

3 すべての人に
健康と福祉を



9 産業と技術革新の
基盤をつくろう



新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



疾病の超早期診断を可能にする プリントド光学センサーの開発

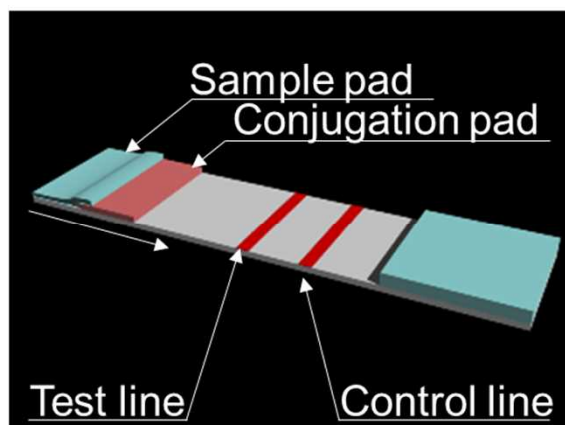
遠藤 達郎

大阪府立大学 大学院工学研究科

物質・化学系専攻 准教授

従来の医療診断技術 イムノクロマトグラフィ

医療機関での
疾病診断



長所

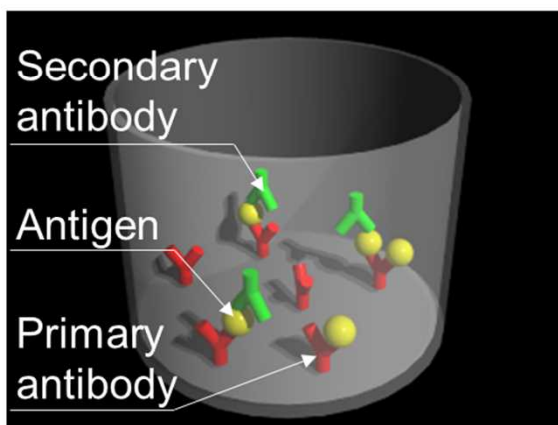
- ・目視判定可能
- ・安価・簡便
- ・短時間
- ・特異的(抗原抗体反応)

短所

- ・半定量性
- ・感度低

雑な
目

酵素免疫測定法(ELISA法)



長所

- ・感度高
- ・特異的(抗原抗体反応)

短所

- ・長時間
- ・煩雑
- ・高額

担

!

高感度・簡便・迅速な診断装置を開発するには？

在宅医療応用へ向けた診断装置

1. 非侵襲→涙液、唾液、汗など（採血を必要としない）
2. 操作が簡便→煩雑な操作を必要としない
3. 目視で測定可能→色彩の変化（pH試験紙のように）
4. 小型→携帯電話サイズで持ち運びが簡便



現在の医療診断で使用されている装置とは
まったく異なる検出原理が必要



ナノ構造より観察される光学特性を利用した
新規医療診断用デバイスの開発を目指している

ナノフォトニクスを駆使した バイオセンサー開発と医療診断への応用

量子ドット

Large ← Diameter → Small

UV ← Wavelength → IR

局在表面プラズモン共鳴

Noble metal nanoparticle

Incident light

Reflection light

Evanescent light

Scattering light

Transmitted light

フォトニック結晶

Distance change

Absorbance

Peak shift

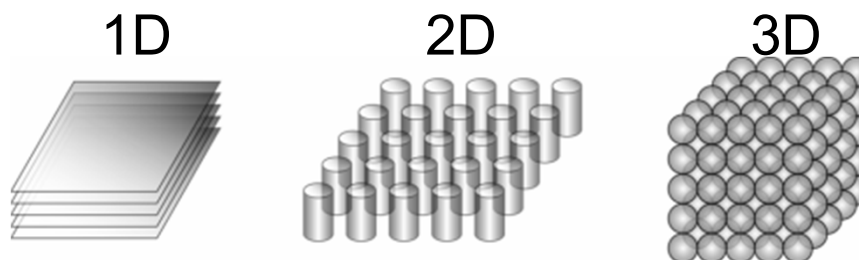
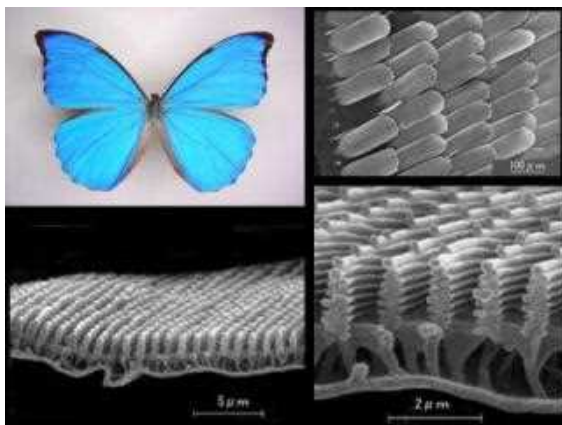
Wavelength

ナノフォトニクスの利点

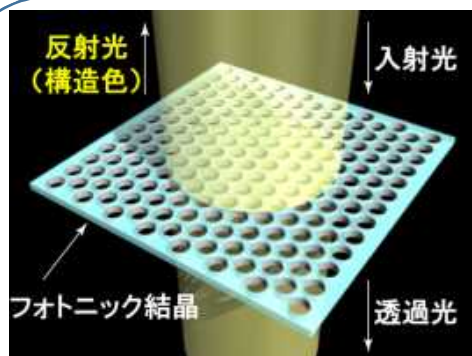
- ・バルク材料とは異なる特性
 - 新規光機能(蛍光・光吸収・散乱・回折)発現
- ・漏話・エレクトロマイグレーションが無い
 - 更なる高集積・高機能化が実現可能
- ・周囲屈折率(誘電率)変化に対応した光学特性変化
 - 非標識で相互作用検出・解析が可能

