測定に必要な分子識別素子や試薬の量を減らすことができる。光導波路は先に述べたように、小型化が容易であり、ラベルフリーでの測定が可能など生体分子の測定における利点を持つため、近年様々な光導波路を用いたバイオセンサが開発されている。

最後に、生体由来の分子識別素子を新規の代替材料で置き換える手法について述べる。分子鋳型ポリマー（MIP）は生体由来の分子識別素子とまったく同じ機能を持ったポリマー材料であり、pH 変化や熱に強く、安価に作製でき、繰り返しでの測定が可能であるため、バイオセンサへの応用が期待される。欠点として、対象分子の選択性と反応性の低さがあるが、近年その性能は改善してきている。

本研究では、光導波路を用いたセンサの小型化と、分子鋳型ポリマーを分子識別素子とすることによる抗体や酵素などの生体由来の分子識別素子の高価、化学的・物理的（pH 変化や熱など）に不安定、繰り返しでの使用が不可能といった欠点の克服を試みた。

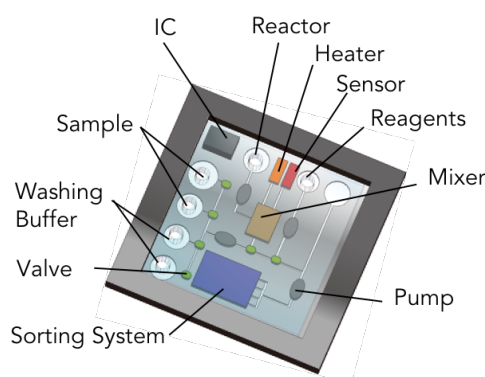


Fig. 1.1.  $\mu$ TAS のイメージ図。

## 1.2 微小化学分析システム（ $\mu$ TAS）の必要性

$\mu$ TAS とは分析の際に必要な各種構成要素、すなわち分析装置、サンプル溶液のミキサ、送液ポンプ、細胞培養チャンバなどの、本来ならばそれぞれが独立した一つの装置となるようなものを小型化、集積化したものである。先の節でも述べたように、半導体製造分野の微細加工技術の進歩により、数～数十 mm スケールの微小なチップ状にこれらの化学、生体分析装置の集積化が可能となった。このような分析に必要な構成要素の微小化・集積化を行うことにより、以下のような利点があげられる<sup>5</sup>。

(1) 使用するサンプル・試薬・廃液量が微量である。

測定に使用するサンプル、試薬などの減量は解析のコスト削減の観点から重要な点である。特に生体物質の測定では、使用試薬が高価であることが多いことから、優位な利点であるといえる。

(2) 分析・反応時間が短い。

微小領域では比表面積が増大するため、溶液の拡散が促進される。その結果反応が極めて迅速に起こる。

(3) デバイス自体の小型化・集積化が容易である。

微細加工技術により、従来のような大型の装置を複数必要とはせず、携帯可能な微小デバイスを作製可能となる。これにより容易に携行が可能となり、測定場所を選ばずに使用が可能となる。

(4) 大量生産が可能である。

半導体作製技術をベースとしているため、半導体作製の場合と同様に大量のデバイスを一括で作製可能である。これにより低価格なデバイスを提供可能となる。

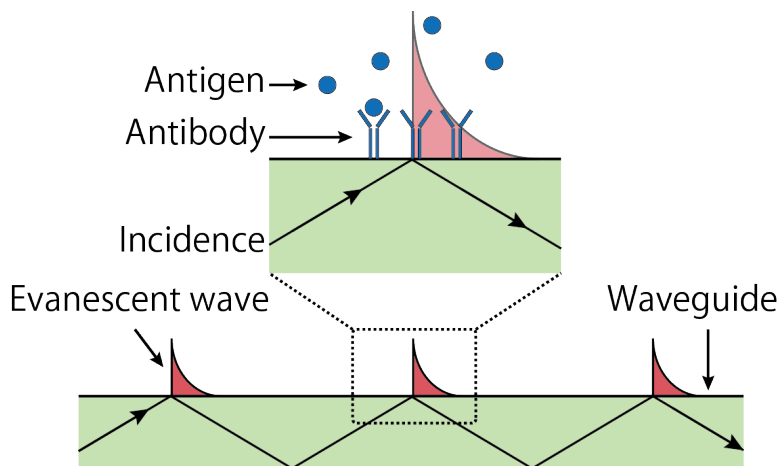
$\mu$ TAS のこれらの利点はバイオセンサの高価な分子識別素子や試薬の使用量を減らすことができるため、親和性が高い。以上の理由から $\mu$ TAS 技術を使用したバイオセンサの開発が数多く報告されており、グルコースセンサなど、すでに実用化されているものも存在する<sup>6-8</sup>。

### 1.3 光導波路干渉計を用いたバイオセンシング

1.1 節でも述べたように光を用いた測定技術は、高感度、ラベリングが不要である、実時間での測定、非破壊・非接触測定が可能である、デバイスの微小化・集積化が容易であるといった様々な利点から、多くの生体物質の測定手法として、光の吸収、蛍光、散乱、プラズモン共鳴 (SPR) といった種々の手法が用いられている。これらの光測定技術は測定対象に応じて使い分けがなされている。特に nm スケールの超微量分子や DNA の測定には、ナノアンテナ<sup>9-11</sup>、表面プラズモン共鳴<sup>12,13</sup>、伝搬型プラズモン<sup>14</sup> といった測定系が用いられている。Wiedemair らは金属ナノワイヤーからなるプラズモン構造を用い、ラマン散乱光を増幅することにより薄膜 DNA 層の形成を測定することに成功している<sup>15</sup>。

エバネッセント場を用いた測定はその中でもその表面吸着物質に対して高感度であること、 $\mu\text{m}$  ~ mm スケールと比較的センササイズが小さいことから微量化学・生体物質の測定デバイスが数多く報告されている<sup>16,17</sup>。エバネッセント場とは、光が高屈折率媒体と低屈折率媒体の界面において全反射するとき低屈折率側に染み出す電磁場成分のことである。Fig.1.2 で示すように、伝搬光の表面に存在するエバネッセント場はその存在領域の屈折率に対して非常に敏感に反応し、位相変化を起こす。これを利用し、エバネッセント場の発生する界面へ抗体などの分子認識層を形成することで表面屈折率を変化させ、特定の化学、生体物質の高感度測定が可能となる。エバネッセント場による伝搬光の位相変化の測定方法は主に共振型と干渉型の 2 つに分類することができる。以下に代表的なエバネッセント場を用いたバイオセンサを紹介する。

エバネッセント場の励起原理や導波路中での光伝搬原理については、第 2 章で詳しく説明する。また、これ以降の節では共鳴型、干渉型それぞれの導波路センサの特徴、代表的なデバイスについて説明していく。



**Fig. 1.2.** 光同波路を伝搬する光とエバネッセント場。エバネッセント場が表面環境の変化に影響され、伝搬光の位相が変化する。

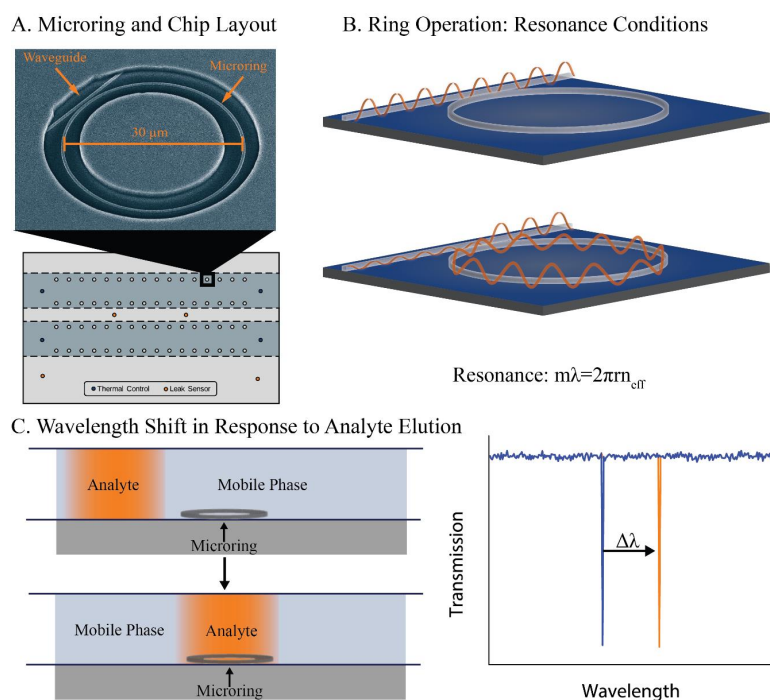
### 1.4 光導波路干渉計の応用例

#### a. 共振型導波路

エバネッセント場による光の位相変化を光の共振を利用することで測定するものを共振型導波路といい、リング共振器<sup>18-20</sup> や円盤型共振器<sup>21,22</sup> などが存在する。ここではより一般的であるリング共振器について紹介する。リング共振器とは Fig. 1.3 (a) に示すように光伝搬用の線形導波路とそれに隣接した環状導波路からなる構造のことである。光伝搬用導波路を伝搬する光は、ある特定

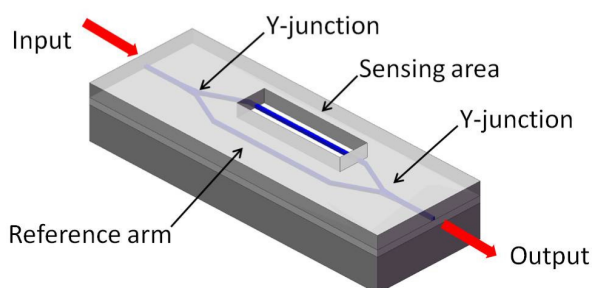


の波長の場合のみエバネッセント場を介して環状導波路へと伝搬する。この現象を共振といい、それ以外の波長においてはそのまま線形導波路を伝搬していく (Fig. 1.3 (b))。この時、環状導波路表面へ物質が輸送されるとエバネッセント場による位相変化が起こり共振の起こる波長がシフトする (Fig. 1.3. (c))。環状導波路での共振は検出光の強度の減少によって測定することが可能となる。この共振のピーク波長シフトは干渉型導波路と比べてより高感度である。しかし、測定のためには高精度な波長調整およびシフトが必要となり、非常に高価な光学系を必要とする。また、線形導波路と環状導波路の間隔は数十 nm である必要があり、非常に高い微細加工精度が求められる。以上の理由から、本デバイスの作製・検出が容易ではないという欠点を持つ。



**Fig. 1.3.** (a) リング共振器の SEM 像。 (b) リング共振器と伝搬光のイメージ図。 (c) リング共振器表面への試料導入とそれに伴うシグナル変化<sup>19</sup>。  
Reprinted with permission from ref. J. H. Wade et al., 2014. Copyright 2014 American Chemical Society.

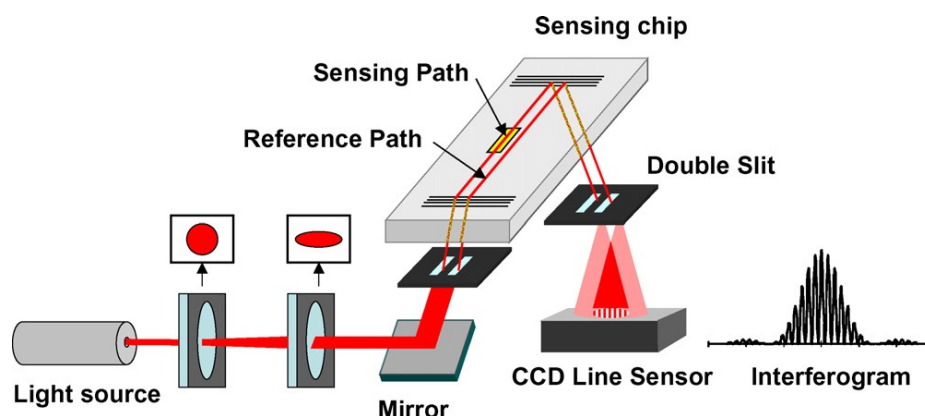
## b. 干渉型導波路



**Fig. 1.4.** マッハテュエンダー干渉計のイメージ図<sup>24</sup>。  
Reprinted with permission from ref. A. Densmore et al., 2009. Copyright 2009 Optical Society of America.

前節で紹介した共振型導波路に対して、エバネッセント場による位相変化を光の干渉を利用することで測定するものを干渉型導波路という。代表的な干渉型導波路としてマッハツェンダー干渉計<sup>23,24</sup>とヤングの干渉計<sup>25-27</sup>がある。両者に共通しているのは、Y分岐構造を持ち、入射光が2本の光路へと分岐されることである。一方の光路上は分子認識層が形成され、表面吸着物質による位相変化が起こる。マッハツェンダー干渉計では、位相が変化する光路と、もう片方の光路が再びY分岐構造で合流する(Fig. 1.4)。合流した伝搬光は位相差によって干渉が起こる。干渉による光強度の変化を測定することで、位相変化の度合いを測定する。リング共振器と比べて単一波長で良いことと、光強度の身の測定であることから、必要な光学系(光源、検出系)は比較的安価で手に入りやすいという利点がある。しかし、リング共振器と違い、光強度のピークではなく、変化量そのものをシグナルとして測定しているため、少量の温度変化、入射時、伝搬時の光学的ロスなどがそのままノイズとなってしまいう欠点を持つ。また、Y分岐構造は作製が非常に困難であるという欠点も持つ。

一方、ヤングの干渉計では、Y分岐構造による光路の合流は行われず、伝搬光はスクリーン上に映し出される。それぞれの光路の位相差によって生じる干渉縞によって測定が行われる(Fig. 1.5)。ヤングの干渉計では、スクリーン上に映し出された干渉縞の観察により測定が行われる。よって、上記2つのデバイスに比べて非常に測定が簡便であるという利点を持つ。しかし、高次元の縞は光の減衰によって観測することができないため、上記の2つに比べて検出シグナルの精度が落ちるといふ欠点を持つ。また、マッハツェンダーと同様にY分岐構造の作製の再現性を得ることが非常に困難であり、デバイス間誤差が出やすいという欠点を持つ。

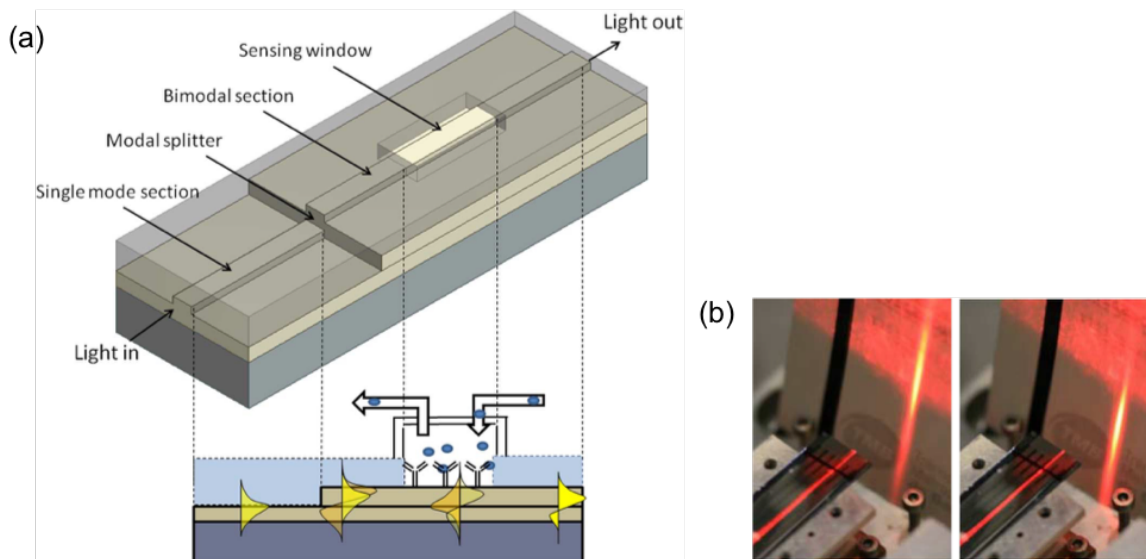


**Fig. 1.5.** ヤングの干渉計のイメージ図<sup>27</sup>。  
Reprinted with permission from ref. A. Ymeti et al., 2007. Copyright American Chemical Society.

### c. バイモード干渉計

前節で紹介した一般的な干渉型光導波路デバイスの共通の欠点である、Y分岐構造に起因する不確定要素を克服したユニークなデバイスとして、バイモード干渉計を紹介する。SmolyaninovらはY分岐を持たない干渉型導波路を開発している<sup>28</sup>。バイモード導波路は干渉型導波路の一種であり、2モード導波路からなる構造である。光導入部では通常の導波路センサと同様にシングルモード導波路であるが、センサエリア以降において厚みを増やすことで、2モードが励起するように設計されたデバイスである(Fig. 1.6 (a))(モードについては第2章において詳しく説明する)。センサエリアにおいて励起した基底モードおよび1次モードは、エバネッセント場による位相変化の割合が異なるため、2モード導波路内で干渉が起こる。センサエリアにおいて起こった干渉はそのまま導波路外へと出射され、スクリーン上に干渉縞として投影し、その位置変化をシグナルとして観

測する(Fig. 1.6 (b))。本デバイスの最大の利点は、Y分岐構造を持たずにただの直線導波路であるため、デバイスの作製が容易であるということである。また、検出についても干渉縞の位置変化を利用して、非常に簡便な装置での測定が可能となる。欠点として、ヤングの干渉計と同様に干渉縞をシグナルとしているため、検出精度が劣るという点が挙げられる。



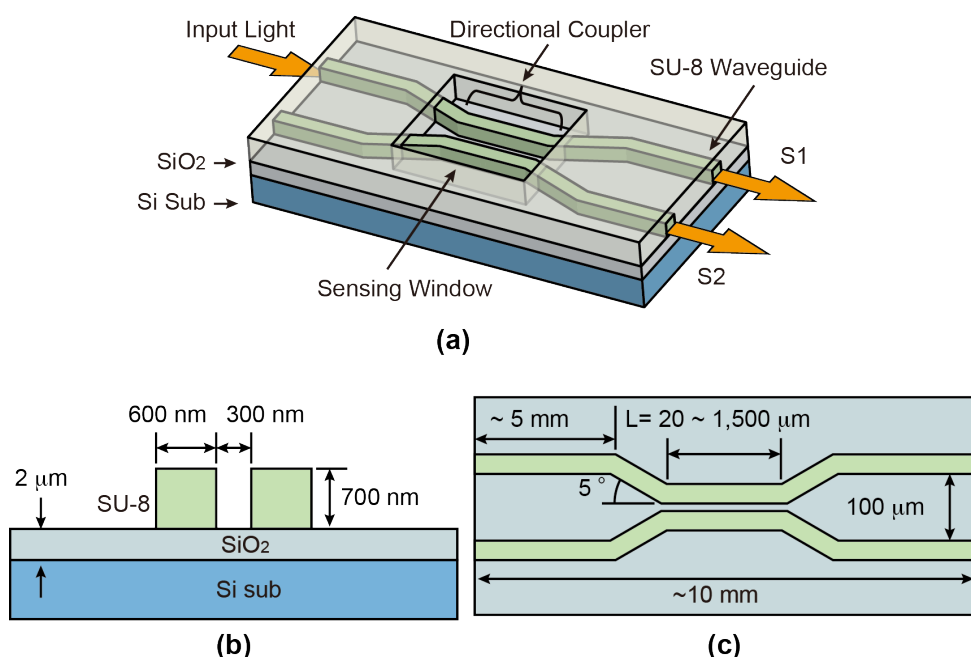
**Fig. 1.6.** (a) バイモード導波路干渉計のイメージ図。(b)それぞれ試料導入前(左)と後(右)のシグナルの様子<sup>28</sup>。

Reprinted with permission from ref. K. E. Zinoviev et al., 2011. Copyright 2011 IEEE.

#### d. 方向性結合型光導波路

以上で紹介した既存の導波路型センサに対して、本研究では新しく方向性結合器 (DC) のバイオセンサへの利用を試みた。DC導波路とは光通信分野において光スイッチング、もしくは導波路の分岐構造として用いられる構造である<sup>29-32</sup>。Fig. 1.7に示したように、2本の平行導波路からなり、中央のセンサエリアにおいて光の波長程度間で導波路が接近し、再び離れていくという構造になっている。片方の導波路へ光を入射すると、センサエリアにおいてエバネッセント場を介して光が隣接導波路へ移っていく。そして完全に光が移行すると、再び入射導波路へと戻っていく。最終的に、導波路が再び分離する地点での2導波路中の光分布がそのままシグナルとして分岐していく(方向性結合器の詳しい光伝搬源については第2章において説明する)。このときの隣接エリアでの光の移り変わりは周辺物質に影響を受けるため、検出されるシグナル比を測定することで、センサとしての利用が可能である。DC導波路は既存の導波路センサと比較して、Y分岐構造を持たない、近視野での高精度測定が可能、センサエリアの表面積が大きいため高感度が期待される、シグナル比による測定であるため温度などのノイズがキャンセルされる、といった利点から、非常に強力なバイオセンサとなることが予想される。しかし、本機構自体は40年以上前より提唱・使用されているが、バイオセンサへの応用についてはほとんど行われていない。唯一Luffらが1996年にガラスの薬品処理により加工した低屈折率差導波路構造を用いてバイオセンサの初期の性能評価として一般的に行われているビオチン・ストレプトアビジン反応の測定を行っている<sup>33</sup>。しかし、この研究ではデバイスの表面積を増大させるためにDC導波路を用いており、実際にデバイスは導波路幅数  $\mu\text{m}$ 、デバイス全長が数 $\text{cm}$ と非常に大きなサイズとなっている。このため、純粋にデバイスの小型化、高精度・高感度化のためにDC導波路をバイオセンサへ利用した例は今のところ皆無である。そこで、本研究では、センサ感度を保ったまま、使用する試薬量およびサン

プル量の削減のためにセンサの小型化を目指す。



**Fig. 1.7.** (a) 方向性結合型 (DC)光導波路センサのイメージ図。(b) DC 結合部の断面図および(c) DC 導波路の平面図。

### 1.5 分子鑄型ポリマー (MIP)

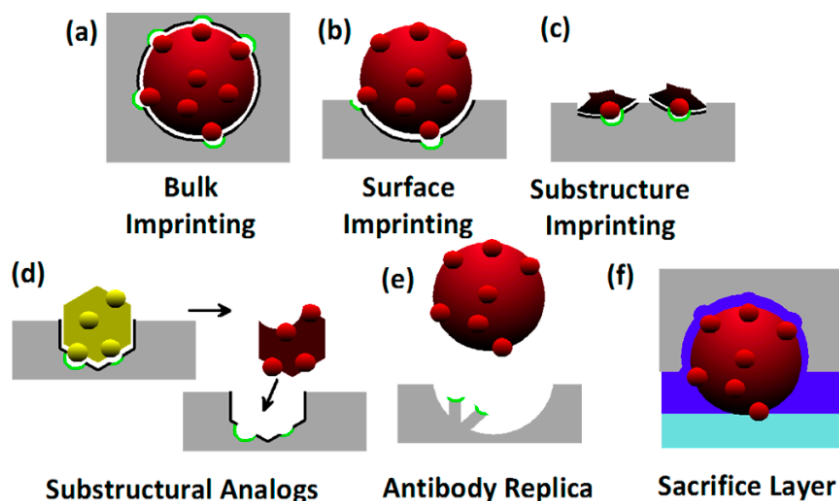
バイオセンサの課題として、分子識別素子である抗体が高価、化学的・物理的に不安定であるというものがある。そこで、この課題を克服する新たな材料として分子鑄型ポリマー (MIP) が注目を集めている<sup>34-36</sup>。従来の用いられていた抗体は整体由来であるため、作製プロセスが煩雑であり、生物を用いるために作成価格が高くなってしまふ。一方 MIP はポリマー材料であるため、化学的・物理的な強度が高く、非常に簡便なプロセスと安価なモノマー材料で作製可能である。その他の利点として、その原理上抗体が作れないような分子量の小さな分子を対象とできるという点も注目すべきである。MIP のメカニズムを Fig. 1.8 に示す。MIP の作製に用いられる材料は、主に MIP の測定対象となる鑄型分子、測定対象との吸着サイトを持つ機能性モノマー、ポリマーを支える骨格モノマーからなる。機能性モノマーは鑄型分子と水素結合、イオン結合や分子間力によって結合する。この時の結合サイトを吸着サイトと呼ぶ。この鑄型ポリマーと機能性モノマ



**Fig. 1.8.** 分子鑄型ポリマーのメカニズム。(a) 機能性モノマーの吸着サイト (緑) が鑄型分子と結合する。(b) 重合された MIP より鑄型分子を取り除くことにより、鑄型分子と同様の形状および吸着サイト配列を持った吸着孔ができる<sup>35</sup>。

Reprinted with permission from ref. J. R. Schirihagl, 2014. Copyright 2014 American Chemical Society.

一の複合体に骨格モノマーを混ぜて重合する。最終的に鋳型分子を取り除くことで、測定対象分子と同様の形状および吸着サイト配列を持つ吸着孔が形成される。このように、MIP は吸着サイトにおいて可逆的な反応を用いているため、繰り返しでの測定が可能となっている。しかし、欠点として抗体と比較して対象タンパク質に対する結合は弱い。MIP はクロマトグラフィーとセンサとして主に用いられている。それぞれの用途に応じて様々な種類の MIP が存在する。Fig. 1.9 にその一覧を示す。クロマトグラフィーには MIP 内部に均一に吸着サイトがあるバルクインプリンティングが主に用いられる。一方鋳型分子の検出には MIP 表面にのみ吸着サイトがある表面インプリンティングが主に用いられる。本研究ではこの種類の MIP を用いた。Fig. 1.9 (c)-(f)は鋳型として対象分子を直接用いない手法である。Fig. 1.9(c)は対象分子の断片を、Fig. 1.9(d)は対象分子と一部同様の構造を持つ代替分子を鋳型として用いる。これによって、サイズの大きな対象分子でも膜厚薄い MIP が作製可能となる。Fig. 1.9(e)は抗体を鋳型内に配置し、それを用いて別の鋳型を形成する手法である。これによって、抗体と同様の形状の吸着サイトを持つ MIP を作製でき、MIP の欠点である対象タンパク質との結合の弱さを克服できるが、抗体を用いているため、作製費用の面で他のに劣る。Fig. 1.9(f)は MIP 上部に犠牲層ポリマーを形成する。この犠牲層ポリマーを鋳型とすることで、測定対象分子なしで MIP を量産することができ、費用面で優れている。

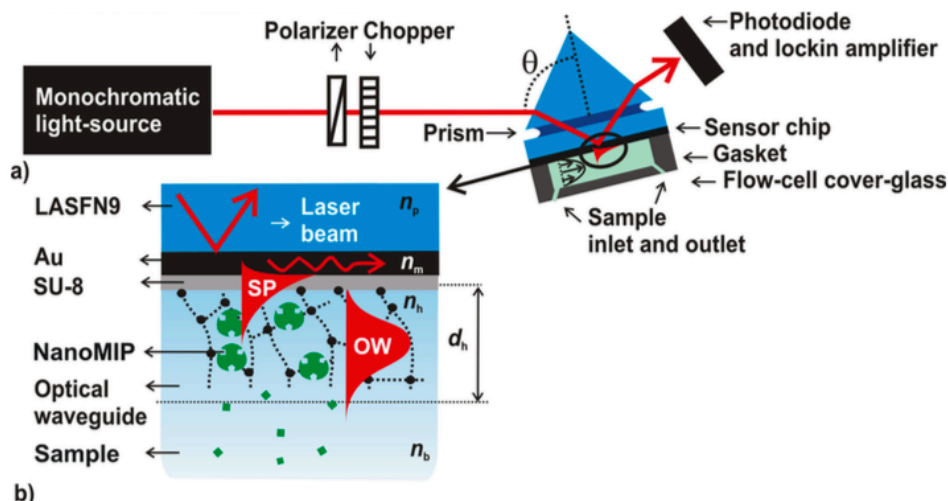


**Fig. 1.9.** 分子鋳型ポリマーの種類<sup>35</sup>。(a) 従来のバルクインプリンティング<sup>37-39</sup>。(b) 表面インプリンティング<sup>40-42</sup>。(c) 基板インプリンティング<sup>43</sup>。(d) アナログ構造インプリンティング (e) 抗体置換インプリンティング<sup>44,45</sup>。(f) 犠牲層インプリンティング<sup>46,47</sup>。

Reprinted with permission from ref. J. R. Schirihagl, 2014. Copyright 2014 American Chemical Society.

## 1.6 MIP を用いて測定センサ

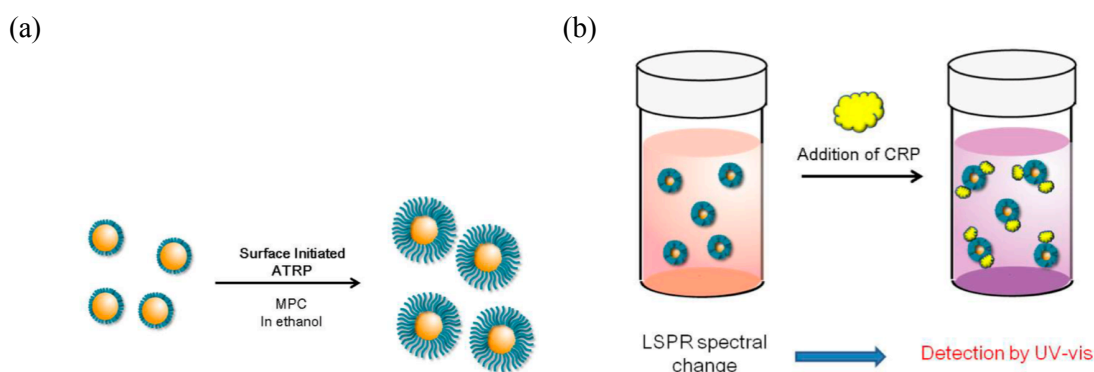
本節では実際に MIP を用いたタンパク質の測定の先行研究について紹介する。Fig. 1.10 は表面プラズモン共鳴 (SPR) と NanoMIP の組み合わせによるエチレングリコール測定センサである<sup>48</sup>。表面プラズモン共鳴とは生化学分子検出用の測定手法である<sup>49</sup>。光学プリズム表面に金薄膜を形成したものに、レーザー光を入射してある特定の角度でプラズモン共鳴が起こる。この時の入射角度は金薄膜表面に吸着した物質密度に依存する。このような簡便な測定手法から現在広く一般的に用いられている手法である。Fig. 1.10 の N. Sharma らは、バルクインプリンティングにより、ナノスケールの粒子状に MIP を形成した NanoMIP を SPR の金薄膜表面に固定している。



**Fig. 1.10.** NanoMIP と表面プラズモン共鳴の組み合わせによるエチレングリコールセンサ<sup>48</sup>。(a) 波長 632.8 nm のレーザー光を上部のプリズムに入射し、反射光をモニターする。(b) Nano-MIP のプラズモン共鳴に対する影響。測定対象分子を MIP が吸着することで、プラズモン共鳴の起こる入射角度が変化する。

Reprinted with permission from ref. N. Sharme et al., 2014. Copyright 2014 American Chemical Society.

NanoMIP が鑄型分子であるエチレングリコールを吸着することによる屈折率変化を、SPR が測定している。また、他の手法として、金ナノ粒子との組み合わせによる測定手法もいくつか報告されている。Fig. 1.11 に示した Y. Kitayama らは表面インプリンティングによるを用いて作製した MIP を金ナノ粒子表面に修飾し、C 反応タンパク質の測定をした<sup>50</sup>。金ナノ粒子は光を照射することで、局在プラズモン共鳴を起こし、Fig. 11(b)のように、ある特定の色を持つ。この金ナノ粒子表面に就職した MIP が測定対象タンパク質を吸着することで、表面の屈折率が変化して色の変化が起こる。このような発色の波長変化を測定することで、タンパク質の吸着を高度に測定可能である。ここで紹介した以外にも、水晶振動子マイクロバランス (QCM)<sup>51</sup>、カンチレバーなど、様々な表面センサへの応用が可能である。



**Fig. 1.11.** (a) Au ナノ粒子への MIP 修飾。(b) C 反応タンパク質の測定。MIP への対象タンパク質吸着を色の変化で検出<sup>50</sup>。

Reprinted with permission from ref. Y. Kitayama et al., 2014. Copyright 2014 American Chemical Society.

## 1.7 本研究の目的

本研究ではバイオセンサの従来からの課題であったセンサの小型化と、分子識別素子の改善を目指した。そのために、方向性結合型光導波路センサおよびエアホール型導波路センサという新規の導波路センサを用いて、従来の光導波路センサでは困難であった  $100\ \mu\text{m}$  以下の小型センサによるタンパク質の測定を目指した。また、従来の分子識別素子である抗体の価格および化学的・物理的強度の問題を解決するために分子鑄型ポリマーと導波路センサを組み合わせることで、繰り返し測定可能なバイオセンサの実現を目指した。

## 1.8 本論文の構成

第1章ではバイオセンサの改善が求められ、センサの小型化および分子識別素子に大きな研究課題があることを示した。バイオセンサにおける光導波路センサと分子鑄型ポリマーの優位性を示し、それぞれの研究例を説明した。この研究背景を踏まえて、本研究の目的と方向性を示した。

第2章では、方向性結合器 (DC) の動作原理および設計方法について説明した。光導波路の電磁気学的な取扱い、数値計算 (FD-BPM, FDTD, FEM) の原理、近接場光センサの動作原理、モード結合理論を用いた DC 干渉計の動作原理・固有モードの導出について概観した。また、SU-8 導波路 DC センサを用いたタンパク質測定実験について述べた。光センサの設計には FD-BPM および FEM 法を用いた電磁界シミュレーションを行なった。これにより、SU-8 導波路の単一モード条件、DC センサのギャップ距離の結合長との関係性、周辺屈折率変化と結合長との関係性を求めた。DC センサと微小流路を組み合わせ、DC センサおよび流路の性能確認のため、水およびエタノールの測定を行なった。DC センサの表面検出感度を評価するために、ストレプトアビジンの測定を行なった。シミュレーションおよび実験データから、DC センサが免疫センサとして使用可能であることを示した。

第3章では、窒化シリコンを導波路材料とした DC センサへヒト血清アルブミン (HSA) を鑄型分子とした分子鑄型ポリマーを修飾し、HSA とウシ血清アルブミン (BSA) の測定を行なった。同時に吸着孔のない無鑄型ポリマー (NIP)、骨格モノマーのみで成膜した MPC も DC センサへ修飾し、MIP の表面感度の評価を行なった。BFD-BPM、FEM 法によって SiN 導波路の単一モード条件およびギャップ距離と結合長との関係を再度計算した。MIP の膜厚および屈折率と結合長との関係を計算した。MIP の吸着孔が DC センサ表面に近いほどセンサ感度が上がることを示した。MIP へ吸着するタンパク質の濃度と屈折率が比例することを示した。MIP、NIP、MPC での BSA および HSA の測定の結果、MIP での HSA 測定のみシグナルが出たことから、MIP が高度にタンパク質を識別していることを示した。MIP 修飾 DC の HSA の繰り返し測定が可能であることを実験より示した。

第4章では、マルチモード干渉計をベースとしたエアホール型導波路 (AHW) センサについて述べた。BPM、FEM 計算より DC センサと比較して 6 倍の感度を持つことを示した。AHW へ MIP を修飾し、HSA の測定結果を第3章の DC センサと比較し、8 倍の感度を持つことを示した。センサ長  $100\ \mu\text{m}$  の AHW センサにおいて臨床での HSA 測定に必要な感度を達成した。

第5章では、本博士論文を総括し、いくつかの将来的な研究の方向性について言及した。

## 参考文献

1. R. Datar, S. Kim, S. Jeon, P. Hesketh, S. Manalis, A. Boisen, and T. Thundat, "Cantilever sensors: nanomechanical tools for diagnostics," *MRS Bull.* 34(6), 449-454 (2009).
2. D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Voros, and E. Reimhult, "Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures" *sensors* 8(3), 1400-1458 (2008).
3. F. Vollmer and L. Yang, "Label-free detection with high-Q microcavities: a review of biosensing mechanisms for integrated devices," *Nanophotonics* 1(3-4), 267-291 (2012).
4. H. H. Gorris, and D. R. Walt, "Analytical chemistry on the femtoliter scale," *Angewandte Chemie International Edition*, 49(23), 3880-2895, (2010).
5. 堀池靖浩、宮原裕二、「バイオチップとバイオセンサー」、共立出版 (2006).
6. C. D. Chin, V. Linder, and S. K. Sia, "Lab-on-a-chip devices for global health: past studies and future opportunities," *Lab on a Chip*, 7(1), 41 – 57, (2007).
7. J. Do, S. Lee, Y. Han, J. H. Kai, C. C. Hong, C. A. Gao, J. H. Nevin, G. Beaucage, C. H. Ahn, "Development of functional lab-on-a-chip on polymer for point-of-care testing of metabolic parameters," *Lab on a Chip*, 8(12), 2113 – 2120, (2008).
8. J. D. Newman, and A. P. F. Turner, "Home blood glucose biosensors: a commercial perspective," *Biosensor Bioelectronics*, 20(12), 2435 – 2453, (2005).
9. A. Smolyaninov, L. Pang, L. Freeman, M. Abashin, and Y. Fainman, "Broadband metacoaxial nanoantenna for metasurface and sensing applications," *Optics Express*, 22(19), 22786-22793, (2014).
10. A. G. Curto, G. Volpe, T. H. Taminiau, M. P. Kreuzer, R. Quidant, and N. F. van Hulst, "Unidirectional emission of a quantum dot coupled to a nanoantenna," *Science*, 329(5994), 930–933, (2010).
11. N. Yu, and F. Capasso, "Flat optics with designer metasurfaces," *Nature Materials*, 13(2), 139-149, (2014).
12. K. Okubo, Y. Yoshizumi, K. Asakawa, H. Suzuki, and M. Yokokawa, "On-chip processing of droplets for surface plasmon resonance analysis," *Sensors and Actuator B*, 190(1), 975-981, (2014).
13. J. Kim, "Joining plasmonics with microfluidics: from convenience to inevitability," *Lab on a Chip*, 12(19), 3611-3623, (2012).
14. S. I. Bozhevolnyi, V. S. Volkov, E. Devaux, J. Y. Laluet, and T. W. Ebbesen, "Channel plasmon subwavelength waveguide components including interferometers and ring resonators," *Nature*, 440(7083), 508-511, (2006).
15. J. Wiedemair, L. L. T. Ngoc, A. V. D. Berg, and E. T. Carlen, "Surface-enhanced raman spectroscopy of self-assembled monolayer conformation and spatial uniformity on silver surfaces," *The Journal of Physical Chemistry*, 118(22), 11857-11868, (2014).



16. P. Kozma, F. Kehl, E. E. Forster, C. Stamm, and F. F. Bier, "Integrated planar optical waveguide interferometer biosensors: a comparative review," *Biosensors and Bioelectronics*, 58(2), 287-307, (2014).
17. M. C. Estevez, M. Alvarez, and L. M. Lechuga, "Integrated optical devices for lab-on-a-chip biosensing applications," *Laser Photonics Review*, 6(4), 463-487, (2011).
18. D. X. Xu, M. Vachon, A. Densmore, R. Ma, A. Del age, S. Janz, J. Lapointe, Y. Li, G. Lopinski, D. Zhang, Q. Y. Liu, P. Cheben, and J. H. Schmid, "Label-free biosensor array based on silicon-on-insulator ring resonators addressed using a WDM approach," *Optics Letter*, 35(16), 2771-2773, (2010).
19. J. H. Wade, and R. C. Bailey, "Refractive index-based detection of gradient elution liquid chromatography using chip-integrated microring resonator arrays," *Analytical Chemistry*, 86(1), 913-919, (2014).
20. C. Cimineli, F. D. Olio, D. M. Campanella, and M. N. Armenise, "High performance SOI microring resonator for biochemical sensing," *Optics & Laser Technology*, 59(11), 60-67, (2014).
21. A. M. Armani, R. P. Kulkarni, S. E. Franser, R. C. Flagan, and K. J. Vahala, "Label-free, single-molecule detection with optical microcavities," *Science*, 317(5839), 783-787, (2007).
22. S. Lee, S. C. Eom, J. S. Chang, C. Huh, G. Y. Sung, and J. H. Shin, "Label-free optical biosensing using a horizontal air-slot SiNx Microdisk resonator," *Optics Express*, 18(20), 20638-20644, (2010).
23. F. Prieto, B. Spulveda, A. Llobera, C. Dominguez, A. Abad, A. Montoya, and L. M. Lechuga, "An integrated optical interferometric nanodevice based on silicon technology for biosensor applications," *Nanotechnology*, 14(8), 907-912, (2003).
24. A. Densmore, M. Vachon, D. X. Xu, S. Janz, R. Ma, Y. H. Li, G. Lopinski, A. Delage, J. Lapointe, C. C. Luebbert, Q. Y. Liu, P. Cheben, and J. H. Schmid, "Silicon photonic wire biosensor array for multiplexed real-time and label-free molecular detection," *Optics Letter*, 34(23), 3598-2600, (2009).
25. A. Ymeti, J. S. Kanger, R. Wijn, P. V. Lambeck, and J. Greve, "Development of a multichannel integrated interferometer sensor," *Sensors and Actuators B*, 83(1-2), 1-7, (2002).
26. A. Brandenburg, R. Krauter, C. Kunzel, M. Stefan, and H. Schulte, "Interferometric sensor for detection of surface-bonding bioreactions," *Applied Optics*, 39(34), 6296-6405, (2000).
27. A. Ymeti, J. Greve, P. V. Lambeck, T. Wink, S. W. F. M. van Hovell, T. A. M. Beumer, R. R. Wijn, R. G. Heideman, V. Subramaniam, and J. S. Kanger, "Fast, ultrasensitive virus detection using a Young interferometer sensor," *Nano Letter*. 7(2), 394-397, (2007).
28. K. E. Zinoviev, A. B. Gonz alez-Guerrero, C. Dom nguez, L. M. Lechuga, "Integrated bimodal waveguide interferometric biosensor for label-free analysis," *Journal of Light Technology*, 29(13), 1926-1930, (2011).
29. R. Chakraborty, J. C. Biswas, S. K. Lahiri, "Analysis of directional coupler electro-optic switches using effective-index-based matrix method," *Optics Communications*, 219(1-6), 157-163, (2003).

30. Y. Enami, D. Mathine, C. T. Derose, R. A. Norwood, and J. Luo, "Hybrid electro-optic polymer/sol-gel waveguide directional coupler switches," *Applied Physics Letters*, 94(21), 213513, (2009).
31. A. Taher Rahmati, and N. Granpayeh, "Simulation of an ultrashort 2D photonic crystal switch based on nonlinear directional coupler," *PIERS Proceedings*, pp. 1591-1594 (2009).
32. R. J. McCosker, and G. E. Town, "Multi-channel directional coupler as an evanescent field optical sensor," *Sensors and Actuators B*, 150(1), 417-424, (2010).
33. B. J. Luff, R. D. Harris, J. S. Wilkinson, R. Wilson, and D. J. Schiffrin, "Integrated-optical directional coupler biosensor," *Optics Letter*. 21(8), 618-620, (1996).
34. G. Vasapollo, R. D. Sole, L. Mergola, M. R. Lazzoi, A. Scardino, S. Scorrano, and G. Mele, "Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective," *Int. J. Mol. Scie*, 12(9), 5908-5945 (2011).
35. R. Schirihagl, "Bioapplications for Molecularly Imprinted Polymers," *Analytical chemistry*, 86(1), 250-261, (2013).
36. T. Takeuchi, T. Hayashi, S. Ichikawa, A. Kaji, M. Masui, H. Matsumoto, and R. Sasao, "Molecularly Imprinted Tailor-Made Functional Polymer Receptors for Highly Sensitive and Selective Separation and Detection of Target Molecules," *Chromatography*, 37(2), 43-64, (2016).
37. J. Kohn, W. J. Welsh, and D. Knight, "A new approach to the rationale discovery of polymeric biomaterials," *Biomaterial*, 28(29), 4171-4177, (2007).
38. G. Dvorakova, R. Haschick, M. Klapper, K. Müllen, and A. Biffis, "Nonaqueous emulsion polymerization: A practical synthetic route for the production of molecularly imprinted nanospheres," *Journal of Polymer Science*, 51(2), 267-274, (2013).
39. T. V. Nicolescu, A. Sarbu, S. O. Dima, C. Nicolae, and D. Donescu, "Molecularly imprinted "bulk" copolymers as selective sorbents for gallic acid," *Journal of Applied Polymer Science*, 127(1), 366-374, (2013).
40. M. Darder, P. Aranda, L. B. Asperilla, A. Llobera, V.J. Cadarso, C. F. Sánchez, and E. R. Hitzky, "Algae-silica systems as functional hybrid materials," *Journal of Material Chemistry*, 20, 9362-9369, (2010).
41. A. Seifner, P. Lieberzeit, C. Jungbauer, F. L. Dickert, "Synthetic receptors for selectively detecting erythrocyte ABO subgroups," *Analytica Chimica Acta*, 651(2), 215-219, (2009).
42. G. M. Birnbaumer, P. A. Lieberzeit, L. Richter, R. Schirihagl, M. Milnera, F. L Dickert, A. Bailey, and P. Ertl, "Detection of viruses with molecularly imprinted polymers integrated on a microfluidic biochip using contact-less dielectric microsensors," *Lab on a Chip*, 9(24), 3549-4556, (2009).
43. H. Nichino, C. S. Huang, and K. J. Shea, "Selective protein capture by epitope imprinting," *Angewandte Chemie International Edition*, 45(15), 2392-2396, (2006).
44. R. Schirihagl, P. A. Lieberzeit, and F. L. Dickert, "Chemosensors for Viruses Based on Artificial Immunoglobulin Copies," *Advanced Materials*, 22(18), 2078-2081, (2010).

45. R. Schirhagl, A. Seifner, F. T. Husain, M. Cichna-Markl, P. A. Lieberzeit, and F. L. Dickert, "Antibodies and Their Replicae in Microfluidic Sensor Systems-Labelfree Quality Assessment in Food Chemistry and Medicine," *Sensor Letters*, 8(3), 399-404, (2010).
46. H. Shi, W. B. Tsai, M. D. Garrison, S. Ferrari, and B. D. Ratner, "Template-imprinted nanostructured surfaces for protein recognition," *Nature*, 398(6728), 593-597, (1999).
47. F. L. Dickert, O. Hayden, R. Bindeus, K. J. Mann, D. Blaas, and E. Waigmann, "Bioimprinted QCM sensors for virus detection—screening of plant sap," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(8), 1929-1934, (2004).
48. N. Sharpe, C. Petri, U. Jonas, M. Bach, G. Tover, K. Mrkvová, M. Vala, J. Homola, W. Knoll, and J. Dostálek, "Molecularly Imprinted Polymer Waveguides for Direct Optical Detection of Low-Molecular-Weight Analytes," *Molecular Chemistry and Physics*, 215(23), 2295-2304, (2014).
49. P. Anton, "Surface plasmon resonance, in protein-ligand interactions," *Hydrodynamics and Calorimetry*, (2001).
50. F. L. Dickert, O. Hayden, R. Bindeus, K. J. Mann, D. Blaas, and E. Waigmann, "Bioimprinted QCM sensors for virus detection—screening of plant sap," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(8), 1929-1934, (2004).
51. Y. Kitayama and T. Takeuchi, "Localized Surface Plasmon Resonance Nanosensing of C - Reactive Protein with Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)- Grafted Gold Nanoparticles Prepared by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization," *Analytical Chemistry*, 86(11), 5587-5594, (2014).

## 第2章

### SU-8 方向性結合型光導波路の設計・作製

#### 2.1 はじめに

本章ではネガ型フォトリソ SU-8 から構成される DC の数値計算によるデバイス設計・センサ性能検討、デバイス作製、光入射実験結果について述べる。

本研究において、高信頼な微量物質検出用に DC と微小流路を積層合体させる微小交差領域は、従来の MZI (素子領域: 1 mm × 10 mm) では困難な ~100 μm へのセンサ長の小型化を目標とした。DC の従来例では、高感度新構造への報告は多いが<sup>1</sup>、本研究では実用に耐えうるセンサ感度を維持しつつ、バイオセンサの課題であった小型化の実現を目指した。そのための実験として、電磁界シミュレーションによる DC のバイオセンサとしての特製評価およびセンサ感度向上のための設計を行った。続いてデバイスを微細加工技術によって作製した。作製したデバイスを用いて、方向性結合器光導波路の基本性能の評価のための、可視光の光導波路への入射とビオチン・ストレプトアビジン反応によるシグナル変化を測定した。測定したシグナルは最小二乗法を用いて結合理論式へのフィッティングが行われ、シミュレーション結果の比較を行った。

#### 2.2 平面導波路の電磁気学的取扱い

光伝搬はマクスウェル方程式を基本理論としている。物質の電場  $\mathbf{E}$  および磁場  $\mathbf{H}$  に対する応答は、物質の透磁率  $\mu_0\mu(\mathbf{r}, t)$  および誘電率  $\epsilon_0\epsilon(\mathbf{r}, t)$  に基づいて決定する。電場と磁場への応答を誘電率および透磁率は表す。導波構造の受動的な振る舞いを扱うために、以下の過程を元に議論を行う。

(1) 非磁性体 導波光学での磁場への対応を無視するために、計算で扱う材料の比透磁率  $\mu(\mathbf{r}, t)$  を全て 1 とする。多くの自然界の物質もまた比透磁率は 1 である。

(2) エネルギー源の不在 導波路構造内にはエネルギー源は存在しない。そこで、マクスウェル方程式に含まれる電荷密度  $\rho$  と電流密度  $\mathbf{j}$  の項の値を 0 とする。

(3) 等方性誘電体 導波路構造は複数の材料からなる。それぞれは均質、線形的な応答をする。また、時間依存性はない。よって、比誘電率  $\epsilon(\mathbf{r})$  は位置のみに依存した関数であるため、材料周辺の電場強度による屈折率変調などの非線形性は考えなくて良い。

以上(1)-(3)の仮定を考慮し、導波路での計算で用いるマクスウェル方程式は次式:

$$\nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = -\mu_0 \frac{\partial}{\partial t} \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) \quad (1)$$

$$\nabla \times \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \epsilon_0 \epsilon_r(\mathbf{r}) \frac{\partial}{\partial t} \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (2)$$

$$\nabla \cdot \{\epsilon_r(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)\} = 0 \quad (3)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = 0 \quad (4)$$

で表される。この式より、3次元の波動方程式:

$$\nabla^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (5)$$

$$\nabla^2 \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) \quad (6)$$

が導き出される。上記の式では、 $c^2 = (\mu_0 \epsilon_0)^{-1}$  である。以上の (1) - (6) 式は電磁場間の線形性を示している。これは、電磁場の干渉が光波の重ね合わせで表わせることを示している（ホイヘンスの原理）。

導波路構造の計算では、異なる誘電体間での伝搬光の透過および反射が起こる場合が多々ある。そのため、誘電体界面における電磁場の振る舞いの計算は重要となる。誘電率が  $\epsilon_r^{(1)}$ 、 $\epsilon_r^{(2)}$ （屈折率の値は  $n_1$ 、 $n_2$  とする）のことなる 2 つの誘電体について考える。計算上、誘電体界面での電場および磁場の接線成分は連続となる。

$$E_t^{(1)} = E_t^{(2)} \quad (7)$$

$$H_t^{(1)} = H_t^{(2)} \quad (8)$$

また、電場および磁場の法線成分は界面で不連続となり、電束密度  $\epsilon \mathbf{E}$  と磁束密度  $\mu \mathbf{H}$  は連続となる必要がある。

$$\epsilon_0 \epsilon_r^{(1)} E_n^{(1)} = \epsilon_0 \epsilon_r^{(2)} E_n^{(2)} \quad (9)$$

$$\mu_0 \mu_r^{(1)} H_n^{(1)} = \mu_0 \mu_r^{(2)} H_n^{(2)} \quad (10)$$

ここで Fig. 2.1 (a) に示すような電磁波の伝搬方向を  $z$  軸とし、 $y$  軸方向に広がった平面導波路について考える。導波路中の電場・磁場は次式：

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}(x, y) e^{i(\omega t - \beta z)} \quad (11)$$

$$\mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{H}(x, y) e^{i(\omega t - \beta z)} \quad (12)$$

で表せる。ここで、 $\beta$  は伝搬定数、 $\omega$  は角振動数であり、 $\omega = 2\pi c/\lambda$  で表せる。式(11)、(12)における電場は、モード分布  $\mathbf{E}(x, y)$  が一定のまま伝搬方向 ( $z$ ) へ位相速度  $\omega/\beta$  で伝搬する波であると考えられる。式(11)、(12)をマクスウェル方程式(1)、(2)に代入すると：

$$\nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}) = -i\omega\mu_0 \mathbf{H}(\mathbf{r}) \quad (13)$$

$$\nabla \times \mathbf{H}(\mathbf{r}) = i\omega\epsilon_0 \epsilon_r(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}) \quad (14)$$

と表せる。平面導波路中の電磁場は式(6)、(12)、(14)を用いて次式：

$$\frac{\partial}{\partial y} E_z + i\beta E_y = -i\omega\mu_0 H_x \quad (15)$$

$$-i\beta E_x - \frac{\partial}{\partial x} E_z = -i\omega\mu_0 H_y \quad (16)$$

$$\frac{\partial}{\partial x} E_y - \frac{\partial}{\partial y} E_x = -i\omega\mu_0 H_z \quad (17)$$

$$\frac{\partial}{\partial y} H_z + i\beta H_y = i\omega\varepsilon_0 n^2(\mathbf{r}) E_x \quad (18)$$

$$-i\beta H_x - \frac{\partial}{\partial x} H_z = i\omega\varepsilon_0 n^2(\mathbf{r}) E_y \quad (19)$$

$$\frac{\partial}{\partial x} H_y - \frac{\partial}{\partial y} H_x = i\omega\varepsilon_0 n^2(\mathbf{r}) E_z \quad (20)$$

で表される。平面導波路内の電磁場分布は、上記の式(15)-(20)を用いて誘電体の境界条件を解くことで計算できる。平面導波路のコア、クラッドの境界面は  $x$  軸方向にある。このため、 $y$  成分の偏微分は 0 である。導波路の形成された基板面に対して電場の振動方向が平行な伝搬モードを TE モードという。これは式(15)-(17) から計算でき、 $E_y$ 、 $H_x$ 、 $H_z$  で表せる。磁場の振動方向が基板面に対して平行な伝搬モードを TM モードとい、(18) - (20) から計算でき、 $H_y$ 、 $E_x$ 、 $E_z$  で表せる。TE モードの  $E_y$  は次式：

$$\frac{d^2}{dx^2} E_y + (\omega^2\mu_0\varepsilon_0 n^2(x) - \beta^2) E_y = 0 \quad (21)$$

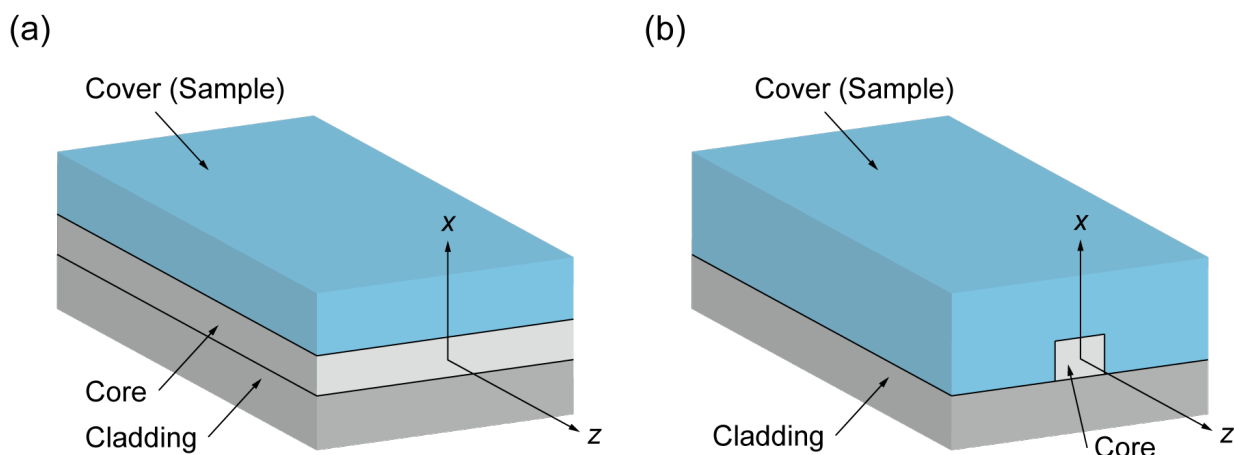
で表せる。 $E_y$  の解より  $H_x$  お呼び  $H_z$  を解くことができる。式(21)の係数  $\omega^2\mu_0\varepsilon_0 n^2(x) - \beta^2$  の値によって、 $E_y$  は正弦関数や指数関数の波形となる。コア、クラッドの解をそれぞれ  $\sin$  関数、指数関数とすると、 $\beta$  が次式：

$$\beta > \frac{\omega n_{\text{clad, max}}}{c} \quad (22)$$

の条件を満たす。 $n_{\text{clad, max}}$  はコアよりしたのクラッドの屈折率の内最大のものをさす。導波路内の電磁場は式(22)を満たす固有値問題に帰着する。よって、離散的な有限個の解が得られる。求められたそれぞれの伝搬定数は、大きい順に 0 次、1 次、2 次と表す。また、TE モードの 0 次は TE0 と呼ぶ。

これまで考えてきた平面導波路は  $x$  方向にのみ光は閉じ込められる (2 次元閉じ込め)。本研究で用いた導波路は  $x, y$  方向の 2 次元での光の閉じ込めをする。コア材料の屈折率はクラッド材料のそれよりも高いため、光はコアに閉じ込められて伝搬する。本研究で設計、作製した導波路構造は下部クラッド上に形成され、3 方向を水やタンパク質溶液などの誘電体に接している (Fig. 2.1(b))。このような簡単な構造でも伝搬モードの計算は困難である。よって、電磁界分布はシミュレーションにより計算する。

シミュレーションより、導波路コアをエネルギー損失なく伝搬する導波モードとクラッドの電磁界が振動子、エネルギーが失われる放射モードの伝搬定数が求められる。TE0、TM0 は定義上、常に導波モード基底モードと呼ばれる。導波路の幅と高さを大きくすると、それに伴い励起する導波モードの数が増える。TE0 モードのみが励起する導波路を単一モード導波路、複数の導波モードの励起する導波路を多モード導波路という。



**Fig. 2.1** (a) 平面導波路および、(b) 細線導波路の模式図。コアに閉込められた光は  $z$  軸方向に伝搬する。

## 2.3 シミュレーション原理

光導波路構造の設計を行う上で、伝搬光の電磁場分布の計算が必要となる。2.2 節で述べたように、単純な導波路構造であっても伝搬モードの解析は困難である。よって、有限差分法を基礎としたシミュレーションが一般的に用いられる。導波路構造の計算モデルは、波長の  $1/10$  程度の長さの直方体（グリッド）に分割される。それぞれのグリッドにおいて差分化されたマクスウェル方程式を解く。これによって導波路構造を伝搬する光の電磁場分布が計算できる。シミュレーションには電磁界シミュレーションソフトウェア（Synopsis）である Rsoft® を使用した。このソフトウェアに内蔵された BeamPROP、FullWave、FemSIM と呼ばれる異なる手法を用いた計算ソフトを必要な計算に応じて使い分けをした。それぞれの計算ソフトは、有限差分ビーム伝搬法（Finite Difference Beam Propagation Method: FD-BPM）、有限差分時間領域（Finite Difference Time Domain: FDTD）法、有限要素法（Finite Element Method: FEM）に基づいている。本節では、これらの計算原理について説明する。

光導波路を含む光素子における光伝搬の計算で最も一般的に用いられる計算手法は、FD-BPM 法である<sup>2-3</sup>。欠点として、本手法は光の伝搬方向のみの一方向の計算しかできないため、光の反射は計算できない。反射を考慮する必要がある構造においては、FDTD 法が用いられる。FDTD 法は導波路構造を伝搬する光の時間変化を計算できる利点がある。可視光から近赤外までの範囲（300 - 1500 nm）であれば、サブミクロンからマイクロメートルのスケールの計算領域において非常に効率的な計算が可能である。しかし、時間差分の計算を行うため、BPM 法と比較して 100-10,000 倍、計算する構造によってはそれ以上の計算時間がかかってしまうという欠点がある。よって、基本的には電磁場分布を計算する上では反射を考慮しない場合は BPM 法を用いる。DEM 法は、伝搬方向に均一な構造を持つ計算モデルにおける固有モードの伝搬定数などの計算に特化している。

### 2.3.1 FD-BPM

BPM は伝搬する単一の波長からなる電磁波の波動方程式を近似することによって解いていく方法である。次式で示すヘルムホルツ方程式：

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} + k(x, y, z)\phi = 0 \quad (23)$$

は伝搬波が満たす波動方程式として一般的に用いられる。電場について計算する場合は、式(23)において  $E(x, y, z, t) = \phi(x, y, z) e^{-i\omega t}$  とすれば、屈折率  $n$  の空間分布によって解けることがわかる。光の伝搬方向 ( $z$  軸方向とする) に急激な位相変化の起こる点が存在すると、解の精度が低下する。これを回避するために、 $\phi(x, y, z)$  の伝搬によって変化する成分を緩やかに変化するものと急激に変化するもので次式：

$$\phi(x, y, z) = u(x, y, z) e^{i\bar{k}z} \quad (24)$$

によって分離する。 $\bar{k}$  は参照波数といい、関数  $\phi$  の位相変化の平均値を表す。伝搬光の緩やかに変化する成分についてのヘルムホルツ方程式は、式(23)、(24) を用いて：

$$\frac{\partial^2 u}{\partial z^2} + 2i\bar{k} \frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + (k^2 - \bar{k}^2)u = 0 \quad (25)$$

となる。関数  $u$  を含む項を除去すると、式(25)はヘルムホルツ方程式と同一である。式(25)において、関数  $u$  の変化が  $z$  方向の変化に対して非常に緩やかであると仮定すると、第1項は第2項と比較して非常に小さいため、0 に近似できる。この近似は緩慢変化包絡線近似 (Slowly varying envelope approximation) と呼ぶ。式(25)をこのように近似すると、以下式が得られる。

$$\frac{\partial u}{\partial z} = \frac{i}{2\bar{k}} \left\{ \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + (k^2 - \bar{k}^2)u \right\} \quad (26)$$

この式は 3 次元 BPM 計算の基本方程式であり、放物型偏微分方程式 (Parabolic partial differential equation) と呼ばれる。式(26)に入射波  $u(x, y, z = 0)$  を入力すると、 $z (>0)$  方向への伝搬光の電場分布変化が計算できる。

本研究で用いた計算ソフト BeamPROP では BPM 法に、クラנק・ニコルソン法に基づいた有限差分法を統合した FD-BPM 法を用いている。有限差分法では、伝搬光の伝搬方向における離散的な点においての関数を考える。 $z$  平面内の電場分布が離散的な点について定義された時、 $z$  軸方向に 1 点分進んだ隣の平面内のそれぞれの点における電場分布が計算できる。この計算を伝搬方向に対して順番に行っていくことによって、最終的には導波路構造を含む計算領域全体の 3 次元電場分布が計算できる。 $n$  番目の平面上のグリッド  $i$  での関数  $u_i^n$  について考える。 $n$  番目と  $n+1$  番目の平面に挟まれた領域での式(26)は差分方程式：

$$\frac{u_i^{n+1} - u_i^n}{\Delta z} = \frac{i}{2\bar{k}} \left\{ \frac{\delta^2}{\Delta x^2} + \left( k \left( x_i, z_{n+\frac{1}{2}} \right)^2 - \bar{k}^2 \right) \right\} \frac{u_i^{n+1} + u_i^n}{2} \quad (27)$$

で表される。ここで、 $\delta^2 u_i = (u_{i+1} + u_{i-1} - 2u_i)$ 、 $z_{n+1/2} \equiv z_n + \Delta z/2$  であり、 $\delta^2$  は 2 次の差分作用素を表す。3×3 正方行列の逐次計算結果が式(27)から得られ、これを用いると関数  $u_i$  から  $u_{i+1}$  が計算できる。FD-BPM 法を用いた計算では、境界条件の設定や偏光情報の導入方法、2 方向伝搬、BPM を用いたモードの解法 (伝搬定数の算出) など重要な要素が、ここでは本計算手法の基本である差分方程式導出の説明のみとする<sup>4,5</sup>。



### 2.3.2 FDTD

式(1)のマクスウェル方程式は電場および磁場の内、片方の空間的な微分係数がわかれば、もう片方の時間的な微分係数が求まること、 $x, y, z$  について巡回対称性があることを示す。FDTD 法ではグリッドへの計算領域の分割と、時間変数を含むマクスウェル方程式を中央差分近似によって空間変数と時間変数を分離する手法を用いる。この近似方程式に電場および磁場を代入することで、それぞれのグリッド、時間における電磁場のベクトル解を求めることができる。

FDTD 法では、3次元の計算領域を Yee セル<sup>6</sup>と呼ばれるグリッドに距離 $\Delta x, \Delta y, \Delta z$  で、時間を $\Delta t$  で分割する手法が最も一般的である。分割された Yee セルでの電場および磁場ベクトルを個別に計算していく。ある計算ステップ  $n, n+1$  における時刻  $t = n\Delta t$  および  $(n+1/2)\Delta t$  での電場と電場ベクトルそれぞれの成分を計算する。ステップ  $n$  での磁場と、ステップ  $n-1$  での電場の空間変化量の項を加えることで、ステップ  $n$  での電場のベクトル解が得られる。以上の方法を用いて、あるメッシュ点における電磁場成分 ( $E_x, E_y, E_z, H_x, H_y, H_z$ ) についての方程式が求まる。例として、 $H_x$  と  $E_x$  に関する方程式は、次式

$$H_x^{n+1/2} = H_x^{n-1/2} + \frac{\Delta t}{\mu\Delta z} \{E_y^{n(i,j,k)} - E_y^{n(i,j,k-1)}\} - \frac{\Delta t}{\mu\Delta y} \{E_z^{n(i,j,k)} - E_z^{n(i,j-1,k)}\} \quad (28)$$

$$E_x^{n+1} = E_x^n + \frac{\Delta t}{\varepsilon\Delta y} \{H_z^{n+1/2(i,j+1,k)} - H_z^{n+1/2(i,j,k)}\} - \frac{\Delta t}{\varepsilon\Delta z} \{H_y^{n+1/2(i,j,k+1)} - H_y^{n+1/2(i,j,k)}\} \quad (29)$$

で表される。ここで、整数値  $i, j, k$  はメッシュ点の  $x, y, z$  方向の位置情報を表す。時間差を $\Delta t/2$  だけずらして電場と磁場のベクトルを式(28)、(29)などを計算することで、時間発展的な電磁場分布を求めることができる<sup>7</sup>。計算領域の境界面には Perfectly matched layer (PML)<sup>7</sup> や Periodic boundary conditions (PBC)などを用い、境界面での光の反射などを防ぐ<sup>8</sup>。

### 2.3.3 FEM

FEM 法は、計算領域が伝搬方向に対して連続的である場合、伝搬モードと伝搬定数を計算可能である。例として、磁場計算の場合はマクスウェル方程式である

$$\nabla \times \varepsilon_r^{-1}(\nabla \times \mathbf{H}) = k_0^2 \mathbf{H} \quad (30)$$

と  $\mathbf{H}^*$  との外積から、

$$F = \int_S \{(\nabla \times \mathbf{H})^* \cdot \varepsilon_r^{-1}(\nabla \times \mathbf{H}) - k_0^2 \mathbf{H} \cdot \mathbf{H}^*\} dx dy \quad (31)$$

を得る。式(31)は評価関数と呼ばれ、 $F$  は計算領域を表す。また、式(31)は式に登場する変数が  $a_i$  を  $\partial F / \partial a_i = 0$  満たすと仮定することで、行列の固有値問題として扱う。式(31)は計算領域全体について計算する必要があるため、計算領域は FDTD 法と同様に微小なメッシュに分割される。この評価関数は積分値としてではなく、メッシュごとの計算値の積算として近似される。以上の方法により、計算領域それぞれのメッシュ点における電場および磁場の固有モードの分布と伝搬定数が計算できる。

## 2.4 近接場光センサ

光導波路のセンサとしての利用は Lukosz らが 1980 年代後半に報告したのが始まりである<sup>9,10</sup>。これは、平面導波路の表面屈折率変化を近接場光を用いて測定するという手法を用いた。これ以来、化学およびバイオ分子の検出の応用例が多数報告されてきた。

本節では近接場光を用いた表面検出の原理について述べる。導波路中の伝搬光はコアに集中するが、コアとクラッドの界面からクラッド側に漏れ出した近接場と呼ばれる電場成分が存在する。近接場成分は指数関数的に減衰し、その浸透距離はコア・クラッド界面から 30-100 nm ほどである。この範囲内においては、上部クラッドの屈折率  $n_{\text{clad}}$  やセンサ表面に形成された吸着層の屈折率  $n_{\text{ad}}$  および膜厚  $t_{\text{ad}}$  を敏感に感じ取り、伝搬モードの等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  の変化が起こる。伝搬モードの位相速度  $v_p$  と等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  の関係は次式：

$$v_p = \frac{c}{n_{\text{eff}}} \quad (32)$$

で表される。等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  は導入する光の波長  $\lambda$ 、導波路幅  $w$  および高さ  $h$ 、コア材料の屈折率  $n_{\text{core}}$ 、偏光にも影響される。等価屈折率は伝搬定数を用いて  $n_{\text{eff}} = c\beta/\omega$  の式より求められる。干渉計を用いて、位相速度の変化量から等価屈折率を求めるセンサが数多く開発されてきた。Fig. 2.2 は近接場光センサの動作原理を示す。バイオセンサにおける等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  の変化は、主に上部クラッドの屈折率  $n_{\text{clad}}$  と吸着層の屈折率  $n_{\text{ad}}$  によるものに分けられる (Fig. 2.2 (b))。以下に導波路表面へ吸着した生体分子が、近接場成分を介して伝搬モードの等価屈折率に変化を与える様子を示す。計算は、コアおよびクラッド材料への物質拡散は起きず、凹凸や細孔の無い平滑な導波路を想定する。等価屈折率変化は次式：

$$\Delta n_{\text{eff}} = \left( \frac{\partial n_{\text{eff}}}{\partial t_{\text{ad}}} \right) \Delta t_{\text{ad}} + \left( \frac{\partial n_{\text{eff}}}{\partial n_{\text{ad}}} \right) \Delta n_{\text{ad}} + \left( \frac{\partial n_{\text{eff}}}{\partial n_{\text{clad}}} \right) \Delta n_{\text{clad}} \quad (33)$$

で表される。導波路表面への生測定対象分子の吸着層膜厚変化に対する感度はバイオセンサにおいて非常に重要である。ここで、入射光は TE モードとし、検出対象分子が導波路表面に均質な薄膜 ( $t_{\text{ad}} \ll \lambda$ ) を形成すると仮定する。吸着層の膜厚と等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  の関係は次式：

$$\frac{\partial n_{\text{eff}}}{\partial t_{\text{ad}}} = \left( \frac{n_{\text{core}}^2 - n_{\text{eff}}^2}{n_{\text{eff}} d_{\text{eff}}} \right) \left( \frac{n_{\text{ad}}^2 - n_{\text{clad}}^2}{n_{\text{core}}^2 - n_{\text{clad}}^2} \right) \quad (34)$$

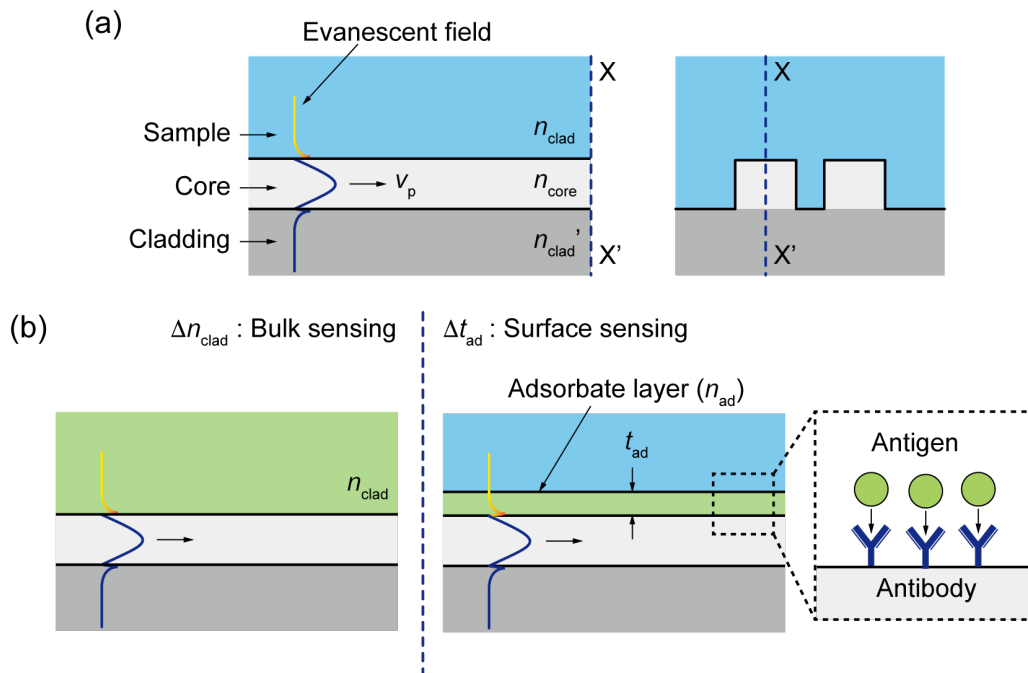
で表される。ここで、 $d_{\text{eff}}$  はコア領域の有効屈折率に基づいた厚さを表す。実際の測定対象分子の測定では、吸着層に含まれる分子量を求める。そのため、他の検出系と性能を比較する上で測定対象分子の表面被覆率  $\Gamma$  が重要となる。表面被覆率  $\Gamma$  と等価屈折率  $n_{\text{eff}}$  は式(33)右辺の初項を用いて、

$$\Delta \Gamma = \left( \frac{\partial \Gamma}{\partial t_{\text{ad}}} \right) \left( \frac{\partial t_{\text{ad}}}{\partial n_{\text{eff}}} \right) \Delta n_{\text{eff}} \quad (35)$$

と表せる。また、表面被覆率  $\Gamma$  は次式：

$$\Gamma = t_{\text{ad}} \left( \frac{n_{\text{ad}} - n_{\text{core}}}{\frac{\partial n_{\text{ad}}}{\partial c}} \right) \quad (36)$$

と表せる<sup>11</sup>。式(36)の偏微分係数は



**Fig. 2.2** (a) 伝搬モードとエバネッセント場の模式図。導波路コア内の光は位相速度  $v_{p,1}$  で伝搬する。等価屈折率が増大すると位相速度が遅くなる ( $v_{p,2} < v_{p,1}$ )。 (b) 位相速度の遅延は上部クラッドの屈折率変化  $\Delta n_{\text{clad}}$  (バルク検出)、吸着層の膜厚変化  $\Delta t_{\text{ad}}$ 、屈折率変化  $\Delta n_{\text{ad}}$  (表面検出) により起こる。

$$\frac{\partial \Gamma}{\partial t_{\text{ad}}} = \frac{n_{\text{ad}} - n_{\text{core}}}{\frac{\partial n_{\text{ad}}}{\partial c}} \quad (37)$$

である。タンパク質層の吸着において、式(37)右辺の分母  $\frac{\partial n_{\text{ad}}}{\partial c}$  と吸着層の屈折率  $n_{\text{ad}}$  は 0.188 mL/g、1.45 が文献値として知られている<sup>12</sup>。