高感度・高集積バイオセンサー開発

フォトニック結晶(Photonic crystal: PhC)



特徴: サイズ・構造に応じて特定波長の光を反射する



ブラッグ反射式

$$\lambda = 2(2/3)^{1/2} d(n_a^2 - \sin^2 \theta)^{1/2}$$

d : 間隔
 θ : 入射角度

$$n_a = \sqrt{n_{hole}^2 f + n_{void}^2 (1 - f)}$$

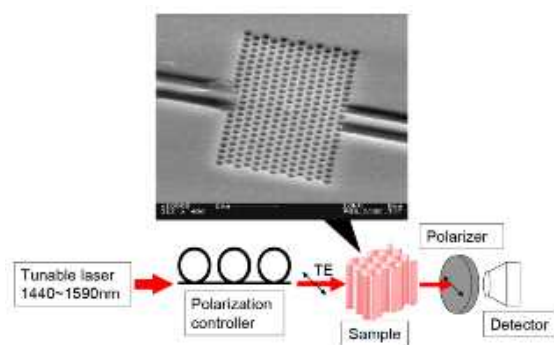
n_a : 平均屈折率
 f : 体積比

抗原抗体反応・DNAハイブリダイゼーションに起因する平均屈折率 n_a 変化

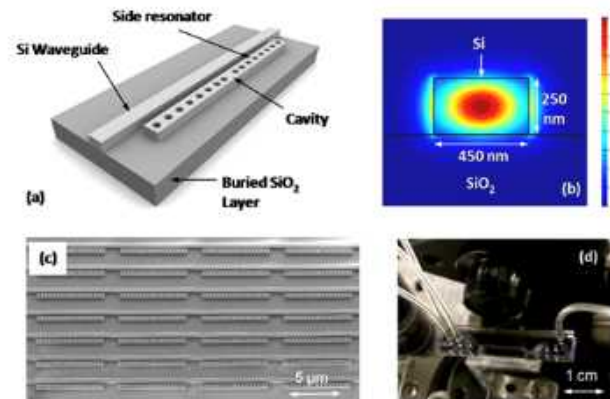


反射ピーク波長シフト・強度減少が観察される

PhCを用いたバイオセンサー



M. Lee *et al.*, *Opt. Express.*,
15 (2007) 4530.



S. Mandal *et al.*, *Opt. Express.*, 16 (2008) 1623.

PhCバイオセンサーの問題点

- ・ピークシフト量測定 : 高波長分解能 (pmオーダー) を有する分光器が必要
- ・半導体材料を使用 : 材料・作製コストが高額
- ・大面積化・量産が困難 : 作製プロセスが煩雑



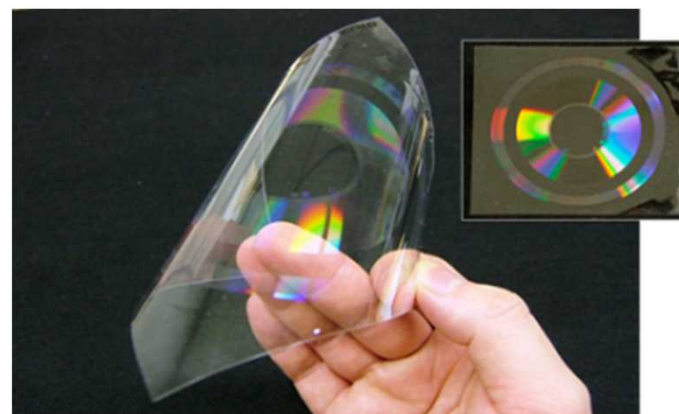
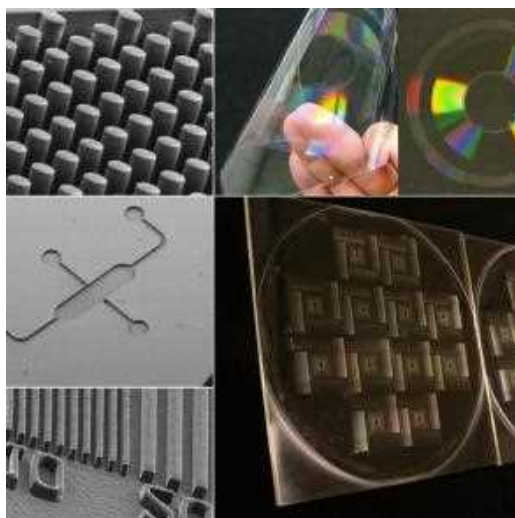
プリンタブルフォトリクス 製 PhC の作製
およびバイオセンサーへの応用