## 2.5 モード結合理論における方向性結合器 (DC)

平面導波路以上に複雑な構造における電磁場分布や伝搬定数を解析する理論式は存在しない。しかし、光導波路のセンサへ応用するにはこれらの基本特性を事前に知る必要がある。計算対象の導波路構造が理論式の存在する構造 (基準構造) に近い場合またはその組み合わせとみなせる場合は、基準構造の解を元にして計算を行える。本節では、DC の基本特性のモード結合理論を用いた計算による求め方について述べる。

### 2.5.1 DC のモード結合方程式

Fig. 2.3 に DC の基本構造を示す。2本の導波路が光の波長程度離れて並んだ構造からなる。それぞれの導波路が互いに影響しない距離まで離れていれば、個別の固有モードが励起する。しかし、このように導波路間の間隔が光の波長の数倍の距離まで接近すると、伝搬光が2本の導波路の間を往復する。この現象は光導波路間のモード結合と呼ばれる。モード結合は2本の導波路表面から漏れ出した近接場成分が相互作用し、導波路間において伝搬光エネルギーの移行が生じるために発生する。近接場成分は微弱であるため、2本の導波路間をまたがった定在波が励起するには、

互いの導波路表面の近接場成分が長距離にわたって同位相で寄与することが求められる。2本の導波路が同じ構造と伝搬定数を持つとき、それぞれの導波路内で励起する伝搬モードの伝搬方向周期も等しくなる。2本の導波路を導波路 A、導波路 B とし、 $z$  軸方向に伝搬する光のモード結合について考える。モード結合が起こっている時の2本の導波路での電場を

$$R(\mathbf{r}, t) = A(z)E_A(x, y)e^{i(\omega t - \beta_A z)} \quad (38)$$

$$S(\mathbf{r}, t) = B(z)E_B(x, y)e^{i(\omega t - \beta_B z)} \quad (39)$$

で表す。ここで、 $E_j(x, y)$  ( $j = A, B$ )、 $\beta_j$ は導波路 A、B を伝搬する光によって生じた電場、ここで、 $E_j(x, y)$  ( $j = A, B$ ) は各導波路が独立して存在すると仮定した場合の電場、 $\beta_j$  は伝搬定数、 $A(z)$ 、 $B(z)$ はモード結合によって生じた電場変化成分、 $\omega$  は角周波数を表す。単純のため、導波路 A、B は単一モード導波路とする。モード結合により変化した電場は、各導波路の電場の変化成分  $A(z)$ 、 $B(z)$  の線形結合で表せる。これにより、結合系のモード結合方程式、伝搬定数、固有関数：

$$\frac{d}{dz} \begin{pmatrix} R \\ S \end{pmatrix} = -i \begin{pmatrix} \beta_A & \kappa_{AB} \\ \kappa_{BA} & \beta_B \end{pmatrix} \begin{pmatrix} R \\ S \end{pmatrix} \quad (40)$$

$$\beta_m = \frac{(\beta_A + \beta_B) \pm \delta\beta}{2} \quad (41)$$

$$\delta\beta \equiv \sqrt{(\beta_A - \beta_B)^2 + |2\kappa_{AB}|^2} \quad (42)$$

$$\left[ \frac{S(z)}{R(z)} \right]_m = \frac{-(\beta_A - \beta_B) \pm \delta\beta}{2\kappa_{AB}} \quad (43)$$

が得られる。ここで、 $\kappa_{ij}$  はモード結合定数であり、 $\kappa_{AB} = \kappa_{BA}^*$  を満たす。この式は光導波路の解析において、定性的な電場の振舞いを示す。

## 2.5.2 固有モード（偶・奇モード）と DC の光強度分布

節 2.5.1 で導出したモード結合による個別の導波路における固有モードを 1 つにまとめると、DC の固有モードである偶モード、奇モードを求めることができる。モード結合係数  $\kappa_{AB}$  が位置  $z$  に依存しない、定数であるという条件では、結合系の伝搬定数と電解振幅比もまた位置  $z$  に依存しな

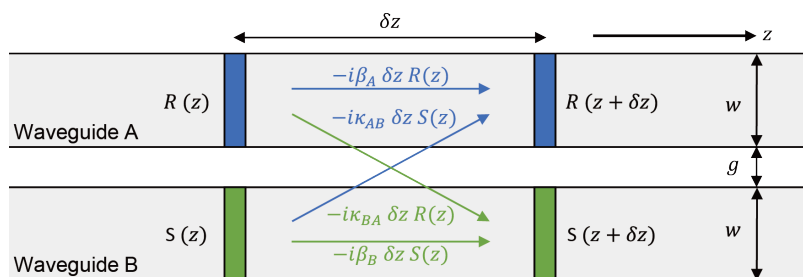


Fig. 2.3 幅  $w$ 、導波路間距離  $g$  の2本の平行導波路におけるモード結合による電場移行。

い。このことは、ある固有モードの電解成分比において、DC は新たに固有モードを形成できることを示す。式(40)の右辺の行列成分は、その伝搬定数である固有値を対角成分に持つ次の行列  $M$  を用いて次のように対角化できる。

$$\frac{d}{dz} \begin{pmatrix} R \\ S \end{pmatrix} = -iM \begin{pmatrix} \beta_1 & 0 \\ 0 & \beta_2 \end{pmatrix} M^{-1} \begin{pmatrix} R \\ S \end{pmatrix} \quad (44)$$

ここで、行列  $M$  は次式：

$$M = \begin{pmatrix} (\beta_A - \beta_B) + \delta\beta & 2\kappa_{AB} \\ 2\kappa_{BA}^* & -(\beta_A - \beta_B) - \delta\beta \end{pmatrix} \quad (45)$$

で表される。式(45)に左から行列  $M^{-1}$  を掛けると、次式：

$$\frac{d}{dz} \begin{pmatrix} E_1 \\ E_2 \end{pmatrix} = -i \begin{pmatrix} \beta_1 & 0 \\ 0 & \beta_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_1 \\ E_2 \end{pmatrix} \quad (46)$$

のように対角行列で表示できる。ここで、式(46)は結合系の光波伝搬を表す式であり、 $\beta_m$  ( $m = 1, 2$ ) は式(41)に示した伝搬定数である。また、結合系の固有モードの電界  $E_m$  を

$$\begin{pmatrix} E_1 \\ E_2 \end{pmatrix} = M^{-1} \begin{pmatrix} R \\ S \end{pmatrix} \quad (47)$$

とおいた。

本研究で用いる DC は2本の導波路の形状が等しいため、変換の方向に関わらず、モード結合定数  $\kappa_{ij}$  が変化しないと仮定できる。ここで、光が導波路 A にのみ入射されたと仮定すると、モード結合定数、伝搬定数、結合によって変化する電場はそれぞれ  $\kappa_{AB} = \kappa_{BA} (= \kappa)$ ,  $\beta_A = \beta_B (= \beta)$ ,  $A(0) \neq 0, B(0) = 0$  と表せる。結合系の伝搬定数に対応する固有モードは、それぞれ偶モード、奇モードになる (Fig. 2.4)。

2本の導波路における電界振幅  $R, S$  が共通因子の  $\exp[-i(\beta + \kappa)z]$  を持つと仮定する。 $R, S$  が自明解以外の解を持つための条件から、式(40)のモード方程式を解くことができる。電場が距離  $z$  だけ伝搬した時の前進波の相対光強度は

$$\left| \frac{A(z)}{A(0)} \right|^2 = \cos^2(\kappa z) \quad (48)$$

$$\left| \frac{B(z)}{A(0)} \right|^2 = \sin^2(\kappa z) \quad (49)$$

と表せる。これらの式から、片方の導波路に光が入射された時の導波路 A, B 内における光強度は伝搬とともに距離  $L_c$  ごとに周期的に変化することがわかる。この  $L_c$  は結合長と呼ばれ、次式：

$$L_c = \frac{\pi}{2\kappa} = \frac{\pi}{\beta_1 - \beta_2} = \frac{\lambda}{2(n_{\text{eff}, 1} - n_{\text{eff}, 2})} \quad (50)$$

で表される。ここでは、伝搬定数  $\beta_m$  に対応する等価屈折率を  $n_{\text{eff},m}$  とする。

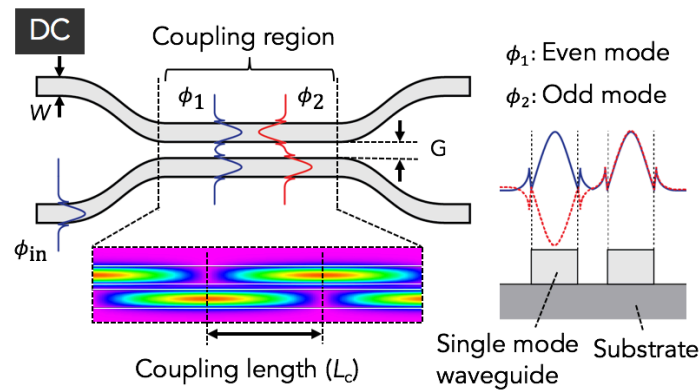


Fig. 2.4 DC 中を伝搬する偶・奇モードと DC 導波路の模式図。

### 2.5.3 光干渉計としての DC

光の干渉は「光強度分布の合計が個別の光強度分布の総和に等しくなる 2 つ以上の光波の相互作用」と定義される<sup>13</sup>。光干渉計とは、距離、温度、圧力などを電磁場の干渉を用いて高精度に測定する装置である。一般的な光干渉計は、検出用の光路と参照用の光路の間の位相差を用いて検出する。DC は一般的の干渉計と異なり、2 本の導波路の両方を検出用の導波路として用いている。しかし、節 2.5.2 で説明したように、上部クラッドの屈折率変化量  $\Delta n_{\text{clad}}$  による 2 つの固有伝搬モード、偶・奇モードの干渉を検出していることから、DC も光干渉計と言える。本節では、偶・奇モードの干渉によって、DC の信号強度が決定されることを説明する。

偶・奇モードの電場分布  $E_1$  および  $E_2$  は式(38)、(39)、(47)を用いて次式：

$$E_1(\mathbf{r}, t) = E_{10} e^{i(\omega t - \beta_1 z)} \quad (51)$$

$$E_2(\mathbf{r}, t) = E_{20} e^{i(\omega t - \beta_2 z)} \quad (52)$$

で表される。ここで、偶・奇モードの電場分布の初期値を  $E_{10}$ 、 $E_{20}$  としている。光強度は電場の振幅の 2 乗に比例することから、

$$\begin{aligned} I &= |E|^2 = E \cdot E^* \\ &= (E_1 + E_2)(E_1 + E_2)^* \\ &= E_1 E_1^* + E_2 E_2^* + E_1 E_2^* + E_2 E_1^* \end{aligned} \quad (53)$$

で表せる。式(53)の末尾 2 項の干渉部分は  $E_1 E_1^* = I_1$ 、 $E_2 E_2^* = I_2$  であるため、

$$\begin{aligned} E_1 E_2^* + E_2 E_1^* &= E_{10} \cdot E_{20} \{ e^{i(\beta_1 - \beta_2)z} + e^{-i(\beta_1 - \beta_2)z} \} \\ &= 2E_{10} \cdot E_{20} \cos(\beta_1 - \beta_2)z \\ &= 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\beta_1 - \beta_2)z \end{aligned}$$

となる。よって、強度分布は次式：

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\beta_1 - \beta_2)z \quad (54)$$

で表せる。式(54)の  $I_1$ 、 $I_2$  は、偶・奇モードの電場強度積分値が等しいことから一致するため、両方とも  $I_0$  とおくと、DC の伝搬方向に沿った強度分布は、

$$I = 4I_0 \cos^2 \left\{ \frac{(\beta_1 - \beta_2)z}{2} \right\} \quad (55)$$

となる。これは式(48)と一致する。本研究では、式(55)を規格化することで、信号強度を 0-1 間で変化する値として扱った。

実験に用いる DC 型導波路干渉計には、DC の両端に入力、出力用の単一モード導波路が 2 本ずつ配置する。入力用の導波路の片方から光を入射し、2 本の出力用の導波路から出射する 2 つの信号の強度を CCD カメラで観測する。2 つの信号強度の比率は式(55)と一致する。偶・奇モード間の等価屈折率差  $\Delta n_{\text{eff}}$  は次式：

実装された DC 型干渉計は DC 末端に出力用単一モード導波路が 2 本接続され、導波路端面から 2 つの信号の強度が CCD カメラなどで撮影される。2 信号強度の比は式(55)に示した  $I$  に対応する。偶・奇モード間の等価屈折率差（位相速度の差）は、動作波長  $\lambda$ 、DC 全長  $z = L$ 、信号強度変化  $\Delta I$  を用いて次式：

$$\begin{aligned} \Delta n_{\text{eff}} &= n_{\text{eff},1} - n_{\text{eff},2} \\ &= \cos^{-1} \left( \frac{\lambda \sqrt{\Delta I}}{L} \right) \end{aligned} \quad (56)$$

で表される。ここで、 $\lambda$  は動作波長、 $L$  は DC 全長、 $\Delta I$  は信号強度変化量をそれぞれ示す。センサ表面のタンパク質被覆率は信号強度変化  $\Delta I$  を式(35)、(37)、(56)を用いて計算できる。

## 2.6 DC センサのシミュレーションによる設計

本節では FD-BPM 法と FEM 法を用いた小型 DC 導波路センサの基本特製の確認、設計方法について述べる。微細な導波路構造の作製にあたっては、一般的に光伝搬のシミュレーションによる設計が行われる<sup>14,15</sup>。本研究でもデバイスの作製の前にシミュレーションを行った。

他の多くの干渉計センサでは干渉縞の変位量を用いて信号を取り出すが、DC 干渉計では 2 本の出射用導波路から得られる 2 つの信号強度の比率を用いる。本研究ではこの信号強度比を

$$I_i = \frac{s_i}{s_1 + s_2} \quad (i = 1, 2) \quad (57)$$

で定義する。信号は対物レンズを用いて出射用導波路端面に焦点を合わせ、CCD カメラで観測する。この測定は勘弁な光学実験装置で行うことができる、信号変化を経時的に測定できるという利点がある。

計算モデルとして、コア材料を SU-8、下部クラッド材料を  $\text{SiO}_2$  とし、入射波長は 635 nm とした。コア、クラッドの屈折率は 1.59、1.46 とした<sup>16</sup>。上部クラッドは基本的に水を想定して屈折率 1.33 とした。これらのシミュレーションは、RSoft に含まれるモデリングソフト RSoft CAD、FD-

BPM 計算ソルバー BeamPROP、モード計算ソルバーModePROP、FEM 計算ソルバーFemSIM を用いた<sup>17)</sup>。

### 2.6.1 SU-8 導波路のカットオフ条件

一般的な干渉型光導波路センサと同様に本デバイスにおいても単一モード導波路を使用する。そのために SU-8 / SiO<sub>2</sub> 導波路の単一モード導波路条件を計算した (Fig. 2.5)。計算は導波路幅・高さの等しいモデルを用いて行った。その結果、幅・高さが 550 - 800 nm の範囲において単一モードとなることがわかった。

以上の結果より、導波路幅は 600 nm とした。導波路高さは導波路作製に使用した試薬及び機材の都合上 700 nm とした。これ以降の計算、作製では全てこの値を用いた。

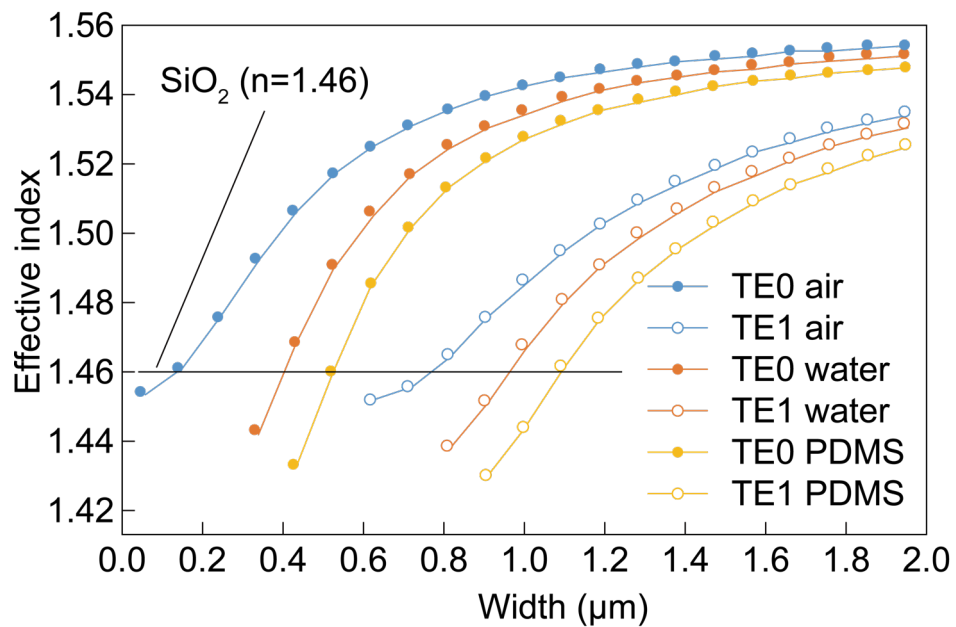
### 2.6.2 DC 間ギャップ距離と結合長の関係

DC 導波路において、その表面屈折率に対する感度は結合長が短いほど高い。また、結合長は結合モードが強く結合するほど短くなる。そのため DC 部の導波路間隔が狭いほどより強い結合が起こり、結合長も短くなるはずである。これを確認するために、導波路間隔が 100 nm、300 nm、500 nm、700 nm の場合においてそれぞれの結合長を計算した (Fig. 2.6)。グラフより導波路間隔が狭くなるに従い、結合長が指数関数的に短くなることがわかった。このことから、いかにして微小な導波路間隔を実現するかが DC デバイスの高感度化において非常に重要であることを再確認した。

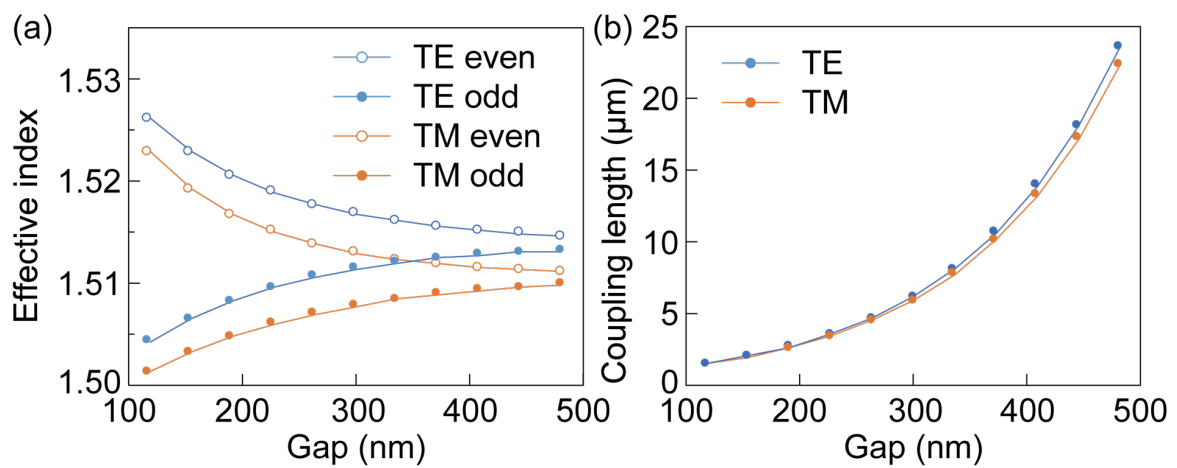
### 2.6.3 バルク屈折率と結合長の関係

最後に本デバイスが表面屈折率変化に対してどのような挙動を示すのか計算により確認した。ここでは、導波路間隔を 300 nm とした。導波路周辺の屈折率は波長 633 nm での純水の屈折率である 1.33 を基準として、1.33~1.37 の間で変化させた。Fig. 2.7(a) にそれぞれの周辺屈折率における規格化光強度を DC 結合部全長に対してプロットした。グラフより  $n=1.33$  のとき  $60 \mu\text{m}$  であった結合長が  $n=1.37$  では  $40 \mu\text{m}$  程度と短くなっていることがわかった。Fig. 2.7(b) は DC 結合部  $L=80 \mu\text{m}$  での規格化光強度の変化を  $n=1.33$  からの屈折率変化量でプロットしたグラフである。表面屈折率が増加するにつれて規格化光強度 0.78 から 0.22 へ減少した。表面屈折率変化と規格化光強度の間には直線的な関係があり、この傾きがセンサの感度を表す。以上のことから、導波路間隔 300 nm の DC デバイスにおいてセンサ表面に存在する溶液の測定が可能であることが示された。

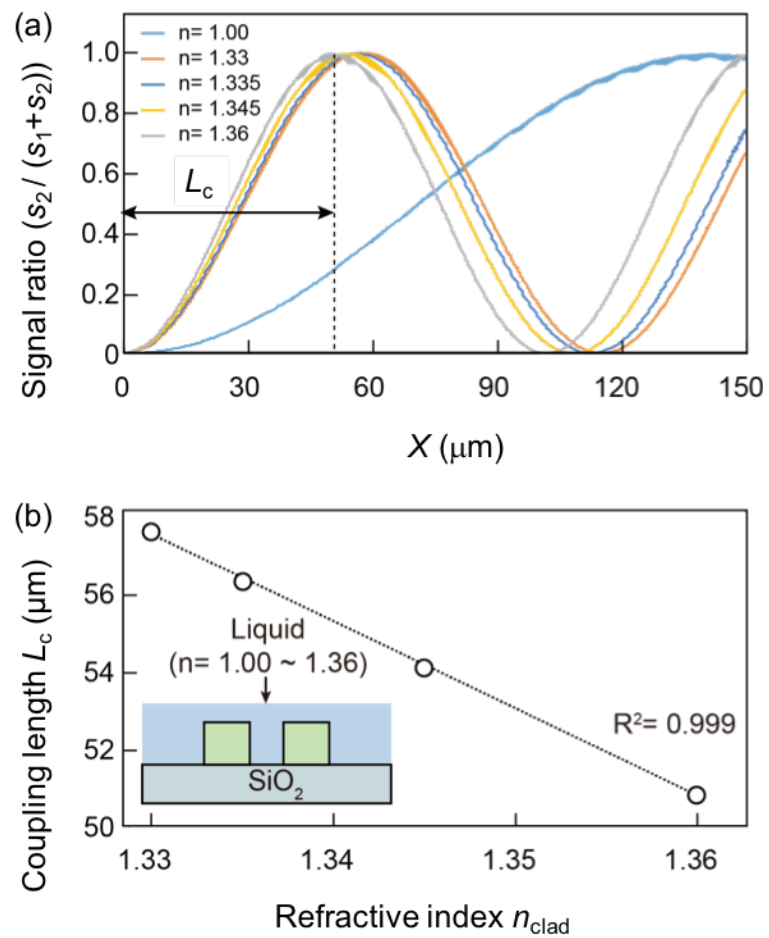




**Fig. 2.5** SU-8 導波路における導波路幅 (Width) と上層クラッド材質に対する等価屈折率の分散曲線。下層クラッドである酸化シリコンの屈折率 ( $n=1.46$ ) がカットオフ条件であり、有効屈折率がこれ以上であるモードが伝搬モードとなる。



**Fig. 2.6** (a) 異なるギャップ距離 (GAP) および幅 600 nm の SU-8 導波路からなる DC の各固有モードの等価屈折率。 (b) TE、TM の SU-8 DC のギャップ間距離と結合長の関係。



**Fig. 2.7** 表面屈折率の対する光強度変化。(a) 周辺屈折率  $n = 1.33$ - $1.37$  における DC 導波路の内部での光強度比変化。(b) 表面屈折率と結合長の関係。

## 2.7 DC センサの作製

以下に SU-8 パターニングの描画条件の検討について説明する。本検討では、SU-8 シリーズの中でも膜厚 1  $\mu\text{m}$  前後の薄膜形成を想定した SU-8 2 を用い、パターニングにおけるドーズ量の最適値を求めた。パターン作製の精度の確認、表面及び側面の平滑性の確認を行った。特に導波路表面及び側面の平滑性は導波路を伝搬する光の伝搬損失に大きく関係する。一般的に導波路の平滑性は表面の凹凸が伝搬する光の波長の 10 %以下であれば無視できるとされている。本研究では使用する光の波長を 632.8 nm としているため、表面凹凸が 60 nm 以下となっていることを目標とする。

電子線描画による SU-8 のパターニングは通常のマスキアライナーを使用した UV 光による露光が電子線に置き換わった以外は次の標準的なリソグラフィ方法と同一である。(1)基板の洗浄; (2)基板への SU-8 の塗布; (3)プリベーク; (4)露光; (5)ポストベーク; (6)現像; (7)ハードベークである。最後に行うハードベークは、ベーク条件による表面平滑性の向上検討以外では省略した。本検討には 20 mm $\times$ 20 mm の SiO<sub>2</sub>酸化膜付き Si 基板を使用した。描画面積は 10 $\times$ 10 mm 以下となるようにした。描画パターン用の dxf ファイルは MEMS/IC デザイン編集用ソフトである Layout Editor を用いた<sup>18</sup>。

### 2.7.1 SU-8 の電子線リソグラフィ

ネガ型フォトリソレジスト SU-8 (Microchem, Newton, MA, USA)はコンタクトリソグラフィと呼ばれる技術により、UV の照射による架橋反応によって形成されるエポキシ樹脂ベースのレジストである。SU-8 中にはエポキシモノマー及び酸発生剤が含まれている。UV 光の照射によってプロトンが生成され、これを触媒として加熱することによりエポキシモノマーの架橋反応が促進される<sup>19,20</sup>。SU-8 はその高い化学・機械的強度、高アスペクト比構造の作製の容易さ、他のレジストと比べて比較的安価であるといった特徴から MEMS 分野を中心に広く使用されている。また、導波路材料としてはその他のレジスト材料に比べて比較的屈折率の高い材料であることも利点として挙げられる。これらの利点に着目し、SU-8 を導波路のコア材料として利用した例がいくつか存在する<sup>21,22</sup>。SU-8 の屈折率は波長 633 nm において 1.59 である。この材料をコアとしてシングルモード導波路を作製するには導波路幅・高さは 800 nm 以下でなくてはならない。赤外光などのより波長の長い光源を使用しても 1  $\mu\text{m}$  以下である必要がある。しかし、一般的な SU-8 のパターニングに用いられるコンタクトリソグラフィ技術では、1  $\mu\text{m}$  以下の構造の作製は難しい。そこで、Fig. 2.8 に

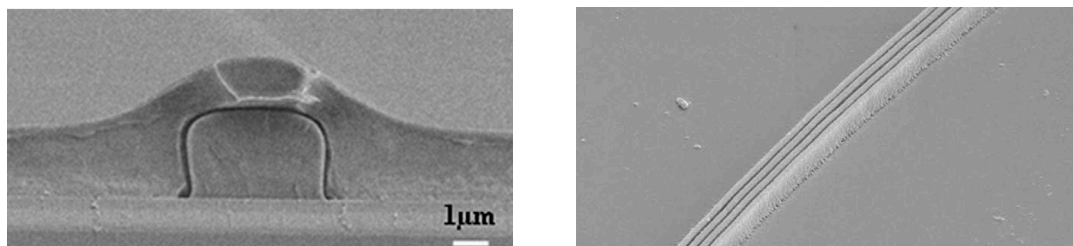


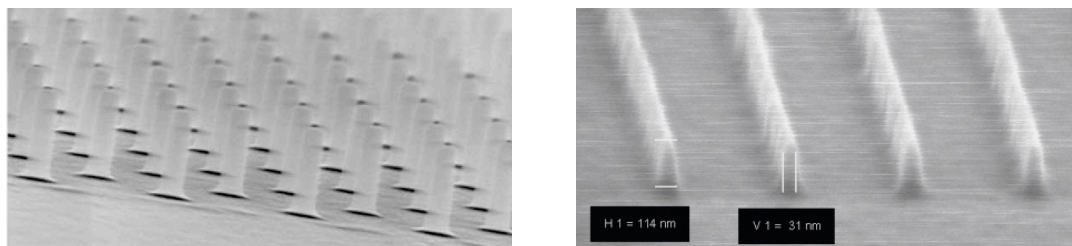
Fig. 2.8. (左) PMMA レジストによるオーバークラッドの形成<sup>23</sup>。

Reprinted from *Appl. Surf. Sci.*, Vol 259, X. Wang et al., Inductively coupled plasma etching to fabricate sensing window for polymer waveguide biosensor application, pp. 105-109, Copyright 2012, with permission from Elsevier

(右) パターン後 SU-8 の RIE による再加工<sup>24</sup>。

Reprinted with permission from ref. H. Sun et al., 2009. Copyright 2009 IEEE.

示したように SU-8 コアの周辺を低屈折率材料で覆う、マイクロスケールでパターンした SU-8 を RIE 技術によってより微小な構造に加工するといった工夫が必要となる<sup>23,24</sup>。本研究ではより微細なパターンが可能となる電子線描画装置を用いた直接描画による構造の作製を試みた。電子線描画では PMMA や ZEP といった一般的な電子線描画用のレジストを用いた 10~100 nm スケールのパターンが行われている。SU-8 レジストの電子線描画によるパターンニングもいくつか報告されている<sup>25-27</sup>。Romero らは高さ 499 nm、直径 136 nm のピラーの作製に成功している<sup>25</sup>。また Bilenberg らは幅 24 nm、高さ 99 nm のパターンの作製に成功している (Fig. 2.9)<sup>27</sup>。以上の報告から数 100 nm パターンは容易に作製可能であることが考えられる。



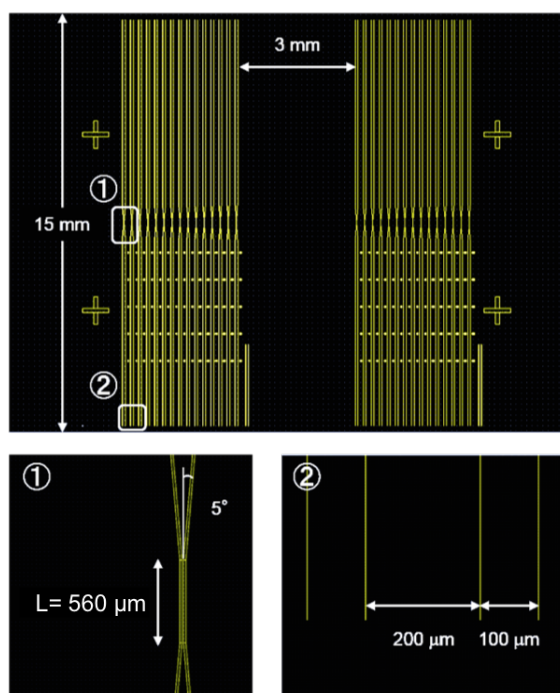
**Fig. 2.9.** (左) 直径 136 nm, 高さ 499 nm のピラー<sup>25</sup>。

Reprinted from *Microelectron. Eng.*, Vol 1, Issue 1, D. Lopez-Romero et al., High aspect-ratio SU-8 resist nano-pillar lattice by e-beam direct writing and its application for liquid trapping, pp. 663-667, Copyright 2010, with permission from Elsevier.

(右) 幅 24 nm, 高さ 99 nm のライン<sup>27</sup>。

Reprinted from *Microelectron. Eng.*, Vol 83, Issue 4, B. Bilenberg et al., High-resolution 100 kV electron beam lithography in SU-8, pp. 1609-1612, Copyright 2006, with permission from Elsevier.

## 2.7.2 DC チップのレイアウト



**Fig. 2.10.** DC デバイス作製用パターン。上が 1 チップに描画するパターンの全体像。下の①は DC 部、②はインプット、アウトプット部分をそれぞれ表す。

本節では作製した SU-8 DC チップのレイアウトについて述べる。先に述べたように導波路の幅: 600 nm、高さ: 700nm、間隔: 300 nm はすべて共通である。また、DC 部からインプット、アウトプットへの導波路の曲がり角は  $5^\circ$  とした。インプット、アウトプットでの導波路間隔は 100  $\mu\text{m}$  とした。DC 部全長の長さは 560  $\mu\text{m}$ 、計 35 通りとし、一つのチップ上に 2 セットのデバイスを描画した。デバイス全長は 15 mm とし、導波路端部の劈開での露出により 100 mm となるようにした。DC デバイス間の間隔は 200  $\mu\text{m}$  とした。また、チップ上の 2 つのセットはデバイス作製後にシリコン基板の劈開によって分離するために間隔を 3 mm と余裕を持たせた。それぞれのチップセット中の右端には SEM による断面観察用に幅 600 nm, 間隔 300 nm, 全長 5 mm の Line & Space を 2 セットずつ用意した。Fig. 2.10 に DC デバイスの描画パターンを載せる。

### 2.7.3 DC センサの作製プロトコル

本節では SU-8 DC センサの作製・評価に際して、以下の試薬および材料を使用した。

#### 材料

- ・酸化膜 (2  $\mu\text{m}$ ) 付きシリコン基板 (直径 3 inch、厚さ 500  $\mu\text{m}$ )
- ・アセトン (和光純薬工業株式会社)
- ・イソプロパノール (和光純薬工業株式会社)
- ・ネガティブフォトリソレジスト SU-8 2 (Microchem, Newton, MA, USA)
- ・SU-8 用現像液 (Microchem, Newton, MA, USA)

#### 装置

- ・超純水製造装置 Milli-Q Advantage A10 (Merck KGaA, Germany)
- ・プラズマ重合装置 BP-1 (Samco)
- ・高周波電源装置 ACG-3G (ENI)
- ・スピナー 1H-D7 (ミカサ)
- ・ホットプレート (アズワン)
- ・スパッタ装置 CFS-4ES (芝浦メカトロニクス)
- ・電子線描画装置 ELS-7500EX (エリオニクス)

#### 1. Si 基板劈開

電子線描画によるパターンニングはコンタクトリソグラフィと異なりその描画時間は描画面積に応じて増大していく。しかし、シリコン基板のサイズが小さくなるほど、サンプルの測定実験における扱いが難しくなっていく。また、一般的にレジストを基板に塗布する場合、基板の端にはレジスト溜まりが生じ、隆起が発生する。このため基板端部においては膜厚が均一でなくなる。そこでなるべく描画面積を小さくし、かつサンプルの測定実験に支障がなく、レジスト溜まりによる隆起を考慮した基板サイズでの描画を試みた。本研究では描画面積は伝搬方向に対して垂直方向は 10 mm 以下、伝搬方向には 15 mm となるように配置した。基板サイズは以上の点に考慮して 20×20 mm とした。シリコンの(1,1,1)面に沿ってダイヤモンドカッターで 1 mm 程の傷をつけ、その部分を中心に開くようにして軽く力を加えてやることで簡単に劈開が可能である。

#### 2. Si 基板洗浄

100 mL ビーカーにアセトン、イソプロパノール、純水それぞれ 20 mL ずつ用意した。20×20 mm に劈開したシリコン基板をアセトン入りビーカーに浸した。ビーカーを 5 分間超音波洗浄機にか

けた。同様の操作をイソプロパノール、純水の順に行った。20秒間の窒素ブローによって基板の水滴は飛ばされた。最後にプラズマ重合装置により酸素プラズマ処理を行った。洗浄条件は出力100 W、酸素分圧30 Pa、処理時間1 minとした。

### 3. スピンコート

洗浄済みのシリコン基板上にスピナーを用いて Su-8 2 ネガ型フォトリソレジストを700 nm 成膜した。基板上の埃を窒素ブローにより取り除いた後、レジストを基板面積の約70%滴下してスピコートした。スピコート条件は、slope: 5 sec, 7500 rpm: 30 sec, slope: 5 secとした。

### 4. プリベーク

SU-8 成膜後の基板はホットプレートを用いてベークした。ホットプレートは温度を安定させるために、ベーク30 min 以上前には昇温を開始した。プリベーク条件は、95 °C: 1 minとした。

### 5. 電子線描画

プリベーク後の基板を電子線描画装置の試料チャンバに導入した。描画データ、描画条件のセットをした後に描画を開始した。この時レジストの描画からポストベーク、現像までの時間が一日以上空いてしまうと描画パターン範囲を超えてレジストの架橋が起こってしまう。これは電子線の照射によって発生したプロトンの描画範囲外への拡散によるものと考えている。以上の理由から、描画が日をまたがないよう注意した。描画条件は加速電圧: 50 keV, 無電流: 0.1 nA, フィールドサイズ: 600  $\mu\text{m}^2$ とした。ドーズ量はドットピッチ、ドーズ時間により調整された。ドーズ量は3.3  $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ とした。

### 6. ポストベーク

描画の終了した基板はホットプレートを用いてベークした。プリベーク同様に温度を安定させるためにベーク30 min 前には昇温を開始した。ポストベーク条件は、95°C: 1 minとした。

### 7. レジスト現像

通常 SU-8 レジストではポストベーク直後の現像は急激な温度変化を伴うためレジストへのクラックの原因とされている。本研究においてもポストベーク後3 min 自然冷却を行った。その後現像・リンスを行った。100 mL ビーカー2つに SU-8 developer、1つにリンス用としてイソプロパノールを各30~40 mL 用意した。それぞれのビーカーに基板をピンセットで浸し、上記の順番に各1 min ずつ攪拌した。最後に窒素ブローにより基板を乾燥した。

### 8. 劈開による導波路端面の露出

作製した DC センサの形状確認のために、センサ領域の断面を SEM 観察した。そのために、Si チップの劈開による導波路端面の露出が行われた。描画された導波路に垂直な方向に基板を劈開することで基板端部にパターン端部が重なるようにした。

### 9. SEM 観察用金属層の形成

SEM 観察を行う前に、DC センサ表面へ金属薄膜が形成された。前述のように SU-8 レジストはエポキシ樹脂である。誘電体の観察では電子のチャージアップを防ぐために表面への金属層の形成が一般的に行われる。本検討においてもスパッタリングによるクロムの成膜を行った。成膜条件は、1 min, 5 nmであった。