印刷技術を用いたナノフォトニクスデバイス

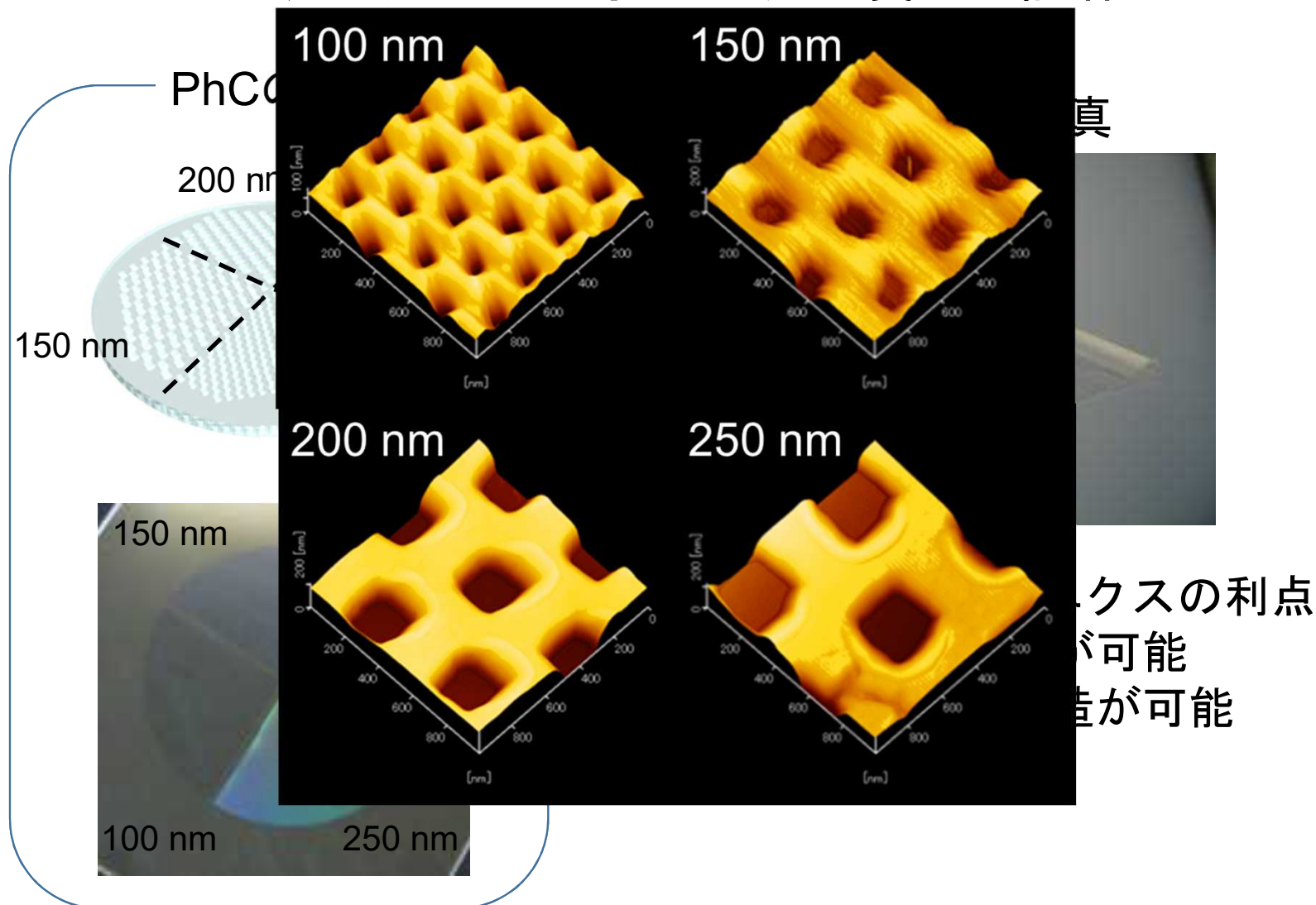
Printable + Photonics
「印刷可能な」 + 「フォトニクス」



印刷技術でフォトニクスデバイスを作製し
様々なアプリケーションを実現する



プリンタブルフォトンクス製PhC試作



大面積PhCの作製

A4サイズPhC

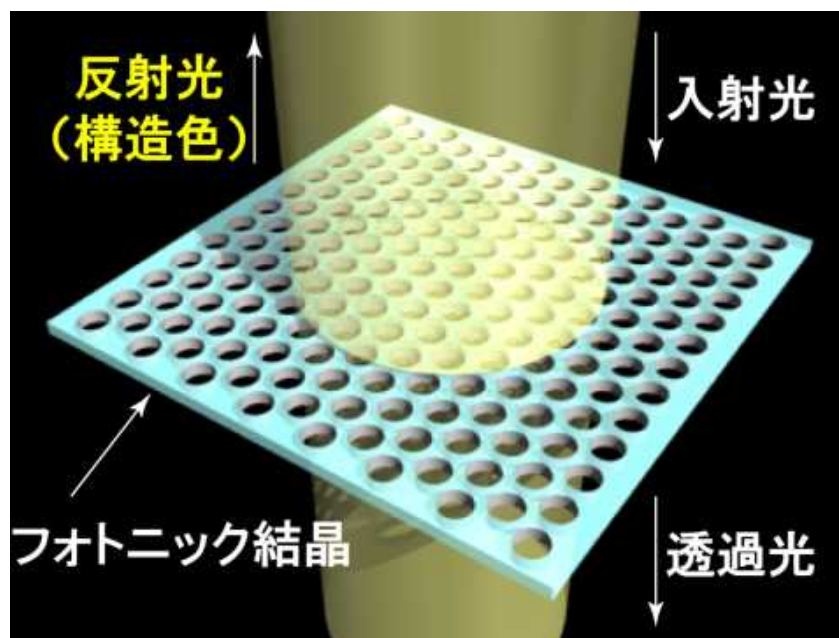


さらに大面積のPhCを作製することができた

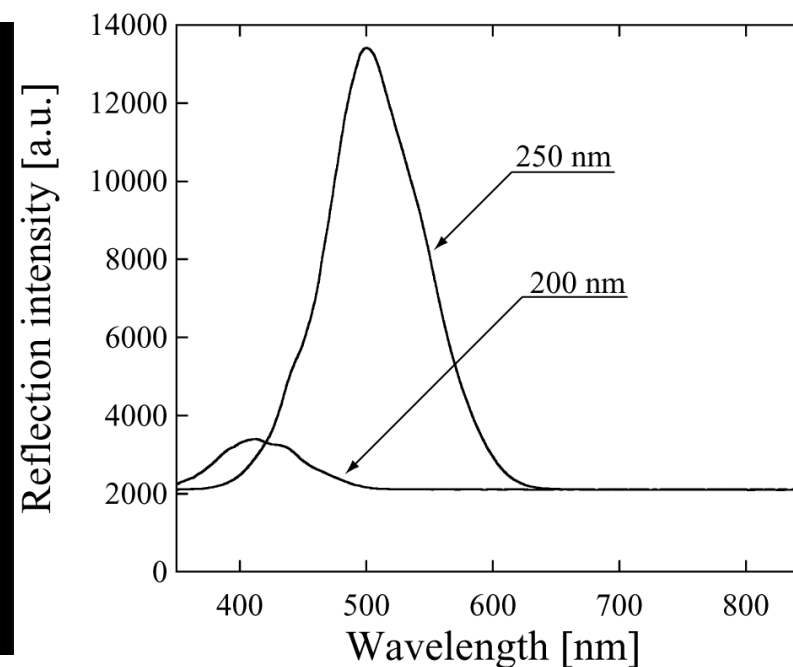
4インチサイズのPhCを間使に作製することができた(作製可能枚数: 数万枚以上)