## 2.8 実験方法

### 2.8.1 光実験装置の構成

本節では、光学測定に用いた実験系について述べる。光源からの光はミラーを挟むことで高さ、軸を調整した。さらに ND フィルターで光量を調整し、対物レンズを用いてデバイスに導入した。検出光は再び別の対物レンズを通して、CCD カメラによって検出した。またデバイスへの光の導入は、ステージの真上に設置された CCD カメラ及び対物レンズによって観察することによって行った(Fig. 2.11)。

以下に光学測定に使用した装置の詳細を説明する。

#### ①LED レーザー (5mW, $\lambda=635\text{ nm}$ )

光源としては波長 635 nm の LED 赤色レーザーを使用した。レーザー径 1.1 mm、無偏光、出力は 5 mW。

#### ②ND フィルター

レーザー光は ND フィルターを通した。作製した DC デバイスはデバイスごとに伝搬損失が微妙に違っていた。伝搬損失の極端に低いものは、ND フィルターでより多くの光をカットし、検出系の CCD カメラの検出感度を超えないように調整を行った。

#### ③対物レンズ (シグマ光機)

レーザー光はデバイスへ導入する前に対物レンズによって絞られた。倍率は 50 倍、焦点距離は 4 mm の長焦点の物を使用した。検出系には倍率 20 倍、ステージ上の位置合わせ系には倍率 20 倍の長焦点レンズを使用した。

#### ④六軸ステージ (シグマ光機)

デバイス用のステージ。x、y、z 軸に加えて、回転、チルト 2 通りの計 6 軸ステージ。ステージサイズは 40 mm x 40 mm である。③対物レンズとステージとの干渉を克服するために、アクリル板を加工し、かさ上げを行った。

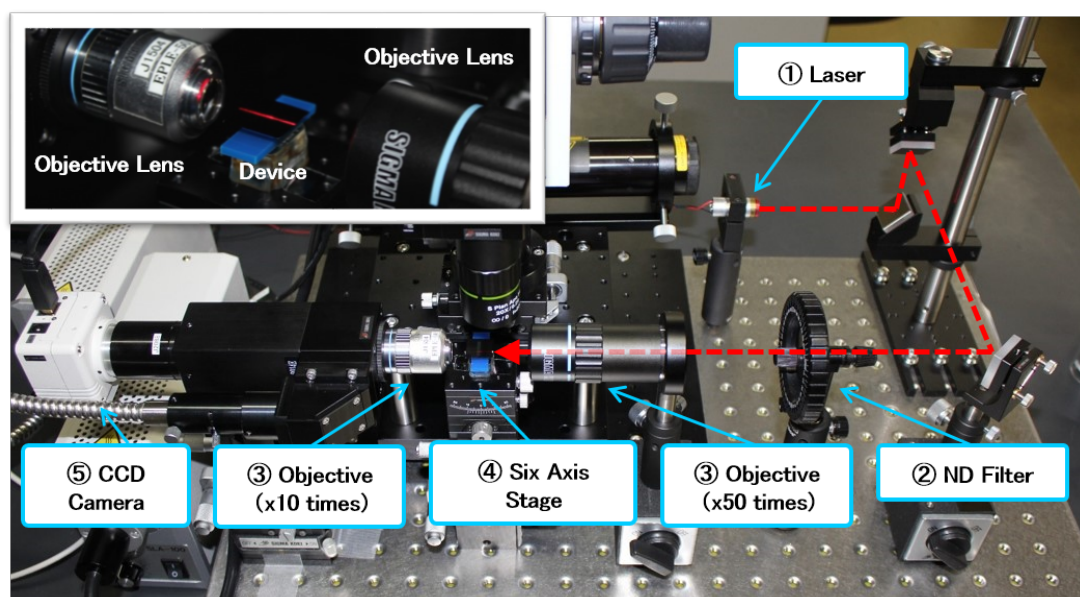


Fig. 2.11. 光学観測系。左上はステージとデバイスへの光導入図。



## ⑤CCD カメラ (シグマ光機)

200 万画素。最大 60 fps での撮影が可能。

## 2.8.2 最小二乗法による測定値のフィッティング

実験によって得られた測定値がどの程度現実的な値であるのかということの数値化することはデバイス評価において非常に重要な手順である。この時、任意のパラメータを最適化することによる理論式モデルへのフィッティングがしばしば用いられる。

測定データのフィッティングには様々な手法が存在するが、根本的なアプローチは基本的に同一である。すなわち、測定データが示すと予想されるいくつかのパラメータを含んだ理論式を選択し、測定データと最も合致するパラメータの値を計算によって求めるという手順である。実験データには必ず測定等のエラーが入るので、測定データが理論式と完全に一致するという事はまずない。このため、測定データの理論式への一致の程度を計算によって求めることが必要となる。本研究では最も一般的に用いられているフィッティング手法である最小二乗法を用いた<sup>29</sup>。以下に最小二乗法のフィッティング原理について説明する。

$(x_i, y_i), i = 1, 2, \dots, N$  であらわされる測定データが  $N$  個あるとする。これらのデータを  $M$  個の任意パラメータ  $a_j, j = 1, \dots, M$  を持つモデルに当てはめる。

$$y(x) = y(x; a_1 \dots a_M) \quad (58)$$

この時それぞれの測定データの値  $y_i$  はモデルの値に対して測定誤差が存在するはずである。そして標準偏差  $\sigma$  はすべての測定データにおいて同一であるとする。するとすべての測定データからの考えられるモデルの起こりうる確率  $P$  はそれぞれの測定データから考えられるモデル値が得られる確率の総和に比例する。

$$P \propto \prod_{i=1}^N \left\{ \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{y_i - y(x_i)}{\sigma} \right)^2 \right] \Delta y \right\} \quad (59)$$

以上の式(59)が最大値をとるような  $a_j$  が最も測定値とモデルの誤差の少ない場合となる。式(58)の最大値はその式の対数の最大値、または対数の負の値の最小値を求めることと同等である。すなわち、

$$\left[ \sum_{i=1}^N \frac{[y_i - y(x_i)]^2}{2\sigma^2} \right] - N \log \Delta y \quad (60)$$

ここで  $N, \sigma, \Delta y$  はすべて一定である。よって、式(60)の最小値を求めるということは、以下の式についての最小値を求めることと同義である。

$$\sum_{i=1}^N [y_i - y(x; a_1 \dots a_M)]^2 \quad (61)$$

よって、最小二乗法では以上の式(61)が最小になるようなパラメータの値  $a_j$  を求めることで測定値の理論式へのフィッティングを行っている。

本研究では、測定によっていられたデータをデータ解析、グラフ作製ツールである Igor Pro (WaveMetrics, Oregon, America) を用いてフィッティングを行っている<sup>28</sup>。本ソフトウェアではフィッティング法としてカイ二乗検定が用いられている。しかし、それぞれのデータポイントでの標準偏差  $\sigma$  を入力しない場合は最小二乗法での計算がおこなわれる。最初に述べたように、本研究ではすべてのデータセットについて結合モード理論式に対する最小二乗法によるフィッティングを行った。また、フィッティングより、それぞれの測定対象の結合長の計算を行った。

### 2.8.3 SU-8 DC 表面のビオチン修飾

本研究では、ストレプトアビジンの測定のために、SU-8 導波路表面へビオチンを修飾した。Zhang らの行った、SU-8 とアミノ化 PDMS の熱圧着による反応を参考にした<sup>30</sup>。Fig. 2.12 に示したように、PDMS への窒素プラズマによりアミノ化された PDMS と SU-8 表面のみ反応のエポキシ基が熱と圧力により反応している。本研究ではアミノ化 DNA およびビオチン化 DNA を用意し、SU-8 表面のエポキシ基と反応させた。反応は熱圧着ではなく、より簡便な方法として塩酸のプロトンを触媒とした反応を試みた。

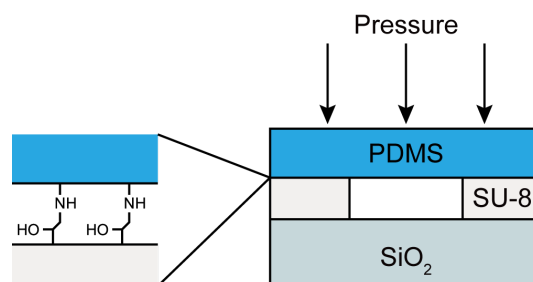


Fig. 2.12. SU-8 表面の化学修飾方法。エポキシ基とアミノ基の熱圧着による反応<sup>30</sup>。

## 2.9 結果と考察

### 2.9.1 SU-8 導波路の断面観察

Fig. 2.13 は SU-8 DC の劈開断面の SEM 像である。導波路は高さ 687 nm、幅 616 nm、ギャップ距離 288 nm あった。また、導波路側面のテーパ角はほぼ 0 度であり、非常に高い垂直性を実現した。作製された SU-8 DC センサは、設計値からの誤差が 4 %以下と、非常に近い値を実現できた。Fig. 2.13(a)の断面 SEM 像では SU-8 導波路の側面および表面の平滑性も確認できる。SU-8 導波路の表面はほぼ特に目立った凹凸はないが、側面には周期的に波打っているように見える。これは、SU-8 フォトリソグが元来電子線リソグラフィ用のレジストではなく、UV リソグラフィ用に作られたものであることが起因している。SU-8 は電子線に対して非常に高感度であるため、微量の電子線でも架橋反応が起こってしまう。同様の膜厚であれば代表的な電子線用レジストである ZE520AP はドーズ量 100 - 200  $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ 程度でパターンが可能である。しかし、本研究では SU-8 導波路のパターンに 3.3  $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ のドーズ量を使用した。DC パターンにおいて 3.3  $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ でもギャップ部分においてはオーバードーズとなり、ギャップ距離が設計よりも狭くなっていることがわかる。反対に導波路外側ではアンダードーズとなり、その結果架橋反応が一部不完全となってしまった結果、表面に凹凸ができています。光の導波路中での伝搬において、凹凸が波長の 20 分の 1 を超えると、光散乱を起こし、伝搬損失につながる。SEM 像を確認すると、凹凸は 10 nm 前後であることがわかる。本研究では光源として波長 635 nm のレーザーを用い、屈折率 1.6 の SU-8 を導波路材料としている。よって、導波路中を伝搬する光の波長は 400 nm である。SEM 像より確認できる凹凸は 20 nm 以下であるため、伝搬損失は起こらないと判断した。また、ギャップ距離を 300 nm 以下とすると、導波路外側がアンダードーズで架橋されずパターンが形成できなかったため、ギャップ距離をこの値に設定した。

### 2.9.2 液体サンプルに対する DC センサの性能評価

作製した DC センサの表面に、幅 600 nm、高さ 200  $\mu\text{m}$  の微小流路を結合した。DC センサおよび流路構造の性能を確認するために、水およびエタノールを送液し、測定を行なった。送液システムについては、第3章で詳細に述べる。水を 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  で流し、検出光の測定を開始した。測定開始 100 s 後にエタノールを 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  で送液し、シグナルが安定するまで待った。測定開始 160 s 後に再び水の送液に切り替えた。Fig. 2.14 に測定結果を示す。グラフより、エタノール導入前は 0.22 で一定であったシグナル比がエタノール導入により 0.63 まで増加していることがわかる。そして、再び水に戻すことでシグナル比も減少している。このことから、SU-8 導波路が周辺の屈折率変化を測定していることがわかる。しかし、エタノールから再び水に戻した時、シグナル比は 0.30 までしか戻っていない。SU-8 DC センサを乾燥させ、再び同様の測定を行うとシグナル比は元に戻る。これは、エタノールが SU-8 内部に浸透したことによる。SU-8 はポリマーであり、内部に液体を浸透させる。その分 SU-8 DC センサの結合長が変化したため、シグナル比が元に戻らなかったと考えられる。測定データをフィッティングにより結合モード理論式 (56) に当てはめたところ、測定値の水およびエタノールでの結合長は 51, 53  $\mu\text{m}$  であった。シミュレーション値の 49, 51  $\mu\text{m}$  と比較して、誤差は 4% であり、良い一致を示した。

### 2.9.3 ビオチン・ストレプトアビジン反応を用いた測定

SU-8 DC センサを用いたタンパク質の測定を行なった。ビオチン修飾 DC センサへ PBS (pH 7.4) を 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  で流した。続いて 1  $\mu\text{M}$  ストレプトアビジン溶液を 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  で流した。Fig. 2.15(a) にストレプトアビジンの検出結果を示す。グラフより、ストレプトアビジン導入によりシグナル比が大きく変化していることがわかる。また、結合モード理論式 (56) を用いて測定したシグナル比を結合長に変換した。水での結合長からの結合長変化量を Fig. 2.15(b) にプロットした。測定の結果、ストレプトアビジンの導入によって、結合長が 0.94  $\mu\text{m}$  変化したことがわかった。同様の測定を 4 回行い、標準偏差の 3 倍より検出限界を求めた結果、24.9  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (374 nM) であった。本研究室の大久保が行なった SiN 導波路からなる DC センサでのストレプトアビジン測定では、検出限界は 6.9  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であった<sup>31</sup>。これに対し、より作製プロセスが簡便かつ安価に作製できる SU-8 DC センサを用いて検出感度の低下を一桁以内に抑えることができた。同様の測定をストレプトアビジン濃度 0.1, 0.25, 0.5  $\mu\text{M}$  で行なった検量線を Fig. 2.16 に示す。電磁界シミュレーションで示した通り、表面吸着物質の濃度と結合長には線形性があり、定量が可能であることが示された。

## 2.10 まとめ

SU-8 DC センサの基本特性、屈折率変化に対する応答、デバイスの設計・作成・評価について述べた。FD-BOM、FEM 法により SU-8 導波路の単一モード条件、ギャップ距離および周辺表面屈折率と結合長の関係を求め、より狭いギャップ、より大きな周辺屈折率において結合長が短くなることを示した。また、周辺屈折率と結合長に線形性があることを示した。DC チップと微小流路を組み合わせ、水およびエタノールを流すことで、周辺屈折率の時間変化に対して DC センサが応答をすることを確認した。DC センサ表面にビオチンを修飾し、異なる濃度のストレプトアビジンを測定し、長さ 560  $\mu\text{m}$  の DC センサで検出限界 24.9  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を実現した。

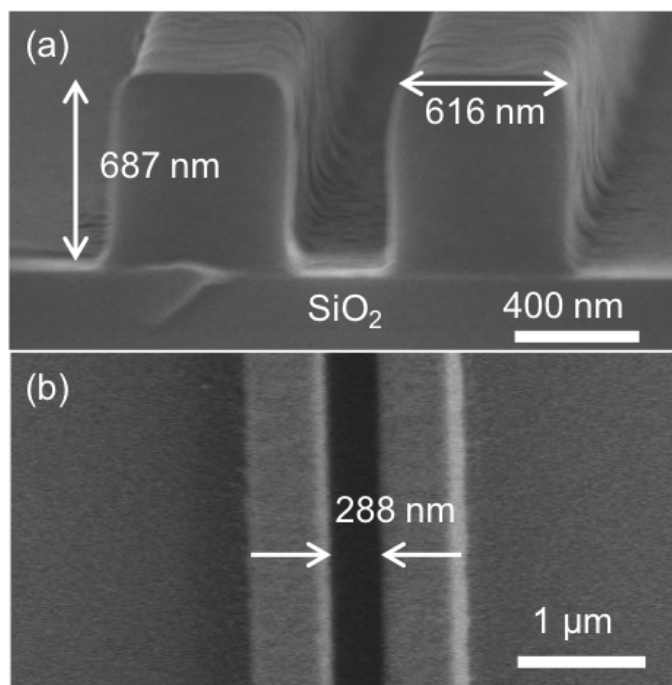
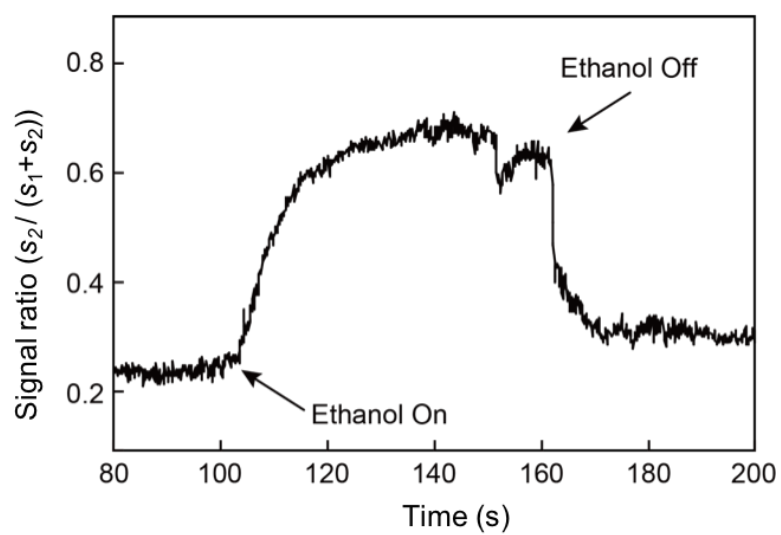
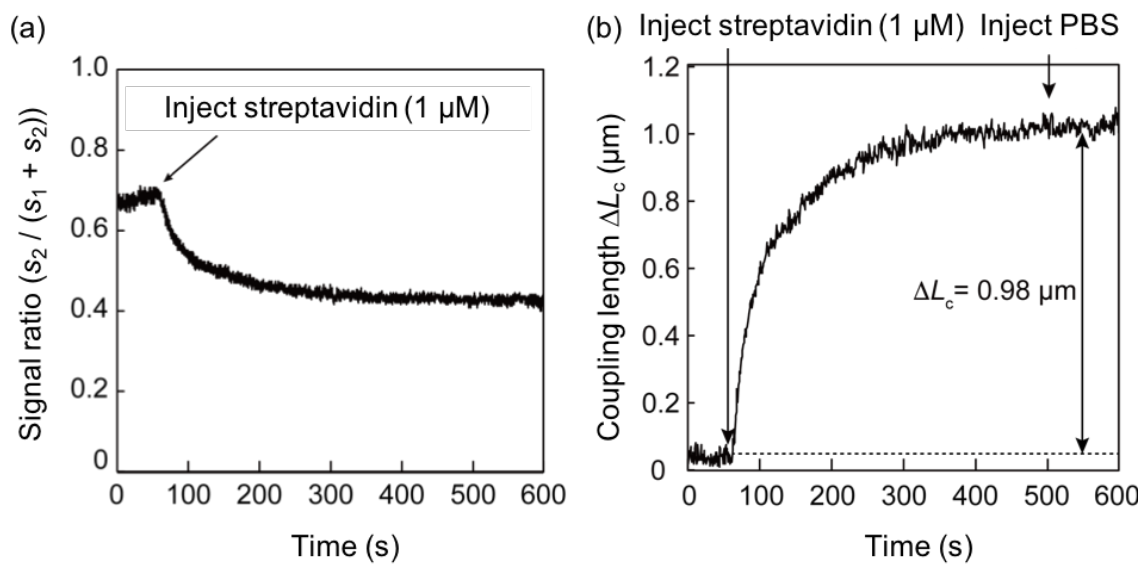


Fig. 2.13. SU-8 DC の (a) 断面および (b) 平面 SEM 像。



**Fig. 2.14** 微小流路への水およびエタノール送液によるシグナル変化。



**Fig. 2.15** (a) DC センサでの  $1 \mu\text{M}$  ストレプトアビジン溶液のシグナル比の測定。 (b) 結合モード理論を用いた結合長変化量の計算結果。

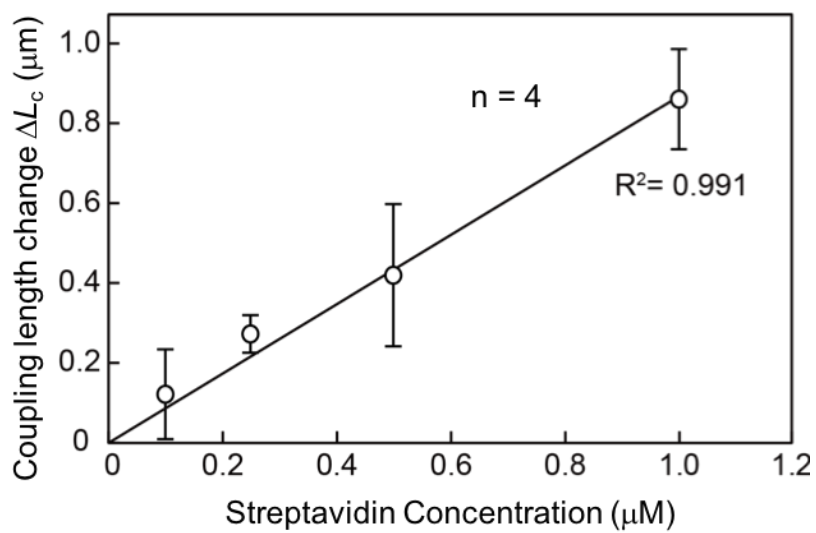


Fig. 2.16 DC センサでのストレプトアビジンの検量線。

## 参考文献

1. H. Kogelnik, [Guided-wave optoelectronics] Springer Berlin Heidelberg, 7-87 (1988).
2. K. Okamoto, [Fundamentals of optical waveguides] Academic Press, (2000).
3. K. Okamoto, “Progress and technical challenge for planar waveguide devices: silica and silicon waveguides,” *Laser Photon. Rev.*, 6(1), 14-23 (2012).
4. R. Scarmozzino et al., “Numerical techniques for modeling guided-wave photonic devices,” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, 6(1), 150-162 (2000).
5. R. Scarmozzino, and R. M. Osgood, “Comparison of finite-difference and Fourier-transform solutions of the parabolic wave equation with emphasis on integrated-optics applications,” *J. Opt. Soc. Am. A*, 8(5), 724-731 (1991).
6. K. Yee, “Numerical solution of initial boundary value problems involving maxwell's equations in isotropic media,” *IEEE Trans. Antennas. Propag.*, 14(3), 302-307 (1966).
7. Allen Taflove, and S. C. Hagness, [Computational Electrodynamics: The Finite-Difference Time-Domain Method, Third Edition] Artech House, Norwood, MA(2004).
8. J.-P. Berenger, “A perfectly matched layer for the absorption of electromagnetic waves,” *J. Comput. Phys.*, 114(2), 185-200 (1994).
9. K. Tiefenthaler, and W. Lukosz, “Sensitivity of grating couplers as integrated-optical chemical sensors,” *J. Opt. Soc. Am. B*, 6(2), 209-220 (1989).
10. W. Lukosz et al., “Output grating couplers on planar optical waveguides as direct immunosensors,” *Biosens. Bioelectron.*, 6(3), 227-232 (1991).
11. J. A. De Feijter, J. Benjamins, and F. A. Veer, “Ellipsometry as a tool to study the adsorption behavior of synthetic and biopolymers at the air–water interface,” *Biopolymers*, 17(7), 1759-1772 (1978).
12. H. A. Sober, R. A. Harte, and C. Chemical Rubber, [Handbook of biochemistry : selected data for molecular biology] Chemical Rubber, Cleveland, Ohio(1970).
13. E. Hecht, [Optics, 5th Edition] Pearson, (2016).
14. A. T. Rahmati, and N. Granpayeh, “Simulation of an ultrashort 2D photonic crystal switch based on nonlinear directional coupler,” *PIERS Proceedings*, pp. 1591-1594, (2009).
15. R. J. McCosker, and G. E. Town, “Multi-channel directional coupler as an evanescent field optical sensor,” *Sens. Actuators B*, 150(1), 417-424, (2010).
16. J. Leuthold, C. Koos, and W. Freude, “Nonlinear silicon photonics,” *Nat. Photon.*, 4(8), 535-544 (2010).
17. Synopsys, [RSoft Photonic Design Software: Photonic Device & Optical Communications System Design <https://optics.synopsys.com/rsoft/>].
18. Jspertor UG, [Layout editor <https://www.juspertor.com>].
19. R. White, “SU-8 Photoresist Processing: Standard Operating Procedure,” (2012).
20. 伊藤洋、「レジスト材料」、共立出版 (2005).



21. B. Y. Shew, Y. C. Cheng, Y. H. Tsai, "Monolithic SU-8 micro-interferometer for biochemical detections," *Sens. Actuators A*, 141(2), 299-306, (2008).
22. B. Beche, N. Pelletier, E. Gaviot, R. Hierle, A. Goullert, J. P. Landesman, and J. Zyss, "Conception of optical integrated circuits on polymers," *Microelectron. J.*, 37(5), 421-427, (2005).
23. X. Wang, J. Meng, X. Sun, T. Yang, J. Sun, C. Chen, C. Zheng, and D. Zhang, "Inductively coupled plasma etching to fabricate sensing window for polymer waveguide biosensor application," *Appl. Surf. Sci.*, 259(3), 105-109, (2012).
24. H. Sun, A. Chen, L. R. Dalton, "Enhanced evanescent confinement in multiple-slot waveguides and its application in biochemical sensing," *IEEE Photon. J.*, 1(1), 48-57, (2009).
25. D. Lopez-Romero, C. A. Barrios, M. Holgado, M. F. Laguna, R. Casquel, "High aspect-ratio SU-8 resist nano-pillar lattice by e-beam direct writing and its application for liquid trapping," *Microelectron. Eng.*, 87(4), 663-667, (2010).
26. M. Aktary, M. O. Jensen, K. L. Westra, M. J. Brett, and M. R. Freeman, "High-resolution pattern generation using the epoxy novolak SU-8 2000 resist by electron beam lithography," *J. Vacuum Sci. Technol. B*, 21(4), 5-7, (2003).
27. B. Bilenberg, S. Jacobsen, M. S. Schmidt, L. H. D. Skjolding, P. Shi, P. Boggild, J. O. Tegnefeldt, A. Kristensen, "High-resolution 100 kV electron beam lithography in SU8," *Microelectron. Eng.*, 83(4), 1609-1612, (2006).
28. WaveMetrics, [Igor Pro 7 <http://www.wavemetrics.com>].
29. Z. W. H. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, and B. P. Flannery, *Numerical recipes in C The art of scientific computing second edition* (Cambridge university press, 1997), Chap. 15.
30. Z. Zhang, P. Zhao, G. Xiao, B. R. Watts, and C. Xu, "Sealing SU-8 microfluidic channels using PDMS," *Biomicrofluidics*, 5(4), 46503-46508, (2011).
31. K. Okubo et al., "Silicon nitride directional coupler interferometer for surface sensing," *Opt. Eng.*, 56(1), 017101-017107 (2017).

## 第3章 分子鑄型ポリマーを用いたバイオセンシング

### 3.1 はじめに

第2章では、SU-8 ポリマーを材料とした DC センサを作製し、バイオセンサとしての基本性能を示した。これにより、DC センサのバイオセンサとしての応用によりセンサの小型化という面で大きな利点を有することを証明した。しかし第1章で触れたように、依然としてバイオセンサの共通の課題である、分子識別素子である生体由来の抗体に起因する欠点を克服できていない。すなわち、抗体は材料として非常に高価であり、化学的・物理的に脆弱である。また、繰り返し測定ができない。そこで本研究では、より安価かつ繰り返し測定が可能な強度を持った分子鑄型ポリマー (MIP) と呼ばれる新規材料を分子識別素子として DC センサに用いることを検討した。第1章で述べたように MIP はポリマー材料からなる分子識別素子であり、作製が非常に簡便・安価、化学的・物理的に非常に安定であるために、上述のバイオセンサの課題を解決できる。

本章では DC センサを用いた繰り返し測定の実現を目指すために、第2章で使用した SU-8 ポリマー導波路ではなく、より強度の高い SiN 導波路から構成される DC センサを用いた。Fig. 3.1 は MIP 修飾 SiN DC センサ及び微小流路構造を示す。本章では第2章で行ったビオチン修飾の代わりに MIP をセンサ領域に修飾し、微小流路構造をその上に形成した。ここでは、検出感度の MIP 膜厚依存性、測定対象タンパク質に対する選択性、検出限界、繰り返し測定について述べる。

### 3.2 MIP 修飾 DC(MIP-DC)センサの数値計算による設計

本節では、MIP 修飾 DC センサの設計に際したとシミュレーションによるセンサ構造設計および特性評価に関して述べる。本節のシミュレーション計算は米国の Synopsis の販売している電磁界分布解析ソフトウェア RSoft を用いた。Rsoft 内にある複数のソフトの内、BPM 計算用ソフト BeamPROP、FDTD 計算用ソフト FullWAVE、3D モデル用ソフト RSoft CAD を用いて実行された。

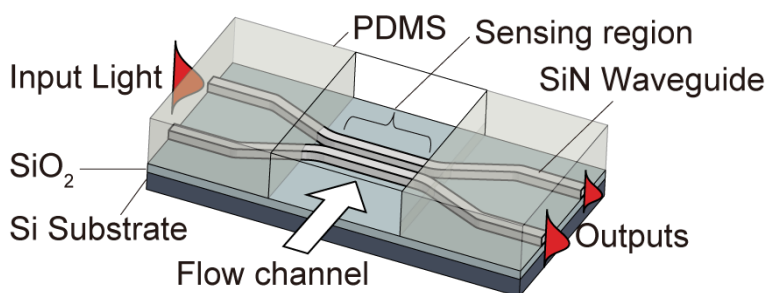


Fig. 3.1 微小流路システムと結合した窒化シリコン方向性結合器 (SiN DC) の模式図。

#### 3.2.1 DC センサのカットオフ条件

第2章でも示したように、波長 635 nm において導波路が DC センサとしての機能を示すには、導波路を単一モードのみが伝搬するように設計する必要がある。DC センサに使用する Si 基板は SiN 薄膜は厚さ 300 nm、屈折率 2.01、下部クラッドの SiO<sub>2</sub> 層は厚さ 1.0  $\mu\text{m}$ 、屈折率 1.46 であり、成膜プロトコル上その変更は困難である。これらのパラメーターを固定し、基底 TE モード (TE<sub>0</sub>) のみが伝搬する導波路幅を求める。

SiN 導波路の計算モデルを Fig. 3.2(a)に示す。導波路は SiN を材料とし、高さ 0.3  $\mu\text{m}$  ( $h_{\text{wg}}$ )、全

長  $150\ \mu\text{m}$  ( $L$ ) とした。下部クラッドとして  $\text{SiO}_2$  層、その下に  $\text{Si}$  層をそれぞれ厚さ  $1.0\ \mu\text{m}$  ずつ配置した。上部クラッドは空気、水、微小流路構造の材料である PDMS が存在する場合をそれぞれ計算した。導波路、クラッドの厚み方向を  $x$  軸に、光の伝搬方向を  $z$  軸に取った。計算における屈折率は  $\text{SiN}$ 、 $\text{SiO}_2$ 、 $\text{Si}$ 、空気、水、PDMS において、それぞれ 2.01、1.46、1.00、1.33、3.91、1.40 とした。導波路端面 ( $z = 0$ ) に導波路と同様の寸法の光の入射フィールドを設置した。セルサイズは  $10\ \text{nm} \times 10\ \text{nm} \times 20\ \text{nm}$  ( $x, y, z$ )、計算領域は  $3\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$  とした。導波路幅  $w_{\text{wg}}$  を  $0\text{--}800\ \text{nm}$  の間で 21 通り変化させ、FD-BPM 法を用いて TE<sub>0</sub>、TE<sub>1</sub> モードの等価屈折率を計算した。なお、本章で行った計算は全て上記のセルサイズ及び屈折率で行なっている。計算によって得られた  $\text{SiN}$  導波路を伝搬する TE<sub>0</sub> モードの電場分布の断面図を Fig. 3.2(b) に示す。上部クラッドである水と下部クラッドである  $\text{SiO}_2$  層への光の染み出し距離はそれぞれ  $150\ \text{nm}$ 、 $140\ \text{nm}$  であった。これより、下部クラッドの  $\text{SiO}_2$  膜厚は  $1.0\ \mu\text{m}$  で十分であり、 $\text{Si}$  層への光エネルギーの流出は起こらないことが示された。異なる導波路幅  $w_{\text{wg}}$  およびクラッド屈折率  $n_{\text{clad}}$  に対する  $\text{SiN}$  導波路の等価屈折率分散曲線を Fig. 3.3 に示す。各モードの分散曲線と、最も屈折率の高いクラッド材料である  $\text{SiO}_2$  の屈折率 1.46 との交点がそれぞれのモードのカットオフ条件を表す。クラッド材質が PDMS、水、空気でのカットオフ条件はそれぞれ  $340\ \text{nm}$ 、 $420\ \text{nm}$ 、 $490\ \text{nm}$  であることが分散曲線から読み取れる。多くの場合、測定は液体化で行われ、その屈折率は水のそれを大きく超えることはない。したがって、単一モードとなるのは  $w_{\text{wg}} = 420\ \text{nm}$  以下となることであることが示された。本研究では導波路幅を  $400\ \text{nm}$  とした。

### 3.2.2 DC 間ギャップ距離と結合長

第2章と同様に DC 間ギャップ距離と結合長の関係を FEM 法によって求めた。計算モデルとして、 $\text{SiN}$  導波路幅  $400\ \text{nm}$ 、高さ  $300\ \text{nm}$ 、ギャップ距離  $g$  の DC を用いた。また、上部クラッドは水、下部クラッドは厚さ  $1.0\ \mu\text{m}$  の  $\text{SiO}_2$  とした。計算領域の削減のため、 $\text{Si}$  層は省略した。片方の導波路端面 ( $z = 0$ ) に導波路と同様の寸法の光の入射フィールドを設置し、波長  $635\ \text{nm}$  の光を入射した。それぞれのギャップ距離  $g$  での結合系の固有モードである偶・奇モードの TE、TM 成分を計算した。これらの固有モードの透過屈折率を用いると結合長  $L_c$  は次式：

$$L_c = \frac{\lambda_0}{2(n_{\text{eff, even}} - n_{\text{eff, odd}})} \quad (1)$$

で表される。ここで、 $\lambda_0$  は真空中での伝搬光の波長（ここでは  $635\ \text{nm}$ ）を表す。

各固有モードの等価屈折率に対するギャップ距離依存性を Fig. 3.4 (a) に示した。グラフより、ギャップ距離  $g$  が長いほど、TE、TM それぞれの偶・奇モードの透過屈折率の差が小さくなっていることがわかる。この結果と式(1)よりギャップ距離が大きいほど結合長  $L_c$  が短くなることがわかる。また、ここには載せていないが、ギャップ距離  $g$  が  $50\ \text{nm}$  以下の時、ギャップ中央および各導波路中心の計 3 点に電磁場ピークを持つ別の固有モードが励起することが計算より分かった。これはスロット導波路と呼ばれ、2 本の導波路が一本の導波路として機能する。TE および TM の偶・奇モードから導き出される結合長  $L_c$  のギャップ距離  $g$  依存性を Fig. 3.4(b) に示す。グラフより、結合長  $L_c$  はギャップ距離  $g = 60, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, 204, 222, 240$  (nm) の範囲において指数関数的な依存を示すことがわかる。TE、TM モード共にギャップ距離が短いほど結合長が短くなる。これは、導波路間の距離が近くなるほど多くのエバネッセント場が到達でき、光の相互作用が起こりやすくなるためである。作製する DC の設計寸法が幅  $400\ \text{nm}$ 、高さ  $300\ \text{nm}$ 、ギャップ距離  $150\ \text{nm}$  の場合、TE および TM の結合長は  $27.2, 21.0\ \mu\text{m}$  である。計算より、TM の伝搬

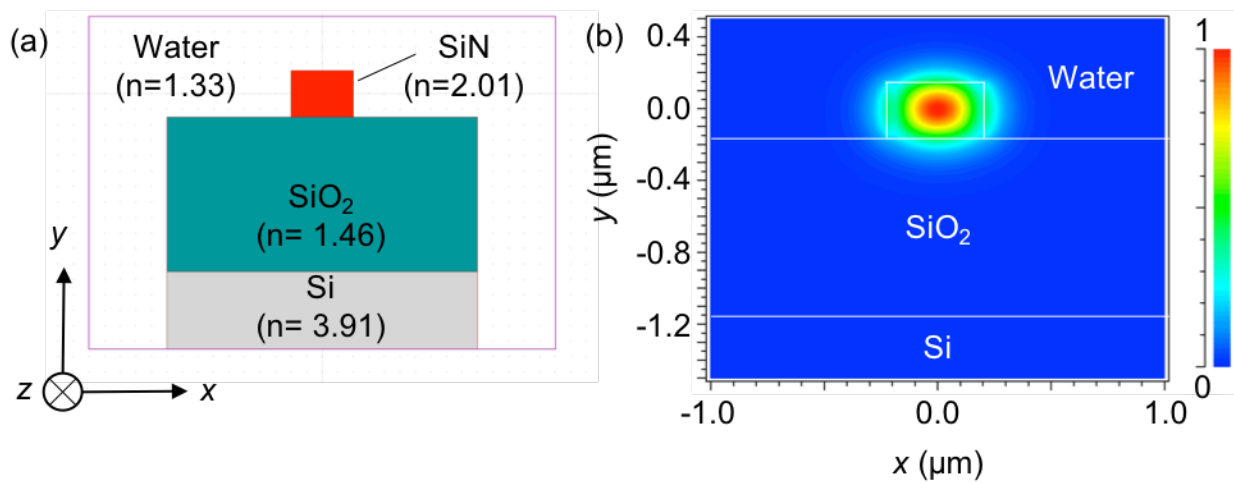
光強度はTEのもの5%程度しかなかったため、実際の測定では無視できることがわかった。DCセンサにおいて結合長が短いほどセンサ領域表面の屈折率変化に対するシグナル応答が大きくなる。そのため、より狭いギャップ距離での設計が望まれる。しかし、ギャップ距離が短くなるほどデバイス作製の難易度が上がる。本研究で用いた作製プロセスではギャップ距離100 nm以下の構造を作製することが困難である。よって、SiNDCセンサのギャップ距離を150 nmに設定した。ギャップ距離を狭くすることで、測定溶液がギャップ部分に浸透しにくくなることにより測定に支障が出る可能性が考えられる。第2章で作製したSU-8 DCはギャップ距離300 nmであり、今回はその半分の距離を採用した。実測値と計算値を比較することで、より狭いギャップ距離を採用したことの影響を考察した。