PhCの光学特性評価

測定原理



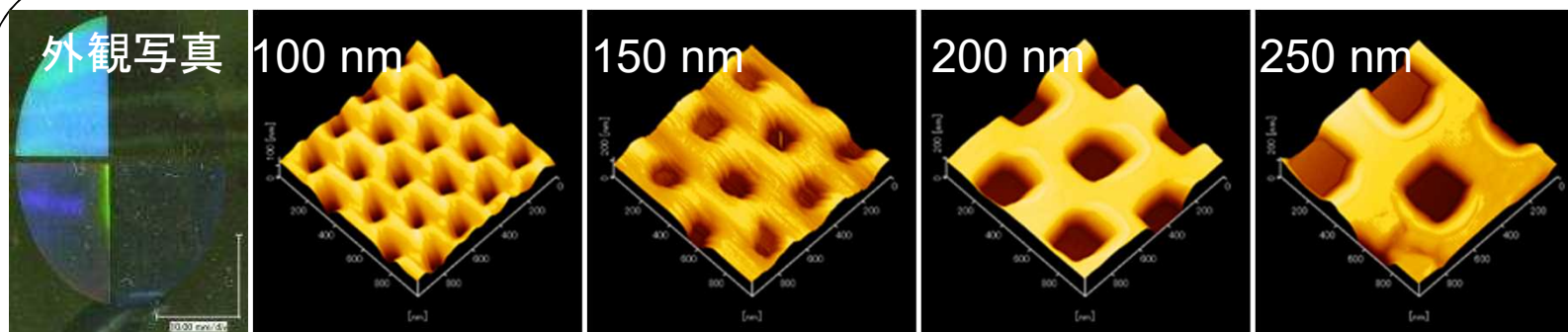
フォトニック結晶の光学特性



フォトニック結晶の色彩を利用することで既存の医療診断技術よりも簡便・迅速・高感度に疾病を診断することが可能になると期待できる

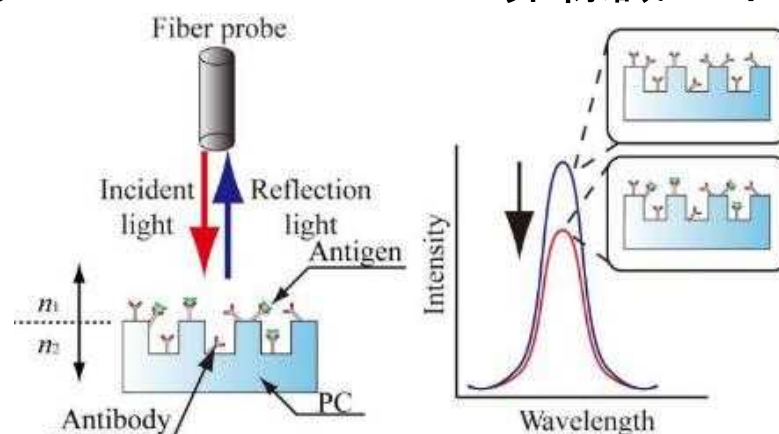
ナノインプリント製PhCを用いた非標識バイオ分析

ナノインプリント製PhC



- ・高い再現性
- ・簡便な作製手順(ナノインプリント装置・鋳型のみ)
- ・量産可能

非標識バイオ分析原理



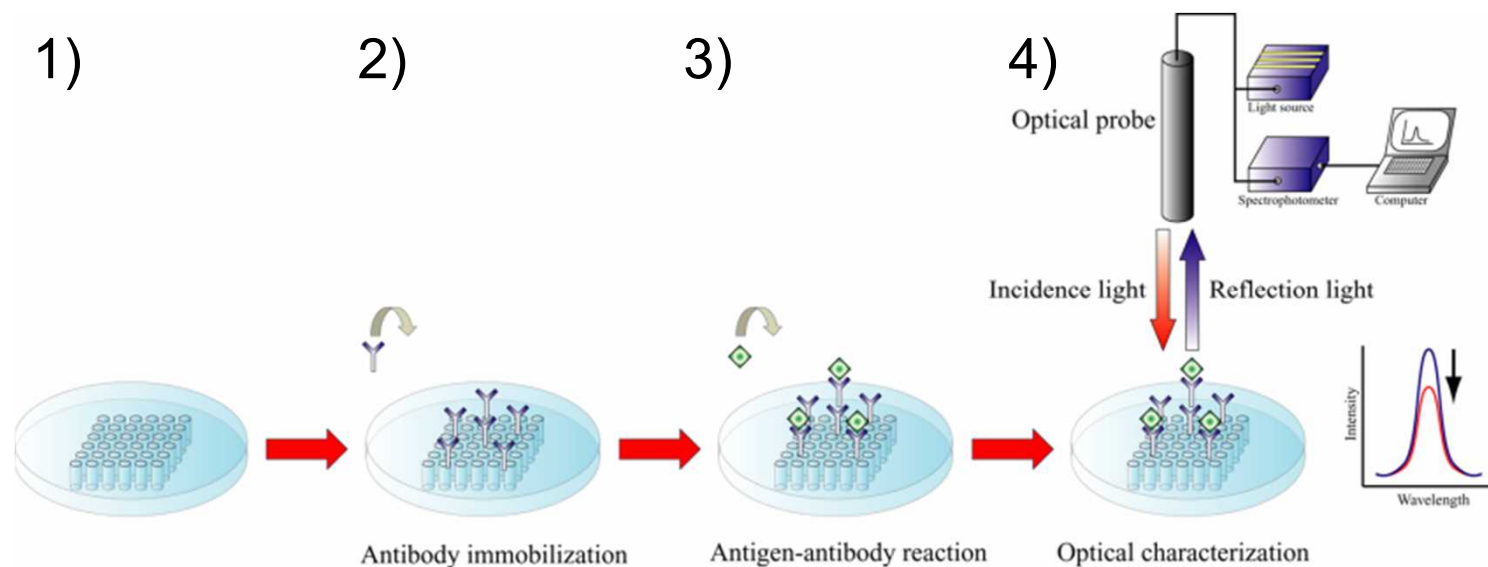
フレネル反射式

$$R = (n_1 - n_2)^2 / (n_1 + n_2)^2$$

R : 反射強度
 n : 平均屈折率

- ・抗原抗体反応による平均屈折率変化
 →ピークシフト・反射強度変化

フォトニック結晶の色彩を用いたタンパク質の検出

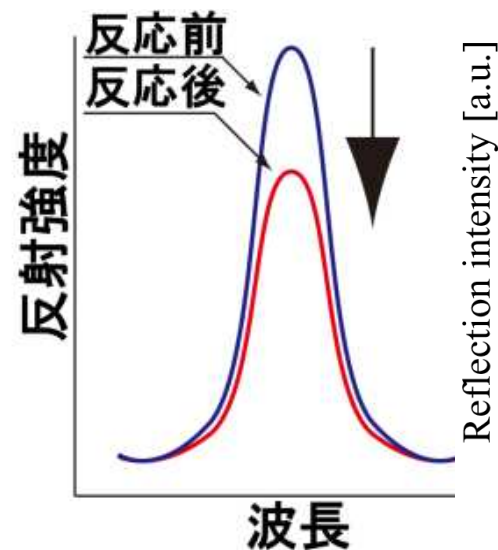
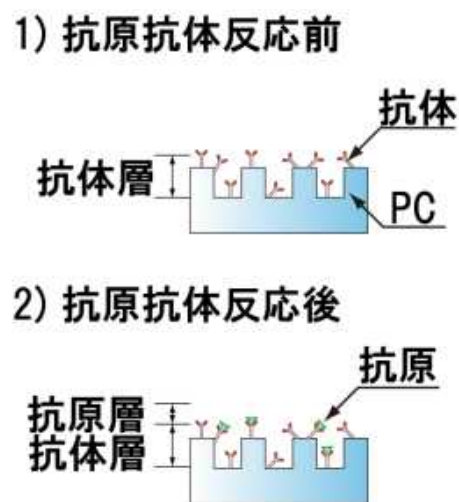


- 1) フォトニック結晶を準備
- 2) 抗体をフォトニック結晶表面へ固定化
- 3) 抗原溶液を滴下、室温下で静置
- 4) 洗浄操作の後、光学特性評価

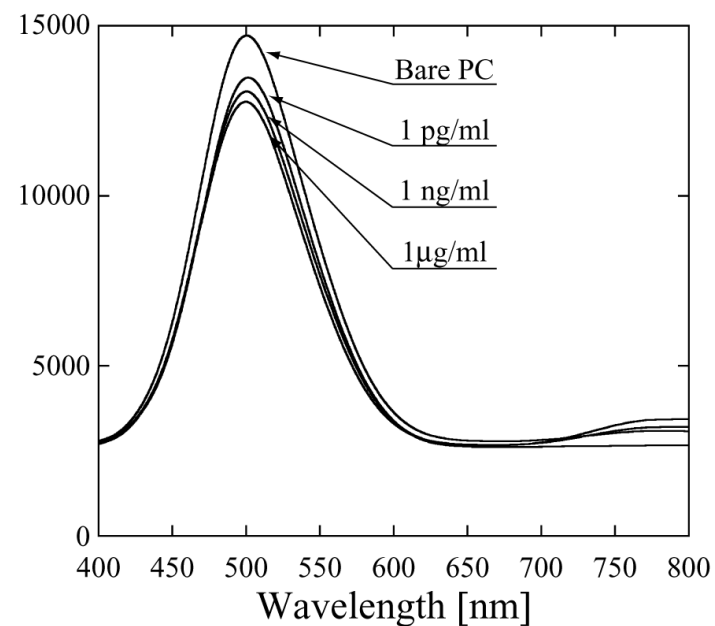
血液凝固因子であるフィブリノーゲンの検出をモデル実験として行った
(電気学会論文誌E部門誌(2010) Vol. 130 pp. 450-451.)