### 3.2.3 MIP 修飾 DC センサの MIP 膜厚 $t_{ad}$ ・屈折率 $n_{ad}$ 依存性

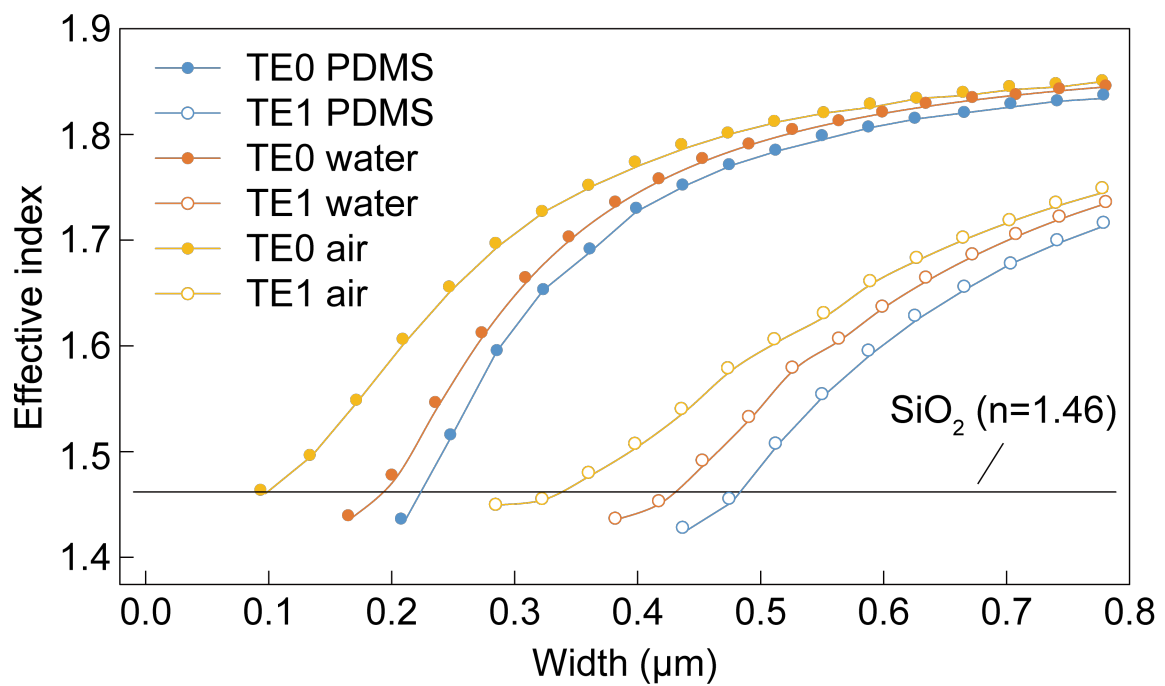
DCセンサへ修飾するMIPの膜厚 $t_{ad}$ および屈折率 $n_{ad}$ と結合長の関係をFEM法によって求めた。Fig. 3.5(a)にMIP修飾DCと対象タンパク質が吸着したモデルを示す。SiN導波路表面のMIP膜厚 $t_{ad}=0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15$  nm、屈折率を1.45とした。また、測定対象タンパク質が吸着した時に膜厚が5 nm増大すると仮定した。Fig. 3.5(b)に偶・奇モードの電場密度分布を示す。導波路感のギャップ領域において強い電場の集中が起こっていることがわかる。

MIP膜厚を変化させた時のTE、TMの偶・奇モードをFig. 3.6(a)に示す。Fig. 3.4(a)のギャップ距離 $g=150$  nmでの計算結果より、それぞれのモードは有効屈折率が大きいものからTEの $n_{eff,even}$ 、 $n_{eff,odd}$ 、TMの $n_{eff,even}$ 、 $n_{eff,odd}$ であることがわかる。全てのモードでMIP膜厚が厚くなるほど有効屈折率が大きくなっていることがわかる。これはMIP薄膜の分だけ導波路サイズが大きくなり、光の閉じ込めが強まったことを示す。また、同様の計算をそれぞれの膜厚のMIP表面に厚さ5 nmのタンパク質層が吸着した場合で行い、それによるTEの結合長変化量を式(1)より計算した結果をFig. 3.6(b)に示す。MIP膜厚が厚いほど、結合長変化量が減少していることがわかる。これは導波路中の伝搬光のエバネッセント波は指数関数的に減少しているためである。導波路センサと分子認識素子の距離が近いほどセンサ感度は向上することが計算より示された。本研究においてMIPの鑄型分子として選択したヒト血清アルブミン(HSA)の全長は6-7 nmである。したがって、MIP膜厚は7 nmとする。HSA全長よりもMIP膜厚が薄くなってしまうと、MIP表面に吸着孔が形成されない。

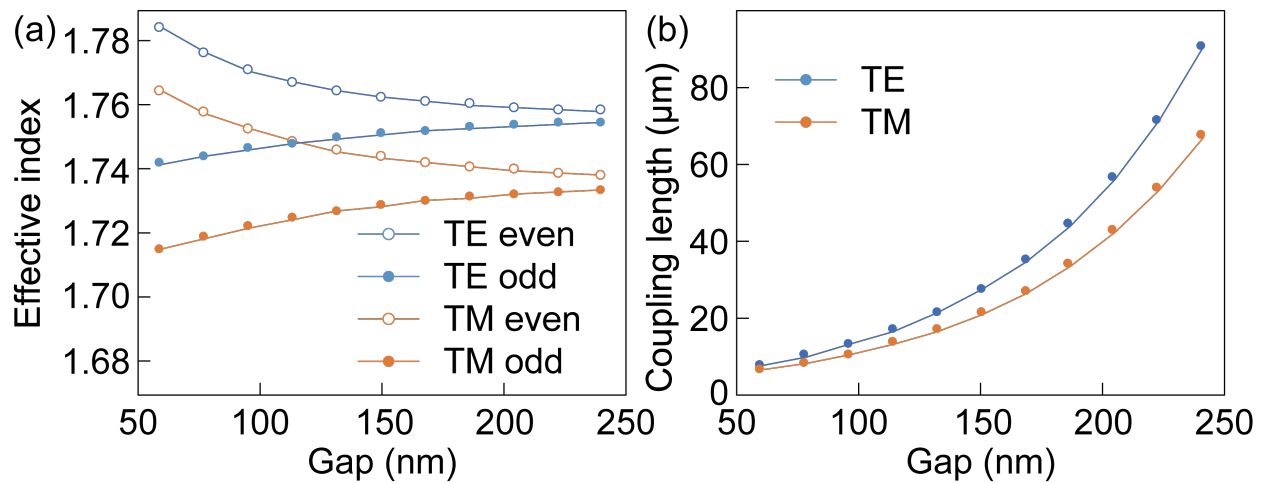
タンパク質層の屈折率はその密度によって変化する。高濃度のタンパク質溶液を測定すると、MIPへ吸着するタンパク質密度が増大し、より高い屈折率 $n_{ad}$ となる。よって、 $n_{ad}$ と結合長の関係が重要となる。SiN導波路表面のMIP薄膜に吸着するタンパク質層の屈折率を $n_{ad}=1.4$ から1.5まで11通り変化させ、タンパク質層の有無による結合長変化量を計算した。Fig. 3.7にタンパク質層の屈折率 $n_{ad}$ と結合長の関係を示す。タンパク質層の屈折率が大きいほど、結合長が短くなっていることがわかる。以上の結果より、タンパク質濃度の定量測定が可能であることが示された。



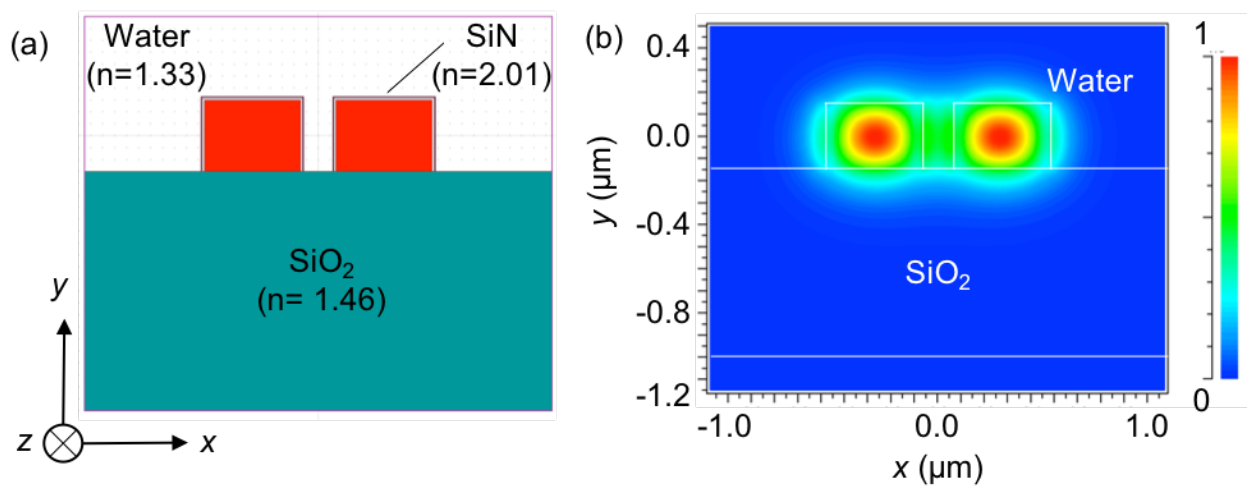
**Fig. 3.2** (a)単一モード条件出しに用いた計算モデル。(b) SiN 導波路断面の電場密度 ( $\sqrt{E_x^2 + E_y^2 + E_z^2}$ )分布。SiO<sub>2</sub>層への近接場成分の染み出しは 140 nm である。



**Fig. 3.3** SiN 導波路における導波路幅( $w_{wg}$ , Width)と上層クラッド材質に対する等価屈折率の分散曲線。下層クラッドである酸化シリコンの屈折率 ( $n = 1.46$ ) がカットオフ条件であり、有効屈折率がこれ以上であるモードが伝搬モードとなる。

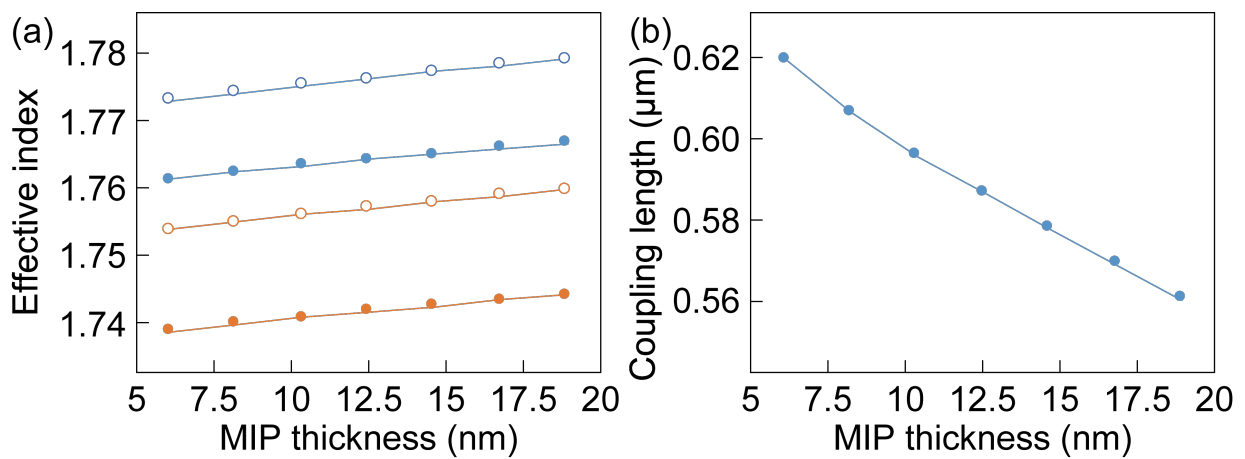


**Fig. 3.4** (a) 異なるギャップ距離 (g, GAP) および幅 400 nm の SiN 導波路からなる DC の各固有モードの等価屈折率。(b) TE、TM の SiN DC のギャップ間距離と結合長の関係。

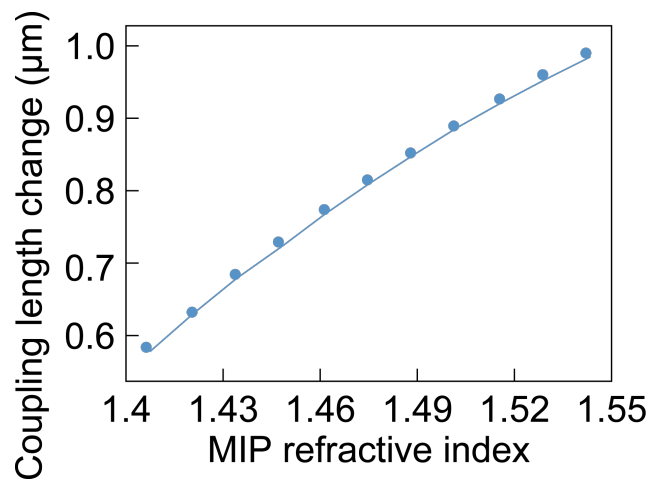


**Fig. 3.5** (a)MIP 膜厚および屈折率と結合長の関係を求めるのに用いた計算モデル。(b) SiN 導波路断面の偶・奇モードの電場密度 ( $\sqrt{E_x^2 + E_y^2 + E_z^2}$ )分布。





**Fig. 3.6** (a) 異なる MIP 膜厚での DC の各固有モードの等価屈折率。 (b) MIP 膜厚と結合長の関係。



**Fig. 3.7** 異なる MIP 屈折率と結合長の関係。

### 3.3 DC センサの作製

本節では SiN DC センサの作製方法について述べる。SiN DC センサはシリコンベースのマイクロ加工技術を用いて形成された。チップ内の光導波路レイアウト、各プロセス、作製プロセス詳細の順に説明する。Fig. 3.8 は DC の作製プロセスフローを示す。

#### 3.3.1 SiNDC チップのレイアウト

シリコンウェハ上に SiN 導波路からなる DC センサを形成した。SiN 導波路の下には下部クラッドとして SiN よりも屈折率の低い SiO<sub>2</sub> 層を形成した。一番下の Si 層は最も屈折率が高く、SiO<sub>2</sub> 層は伝搬光が Si 層へ漏洩することによる伝搬損失を防ぐ役割を持つ。縦横 22 nm × 10 nm の DC センサチップ内には幅 400 nm、高さ 300 nm、ギャップ距離 150 nm からなる DC センサを 20 個配置した。作製した DC センサのセンサの全長  $L$  は 113  $\mu\text{m}$  とした。センサ領域の前後には 2 本ずつ入射用および出射光用導波路を接続した。チップ両端から 3 mm の位置に導波路に対して垂直方向に幅 1  $\mu\text{m}$  のスリット構造を 3 本ずつ形成した。DC 導波路以外のエリアに存在する薄膜も薄膜導波路として機能する。薄膜導波路は幅 22 nm であり、DC 導波路と比較して非常に強い強度の光が迷光として検出されてしまう。スリット構造は薄膜導波路を寸断し、伝搬光を遮断する。

#### 3.3.2 SiN 細線パターン形成プロセス

##### (A) SiO<sub>2</sub> 下層クラッド膜の形成

直径 2 inch、厚さ 280  $\mu\text{m}$  のシリコンウェハ表面に下部クラッドの SiO<sub>2</sub> 層を成膜した。成膜には熱酸化炉（東京エレクトロン、370-MI-MINI）を使用した。方向性結合器とスリット構造の形成された SiN 層の下に形成される SiO<sub>2</sub> 層は、コアである導波路を伝搬する光が Si 層へ漏洩しないために十分な厚さが必要である。本研究では 1000°C で熱酸化により 1  $\mu\text{m}$  の SiO<sub>2</sub> 層を 1  $\mu\text{m}$  成膜した。熱酸化による成膜は膜表面の平滑性が高い、密度の高いという利点から導波路の下部クラッド成膜方法として最もよく用いられている。しかし、他の手法と比較して成膜時間が長いという欠点がある。大量生産を行う場合は、高压酸化（HIPOX 法）や PECVD 法が代替法として用いられる。バイオセンサとしての導波路を形成する上で、正に帯電したアルカリイオン金属イオン（Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> など）が低温で SiO<sub>2</sub> 層へ拡散する点に注意する必要がある。この金属イオンの拡散によって、低屈折率差の導波路の形成が可能であるが、バッファに塩濃度の高いものを用いると、下部クラッドである SiO<sub>2</sub> 層の屈折率が変化し設計とのズレが生じてしまうため望ましくない<sup>2</sup>。

##### (B) SiN コア膜の形成

SiO<sub>2</sub> 層の上にコア材料である SiN 層を LPCVD 法により厚さ 300 nm 成膜した。成膜は LPCVD 用の垂直チャンバー（東京エレクトロン）内で行った。ジクロロシラン SiH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> を前駆体とし、アンモニア NH<sub>3</sub> との混合ガスを 1000°C でチャンバー内で反応させて形成した。LPCVD 法により成膜された SiN 膜は水素含有率が低く、膜ストレスが低いという長所を持つ<sup>3</sup>。導波路材料としての SiN は生体関連物質に含まれるナトリウムや水などを透過させないため、安定した材料であると言える。SiN は SiO<sub>2</sub> と比較して高い屈折率を持つ。そのため光の閉じ込めが強く、導波路や光素子同士の距離を小さくすることができ、微小なデバイス構築が可能となる。また、コア材料である SiN 層は、アルカリ金属イオンなどの SiO<sub>2</sub> 層への拡散を防ぐこともでき、クラッド層の屈折率変化を防止する。

##### (C) スパッタリング

ドライエッチング用のマスクパターンは1層目にアルミニウム、2層目に電子線リソグラフィ（Electron beam lithography）用のレジストを用いた。スパッタリング装置（CSF-4EP-LL, 芝浦メカトロニクス）で40 nm厚のAl層を成膜した。Al層をSi基板へ成膜する前に、Alのスパッタレートを求めた。10 mm × 10 mmの微小なSi基板の半分をカプトンテープで覆い、マスクとしてスパッタすることでAl層の境界を形成し、スパッタ後の段差を接触式表面段差計で計測することにより算出した。Fig. 3.9(a)に示したように、Alのスパッタレートは15.2 nm/minであった。

#### (D) 電子線リソグラフィ

Alをドライエッチングするための2層目のマスクパターンは電子線リソグラフィによって形成した。Al層の上に形成した厚さ400 nmの電子線レジスト（gL-2000-14, グルーオンラボ）を電子線描画装置（ELS-F125, 東京エレクトロン）で加速電圧125 kVで露光、現像した。使用した電子線描画レジスト gL-2000-14は現在一般的に用いられている電子線描画用レジスト ZEP520A（日本ゼオン）の代替品としてグルーオン社から販売されていた。特長として高い解像度とドライエッチング耐性が挙げられる非化学増幅型のレジストである。2018年2月現在、gL-2000は販売停止となっている。MEM/IC回路設計用ソフト Layout Editor（Juspertor GmbH）を使用して電子線描画用のマスクデータを作成した。ファイル形式は標準的な Drawing Exchange Format（dxf）CADファイルを採用した。電子線描画装置（ELS-F125）には描画ファイルを取り扱うPCが内蔵されている。dxfファイルを電子線描画用のCADソフト WECASを用いて一度CELLファイルに変換する。続いて、露光時間などの描画パラメーターと描画パターン情報の内蔵されたCONDITIONファイルへと再度変換する。描画位置、露光時間などをSCHEDULEファイルに指定し、CONDITIONファイルデータとタグ付けする。SCHEDULEファイルを元に電子線描画は実行される。

#### (E) ドライエッチング

第1層目のAlマスクおよびコア材料のSiN層へのパターンの転写は、代表的なドライエッチング手法である反応性イオンエッチング（Reactive ion etching: RIE）を用いた。微細加工の基本技術であるエッチングには大きく分けてウェットエッチングとドライエッチングがある。ウェットエッチングは溶液中で行うため反応速度は速いが、アンダーカットが大きいため、高い精度が要求される微細なパターンの形成には向いていない。ドライエッチングは反応性ガスを用いるため反応速度は遅いが、アンダーカットが起こりにくく、加工精度の点で優れている。本デバイスの作製には、Fig. 3.10に示した平行平板型のRIE装置を用いた。真空チャンバー内のステージは陰極となっている。基板をステージ上にセットし、エッチング用の反応性ガスを一定の流量で流す。高周波交流電源を用いて電圧を印加し、チャンバー内にプラズマを励起する。発生した反応性イオンは陰極上の基板に向かって加速され、AlやSiNと反応することでエッチングが起こる。エッチング中は、プラズマ中の電子が高周波電圧を印加した絶縁された電極または基板表面に蓄積して potentials に自己バイアスされる。この蓄積電子によってイオンシースが生じる。このバイアス電圧を陰極効果電圧と呼ぶ。この現象は、反応性イオンと比較して電子の移動度が非常に大きいため発生する。電圧によって加速されたイオンはステージである電極へと垂直に進むので、アンダーカットの少ない異方性エッチング（Anisotropic etching）となる。SiN層とAl層のエッチングにはそれぞれBCl<sub>3</sub>ガスとCHF<sub>3</sub>ガスを用いた。エッチング前にSiN、Al、gL-2000-14のエッチングレートを求めた。BCl<sub>3</sub>ガスを用いた時のgL-2000-14およびAlのエッチングレートはそれぞれ13.3 nm/min、4.0 nm/minであり、選択比は3であった。CHF<sub>3</sub>ガスを用いた時のAlおよびSiNのエッチングレートはそれぞれ18.8 nm/min、2 nm/minであり、選択比は9であった（Fig. 3.9(b)）。なお、

$\text{BCl}_3$  ガスでの gL-2000-14 および  $\text{CHF}_3$  ガスでの Al エッチングレートは物質材料研究機構 (NIMS) 微細加工プラットフォームより提供されたものである。これらのエッチングレートに基づき、Al 層および SiN 層のドライエッチングを行なった。エッチングには、ステージ (陰極) に水循環型冷却システムが搭載されたドライエッチング装置 (RIE-10NR、サムコ) を使用した。電子線描画用レジストのみをマスクとして用いる手法もある。しかし、レジストは Al と比較して  $\text{CHF}_3$  ガスに対するエッチング耐性と熱耐性が低く、エッチング中にレジスト後退 (Retarding) が発生する。これはパターンに大きなテーパ角が生じる原因となる。エッチングパターンを一度 Al 層に転写することで、SiN 層のエッチングでのマスク後退を防ぐことができ、導波路をより設計寸法に忠実に作製することが可能となる。そのほかにも、5 分間のエッチング後、自然冷却の時間を設ける、などの工夫を行った。

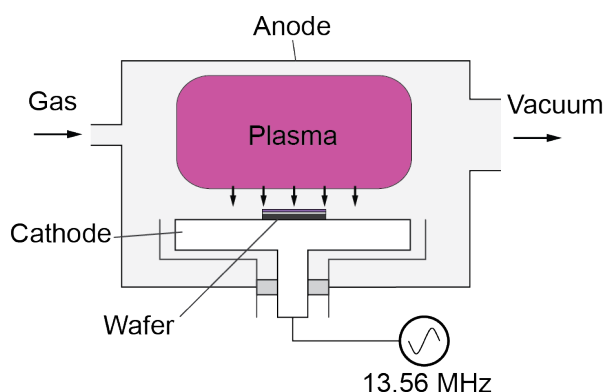


Fig. 3.10 平行平板型 RIE 装置の模式図。

### 3.3.3 SiN DC 作製プロトコル

デバイスの作製・評価に際して、以下の試薬および材料を使用した。

#### 材料

- ・電子線描画用ポジ型フォトリソレジスト (gL-2000-14 グルーオン・ラボ)
- ・SiN/SiO<sub>2</sub> 層付きシリコンウエハ (直径 2 inch、厚さ 500 μm)
- ・アセトン (和光純薬工業)
- ・イソプロパノール (和光純薬工業)
- ・キシレン (和光純薬工業)
- ・高真空用グリース (Apiezon L アピエゾン)

#### 装置

- ・125 kV 電子ビーム描画装置 (ELS-F125 エリオニクス) (NIMS クリーンルーム)
- ・反応性イオンエッチング装置 (RIE-10N サムコ)
- ・反応性イオンエッチング装置 (RIE-101iPH サムコ)
- ・プラズマ重合装置 (PR500 ヤマト科学)
- ・スピンドクター (1H-D7 ミカサ) (NIMS クリーンルーム)
- ・ホットプレート (アズワン)
- ・超音波洗浄機 (アズワン)
- ・正立顕微鏡 (IX-50 オリンパス)

- ・接触式表面段差計 (Alpha Step IQ KLA Tencor)
- ・電解放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM, SU-8020 日立)
- ・全自動スパッタリング装置 (CFS-4EP-LL 芝浦メカトロニクス)
- ・超純水製造装置 Milli-Q Advantage A10 (Merck KGaA, Germany)

### 1. Si 基板の劈開

まず、2 インチ (約 50.8 mm) の基板からチップを切り出した。それぞれの基板からは、22 mm × 22 mm のチップが 2 枚ずつ得られた。まず、Si 基板の (1, 1, 1) 面に垂直にダイヤモンドカッターで 2-3 mm ほどの傷をつける。その傷の両端を指で持ち、開くように力を加えるか、定規などの段差の上に傷の方向に沿って基板を乗せ、ピンセットなどで軽く押してやることで、原子面に沿った劈開が起こる。このように、基板上にパターニングを行う上では、あらかじめ必要なサイズに劈開してからレジスト塗布などを開始する。これは、基板の劈開時に飛び散るシリコン断片が塵となり、パターニングに悪影響を及ぼすためである。パターニング面積を一括で描画できるコンタクトリソグラフィと違い、電子線描画ではパターンに沿って数 nm まで絞った電子線を照射していくことでレジストを感光させるため、描画面積が大きいほど描画時間も長くなっていく。そのため、パターン面積を減らす工夫が必要とされる。基板が円形でなく、角が存在する時、レジストを塗布すると角にレジストが集まってしまう。これにより、中央は比較的均一な膜厚となるが、端に行くにつれて膜厚が厚くなる。そのため、一般的に基板の端から 5 mm までは重要なパターンを配置しないようにする。電子線描画装置 ELS-F125 のステージは、最大で 8 枚までのチップを配置できる。本研究では作製条件を均等にするために、グラフ内のデータは全て一度の電子線描画で作製したチップのみを用いて取得している。

### 2. Si 基板の洗浄

ビーカー (300 ml) を 3 つ用意し、アセトン、イソプロパノール (IPA)、超純水を各 50 ml ずつ注いだ。基板を 4 つまでセットできる基板洗浄用の特注ガラスホルダーに 22 mm 角の基板を配置する。アセトン中にガラスホルダーごと浸し、5 min 超音波洗浄にかける。ガラスホルダーを取り出し、イソプロパノールへ移し、同様の操作を行う。最後に超純水中で 5 min 超音波洗浄を行い、窒素ガスブローにより水分を飛ばす。

### 3. Si 基板の乾燥

基板表面に残った少量の水を除去するために、110°C に加熱されたホットプレートの上に基板を乗せ、5 min ベークする。ホットプレートから基板を回収し、アルミトレー上に移して十分に基板を冷却させる。

### 4. Al のスパッタリング

洗浄・乾燥の終わった基板をスパッタリング装置のホルダーに固定し、40 nm 厚の Al をスパッタする。スパッタ条件は圧力  $5.0 \times 10^{-4}$  Pa、DC パワー 300 W、アルゴンガス圧 30 Pa、スパッタ時間 192 s とした。また、スパッタ完了後に再び 2. Si 基板の洗浄および 3. Si 基板の乾燥を行う。次のプロセス以降は物質材料研究機構 (NIMS) 微細加工プラットフォームで行なった。

### 5. gL-2000-14 のスピンコート

洗浄・乾燥の終わった基板をスピナーのステージへ固定し、ディスポピペットを用いて基板の 80% を覆う量 (5~6 滴) の gL-2000-14 を滴下して、スピンコートを行う。スピンコート条件は slope: 10 s > 3000 rpm: 60 s とした。

## 6. gL-2000-14 のプリベーク

180°Cに加熱したホットプレート上にレジスト塗布後の基板を乗せて 5min プリベークを行う。ホットプレートから基板を取り出し、アルミトレイ上に移して十分冷めるまで放置する。NIMS クリーンルームの 180°Cベーク用ホットプレートは 24 時間電源が入っているため、プリベーク前に温度安定のために電源を入れておく必要はない。耐薬品ピンセットの先端は 130°C以上で溶解するため、180°Cホットプレートの作業はセラミック先端のピンセットを用いた。

## 7. 電子線描画

プリベーク後の基板が十分冷めたら、電子線描画装置の試料チャンバーに基板を入れる。ウェハホルダー上のチップ固定用の治具にチップを一つずつ固定する。この時、チップ表面に通電用の金属パーツが接していることを確認して固定用のネジを締める。描画条件は、フィールドサイズ：500  $\mu\text{m}$ 、ドット数：500,000、ドーズ量：300  $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ 、ドット間ピッチ： $(x, y) = (5, 5)$ 、ビーム電流：2 nA とした。ドーズ量は SCHEDULE ファイル上の電子線照射時間 ( $\mu\text{s}/\text{dot}$ ) により指定した。

## 8. レジスト現像

ウェハホルダーより電子線描画後のチップを回収したのちに、基板洗浄用のガラスホルダーに 4 チップずつ配置する。gL-2000-14 および ZEP520A の共通の現像液であるキシレンが入ったガラス瓶にガラスホルダーごと基板を浸し、120 s 放置する。続いて、リンス溶液であるイソプロパノールが入ったガラス瓶に基板を浸し、60 s 放置する。基板を取り出し、窒素ブローにより表面の液を飛ばす。正立顕微鏡でレジストのパターンに問題がないか確認する。

## 9. gL-2000-14 のポストベーク

140 °Cに加熱したホットプレート上にレジストのパターンされた基板を乗せ、2 min プリベークをする。ホットプレートから基板を回収し、アルミトレイ上に移して十分に冷却する。NIMS のクリーンルームには常に電源の入った 140°C のホットプレートは用意されていないので、ポストベークの 30 min 前には電源を入れて、温度を安定させておく。

## 10. Al の反応性イオンエッチング

レジストパターン形成後のチップを 3 inch の Si 基板上に真空グリースを裏面に塗って配置する。チップの固定された Si 基板を反応性イオンエッチング装置 ELS-F125N の陰極上に固定する。真空引き後、(1) デスカム (Descum) と (2)  $\text{BCl}_3$  ガスを用いたエッチングの順に実行した。以下はプロセスフローを示す。

Step 1: 100 sccm  $\text{O}_2$  ; 内圧 75 Pa ; RF 出力 200 W ; 時間 10 s

Step 2: 20 sccm  $\text{BCl}_3$  ; 内圧 5 Pa ; RF 出力 200 W ; 時間 3 min

Step 3: 100 sccm  $\text{N}_2$  ; 内圧 75 Pa ; RF 出力 50 W ; 時間 5 min

Step 3 において最後に  $\text{N}_2$  ガスを流すのは、チャンバー内およびチップ表面に付着した未反応の  $\text{BCl}_3$  ガスを不活性な  $\text{N}_2$  ガスで置換する目的がある。これを行わないと、残存した  $\text{BCl}_3$  ガスによってオーバーエッチが起こってしまう<sup>7</sup>。チップ裏面に付着した真空グリースをアセトンに浸した綿棒とキムワイプなどで拭き取る。

## 12. SiN の反応性イオンエッチング

Al エッチング後のチップを反応性イオンエッチング装置 RIE-10N の陰極上に固定する。真空引き後、(1) デスカム (Descum) と (2) CHF<sub>3</sub> ガスを用いたエッチングの順に実行した。以下はプロセスフローを示す。

Step 1: 100 sccm O<sub>2</sub> ; 内圧 75 Pa ; RF 出力 50 W ; 時間 10 s

Step 2: 20 sccm CHF<sub>3</sub> ; 内圧 0.5 Pa ; RF 出力 50 W ; 時間 4 min

Step 3: 3 min の中断

Step 2 および 3 をこの順に 4 回繰り返すことによる計 16 min のエッチング実行後、装置からチップを取り出す。

## 12. レジスト除去

プラズマ重合装置 PR500 によってチップのレジストを除去する。SiN エッチング後のチップを石英スタンドの上に配置して、プラズマ重合装置のチャンバーへ入れて 10 Pa まで真空を引く。O<sub>2</sub> ガスをフローレート 200 sccm でチャンバー内に流し、RF パワー 300W を印加して 10 min 酸素プラズマ処理を行う。これにより、レジスト除去が行われる。続いて、100 ml ビーカーに 1 M HCl を 50 ml 用意する。チップをビーカーへ浸し、3 h 放置する。Al 層は酸によって除去される。最後に 3 つの 100 mL ビーカーへアセトン、イソプロパノール、超純水をそれぞれ 40 ml 用意する。基板洗浄用のテフロンホルダーに基板をセットする。ホルダーをアセトンビーカーへ浸し、5 min 超音波洗浄する。ホルダーを取り出し、イソプロパノールへ移し、同様の操作を行う。最後に超純水中で 5 min 超音波洗浄を行い、窒素ガスブローにより水分を飛ばす。

この超音波洗浄は酸素プラズマによるレジスト残渣物除去後に被エッチング領域に残存するフルオロカーボン系の残渣物を物理的に取り除くために行った。

## 13. 断面観察

作製された SiN DC の断面構造を解放出型走査電子顕微鏡を用いて確認した。観察の前に、DC チップを劈開し、簡易スパッタ装置を用いて導電用の白金薄膜を厚さ 5 nm 成膜した。

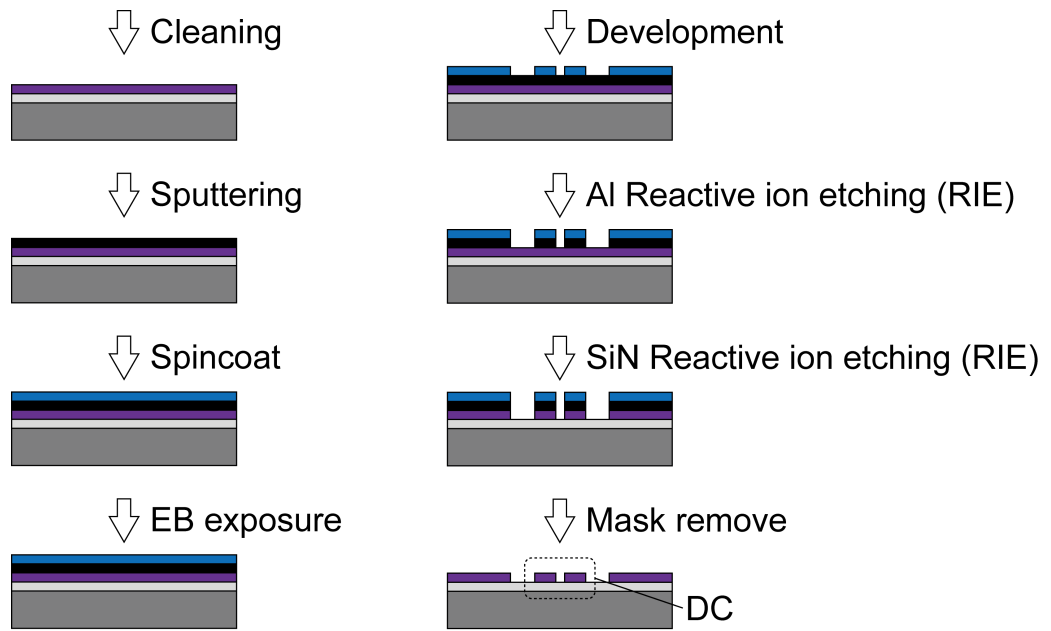


Fig. 3.8 SiN DC センサの作製プロセスの流れ。



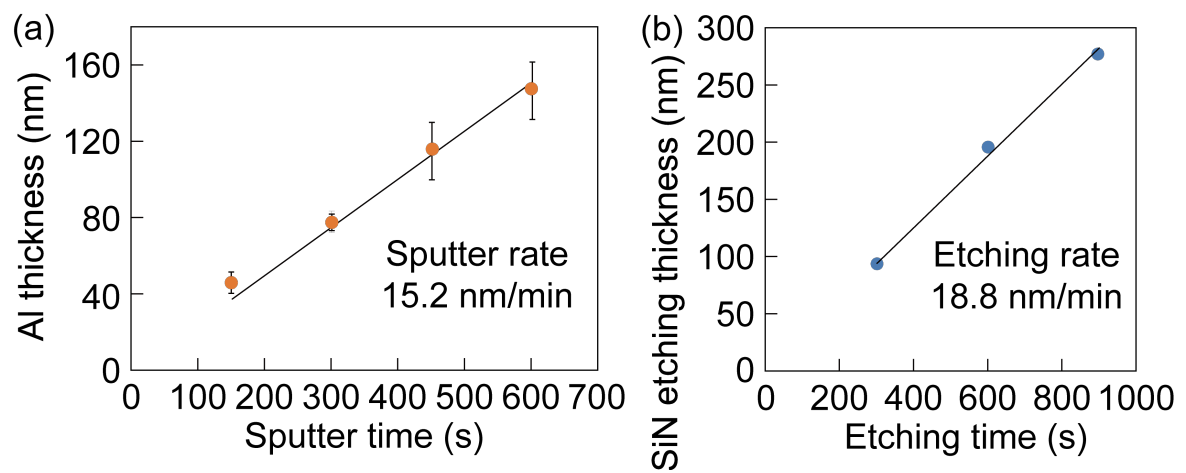


Fig. 3.9 (a)  $\text{CHF}_3$  ドライエッチングにおける SiN のエッチングレート。(b) Al のスパッタレート。

### 3.4 ポリマー薄膜の DC 上への形成

本節では SiN DC センサの表面へのポリマー薄膜形成について述べる。MIP を含む 3 種類のポリマー薄膜が原子移動ラジカル重合法 (AGET-ATRP) を用いて成膜された。Fig. 3.11 は MIP の成膜プロセスフローを表した模式図である。

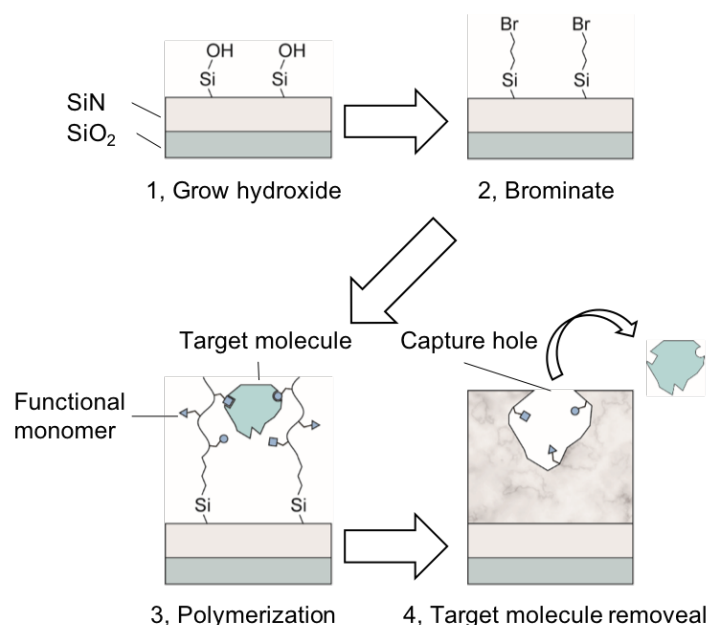


Fig. 3.11 MIP の成膜プロセス。

#### 3.4.1 MIP の成膜プロセス

本節では DC センサ表面に成膜した分子鑄型ポリマー (MIP) を含む 3 種類のポリマー薄膜の成膜プロセスである原子移動ラジカル重合法について述べる。

AGET-ATRP とはリビングラジカル重合法の一つであり、遷移金属錯体を触媒、有機ハロゲン化合物を重合開始材とするものを言う。この手法は 1995 年にカーネギーメロン大学のクリストフ・マティシェフスキーおよび京都大学の澤本光男によって同時期に発明された<sup>5,6</sup>。AGET-ATRP は重合中のポリマー成長末端がラジカルを有する活性種とラジカルがハロゲン原子に捕らえられたドーマント種の間で平衡状態にある。そのため、ラジカル同士が反応してしまう二分子停止反応が理論上起こらず、リビング性が達成されている。この手法は従来のイオン重合と比較してより広範囲なモノマーに応用可能かつ非常に行動に制御することができるとして、現在も広く用いられている<sup>7</sup>。本研究では遷移金属錯体として銅 (II)、重合開始材として臭素を DC 導波路表面に修飾した。また、鑄型分子であるヒト血清アルブミン (HSA) と反応する機能性モノマーとしてピロリジルアクリレート (PyA) を用いる。HSA は血中に 70 % と最も多く含まれるタンパク質であり、肝臓や腎臓疾患のマーカータンパク質として臨床で広く用いられている。20  $\mu\text{g/ml}$  以上の濃度から腎臓疾患が疑われる<sup>8</sup>。Fig. 3.12 に PyA の化学式を示す。

PyA は陽イオン性のモノマーであり、HSA 中の陰イオン性 (トリプトファン、TrP 等) のアミノ酸の静電的相互作用により吸着している。PyA はこのような可逆反応での吸着をするため、繰り返しでの測定が可能となっている。この機能性モノマーと、骨格モノマーとして 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC)、MPC 鎖同士をつなげる架橋材として N,N'-

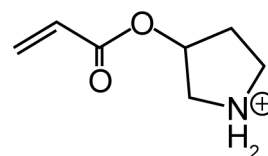


Fig. 3.12 機能性モノマー (PyA) の化学式。

メチレンビスアクリルアミド (MBAA) を用いている。MPC はタンパク質の非特異吸着を防ぐ作用があると報告されている<sup>9</sup>。

### 3.4.2 DC チップ上への MIP 成膜プロトコル

MIP 薄膜の成膜および評価に際して以下の試薬および材料を用いた。すべてのポリマー成膜は神戸大学の竹内俊文研究室で行った<sup>10</sup>。

#### 材料

- ・ ヒト血清アルブミン (HSA) (和光純薬工業)
- ・ ウシ血清アルブミン (BSA) (和光純薬工業)
- ・ ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) (和光純薬工業)
- ・ 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) (東京化成工業)
- ・ N,N'-メチレンビスアクリルアミド (MBAA) (東京化成工業)
- ・ 3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) (東京化成工業)
- ・ N,N'-ジメチルホルムアミド (DMF) (東京化成工業)
- ・ 2,2'-ビピリジン (Bpy) (東京化成工業)
- ・ 2-ブロモイソ酪酸 (東京化成工業)
- ・ 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDS·HCl) (渡辺化学工業)
- ・ N-ヒドロキシコハク酸イミド (NHS) (シグマアルドリッチ)
- ・ 臭化銅 (II) (昭和化学)
- ・ L-アスコルビン酸 (純正化学)
- ・ エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム塩四水和物 (EDTA-4Na) (純正化学)
- ・ 塩化ナトリウム (アズワン)

#### 装置

- ・ UV オゾンクリーナー (UV-1 サムコ)
- ・ ホットプレート (アズワン)
- ・ 恒温槽 (アズワン)

#### 1. SiN のヒドロキシ化

SiN 導波路表面の SiN を UV オゾンクリーナー (UV-1) によってヒドロキシ化した。DC チップを UV オゾンクリーナーに入れ、出力 50 W で 30 min オゾン照射した。

#### 2. APTES 修飾

ビーカーに APTES (1 wt%) とエタノール : 水 = 95:5 を混合した溶液を入れ、DC チップを室温で 60 min 浸した。続いてビーカーを 80°C のホットプレートで 60 min ベークした。これにより、SiN 導波路表面が APTES 修飾される。

#### 3. Br 化

ビーカーに 2-ブロモイソ酪酸 (0.5 mM)、NHS (0.75 mM)、EDS·HCl (0.75 mM) を DMF 溶媒に溶かす。DC チップを室温で 12 h 浸す。その後 DC チップを DMF でリンスする。これにより、SiN 導波路表面が Br 化される。

#### 4. 重合

リン酸バッファー (pH 7.4) に HSA (10  $\mu\text{M}$ )、PyA (30  $\mu\text{M}$ )、MPC (1.8 mM)、MBAA (20  $\mu\text{M}$ )、臭化銅 (II) (0.1 mM)、Bpy (0.2 mM)、L-アスコルビン酸 (50  $\mu\text{M}$ ) をフラスコに入れ、DC チップを浸す。フラスコ内を窒素雰囲気化にして 40 °C の恒温槽に 1 h 浸し、重合する。この時の重合時間によって、ポリマー膜厚の調整が可能である。また、本研究では重合時間が 0.5, 1, 2 h の 3 通りの MIP を成膜した。

#### 5. 銅 (II) 除去

重合後の DC チップをエタノールでリンスし、EDTA-4Na (1.0 M) に 1 h 浸す。これにより、DC チップ表面の銅 (II) イオンを除去する。

#### 6. 鑄型分子除去

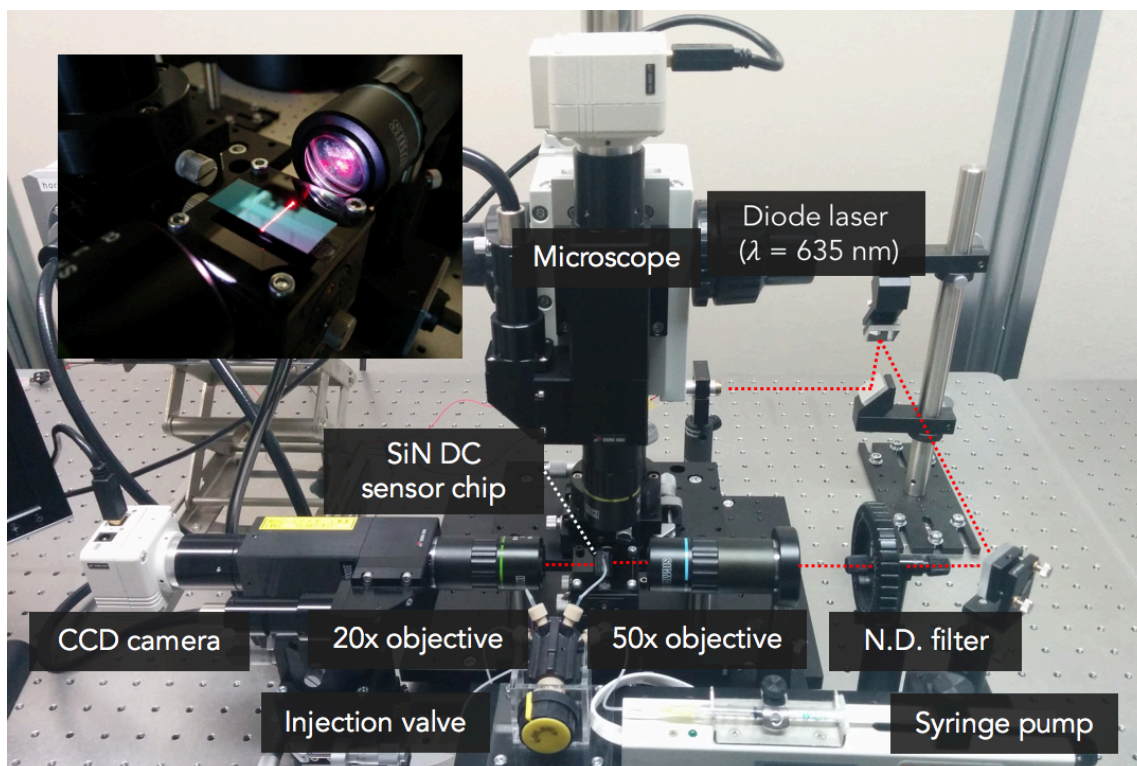
純水に塩化ナトリウム (1.0 M)、SDS (0.1 wt%) を溶かし、DC チップを 12 h 浸す。鑄型分子である HSA の 3 次元構造が界面活性剤である SDS によって崩れ、HSA は MIP の吸着孔より抜け出してくる。

以上が MIP の成膜プロトコルである。また、本研究では MIP 以外に無鑄型ポリマー (NIP) と MPC ポリマーを成膜している。NIP は上述の 4. 重合において鑄型分子である HSA を含まずに重合を行なったものである。よって、NIP には機能性モノマーにより HSA と静電的相互作用をする可能性はあるが、MIP のような吸着孔が存在しない。MPC ポリマーは、4. 重合において HSA だけでなく機能性モノマーである PyA も含まずに重合を行なったものである。

### 3.5 実験方法

#### 3.5.1 光実験装置の構成

測定に用いた光学実験装置のレイアウト写真を Fig. 3.13 に示す。DC チップは 40 mm 角の 6 軸精密ステージ (Edmund optics) 上に固定された。光源として波長 635 nm、出力 5 mW、TE 偏光の半導体レーザー (Edmund optics) を用いた。DC チップの入射用導波路端面へ倍率 50 倍の長作動対物レンズ (作動距離 : 20.5 mm、開口数 : 0.42、焦点距離 : 4 mm、PAL-50-L シグマ光機) で絞ったレーザー光を入射した。出射用導波路端面からの 2 つの出射光は倍率 20 倍の長作動対物レンズ (作動距離 : 31 mm、開口数 : 0.29、焦点距離 : 10 mm、PAL-20-L シグマ光機) を通して CCD カメラ (200 万画素、SK-TC202USB-AT シグマ光機) に結像させた。チップへの光入射と CCD カメラの結像の位置合わせは、それぞれチップの上部と横方向に設置した顕微鏡システムを使用した。CCD カメラによって観測された出射光の近視野像は静止画および動画として保存され、画像処理ソフト ImageJ (NIH) を用いて解析された<sup>11)</sup>。出射光強度は、近視野像内の最も光強度の強い点を中心として、直径 10  $\mu\text{m}$  の円内の信号強度の平均値を  $s_1$  および  $s_2$  の値とした。信号強度は、CCD カメラのイメージセンサの緑色に対応する信号を用いた。



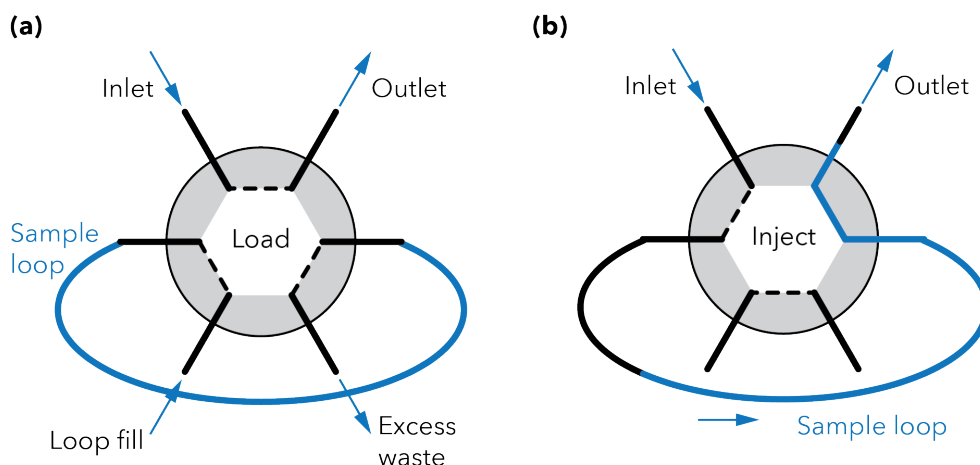
**Fig. 3.13** 光学実験装置の写真。赤色の破線は光路を表す。挿入図は、SiN 細線導波路中の伝搬光の散乱を捉えた写真。

### 3.5.2 光計測における流体制御

微小流路（幅  $0.6 \mu\text{m}$ 、高さ  $200 \mu\text{m}$ ）はポリジメチルシロキサン（Polydimethylsiloxane: PDMS）を材料として作製した。3 inch ガラス基板上に厚膜フォトレジスト SU-8 25 をスピンコートし、UV 露光機（MA-10 ミカサ）を用いて流路構造の鋳型パターンを形成した。作製した鋳型に PDMS 前駆体を流し込み、 $80 \text{ }^\circ\text{C}$  で 30 min 加熱した。硬化した PDMS を鋳型から剥がし、カッターナイフで 1 チップごとに切り分けた。流路の出入り口を形成するために生検トレパン（貝印）を用いて直径  $1 \text{ mm}$  の貫通孔を開けた。PDMS チップは、顕微鏡下で位置を確認して DC のセンサ領域が流路内に収まるように導波路と直行する方向で貼り合わせた。SU-8 25 のパターン形成に用いたマスクを付録 1 に記載した。

流体を用いたセンシングにおいて、正確なサンプルの切り替えや安定した流速の維持が重要となる。本研究では、シリンジポンプ（MD-1000/MD-1101 Bioanalytical Systems Inc.）を用いてサンプル溶液の流速を調整した。測定時のバッファと測定対象溶液の交換は 6 孔インジェクションバルブ（V-451 IDEX Health & Science）を用いた。PDMS 流路、バルブ間とバルブ、シリンジポンプ間はシリコンチューブを介して接続した。正確な溶液の切り替えを可能とするために用いたバルブの機能を Fig. 3.14 に示す。バルブは溶液の充填（Fig. 3.14(a)）と導入（Fig. 3.14(b)）の二つの状態を保つ。バルブが充填の状態にあるときはバルブの入口と出口が直結している。バルブが導入の状態にあるときは、入口と出口の間にサンプルループが接続される。測定前の準備としてまずバルブを充填状態にし、入り口からバッファを注入し、PDMS 流路に流す。そして、サンプルループ内を測定対象溶液で充填する。バルブを用いることで、異なる溶液間に混入する気泡を再上限に抑えることができる。測定開始直後にバルブを導入状態に切り替える。シリンジポンプが加圧することで、サンプルループ内の溶液がセンサ表面に到達する。サンプルループ内の溶

液が全てセンサ表面に到達すると今度はシリンジポンプ内に重点されたバッファーが送液される。再び測定対象溶液を充填するときは、バルブの状態を重点に戻し、前述の操作を繰り返せば良い。

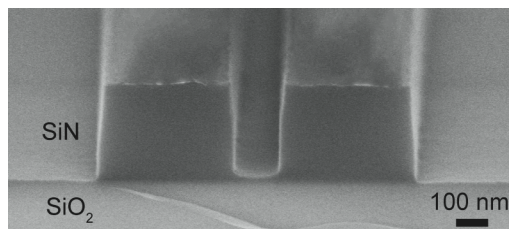


**Fig. 3.14** インジェクションバルブ機能を表す模式図。(a) 充填状態では、サンプルループへの測定対象溶液の導入が可能となる。(b) 導入状態では、inlet と outlet の間にあるサンプルループがセンサへと押し出される。

## 3.6 結果と考察

### 3.6.1 DC センサの断面観察

作製した DC センサのセンサ領域を劈開し、その断面を SEM によって観察した (Fig. 3.15)。SiN 導波路は高さ 293 nm、上辺の幅 408 nm、下辺の幅 442 nm、上辺のギャップ距離 162 nm、下辺の幅 129 nm であった。また、SiN 導波路の側面の内側および外側のテーパ角はそれぞれ 3.7 度、5.8 度であった。作製プロトコルを最適化する以前はパターン用のマスクを電子線リソグラフィー用のレジストのみとしていた。



**Fig. 3.15** DC センサ断面の SEM 像

この時の DC 断面寸法は、高さ 293 nm、上辺の幅 309 nm、下辺の幅 432 nm、上辺のギャップ距離 129 nm、下辺の幅 78 nm、内側および外側のテーパ角はそれぞれ 8.2 度、27 度であった。この時、伝搬ロスが懸念された。光伝搬において、導波路の形状が非対称になる程、伝搬モードが励起しにくくなり、伝搬ロスが増えることがわかっている。これは、伝搬モード、すなわち電磁場の定在波がエネルギー的に最も安定するのが同心円状の形状であるからである。1 層のみのマスクによって作製した SiN 導波路は、最大で側面のテーパ角が 27 度と非常に大きかった。これにより、上下方向の対称性が大きく崩れてしまう。また、導波路内側と外側のテーパ角の差も 18.8 度と非常に大きい。これにより左右方向の対称性も著しく低下した。マスクとして Al 層を追加した作製プロトコルでは、外側のテーパ角を 78% 低減することに成功した。また、内外のテーパ角差についても 89% 低減することができた。導波路の幅およびギャップ距離は上辺と下辺のあたりの平均を取ると、それぞれ 425 nm、145 nm であった。設計値からの誤差はそれぞれ 6.3%、3.3% まで抑えることができた。また、導波路高さは 293 nm であり、SiN 層のみをエッチングすることができた。

### 3.6.2 ポリマー薄膜形成 DC の出射光強度からの膜厚測定

DC センサ表面に成膜した後にそれぞれのポリマー薄膜の膜厚を求めた。そのための手段として、ポリマー成膜前後での結合長の変化を用いた。本研究室ではすでに大久保が SiN DC センサ表面にビオチンの修飾および修飾前後での結合長変化量の測定を行なっている<sup>12</sup>。この時のビオチン層は厚さ 3.8 nm、修飾による結合長変化量は 28 nm であった。すでに 3.2 節において、DC センサ表面の表面に修飾する MIP 膜厚と結合長の間には線型性があることをシミュレーションにより示している。また、ビオチンやポリマーなどの生体材料の屈折率は 1.4-1.5 程度であるとされているため、ここではどちらも 1.45 であると仮定した<sup>13,14</sup>。以上のことから、

SiN DC センサ表面に修飾した生体材料の膜厚あたりの結合長変化量は、0.14 であることがわかる。Fig. 3.17 にビオチン、MPC、NIP、MIP 修飾前後での結合長の変化量を示す。このグラフにおいてビオチンのデータは本研究室の大久保によるものである。今回の MPC、NIP、MIP 成膜前後での結合長変化量はそれぞれ 23、49、52 nm であった。よって、それぞれの膜厚は、3.9、6.8、7.3 nm であった。MIP および NIP は当初想定していた膜厚 7 nm とほぼ一致した膜厚とさせることができた。MPC については、機能性モノマーである PyA を含まなかったことにより、重合中に MPC モノマーの量が不足し、反応速度が低下したためではないかと予想している。また、以上の測定結果より DC センサ表面に 3 種類のポリマーが成膜されたというより根本的な結果も示すことができた。

### 3.6.3 ヒト血清アルブミン (HSA) のポリマー修飾 DC を用いた測定

分子鑄型ポリマーは測定対象タンパク質（鑄型分子）をその形状および吸着因子の位置によって高度に識別可能である<sup>15-17</sup>。まず、MIP が測定対象タンパク質であるヒト血清アルブミン (HSA) の形状を本当に識別しているのかを証明するために、MIP および NIP を用いた HSA の検出実験を行なった。Fig. 3.18 にそれぞれの検出結果を示す。HSA は PBS (pH 7.4) を溶媒とし 1  $\mu$ M の溶液を用意した。まず、PBS (pH 7.4) を 20  $\mu$ L/min で微小流路に流し、ベースラインを検出した。続いて 240 s 後に 1  $\mu$ M HSA を 20  $\mu$ L/min で流し、シグナルが一定となったところで HSA によるシグナルを検出した。検出結果のグラフより、HSA 導入により NIP ではほぼ結合長に変化はなかったが、MIP では大きな変化が観測された。そして HSA 導入から 200 s ほどで再びシグナルが一定となっている。以上の結果より、MIP の吸着孔が HSA 吸着には不可欠であることが示された。Fig. 3.19 は同様の測定を MPC でも行い、HSA によるベースラインからの結合長変化量をグラフにしたものである。MIP、NIP、MPC での 1  $\mu$ M HSA による結合長変化量はそれぞれ 33、5、6 nm であった。すなわち、MIP でのみ大きな結合長変化量が得られた。MIP が測定対象タンパク質の形状だけでなく、吸着因子の位置によっても識別を行なっていることを示すために、HSA とほぼ同程度の構造および分子量のウシ血清アルブミン (BSA) (1  $\mu$ M) の検出を行なった。BSA と HSA の分子量はそれぞれ 66.3、66.2 kDa と非常に近い。また、Fig. 3.16 に示すようにアミノ酸配列も非常に近く、一部の配列を除いてほぼ一致する<sup>18</sup>。そのため、分子識別素子の性能評価のために広く使われている<sup>19</sup>。検出の結果、MIP、NIP、MPC での 1  $\mu$ M BSA による結合長変化量はそれぞれ 5、4、6 nm であった。これらの値は、NIP および MPC での 1  $\mu$ M HSA 検出時の結合長変化量とほぼ一致

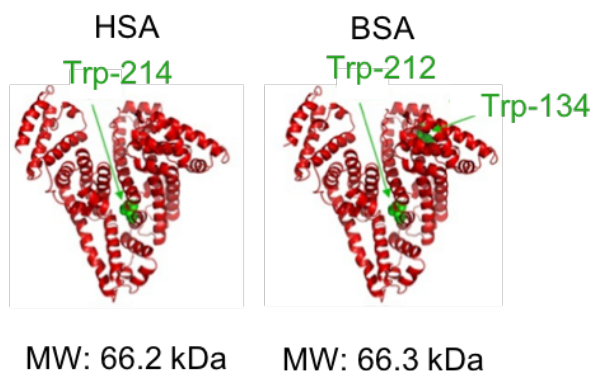


Fig. 3.16 DC センサ断面の SEM 像。  
Reprinted with permission from ref. Belatik et al., 2012. Copyright 2012 Public Library of Science.

する。このことから、BSAはMP、NIP、MPCに吸着しなかった。と考えられる。また、結合長がそれぞれわずかに変化しているのは、微量のタンパク質がそれぞれのポリマー薄膜表面に非特異吸着していることによると考えられる。このように、MIPが分子量および形状のほぼ等しいBSAによる結合長変化量がなかったことから、MIPが測定対象タンパク質の形状だけでなく、機能性モノマーと静電的相互作用するアミノ酸の位置についても識別しているということを示せた。

### 3.6.4 MIP-DC センサを用いた繰り返し測定

バイオセンサにおけるMIPの分子識別素子としての最大の利点として、対象タンパク質の繰り返し測定が可能という点がある。これを示すために同一のMIP修飾DCセンサ(MIP-DC)を用いて、 $1\ \mu\text{M}$  HSAの繰り返し測定を行なった。まず、PBS (pH 7.4)を $20\ \mu\text{L}/\text{min}$ で微小流路に流し、ベースラインを検出した。続いて $1\ \mu\text{M}$  HSAを $20\ \mu\text{L}/\text{min}$ で流し、シグナルが一定となったところでHSAによるシグナルを検出した。そして、純水に塩化ナトリウム(1.0 M)、SDS(0.1 wt%)を溶かし、DCチップを12 h浸し、HSAを取り除いた。これを3回行なった。Fig. 3.20にHSAの繰り返し測定結果を示す。それぞれの測定での $1\ \mu\text{M}$  HSAによる結合長変化量は32, 34, 34 nmであった。これら3回の測定による結合長変化量の変動係数は3.4%であった。センサにおいて、繰り返し測定が可能であるとみなされるのは、変動係数が5%以下の時であるとされる<sup>20</sup>。MIP-DCは変動係数が5%以下であったため、繰り返し測定での使用が可能であることが示された。

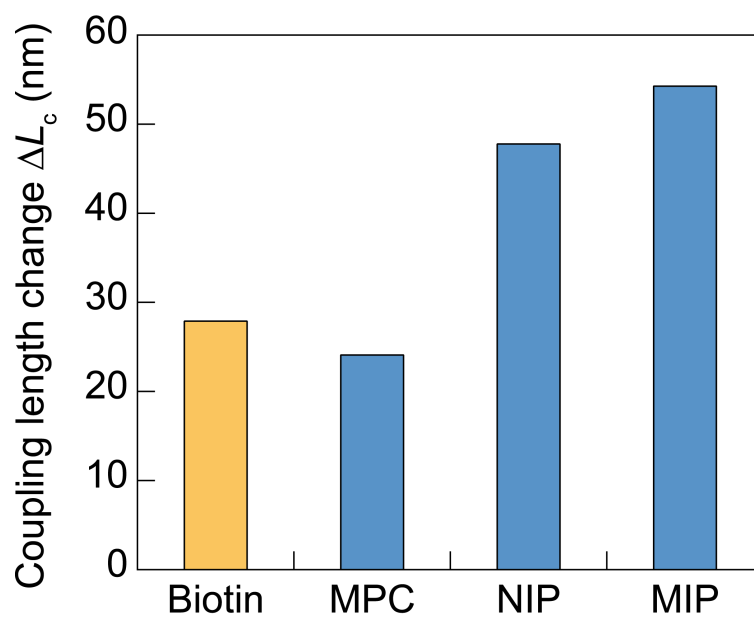
### 3.6.5 MIP-DC センサの感度および検出限界

MIP-DCセンサのHSAに対する感度および検出限界を求めるためにHSAの検量線を求めた。 $0.25$ ,  $0.5$ ,  $1.0$ ,  $10\ \mu\text{M}$  HSAでの測定を行った。Fig. 3.21にHSAの検量線を示す。それぞれの濃度において、結合長変化量は4, 15, 33, 35 nmであった。このことから、HSAに対する濃度あたりの結合量変化量の感度は、 $31\ \text{nm}/\mu\text{M}$ であった。また、検出限界は $62.9\ \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。一方 $10\ \mu\text{M}$  HSAでの結合長変化量が $1\ \mu\text{M}$ の時とほぼ変わらなかったことから、MIP-DCセンサの検出上限は $1 - 10\ \mu\text{M}$ の間であることがわかった。同じ構造のSiN DCセンサを用いてストレプトアビジンの検出を行なった大久保は感度 $60\ \text{nm}/\mu\text{M}$ 、検出限界 $62.9\ \mu\text{g}/\text{ml}$ であった<sup>12</sup>。このことから、MIPはビオチンと比較して感度は50%、検出限界は9倍となった。これはビオチン・ストレプトアビジン反応が非常に強力であることと、MIPのタンパク質吸着能力が抗体などと比較して弱いことに起因していると考えられる。また、HSAの診断に必要な検出感度 $25\ \mu\text{g}/\text{ml}$ には及ばなかった。このように、MIPは非常に優れた選択性および繰り返し測定能力を示したが、タンパク質の吸着能力に問題があることがわかった。次章ではMIPの吸着能力不足をセンサの改善による高感度化によって解決することを検討している。

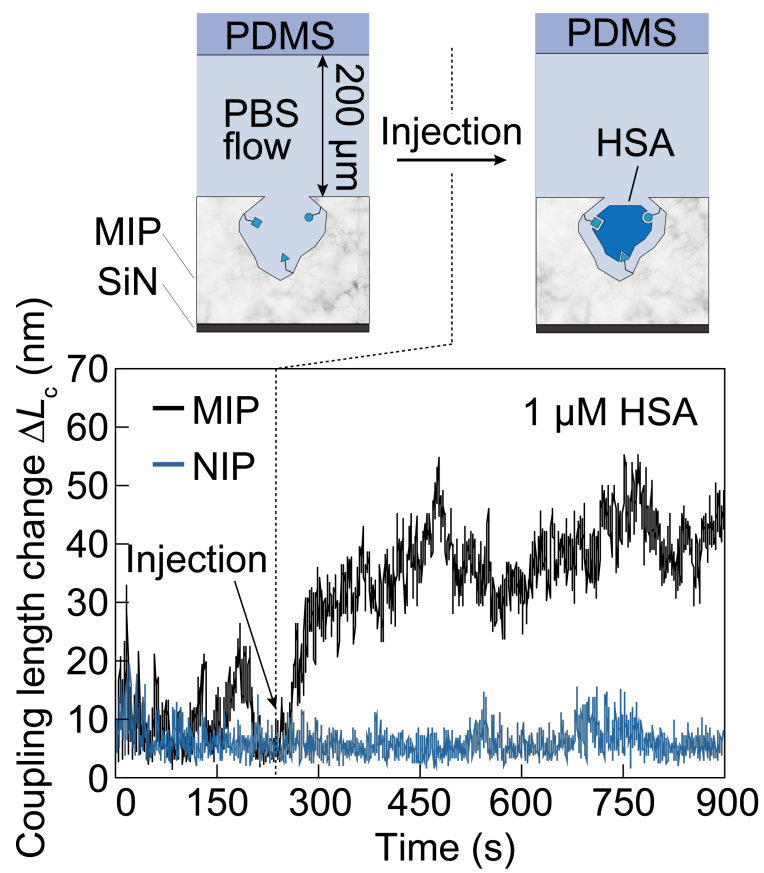
## 3.7 まとめ

MIPとSiN DCセンサを組み合わせることで、繰り返し測定可能なバイオセンサを実現した。BPM/FEM法によるシミュレーションからMIP-DCセンサの感度が最大となるように導波路寸法およびMIP膜厚の最適化をし、タンパク質濃度と結合長変化量の間に関係性があることを示した。MIP、NIP、MPC修飾DCセンサでのHSAおよびBSAの測定より、MIPでのHSA測定でのみシグナルが得られたことから、MIPの高い選択性が示された。同一MIP-DCセンサによる繰り返し測定では、変動係数が3.4%と、5%以下であったため、高い繰り返し測定能力を持っていることを示した。HSAに対する感度は $31\ \text{nm}/\mu\text{M}$ 、検出限界 $62.9\ \mu\text{g}/\text{ml}$ (HSA濃度に換算して $950\ \text{nM}$ )であることを確認した。

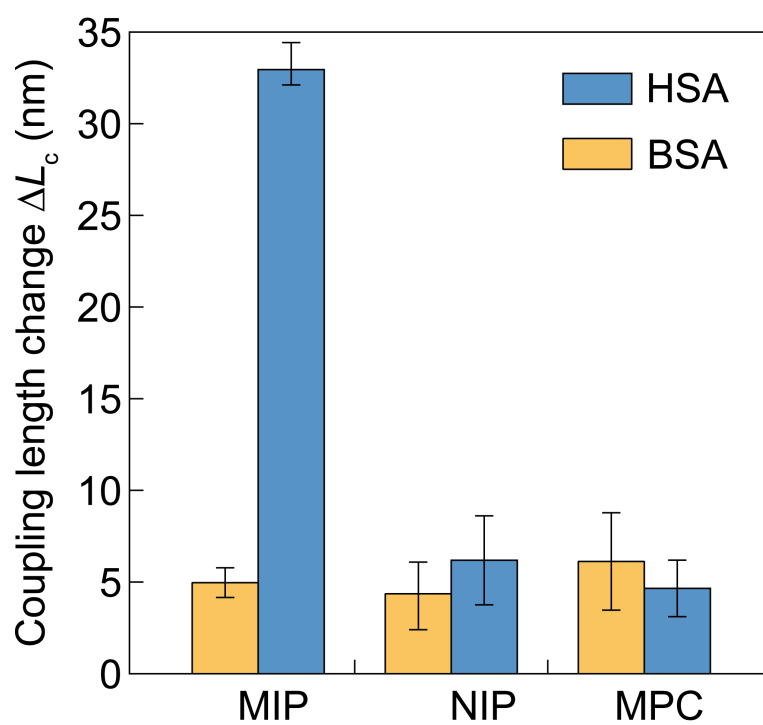




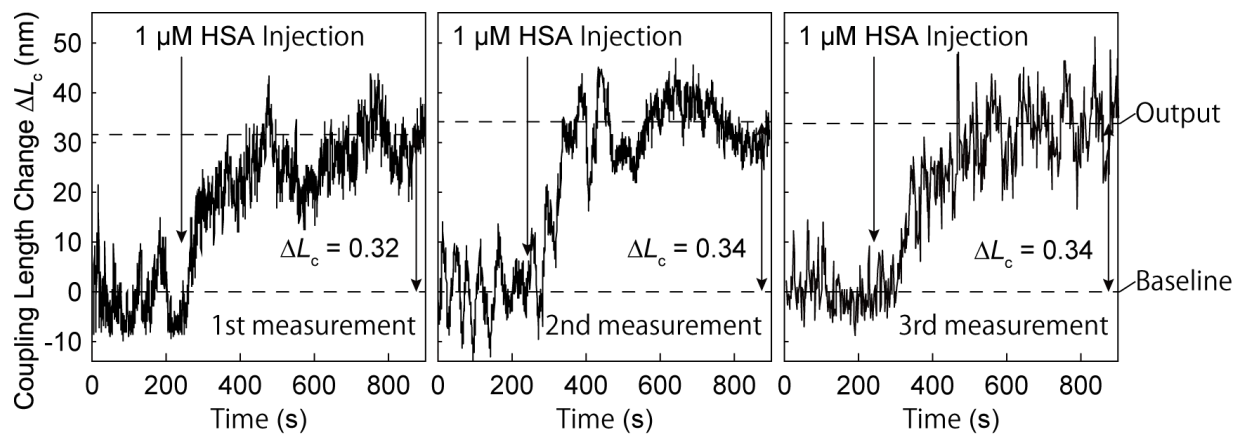
**Fig. 3.17** DC センサ表面への修飾前後での結合長変化量。ビオチンによるデータは本研究室の大久保によるもの<sup>1)</sup>。



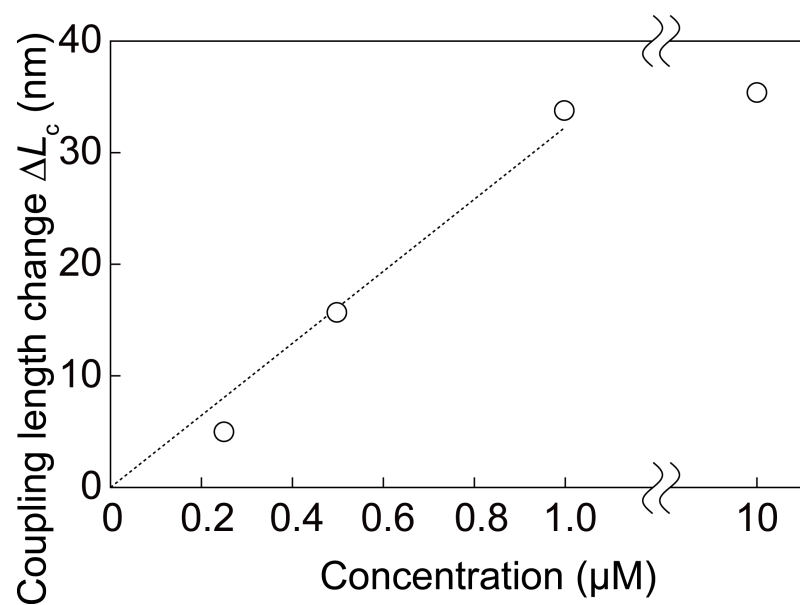
**Fig. 3.18** MIP および NIP が修飾された DC センサを用いた HSA (1  $\mu\text{M}$ ) の検出結果。結合長の変化量は、測定時間 0 s での結合長からの変化量としている。



**Fig. 3.19** MIP、NIP、MPC 修飾 DC センサでの  $1.0 \mu\text{M}$  HSA および BSA の測定結果。それぞれの測定は 3 回ずつ行われた。



**Fig. 3.20** 同一の DC センサを用いた  $1.0 \mu\text{M}$  HSA の測定。測定は 3 回行われた。グラフ中の点線はベースラインと HSA の検出シグナルを示し、それぞれ 0 - 200 s、700 - 900 s でのアウトプットシグナルの平均値である。



**Fig. 3.21** 同一 DC センサでの 0.25, 0.5, 1.0, 10  $\mu\text{M}$  HSA の測定。1.0  $\mu\text{M}$  までは結合長と濃度に線形性がある。

## 参考文献

1. S. Wolf, [Silicon processing for the VLSI era 1, 1] Lattice Pr., Sunset Beach, Calif.(2000).
2. R. V. Ramaswamy, and R. Srivastava, "Ion-exchanged glass waveguides: a review," *J. Lightwave Technol.*, 6(6), 984-1000 (1988).
3. T. Nagata et al., "Micron-size optical waveguide for optoelectronic integrated circuit," *Jpn. J. Appl. Phys.*, 33(1B), 822 (1994).
4. T. Banjo et al., "Effects of O<sub>2</sub> addition on BCl<sub>3</sub>/Cl<sub>2</sub> plasma chemistry for Al etching," *Jpn. J. Appl. Phys.*, 36(1), 7B (1997).
5. J. Wang et al., "Controlled/"living" radical polymerization. atom transfer radical polymerization in the presence of transition-metal complexes," *J. Am. Chem. Soc.*, 117(20), 5614-5615 (1995).
6. M. Kato et al., "Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride/Dichlorotris-(triphenylphosphine)ruthenium(II)/Methylaluminum Bis(2,6-di-tert-butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization," *Macromolecules*, 28(5), 1721-1723 (1995).
7. K. Kim et al., "Preparation of Homopolymers and Block Copolymers in Miniemulsion by ATRP Using Activators Generated by Electron Transfer (AGET)," *J. Am. Chem. Soc.*, 127(11), 3825-2830 (2005).
8. R. E. Wang et al., "A Homogeneous Fluorescent Sensor for Human Serum Albumin," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 63, 165-169 (2012).
9. K. Ishihara et al., "Preparation of Phospholipid Polymers and Their Properties as Polymer Hydrogel Membranes," *Polym. J.*, 22(5), 355-360 (1990).
10. Y. Inoue et al., "Fluorescent molecularly imprinted polymer thin films for specific protein detection prepared with dansyl ethylenediamine-conjugated O-acryloyl L-hydroxyproline," *Biosens. Bioelectron.*, 48(15), 113-119 (2013).
11. C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis," *Nat. Methods.*, 9(7), 671-675 (2012).
12. K. Okubo et al., "Silicon nitride directional coupler interferometer for surface sensing," *Opt. Eng.*, 56(1), 017101-017107 (2017).
13. J. Vörös et al., "The Density and Refractive Index of Adsorbing Protein Layers," *Biophys. J.*, 87(1), 553-561 (2004).
14. H. Zhao et al., "On the Distribution of Protein Refractive Index Increments," *Biophys. J.*, 100(9), 2309-2317 (2011).
15. G. Vasapollo et al., "Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective," *Int. J. Sci.*, 12(9), 5908-5945 (2011).
16. H. Zhao et al., "Bioapplications for Molecularly Imprinted Polymers," *Anal. Chem.*, 86(1), 250-261 (2013).