フォトニック結晶を用いた抗原抗体反応の検出

検出原理



光学特性変化



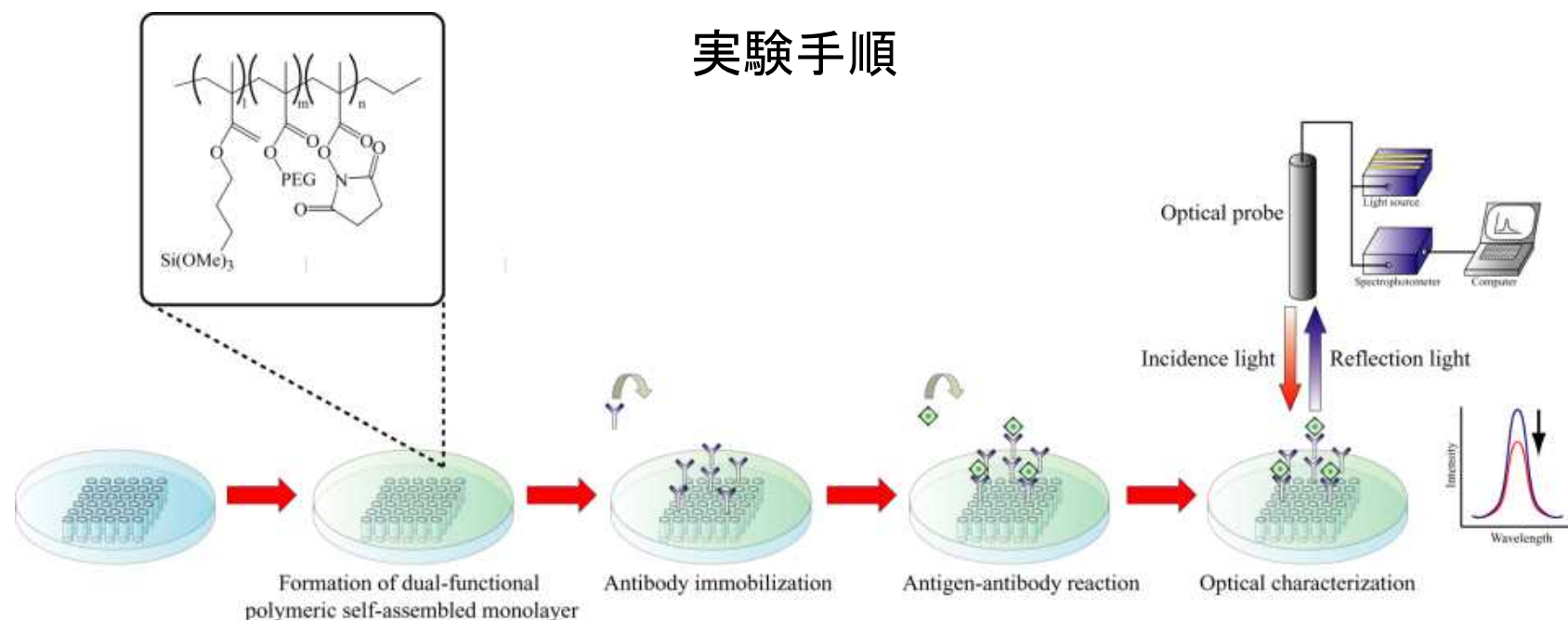
抗原抗体反応によってフォトニック結晶周囲の屈折率が変化し
反射強度が減少することが観察された
(特許出願済: WO/2010/044274)

プリンタブルフォトニクス製PhCを用いた バイオセンサー応用実績

- 1) タンパク質
 - ・インスリン(糖尿病)
 - ・フィブリノーゲン(肝臓疾患)
 - ・ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子(乳癌)
 - ・核タンパク(感染症)
- 2) 微生物
 - ・インフルエンザ(感染症)
 - ・食中毒菌(感染症)
- 3) DNA
 - ・腫瘍壊死因子(癌)
- 4) イオン
 - ・カルシウム、カリウム(腎臓疾患)

更なる高感度化・高集積化を目指したPhC設計を進めている

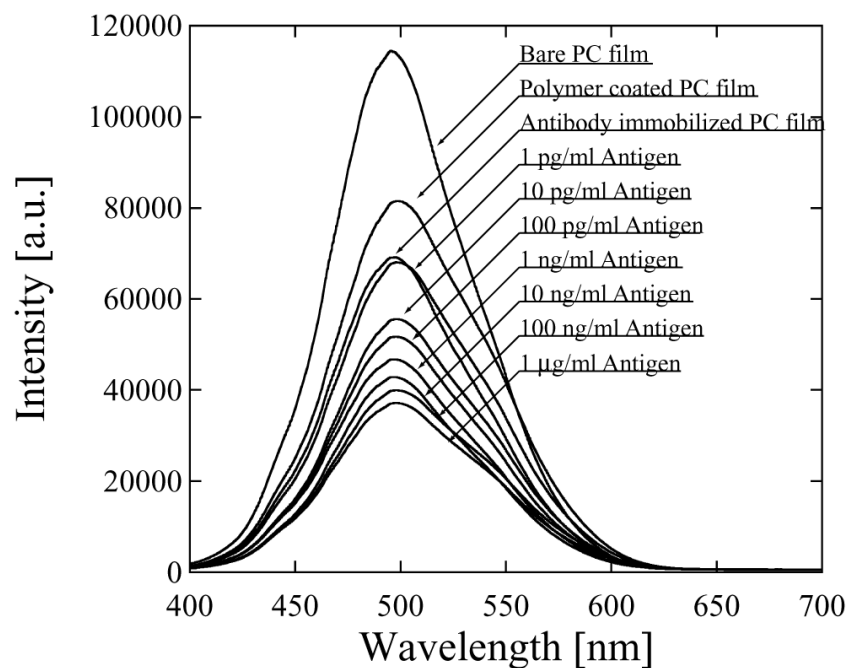
唾液中インフルエンザウイルスの検出・定量



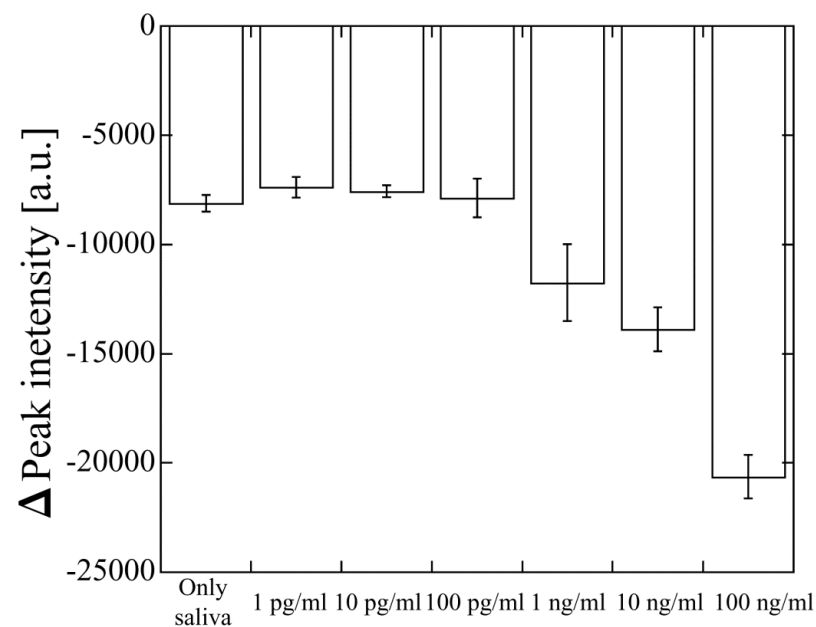
実試料として唾液中のインフルエンザウイルスの検出・定量を試みた
(*Sensors and Actuators B: Chemical*, (2010) Vol. 148 pp. 269-276.)