17. T. Takeuchi et al., "Molecularly Imprinted Tailor-Made Functional Polymer Receptors for Highly Sensitive and Selective Separation and Detection of Target Molecules," *Int. J. Sci.*, 37(2), 43-64 (2016).
18. J. Steinhardt et al., "Differences between bovine and human serum albumins. Binding isotherms, optical rotatory dispersion, viscosity, hydrogen ion titration, and fluorescence effects," *Biochemistry*, 10(22), 4005-4015 (1971).
19. R. E. Wang et al., "A Homogeneous Fluorescent Sensor for Human Serum Albumin," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 7(63), 165-169 (2012).
20. G. F. Reed et al., "Use of Coefficient of Variation in Assessing Variability of Quantitative Assays," *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 9(6), 1235-1239 (2002).

## 第4章 エアホール型光導波路の作製と MIP への統合

### 4.1 はじめに

本章では SiN 導波路センサのさらなる高感度化のために、センサ表面に周期的な縦穴からなるエアホールの形成されたエアホール型導波路 (AHW) センサの構築を試みた。そのための実験として、数値計算による AHW センサの基本特性の評価を含むデバイス設計、デバイス作製、光入射実験結果について述べる。

第1章で説明したように、一般的な導波路センサでは導波路表面に染み出したエバネッセント場をセンシングに用いている。しかし、エバネッセント場は導波路内部を伝搬する光と比較して強度は10分の1以下である。第2,3章で用いた DC センサは導波路間ギャップにおいて通常の3倍程度の強度のエバネッセント場がある。この DC センサと MIP の組み合わせにより、肝臓および腎臓疾患のマーカータンパク質であるヒト血清アルブミン (HSA) の測定に成功し、目的であった繰り返し測定可能なバイオセンサを実現した。しかし、HSA の検出限界が  $24.9 \mu\text{g/ml}$  と、HSA の臨床に必要な検出限界  $20 \mu\text{g/ml}$  を達成できなかった。また、センサ長は  $406 \mu\text{m}$  と目標である  $100 \mu\text{m}$  の4倍の長さのデバイスを用いての実験であった。そこで、本章では SiN 導波路のセンサ領域にエアホールを形成し、より光の強度の高い導波路内部をセンシングに用いることでセンサの高感度化を試みた。AHW センサと類似した構造に1次元フォトニック結晶 (1D PhC) 導波路がある。エアホールが導波路内の光を反射させる 1D PhC との違いは、AHW では伝搬光を透過するように配列した点である。

#### 4.1.1 フォトニック結晶導波路

フォトニック結晶導波路は、主にシリコン材料を用い、周期的なエアホールを開けることで光を伝搬させるもので、その他の平面導波路と同様に光通信分野において古くから研究されてきた<sup>1</sup>。現在表面センサとして最もよく用いられているのは2次元フォトニック結晶である<sup>2,4</sup>。Fig. 4.1 にその構造を示す。Si などの導波路材料に光の導波領域以外に周期的なエアホールを形成したものとなっている。フォトニック結晶導波路の特徴として、通常の導波路では1-5度程度である曲がり

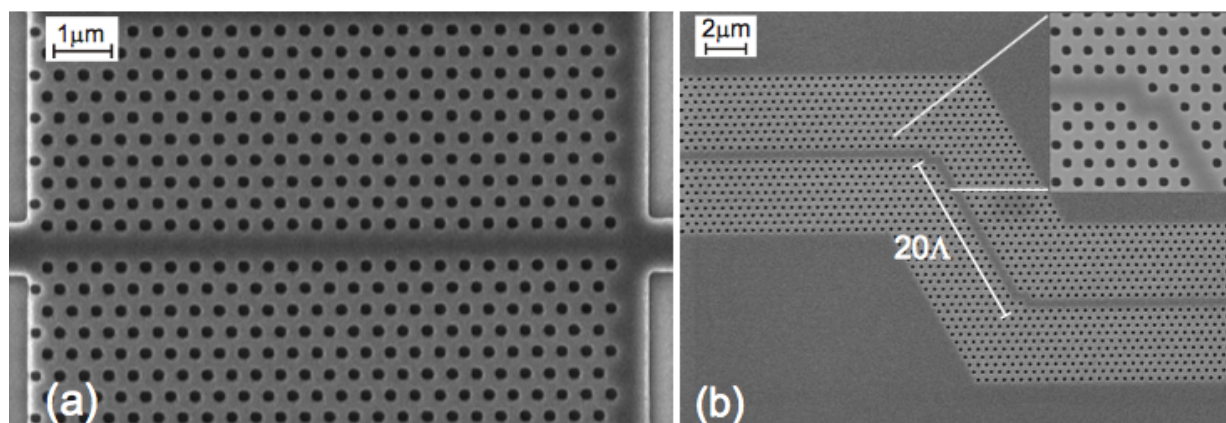


Fig. 4.1 (a) 直線および (b) 曲がり角 60 度の 2 次元フォトニック結晶導波路の SEM 像<sup>2</sup>。

Reprinted with permission from ref. A. Lavrinenko et al., 2004. Copyright 2004 Optical Society of America.



角を 90 度以上にできるなどの高い光導波性能がある。これにより、無駄なスペースを省きコンパクトなセンサを作製可能という利点がある。その反面、非常に高度な微細加工技術を要するという欠点があったが、近年の微細加工技術の向上により作製は容易になってきている。本研究で作製したエアホール型導波路は Fig. 4.2 に示した 1 次元フォトニック結晶導波路に構造に近い<sup>5-7</sup>。図に示したように、通常の導波路構造の内部に周期的なエアホールが一行に並んでいる。このような導波路内の周期構造は伝搬光を反射する作用を持つため、導波路内のミラー構造として使用されている。また、反射作用を持つエアホール配列を 2 つ向かい合わせに並べることで光の多重反射を起こし、導波路内部の一点への強力な光の閉じ込めを利用した、光ピンセットとしての応用例も報告されている<sup>5</sup>。このような 1D PhC 導波路での光の反射はブラッグミラー構造と同様の原理で起こっている。ブラッグミラー構造とは、Fig. 4.3(a)に示すような屈折率の異なる 2 種類の薄膜が交互に積み重なった構造である。1D PhC 導波路では、エアホールが低屈折率層、導波路部分が高屈折率層として機能している。ある特定の波長の光をこれらの多層膜へ入射すると、それぞれの薄膜界面での反射光と入射光の位相が揃い、打ち消しあうことで透過光強度が減少し、反対に反射光強度が増大する。それ以外の波長では位相は揃わないため、光は透過する (Fig. 4.3(b))。1D PhC 導波路では光が反射するように波長、エアホールサイズおよび間隔を設定している。本研究では逆に、光が透過するような領域に設定することを考えた。

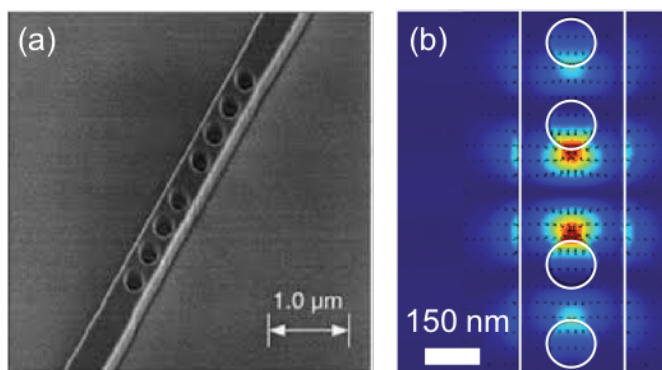


Fig. 4.2 (a) 1 次元フォトニック結晶導波路センサ SEM 像。(b) 伝搬光シミュレーション<sup>5</sup>。

Reprinted with permission from ref. S. Manda et al., 2010. Copyright 2010 American Chemical Society.

#### 4.1.2 マルチモード (MMI) 干渉計

MMI のセンサ領域の導波路幅は一般的に単一モード導波路の幅  $w$  の 2 倍以上となる構造をしている。これにより、センサ領域において 1 次モード以上の高次モードが励起する。また、DC センサと同様にセンサ領域の両端に入力および出力用の単一モード導波路が結合している (Fig. 4.4)。本研究では 2 つの伝搬モードの励起する MMI をベースとした AHW センサの構築を考える。よって、センサ領域での導波路幅は  $2w$  とした。入射用導波路内部を伝搬する光  $\phi_{in}(x)$  は MMI のセンサ領域で複数の高次モード  $\phi_i(x)$  に分岐する。MMI のセンサ領域の伝搬光は次の式で表される。

$$\phi(x) = \sum_i c_i \phi_i(x) \quad (1)$$

ここで、 $i$  はモード次数、 $c_i$  は励起定数である。センサ領域での、各伝搬モードは伝搬速度が異なる。この時の伝搬速度はセンサ領域周辺の屈折率に依存する。光導波路内を伝搬する異なる伝搬

速度の複数のモードが干渉を起こし、位相変化にすることで電磁場分布は変化する。これらの複数のモードが全て  $2\pi$  位相変化をした時に入射時の光強度分布と同様の分布に戻る。このように光強度が入射時と一致するまでに必要な伝搬距離を自己投影距離という。このように光強度分布が入射時と一致するタイミングは周期的に訪れる。自己投影距離  $d$  は次式で定義されるビート長  $L_\pi$  の  $3/4$  である。

$$L_\pi = \frac{\pi}{\beta_0 - \beta_i} = \frac{\lambda}{n_{\text{eff},0} - n_{\text{eff},i}} \quad (2)$$

ここで、 $\beta_i$  はモード  $i$  の伝搬定数を、 $n_{\text{eff},i}$  は等価屈折率を表す。DC と同様にそれぞれの伝搬モードの等価屈折率は周辺屈折率に依存する。よって、ビート長は周辺屈折率の変化量を反映して射ると考えられる。本研究では基底モードおよび1次モードのみが励起する MMI を AHW センサのベースとしている。このような場合は、式 (2) を  $i=1$  とすることでビート長を求めることができる。また、ビート長は結合長の半分であり、 $L_\pi=2L_c$  と表せる。

### 4.1.3 エアホール導波路(AHW)センサ

本研究では、前説で紹介した2モード励起の MMI センサを基本構造とした AHW センサを用いた (Fig. 4.5(a))。第2、3章では2本の導波路を150 nm まで接近させた構造からなる DC センサを用いた。これは、導波路間のギャップ部分に励起した強いエバネッセント場をセンシングに用いることを目的とした構造であった。AHW センサでは、エアホール内部により強いエバネッセント場が励起している (Fig. 4.5(b), (c))。そのため、ギャップ部分は必要なく、むしろエアホールの設置可能面積を狭めるだけの存在となる。このような理由から、本研究ではギャップがなく、かつ DC と同様にセンサ領域において2モードが励起するような MMI を基本構造としている。第2章でも述べたように、伝搬光は自身の波長の20分の1以上の凹凸構造が存在するとき散乱光となってしまう。AHW センサではセンサ領域に直径100-200 nm のエアホールを形成する。これによる光散乱の影響を軽減するために、使用する波長をより長い1.31  $\mu\text{m}$  とした。

## 4.2 AHW センサの数値計算による設計

本節では、MMI 干渉計を基本構造とした AHW センサのシミュレーション計算によるセンサ構造設計および特性評価について説明する。数値計算は電磁界分布解析ソフトウェア RSoft に含まれるモデリングソフト RSoft CAD および FDTD 計算用ソフト FullWAVE を用いて実行された。AHW センサでは、エアホールにおいて光が多重反射しながら伝搬していく。しかし、BPM 法および FEM 法ではその原理上光の反射を計算することができない (光は反射した時点で消滅するとみなされる)。よって、本章では FDTD 法のみを用いて計算を行った。

### 4.2.1 SiO<sub>2</sub> 膜厚と透過率の関係

本章では使用波長をより長い1.31  $\mu\text{m}$  とした。これにより、下部クラッドの SiO<sub>2</sub> 層への光の染み出し距離が伸びることが予想される。第2、3章では厚さ1.0  $\mu\text{m}$  の SiO<sub>2</sub> 薄膜を修飾していたが、波長1.31  $\mu\text{m}$  のレーザー光は伝搬しないことがわかった。これは、SiO<sub>2</sub> 層へ染み出した光がより屈折率の高い Si 層へ到達したことが原因であると考えられる。光はより屈折率の高い材質を伝搬するため、SiO<sub>2</sub> 膜厚が薄すぎると SiN 導波路へ入射した光が Si 層へと移ってしまう。そこで SiO<sub>2</sub> 膜厚と Si 層への伝搬光の流出量の関係を計算で求めた。計算モデルとして、幅800 nm、高さ300 nm、全長100  $\mu\text{m}$  の SiN 導波路、下部クラッドの SiO<sub>2</sub> 層、膜厚1  $\mu\text{m}$  の Si 層を用いた。SiO<sub>2</sub> 膜厚を0.5、

0.8、1.0、1.5、2.0、3.0  $\mu\text{m}$  として透過率を求めた (Fig. 4.6)。それぞれの  $\text{SiO}_2$  膜厚において透過率は  $1.0 \times 10^{-5}$ 、 $8.0 \times 10^{-2}$ 、0.50、0.95、0.98、0.99 であった。また、伝搬損失はそれぞれ 50、11、3.0、0.21、0.07、0.06 dB であった。これらの結果から、本研究では  $\text{SiO}_2$  膜厚を 2.0  $\mu\text{m}$  とした。

#### 4.2.2 AHW の単一モード条件

AHW 導波路はエアホールの影響で導波路の平均屈折率が低下することが予想される。また、エアホールによる光散乱の影響を軽減するために 1.31  $\mu\text{m}$  とより長い波長を用いた。エアホールの形成された SiN 導波路の単一モード条件を計算した。計算は、高さ 300 nm、幅 0.4、0.6、0.8、1.0  $\mu\text{m}$  の SiN 導波路の表面にホール直径 150 nm、ホール間隔 200 nm のエアホールを一行に 2 個ずつ、60 列 (全長 200  $\mu\text{m}$ ) 配置した構造で行った。この時のそれぞれの列は半周期ずつ交互にずらして配置した。計算に用いた FDTD 法は有効屈折率の計算が行えないため、AHW 導波路への入射高強度と、エアホールエリアを伝搬した後の伝搬光強度の差から透過率を計算し、比較することで伝搬モードが励起していることを確認した。入射光の波長は 1.31  $\mu\text{m}$  とした。Fig. 4.7(a)に導波路幅に対する透過率を示した。導波路幅 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 における透過率はそれぞれ 0.32, 0.82, 0.91, 0.92 であった。以上の結果から、導波路幅 0.8  $\mu\text{m}$  以上でシングルモードが励起していると判断した。Fig. 4.7(b)に幅 0.8  $\mu\text{m}$ 、高さ 0.3  $\mu\text{m}$ 、全長 40  $\mu\text{m}$ 、AH 領域 20  $\mu\text{m}$  の AHW の断面図を、Fig. 4.7(c)に伝搬する光の電場強度分布を示す。また、導波路幅を 2 倍とした時に基底モードおよび 1 次モードが励起していることを確認するために、エアホールの形成された幅 1.6  $\mu\text{m}$  の MMI センサへの光伝搬を計算した。Fig. 4.7(d)に結果を示す。二つの伝搬モードの干渉による周期的な電場強度の移り変わりが確認された。このことから、幅 1.6  $\mu\text{m}$  の AHW は 2 モードを励起することが確認できた。

#### 4.2.3 エアホール配列設計による AHW センサの設計

AHW センサではエアホールの配列によって、伝搬光はエアホール領域において反射もしくは透過する。本研究ではエアホール領域において光が透過するような配列をシミュレーションによって求めた。Fig. 4.8(a)にエアホール直径および配列の違いによる透過率の計算結果を示す。計算モデルでは、エアホールの直径を 20 - 260 nm の 13 通りとし、配列を三角格子配列および正方格子配列とした。それ以外のパラメータは単一モード条件の計算と同様とした。計算より、三角格子配列ではホール直径 100、140 nm で、正方格子配列ではホール直径 100、200 nm において透過率が近傍のホール直径の時と比較して低くなっており、エアホールのブラッグミラー効果が起こっていると考えられる。また、どちらの配列においてもホール直径が 180 nm 以上になるとホール直径が大きくなるほど透過率が減少している。これは、エアホール密度の上昇により導波路の平均屈折率が低下し、基底モードの励起条件を満たさなくなったためであると考えられる。本研究では、エアホール密度が高く、透過率が比較的大きい三角格子配列を採用し、エアホール直径を 160 nm とした。Fig. 4.8(b)はエアホール間隔と透過率の関係を示す。計算はエアホール配列を三角格子、エアホール直径 160 nm とし、エアホール間隔を 0 - 260 nm の 13 通りで行った。エアホール間隔が 200 nm 以下では、間隔が狭いほど透過率が減少している。これもエアホール間隔が狭くなるにつれて導波路の平均屈折率が減少し、基底モードの励起条件を満たさなくなったためであると考えられる。この結果より、本研究ではエアホール間隔を 200 nm とした。

#### 4.2.4 タンパク質層屈折率と結合長変化量の関係

計算より AHW センサのタンパク質層に対する感度を従来の DC センサ及びエアホールのない MMI センサの感度と比較した。計算では、DC センサ及び MMI センサの導波路幅はそれぞれ 800 nm、

1.6  $\mu\text{m}$  とし、導波路高さは 300 nm とした。DC センサのギャップ間隔は 150 nm とした。AHW センサは MMI センサと同様の寸法の導波路を用い、直径 160 nm、間隔 200 nm、配列三角格子とした。全てのセンサは全長 100  $\mu\text{m}$  とした。Fig. 4.9 にそれぞれのセンサ表面へのタンパク質層（厚さ 10 nm、屈折率 1.47）吸着に伴う結合長の変化量を示す。AHW、MMI、DC の結合長変化量はそれぞれ 243、32、31 nm であった。MMI と DC では結合長変化量ほぼ変わらなかった。AHW の結合長変化量はエアホールを形成することによって増大した。AHW と MMI に対して同様の計算をタンパク質層の屈折率を変化させて行った (Fig. 4.10)。AHW と MMI のタンパク質層の屈折率に対する感度はそれぞれ 194、24.4 であった。以上の計算より、エアホール形成によりタンパク質に対する感度は 7.6 倍に増大することがわかった。

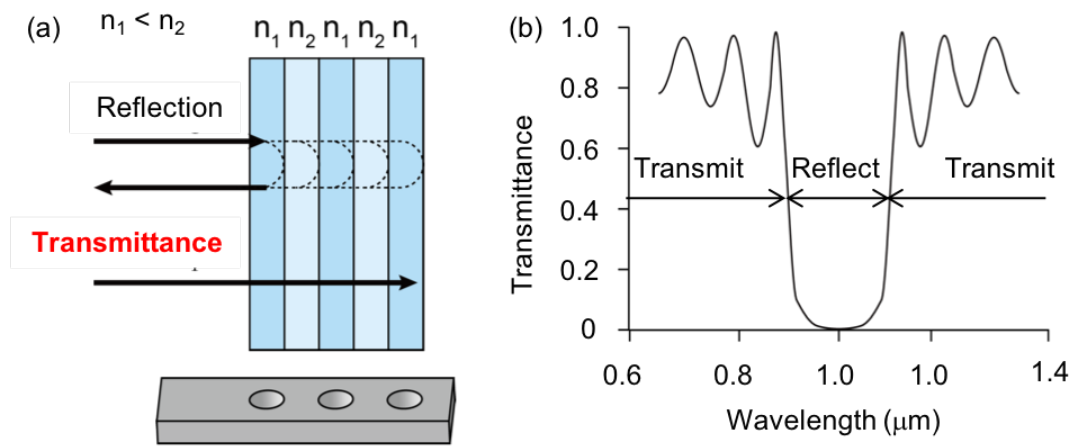


Fig. 4.3 (a) 1次元フォトニック結晶導波路センサ SEM 像。(b) 伝搬光シミュレーション<sup>5</sup>。

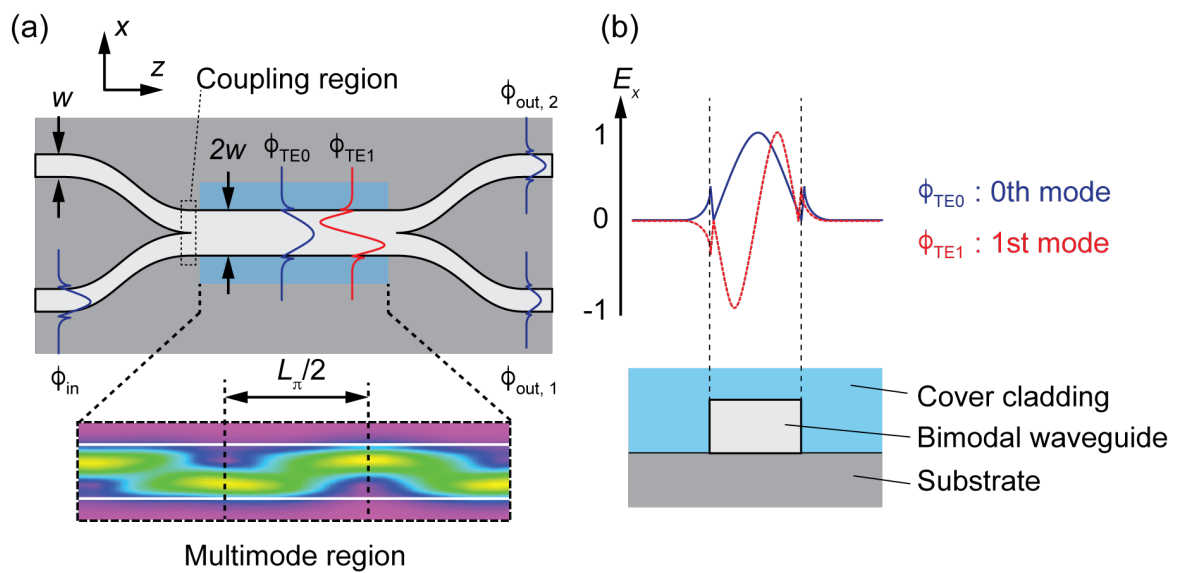
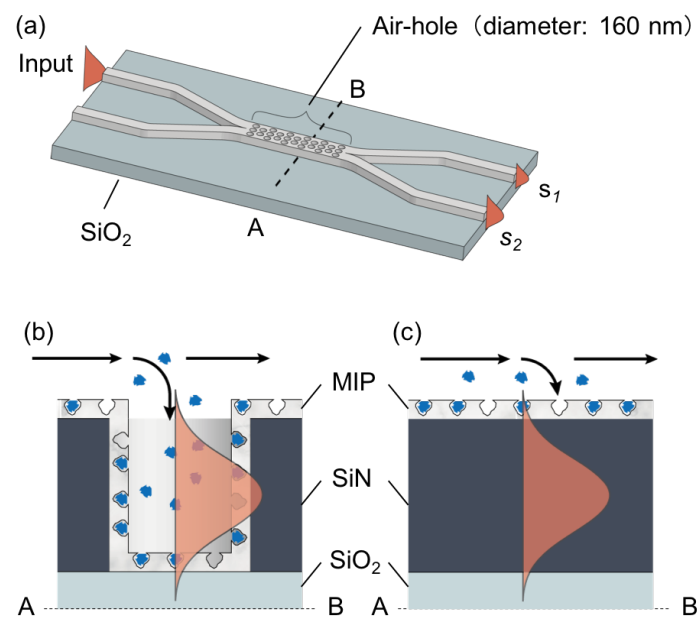


Fig. 4.4 MMI の(a)上面図とセンサ領域の電磁界分布、(b)基底モード、1次モード領域断面図。



**Fig. 4.5** (a) AHW センサの概要図。(b) AHW のエアホール断面図。(c) 従来の MMI センサのセンサ領域の断面図。

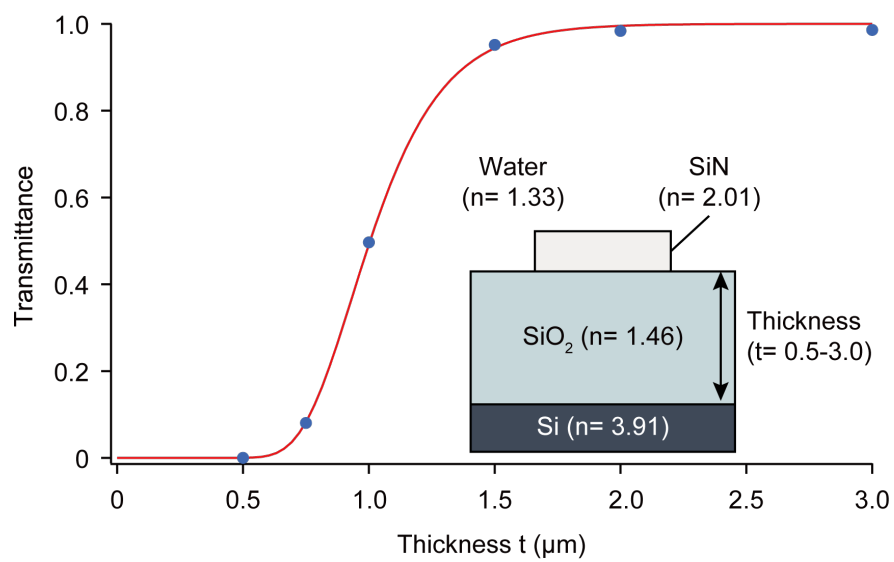
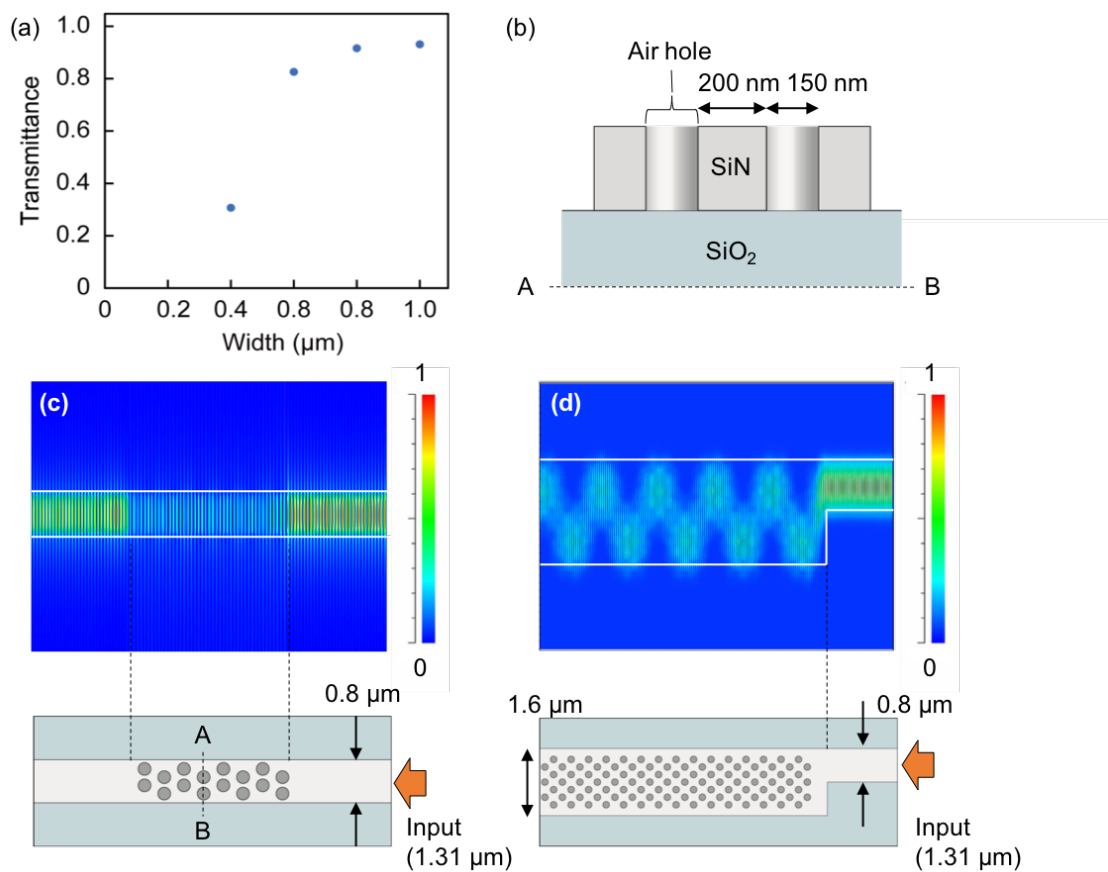
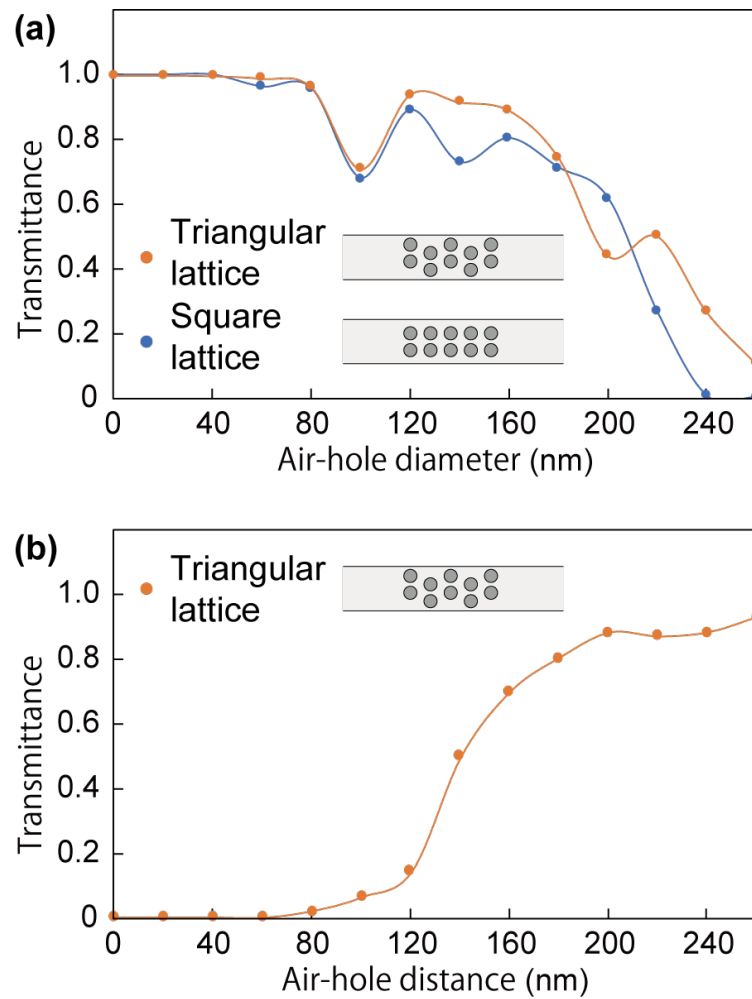


Fig. 4.6 SiO<sub>2</sub> 下層クラッドの膜厚変化に対する幅 0.8  $\mu\text{m}$  の AHW 導波路の透過率。





**Fig. 4.7** (a) エアホール導波路幅と透過率の関係。(b) シミュレーションモデルの断面図。(c) 幅 0.8  $\mu\text{m}$  のエアホール導波路を伝搬する光の電場強度分布。(d) 幅 1.6  $\mu\text{m}$  の MMI を基本構造とした AHW センサを伝搬する光電場強度分布。



**Fig. 4.8** (a) エアホール配列およびエアホール直径と透過率の関係。(b) A エアホール間隔と透過率の関係。

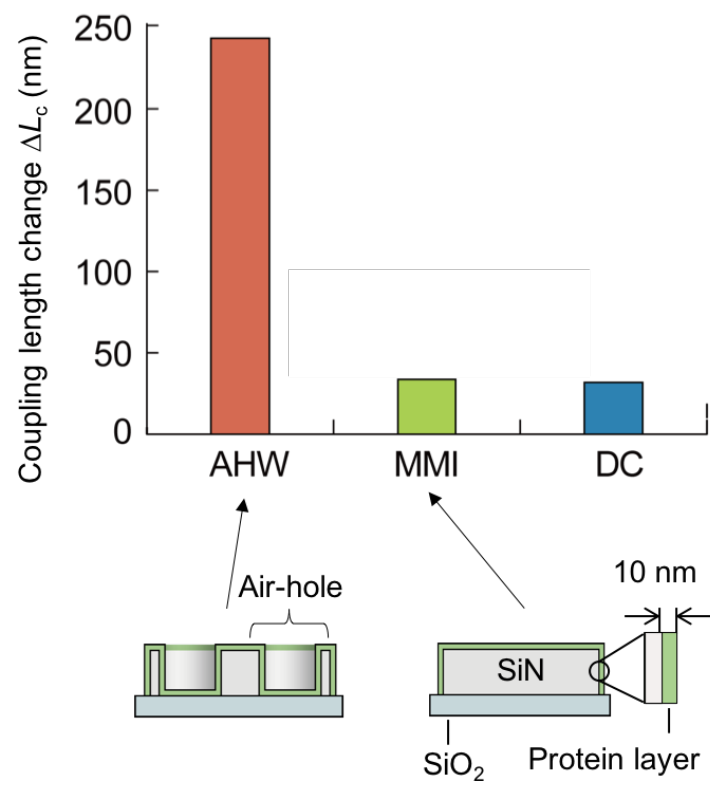


Fig. 4.9 AHW、MMI、DC センサへのタンパク質層吸着と結合長の関係の計算結果。

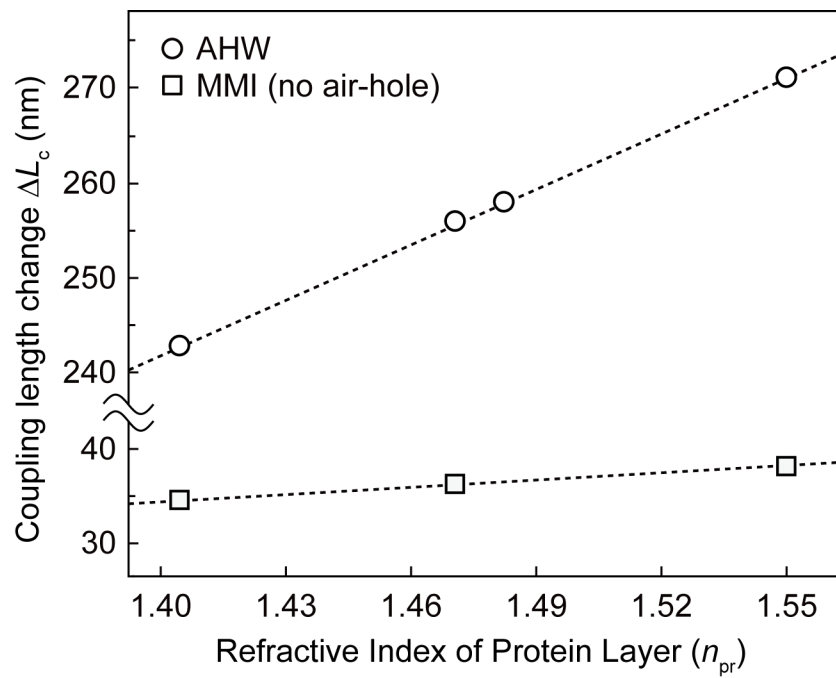


Fig. 4.10 AHW、MMI の異なるタンパク質層の屈折率と結合長の関係の計算結果。

### 4.3 実験方法

#### 4.3.1 AHW チップのレイアウト

本節では AHW チップのレイアウトについて述べる。なお、AHW センサの作製方法については第3章の SiN DC センサと同様であるため省略する。縦横 22 mm × 10 mm のチップ内に 4 種類の AHW センサと 1 種類の MMI センサをそれぞれ 4 本ずつ、合計 20 本を配置した。AHW は導波路幅 1.6 μm、高さ 300 nm、センサ全長  $L = 100, 300 \mu\text{m}$ 、エアホール直径 120、160 nm、間隔 200 nm とした。MMI は AHW と同様の寸法とした。第3章の SiN DC センサと同様に入射・出射用導波路に迷光除去のための垂直なスリットアレイ構造を形成した。

#### 4.3.2 光学実験装置

AHW センサの性能評価のために、赤外線レーザー（波長 1.31 μm）の入射実験を行なった。作製した AHW および MMI チップの両面を劈開し、導波路端面を露出した。幅 4 mm、長さ 20 mm の突起のついた固定器具の先端にチップを貼り付け、6 軸ステージ（シグマ光機）に固定した。出力強度 4 mW の波長可変レーザー（CL-200/210 Santech）を 1.31 μm に合わせ、偏光板によって TE 偏光とした。レンズ付き先球ファイバー（作動距離 7 μm、スポット径 2.8 μm）へレーザー光を導入し、チップ端面の入射用導波路に焦点を合わせた。チップの位置合わせには 6 軸ステージ上部に設置された顕微鏡システムと、それに接続されたファイバー・ハロゲン光照明装置（Mega Light 100 Schott）および赤外線カメラ（C-2741-03 浜松ホトニクス）を用いた。出射用導波路からのシグナル光は赤外線カメラを用い、カメラ制御装置（C-2741-01 浜松ホトニクス）を介して観測された。また、この映像は D/A コンバーターを介して PC へ取り込んだ。第2、3 章と同様にシグナルの画像は画像解析ソフトである ImageJ（NIH）を用いて解析した。これまではシグナルを出射用導波路端面から取得していた。本セットアップでは、出射光の取得用の光ファイバーが同時に 2 本設置できない。そこで、代替案として上部に設置された赤外線カメラを用いてシグナルを取得した。光強度は、出射光の中心から半径 10 μm の円内の平均値とした。

### 4.4 結果と考察

#### 4.4.1 作製した AHW チップの観察

作製した AHW センサを劈開し、センサ領域断面を SEM によって観察した（Fig. 4.11）。SiN 導波路は高さ 304 nm、上辺の幅 1578 nm、下辺の幅 1640 nm、テーパ角 5.9 度であった。エアホールは上辺の直径 183 nm、下辺の直径 141 nm、深さ 270 nm、テーパ角 4.5 度であった。エアホール内でのエッチングの深さは導波路の外側と比較して 10 % 小さい。これは円形のエアホールパターンの方が直線からなる導波路側面パターンと比較して面積あたりに到達するエッチングイオンが少ないためである。導波路幅およびエアホール直径の上辺、下辺の平均値を取るとそれぞれ 1609 nm、163 nm であった。設計値からの誤差はそれぞれ 0.5, 1.9 % まで抑えることができた。導波路高さは 304 nm であり、SiN 層のみをエッチングできたが、エアホール内は 10 % SiN 層が残った。

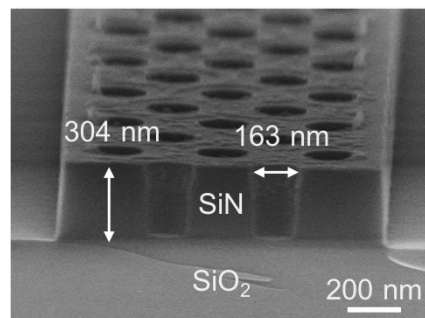


Fig. 4.11 AHW センサ断面の SEM 像

#### 4.4.2 AHW センサのバルク屈折率 $n_{\text{clad}}$ 依存性

バルク屈折率に対する AHW センサの感度を SiN DC センサと比較した。第2章と同様に AHW センサチップ表面に、幅 600  $\mu\text{m}$ 、高さ 200  $\mu\text{m}$  の微小流路を張り合わせた。水を 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  で流した。次に 20  $\text{mg}/\text{ml}$  グルコース溶液を 20  $\mu\text{l}/\text{ml}$  で流した。400 s 後に再び水を流し、センサ表面を洗浄した。20  $\text{mg}/\text{ml}$  グルコース溶液測定結果を Fig. 4.12(a) に示す。グルコース溶液の添加から 200 s でシグナルが一定になることがわかった。再び水を流すことでシグナルが元のベースラインまで戻った。同様の測定をグルコース濃度 10、20、30、40  $\mu\text{l}/\text{ml}$  で行ない、DC センサとの比較を行った (Fig. 4.12(b))。AHW、DC センサのグルコース濃度に対する規格化光強度変化量の感度は 4.1、2.3 であった。以上の結果より、AHW センサはバルク屈折率において DC センサと比較して感度が 1.4 倍に向上したことを示せた。

#### 4.4.3 MIP 膜厚と結合長の関係

第3章ではシミュレーションより導波路センサへ修飾する MIP の膜厚は薄いほど感度が上がること示した。そのため、MIP 膜厚は鑄型分子である HSA の全長である 7-8 nm と同程度とするために、重合時間を 1 h とし、7.3 nm の MIP を得た。AHW センサ表面に重合時間 0.5、1.0、2.0 h とした MIP を修飾し、シミュレーションとの一致を調べた。AHW センサはエアホール直径 160 nm、センサ全長  $L = 100 \mu\text{m}$  のものを用いた。これらの MIP 修飾 AHW センサを用いた 1.0  $\mu\text{M}$  HSA の測定結果を Fig. 4.13 に示す。重合時間 0.5、1.0、2.0 h で成膜した MIP の HSA に対する結合長変化量は、それぞれ 16、52、26 nm であった。重合時間 1.0、2.0 h の場合を比較すると、より膜厚の薄い 1.0 h の方が HSA に対する感度が 2 倍であることがわかる。また、0.5 h 重合の MIP が最も感度が低かった。これは MIP 膜厚が鑄型分子である HSA 以下となったため、吸着孔の形成が不十分だったためと考える。以上より、MIP 膜厚は吸着孔が形成される範囲内であれば薄いほど高感度であることが示された。これ以降の実験では重合時間 1 h の MIP を用いた。

#### 4.4.4 AHW 感度のエアホールおよびセンサ全長依存性

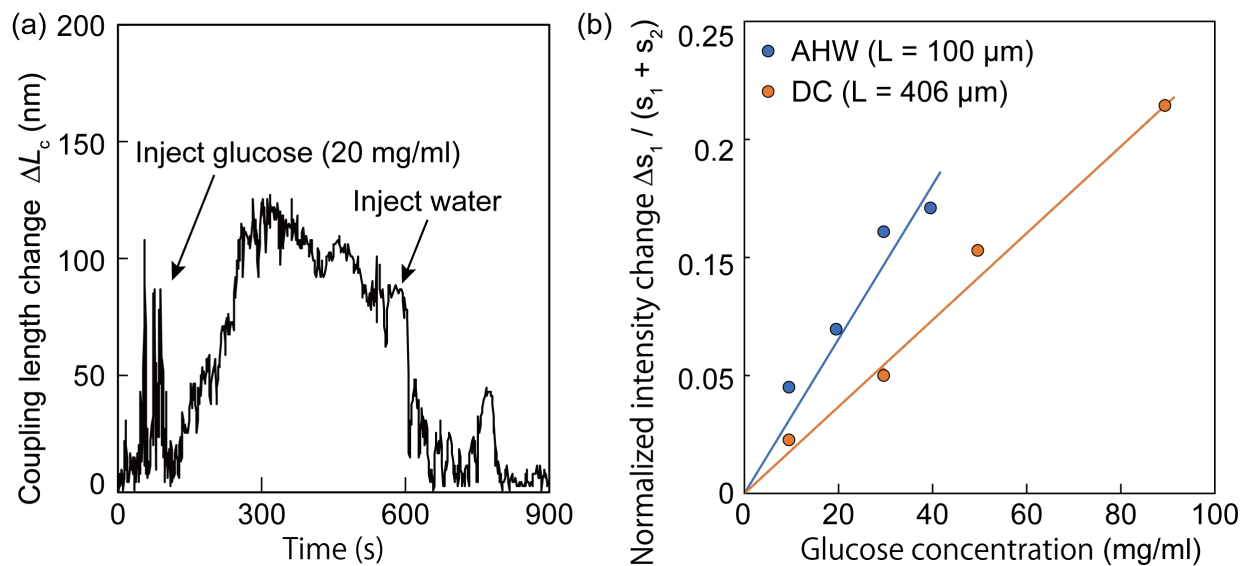
AHW センサはその原理上エアホール密度が高いほど高感度になると考えられる。エアホールのセンサ感度に対する影響を Fig. 4.14 に示す。エアホール直径 120、160 nm、センサ全長  $L = 100、300 \mu\text{m}$  の計 4 種類の AHW センサと、センサ全長  $L = 300 \mu\text{m}$  の MMI センサを用いて、1.0  $\mu\text{M}$  HSA の検出を行なった。本実験ではセンサ全長の異なるセンサの比較であるため、検出結果の比較には位相変化 ( $\varphi = \sin^{-1} \sqrt{I_2}$ ) を用いた。 $L = 300 \mu\text{m}$ 、エアホール直径 120、160 nm の AHW センサと MMI センサの位相変化量  $\Delta\varphi$  はそれぞれ 4.4、8.9、0.6 ( $\times 10^{-2} \times 2\pi$ ) であった。エアホールの直径が 160 nm の場合、120 nm の場合と比較してエアホール内部の表面積は 1.36 倍にしかならない。しかし、HSA に対する感度は 2 倍になっている。これは、120 nm ではホール直径が小さすぎて HSA 溶液がうまく内部に入らなかったためと考える。エアホール直径 160 nm の AHW センサと MMI センサを比較すると、HSA に対する感度が 13 倍に増大している。AHW センサはエアホールの形成により、MMI センサと比較してセンサ領域の表面積が 1.7 倍に増大している。このことから AHW センサの感度増加は表面積の増大だけでなく、強い光強度を持つ導波路内部をセンシングに用いたためであると言える。センサ長 100  $\mu\text{m}$ 、エアホール直径 120、160 nm の AHW センサの HSA に対する位相変化量はそれぞれ 1.1、1.6 ( $\times 10^{-2} \times 2\pi$ ) であった。センサ全長が 3 分の 1 の MMI センサと 160 nm の AHW センサを比較すると、位相変化量は 2.7 倍であった。以降の実験ではエアホール直径 160 nm、 $L = 100 \mu\text{m}$  の AHW センサを用いた。

#### 4.4.5 AHW センサの感度および検出限界

Fig. 4.15 に  $L = 113 \mu\text{m}$  の DC センサと  $L = 100 \mu\text{m}$  の AHW センサの  $1 \mu\text{M}$  HSA に対する結合長変化量を示す。DC、AHW センサの結合長変化量はそれぞれ 43、154 nm であった。この結果から、AHW センサでは、DC センサと比較して HSA に対するシグナルが 3.5 倍に増大したことがわかる。MMI、AHW センサの HSA に対する選択性を示すために  $1 \mu\text{M}$  BSA の測定を行なった。Fig. 4.16 に  $L = 113 \mu\text{m}$  DC、 $300 \mu\text{m}$  MMI、 $100 \mu\text{m}$  AHW センサの  $1 \mu\text{M}$  HSA および  $1 \mu\text{M}$  BSA に対する結合長変化量を示す。DC、MMI、DC センサの HSA に対する結合長変化量はそれぞれ 43、36、154 nm、BSA に対する結合長変化量は 4.6、17、14 nm であった。以上の結果から、MIP が AHW、MMI センサとの組み合わせにおいても、DC センサと同様に HSA に対して高い選択性を示すことがわかった。AHW、MMI センサの HSA に対する感度および検出限界を求めるために HSA の検量線を求めた。Fig. 4.17 に HSA 濃度 0.1、0.25、0.5、 $1.0 \mu\text{M}$  での DC、MMI、AHW センサの結合長変化量を示す。グラフより、DC、MMI、AHW センサの感度はそれぞれ 43、21、 $154 \text{ nm}/\mu\text{M}$ 、検出限界は 62.9、21.9、 $20.4 \mu\text{g}/\text{ml}$  であった。このことから、AHW の感度は MMI の 7.3 倍、DC の 3.6 倍に向上し、検出限界は MMI の 93 %、DC の 32 % まで下げることに成功した。MMI の検出限界が比較的低いのは、MMI センサのセンサ全長が  $300 \mu\text{m}$  と、DC、AHW と比較して 3 倍長いためである。以上の結果より、エアホールの形成により、表面吸着物質に対する感度および検出限界が大幅に向上することを示せた。そして、DC センサでは達成できなかった HSA の診断に必要な検出限界  $25 \mu\text{g}/\text{ml}$  をセンサ全長  $100 \mu\text{m}$  の AHW センサで達成できた。

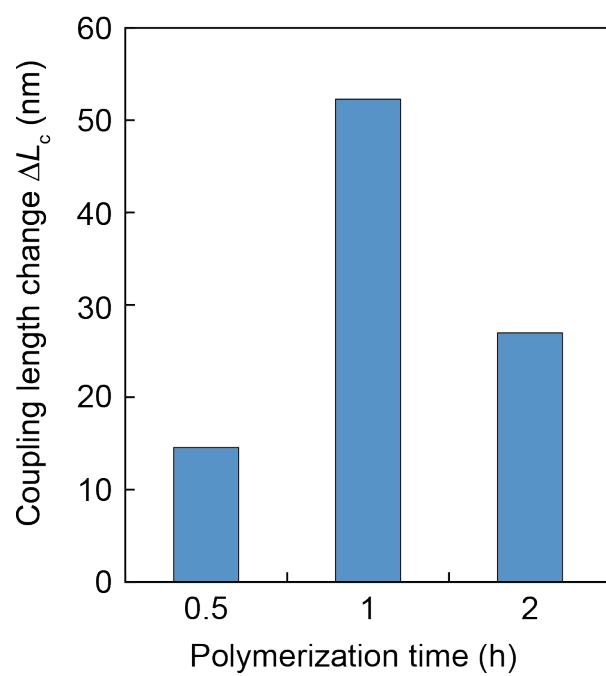
#### 4.5 まとめ

2 モード MMI をベースとした AHW センサを作製し、MIP と組み合わせることでセンサ感度および検出限界の向上を目指した。FDTD 法によるシミュレーションによって 2 モードの MMI をベースとした AHW センサのエアホールが伝搬光を透過し、密度が最大となるような配列を探した。AHW の単一モードおよび 2 モードとなる導波路幅を探した。設計した AHW のタンパク質層に対する感度が MMI と比較して 7.6 倍となることを計算より示した。グルコース溶液の測定から、AHW センサのバルク屈折率に対する感度が、センサ全長  $L$  が 4 倍の DC センサと比較して 1.4 倍に向上することを示した。重合時間の異なる MIP を AHW センサに修飾し、膜厚が鑄型分子である HSA 以上であれば膜厚が薄いほど HSA に対する感度が上がることを示した。BSA と HSA での測定結果を比較し、AHW センサに修飾した MIP が HSA に対して選択性を持つことを示した。DC ( $L = 113 \mu\text{m}$ )、MMI ( $L = 300 \mu\text{m}$ )、AHW ( $L = 100 \mu\text{m}$ ) を用いて HSA の検量線を測定した。それぞれの感度は 43、21、 $154 \text{ nm}/\mu\text{M}$ 、検出限界は 62.0、21.9、 $20.4 \mu\text{g}/\text{ml}$  であった。AHW センサの感度を MMI の 7.3 倍、DC の 3.6 倍に向上、検出限界を MMI の 93 %、DC の 32 % まで下げることに成功した。以上より、DC センサでは達成できなかった HSA の診断に必要な検出限界  $25 \mu\text{g}/\text{ml}$  を本章で構築したセンサ全長  $100 \mu\text{m}$  の AHW センサを用いて達成できた。

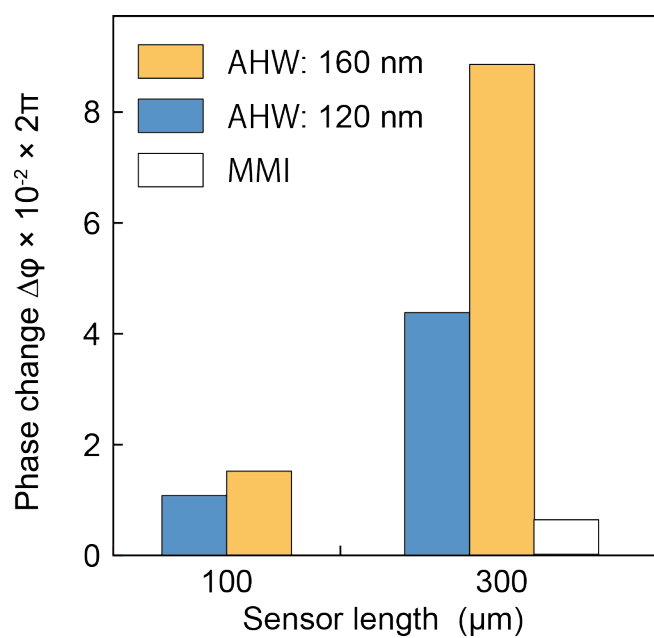


**Fig. 4.12** (a) AHW センサの 20 mg/ml グルコース溶液の測定。(b) AHW、DC センサのグルコース溶液の検量線。

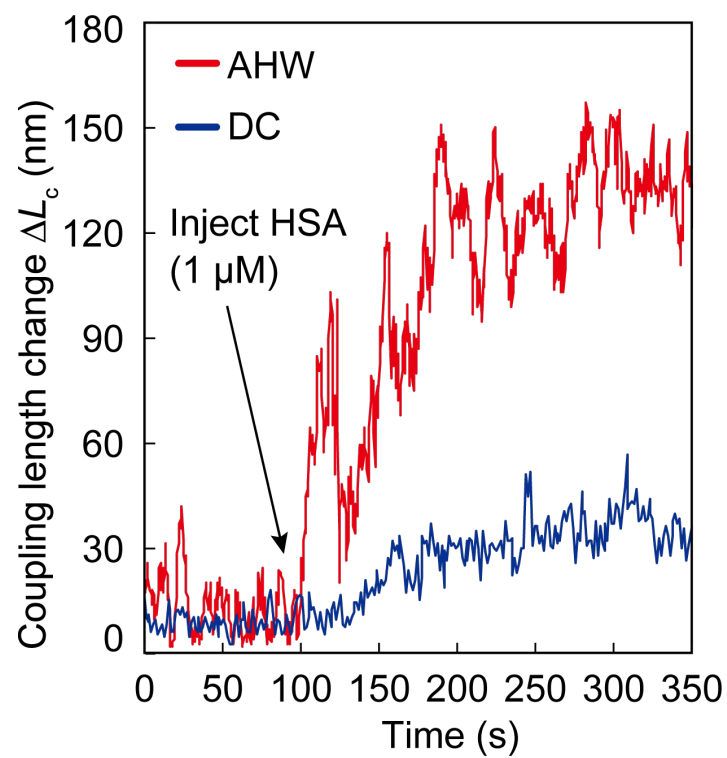




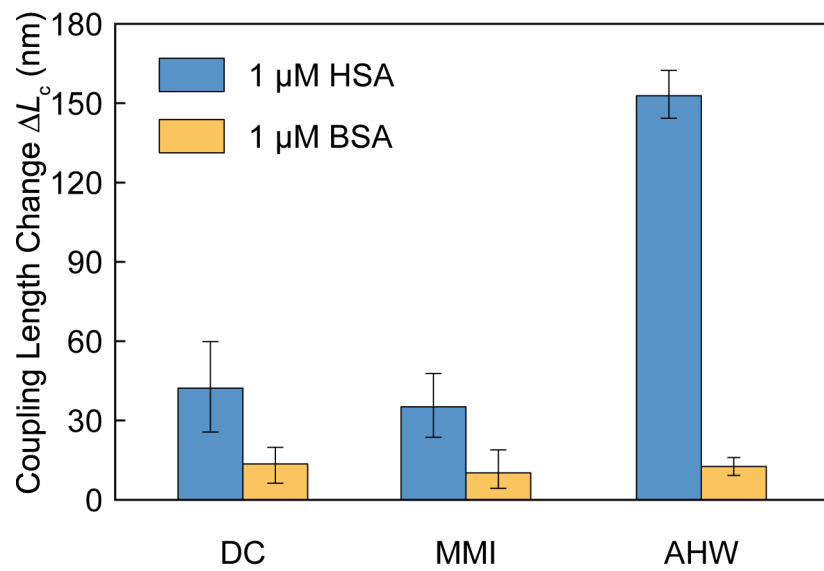
**Fig. 4.13** 異なる重合時間によって合成した MIP 修飾 AHW センサによる  $1.0 \mu\text{M}$  HSA の測定。



**Fig. 4.14** エアホール直径 120, 160 nm、センサ全長 100, 300  $\mu\text{m}$  の AHW センサとセンサ全長 300  $\mu\text{m}$  の MMI センサの 1.0  $\mu\text{M}$  HSA に対する位相変化量。



**Fig. 4.15** DC センサと AHW センサの 1  $\mu$ M HSA に対する結合長変化量。DC、AHW のセンサ全長はそれぞれ 113, 100  $\mu$ m。



**Fig. 4.16** DC ( $L = 113 \mu\text{m}$ )、MMI ( $L = 300 \mu\text{m}$ )、AHW ( $L = 100 \mu\text{m}$ ) の 1  $\mu\text{M}$  HSA および BSA に対する結合長変化量。

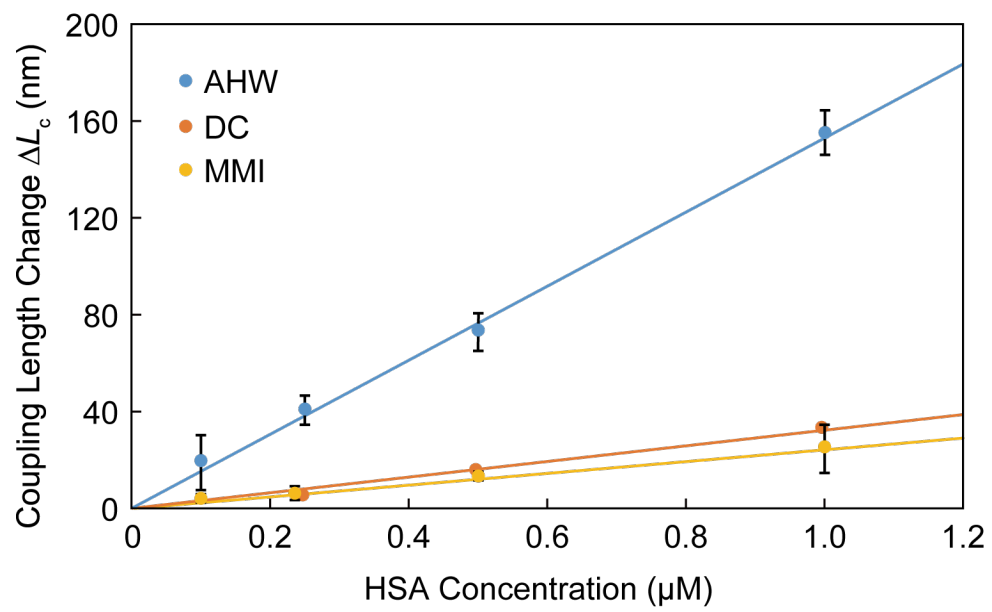


Fig. 4.17 DC, MMI, AHW センサの HSA に対する検量線。

**参考文献**

1. V. M. N. Passaro et al., “Efficient chemical sensing by coupled slot SOI waveguides,” *Sensors*, 9(2), 1012-1032 (2009).
2. A. Lavrinenko et al., “Comprehensive FDTD modelling of photonic crystal waveguide components” *Opt. Express.*, 12(2), 234-248 (2004).
3. N. Skivesen et al., “Photonic-crystal waveguide biosensor,” *Biosens. Bioelectron.*, 24(12), 3688-3692 (2009).
4. M. Lončar et al., “Methods for controlling positions of guided modes of photonic-crystal waveguides,” *J. Opt. Am. B*, 18(9), 1362-1368 (2001).
5. D. Erickson et al., “Nanomanipulation using near field photonics,” *Lab Chip*, 11(6), 995-1009 (2011).
6. M. Tradif et al., “Single-cell bacterium identification with a SOI optical microcavity,” *Appl. Phys. Lett.*, 109(13), 133510 (2016).
7. K. A. Atlasov et al., “1D photonic band formation and photon localization in finite-size photonic-crystal waveguides,” *Opt. Express*, 18(1), 117-122 (2010).

## 第5章 総括

本論文では各章に研究内容を以下のようにまとめた。

第1章では、バイオセンサの小型化と分子認識素子の改善が求められ、微小高感度分析素子が大きな研究課題である背景をまとめ、光干渉計型バイオセンサと分子鑄型ポリマーの研究例を整理した。この研究背景を踏まえて、本研究の目的と方向性を明示した。

第2章では、光導波路の理論的背景、導波路構造の基本特性の解明および設計に使用したシミュレーション (FD-BPM、FDTD、FEM) 原理、近接場センサおよび DC の原理について述べ、FEM 法で SU-8 導波路の単一モード条件、BPM 法で DC のギャップ距離および上部クラッドの屈折率と結合長の関係について計算し、DC センサを設計した。電子線装置を用いた微細加工により誤差 4 %以下での DC センサを作製に成功した。DC チップと微小流路を組み合わせ、水とエタノールを流すことで、上部クラッド屈折率の経事変化を測定した。SU-8 DC センサ表面へビオチンを修飾し、濃度のことなるストレプトアビジンを測定した。作製した SU-8 DC センサのストレプトアビジンに対する感度は  $0.98 \mu\text{m}/\mu\text{M}$ 、検出限界は  $24.9 \mu\text{g}/\text{ml}$  ( $370 \text{ mM}$  に相当) であることを確認した。

第3章では、抗体に変わる分子識別素子として MIP を SiN 導波路からなる DC センサ表面に修飾した。FEM 法で SiN 導波路の単一モード条件、BPM 法で DC ギャップ距離と MIP 膜厚および MIP 膜の屈折率と結合長の関係を計算し SiN DC センサの設計と MIP 膜厚を決定した。MIP に吸着するタンパク質濃度と結合長変化量に線形性があることを示した。電子線描画装置と RIE 装置を用いた微細加工により SiN DC センサを作製した。AGET-ATRP 法により HSA を鑄型分子とする MIP、NIP、MPC ポリマー薄膜を DC センサ表面に成膜した。HSA と構造の近い BSA を MIP、NIP、MPC ポリマー薄膜を修飾した DC センサで測定した。MIP-DC センサでの HSA 測定でのみ結合長変化が観測された。このことから、MIP-DC センサで得られたシグナルがタンパク質のセンサ表面への非特異吸着によるものではなく、MIP の吸着孔が機能したことが示せた。また、分子量とアミノ酸配列の近い BSA を MIP-DC センサが認識しなかったことから、成膜した MIP が高い分子識別能力を持つことを示せた。同一の MIP-DC センサを用いて HSA の繰り返し測定を行なった。測定値の変動係数は 3.4 %であり、一般的に繰り返し測定に使用可能であるとみなされる 5 %以下を達成できた。濃度の異なる HSA の測定を MIP-DC センサで行った。MIP-DC センサの HSA に対する感度は  $31 \text{ nm}/\mu\text{M}$ 、検出限界は  $62.9 \mu\text{g}/\text{ml}$  ( $950 \text{ nM}$  に相当) であった。HSA 濃度の診断に必要な検出限界は  $25 \mu\text{g}/\text{ml}$  以上であるため、これは達成できなかった。

第4章では、2モード MMI をベースとした AHW センサの構築をした。FDTD 法を用いてエアホール配列と透過率の関係、センサ表面吸着と結合長の関係を計算し、AHW センサを設計した。DC センサと比較して、分子の表面吸着に対する感度が 7.6 倍となることを示した。作製した AHW センサを用いてグルコース溶液の測定を行い、センサ全長が 4 倍の DC センサと比較した。上部クラッド屈折率変化に対する感度が 1.4 倍になることを示した。重合時間のことなる MIP を AHW センサ表面に修飾し、HSA の測定を行なった。HSA の全長以上であれば、膜厚が薄いほど感度が高いことを示した。濃度のことなる HSA と BSA の測定をセンサ全長  $100 \mu\text{m}$  の AHW と  $300 \mu\text{m}$  の MMI センサで行った。AHW、MMI センサに修飾した MIP は HSA に対して選択性を持つことを示

した。AHW、MMI の HSA に対する感度はそれぞれ 154、21 nm/ $\mu$ M、検出限界はそれぞれ 20.4、21.9  $\mu$ g/ml であった。AHW センサの感度を MMI の 7.3 倍、DC の 3.6 倍に向上、検出限界を MMI の 93 %、DC の 32 %まで下げることに成功した。DC センサで達成できなかった HSA の診断に必要な検出限界 25  $\mu$ g/ml をセンサ全長 100  $\mu$ m の AHW センサを用いて達成できた。

以上のように、本研究では DC、AHW を用いた光導波路センサの小型化と抗体に変わる分子認識素子である MIP を用いた繰り返し測定可能なセンサを実現した。特に AHW は実際の医療現場で求められる検出限界を保ちつつ、センサの小型化と繰り返し測定に成功した。本センサは医療診断だけでなく、環境モニタリングや食品管理など多くの分野への展開が期待される。



## 謝 辞

本研究を進めるに当たり、多くの方々の御支援と御協力をいただきました。博士論文の執筆や研究生活を通して非常に多くのことを学ぶ機会に恵まれたことを幸運に思います。

指導教員の筑波大学数理物質系 鈴木博章教授には論文、申請書の執筆、発表資料の作成から大学生活全般においてご指導いただき、大変お世話になりました。特に、国際学会への参加や研究留学、海外グループとの共同研究など、多くの海外経験の機会をいただき、非常に有意義な経験をさせていただきました。心より感謝申し上げます。

筑波大学数理物質系 Edwin Thomas Carlen 准教授、横川雅俊 助教には研究内容全般、特に細胞やタンパク質測定の改善点や注意点、シミュレーションの進め方についての適切な助言をいただきました。謹んで御礼申し上げます。

物質・材料研究機構 (NIMS) 微細加工プラットフォームの大里啓考さん、筑波大学研究基盤総合センターの渡辺英一郎さん、中島清美さんには、SiN 導波路の微細加工プロセスについて丁寧に指導していただき、作製上の問題についての相談に快く乗っていただきました。深く感謝申し上げます。

神戸大学工学研究科 竹内俊文 教授、北山雄己哉 助教、香門悠里 研究員には MIP の成膜方法を教えていただきました。また、3 氏は私の専門ではない化学合成についての疑問や相談を快く受けてくださいました。3 氏がいなければ 3 章の実験は達成できていませんでした。心より感謝申し上げます。

筑波大学数理物質系 中村順潤児 教授、伊藤雅英 教授、都倉康弘 教授、末益崇 教授におかれましては、ご多忙の中博士論文審査をお引き受けいただき、ご助言、ご指導を賜りました。心より御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたって、「つくば共鳴教育プログラム」に多大なご支援をいただきました。また、本プログラムにおける連携コーディネーターの浅川潔先生には、光伝搬の原理やシミュレーション結果の解釈について多大なご支援をいただきました。

加えて本プログラムの支援の下にフランス原子力庁の電子・情報技術研究所 (CEA-Leti) に滞在し、研究留学を実施する機会にも恵まれました。留学を受け入れてくださった David Peyrade 博士、実験の指導およびディスカッションを共にしてくれた Manon Tradif さんには大変感謝しております。

研究生活を共にした鈴木研究室の皆様には、有意義な助言をいただき、心より御礼申し上げます。特に光センサ研究の立ち上げから共に研究を進めてきた大久保喬平さんには研究だけでなく研究生活においても多くの有意義な助言、議論をさせていただきました。深く感謝を申し上げます。同期の Isa Anshori さんとは研究テーマは違いましたが、お互い切磋琢磨し、支え合ってきました。心より感謝申し上げますと共に、今後の活躍を期待します。また、研究を共に過ごし、有意義な研究生活を送らせていただいた研究室の先輩・後輩の皆様には快御礼を申し上げます。

この研究は日本学術振興会 科学研究費助成事業 16J05520 による財政支援を受けました。日本学術振興会からは経済面においても支えていただき、深く感謝いたします。

最後に学生生活を支えてくれた家族・友人に心より感謝申し上げます。

2018年2月 内山田 健

# 業績一覧

## 公表論文

### 国際誌

1. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, K. Asakawa, Y. Kamon, Y. Kitayama, T. Takeuchi, and H. Suzuki, "Directional Coupler with Molecularly Imprinted Polymer," *Sensors and Materials*, in press.
2. K. Okubo, **K. Uchiyamada**, K. Asakawa, H. Suzuki, "Silicon nitride directional coupler interferometer for surface sensing," *Optical Engineering*, 56(1), 017101 (2017).
3. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, M. Yokokawa, E. T. Carlen, K. Asakawa, and H. Suzuki, "Micro scale directional coupler as a transducer for biochemical sensing," *Optics Express* 23(13) 17156-17168 (2015).

### 国際学会 Proceedings Paper

1. **K. Uchiyamada**, K. Asakawa, and H. Suzuki, "Air-holes Perforated Optical Waveguide Biosensor for Affinity Sensing," Asia Communications and Photonics Conference 2017, Guangzhou, China, S3I.4, 2017.
2. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, K. Asakawa, and H. Suzuki, "Microfabricated directional coupler-based biosensor for affinity sensing," 19<sup>th</sup> International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Kaohsiung, TAIWAN, M3P.050, 2017.
3. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, M. Yokokawa, E. T. Carlen, K. Asakawa, and H. Suzuki, "Directional-Coupler Interferometer Realizes a Miniaturized and High Sensitive Biosensor," 2015 OSA Biomedical Optics & Photonics Congress: Optics in the Life Sciences, Vancouver, Canada, BW 1A.3, 2015.

## 参加学会

### 国際学会

1. **K. Uchiyamada**, K. Asakawa, H. Suzuki, "Air-holes Perforated Optical Waveguide Biosensor for Affinity Sensing", Asia Communications and Photonics Conference (ACP 2017), Guangzhou, China, Nov. 2017.
2. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, M. Yokokawa, K. Asakawa, H. Suzuki, "Microfabricated directional coupler-based biosensor for affinity sensing," The 19th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers '17), Kaohsiung, Taiwan, June 2017.
3. K. Okubo, **K. Uchiyamada**, K. Asakawa, H. Suzuki, "Silicon nitride directional coupler interferometer for DNA/protein analysis," The 3rd International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology (ICAMN2016), Hanoi, Vietnam, Oct. 2016 (Invited Speaker).
4. K. Okubo, **K. Uchiyamada**, M. Yokokawa, K. Asakawa, H. Suzuki, "Fabrication and characterization of silicon nitride directional coupler interferometer for sensing aptamer hybridization," *SPIE Photonics West 2016 BIOS*, San Francisco, CA, Feb. 2016.
5. **K. Uchiyamada**, K. Okubo, M. Yokokawa, E. T. Carlen, K. Asakawa, H. Suzuki, "Directional-coupler interferometer realizes a miniaturized and high sensitive biosensor", Bio-Optics: Design and Application in Optics in the Life Sciences: OSA Technical Digest (Optical Society of America),

Vancouver, Canada, Mar. 2015.

6. K. Okubo, **K. Uchiyamada**, K. Asakawa, M. Yokokawa, H. Suzuki, "Directional-coupler type interferometer for bio-chemical sensing", The 10th International Nanotechnology Conference on Communication and Cooperation (INC10), Gaithersburg, MD, May 2014.

#### 国内学会

1. 内山田健、大久保喬平、浅川潔、鈴木博章、ナノウェル光導波路による表面吸着物質の検出、平成29年電気学会全国大会、3-156、富山大学五福キャンパス、2017年3月。
2. 内山田健、大久保喬平、横川雅俊、Edwin T. Carlen、浅川潔、鈴木博章、光方向性結合器型化学センサによる表面特異吸着物質の検出、第33回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム、24pm3-D-4、長崎県平戸文化センター、2016年10月。
3. 大久保喬平、内山田健、浅川潔、鈴木博章、高感度バイオセンシングのための窒化シリコン方向性結合器型干渉計、電気学会E部門総合研究会、PHS-16-029 CHS-16-012 MSS-16-021 BMS-16-032、石川県金沢市文化ホール、2016年6月。
4. 内山田健、大久保喬平、横川雅俊、Edwin T. Carlen、浅川潔、鈴木博章、光方向性結合器型化学センサによる表面吸着物質の検出、第58回化学センサ研究発表会、3N20、横浜国立大学、2015年3月。
5. 内山田健、大久保喬平、横川雅俊、浅川潔、鈴木博章、光干渉導波路型微小化学分析デバイスの周辺屈折率に対するシグナル応答評価、第75回応用物理学会秋季学術講演会、20p-C7-7、北海道大学札幌キャンパス、2014年9月。
6. 大久保喬平、内山田健、浅川潔、横川雅俊、鈴木博章、方向性結合器による化学センシング、第81回電気化学会、1O27、関西大学千里山キャンパス、2014年3月。
7. 内山田健、大久保喬平、横川雅俊、浅川潔、鈴木博章、方向性結合器型光導波路を用いた微小化学分析デバイスの作製、第61回応用物理学会春季学術講演会、17a-E6-10、青山学院大学相模原キャンパス、2014年3月。

#### 受賞歴・奨学金

1. 日本学術振興会平成28年度特別研究員（DC2）2016年4月-2018年3月。
2. 「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム 奨励賞 2016年10月。
3. 筑波大学海外渡航支援奨学金 2016年6月。
4. つくば共鳴教育プログラム 2015年6月-2018年3月。

# 付 録

本研究で使用した微小流路の作製に使用したフォトマスクを付録として添付する。マスクは 4 inch ガラス基板に合致するように作製した。

## 3.5.2 光計測における流体制御

---