インフルエンザウイルスに対するフォトニック結晶の 光学特性変化

光学特性変化



反射ピーク強度変化量

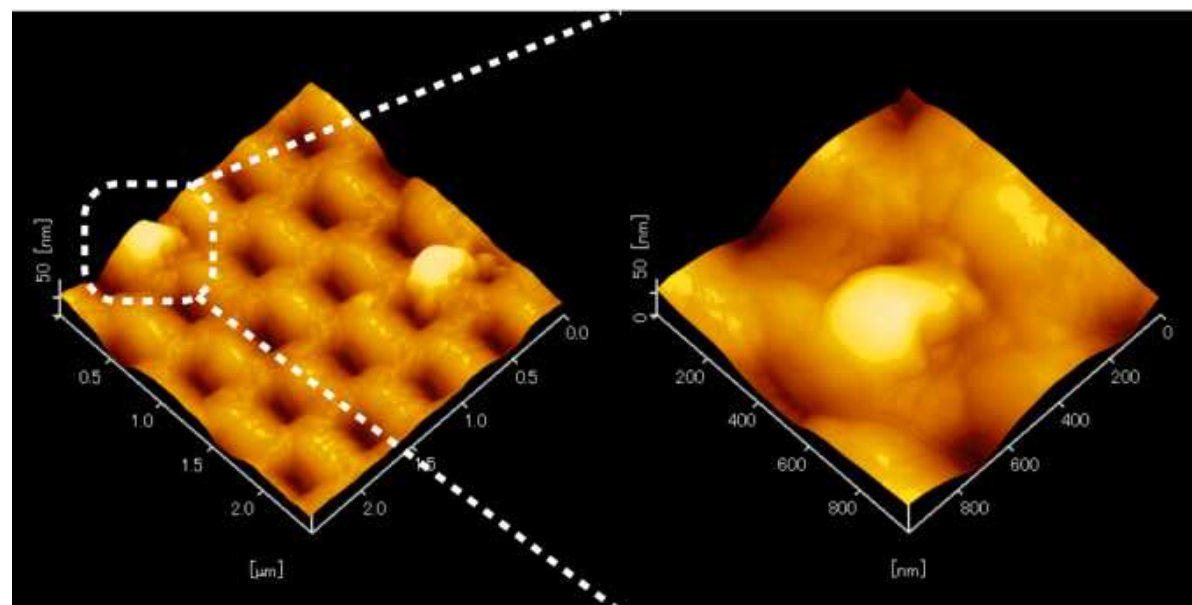


インフルエンザウイルス濃度に依存した反射スペクトル変化を観察
することができた

(特許出願済: WO/2011/065398)

抗原抗体反応後のフォトニック結晶表面形態

フォトニック結晶表面の原子間力顕微鏡像



- ・フォトニック結晶表面にインフルエンザウイルスを観察することができた
- フォトニック結晶の周期性が変化(屈折率変化)し反射スペクトルが変化する

スマートフォンを用いたノイラミニダーゼの検出

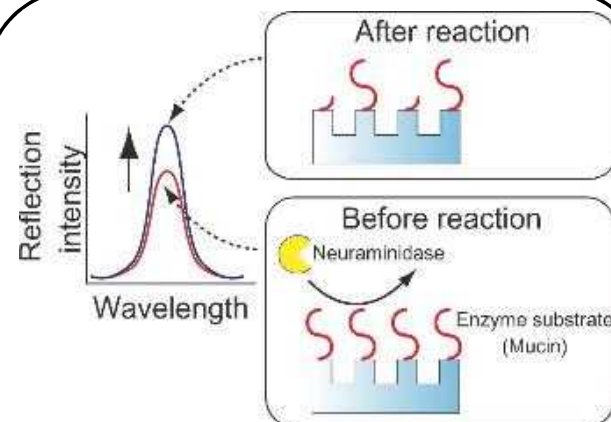
検出原理

スマートフォン
(iPhone)



画像(動画)
撮影・解析

ナノインプリント製
PhC



ノイラミニダーゼ活性に依存した
色彩強度変化

操作手順

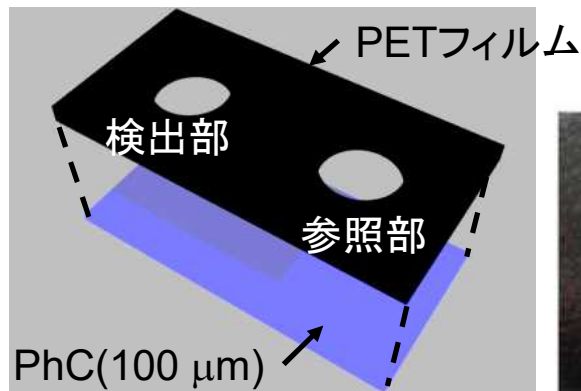
- 1) PhC表面へノイラミニダーゼ基質(ムチン)を固定化
- 2) 基質固定化PhCへノイラミニダーゼ溶液を滴下
- 3) 静置・反応(10 min)
- 4) 洗浄・乾燥
- 5) カメラ撮影・解析(色彩強度変化観察)

ナノインプリント製PhCの色彩強度変化をスマートフォン上で解析

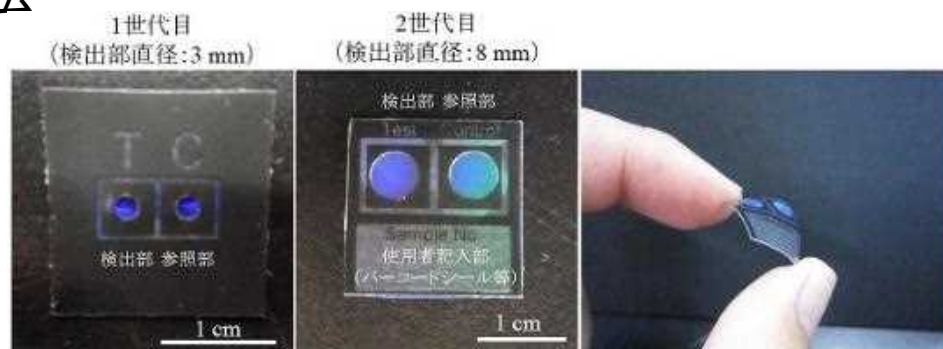
ノイラミニダーゼ検出用デバイスの作製

デバイス設計・試作

構造概略図

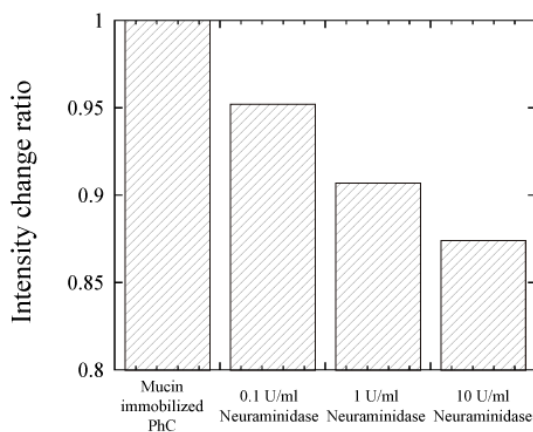


外観写真



分光光度計を用いたノイラミニダーゼの検出

反射強度変化率



※ノイラミニダーゼ濃度: 0.1~10 U/ml

$$\text{Intensity change ratio} = \frac{R_{\text{After}}}{R_{\text{Before}}}$$

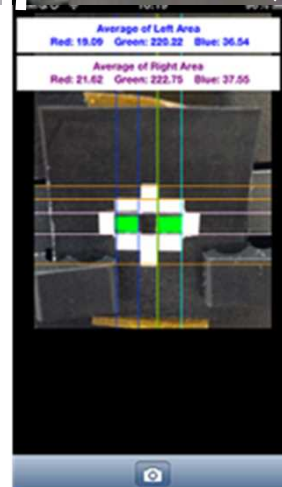
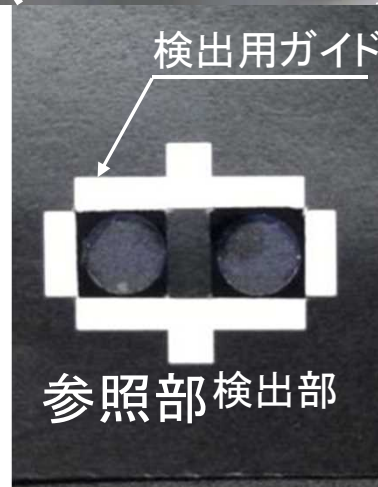
R_{Before} : 反応前(ムチン固定化)反射強度

R_{After} : 反応後反射強度

PhCを用いた酵素反応検出に成功

スマートフォンを用いたノイラミニダーゼの検出(1)

ソフトウェア・測定系の構築



手順

- 1) 測定位置移動(検出用ガイド)
- 2) 画像/動画撮影
→画像取り込み
- 3) RGB強度解析・G強度数値化
(スマートフォン上で解析)
(参照部・検出部)

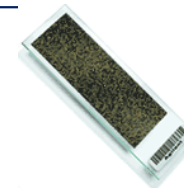
測定機器 : iPhone5 (iOS7)
ソフト開発環境 : Xcode5

ポリマー製PhCナノ共振器の設計と高感度センシングへの応用

DNA検出 ウイルス検出、医療診断に利用

利点 : テーラーメイド医療への応用

課題点 : 要標識、検出感度・精度 低



フォトニック結晶 (Photonic Crystal : PhC) ナノ周期構造を持つ光デバイス

特徴 : 周囲の屈折率に応じた反射スペクトル変化

利点 : 非標識・簡便なバイオセンシング

欠点 : Bragg反射スペクトルを用いたセンシング

→ 極低濃度分子検出 : 困難

点欠陥PhC ⇒ 欠陥による光閉じ込め・増幅 ⇒ SN比の向上¹

[1] Mao Xiaoyu, et al., *Chin. Phys. Lett.*, **25**, (1), 141-143 (2008)

アイデア

点欠陥PhC

DNAセンシング

Bragg反射型より高感度なセンシングデバイスの開発

目的

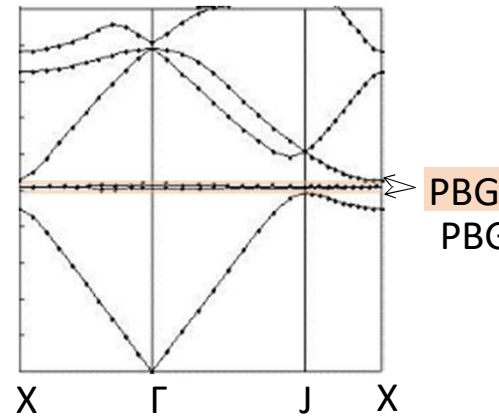
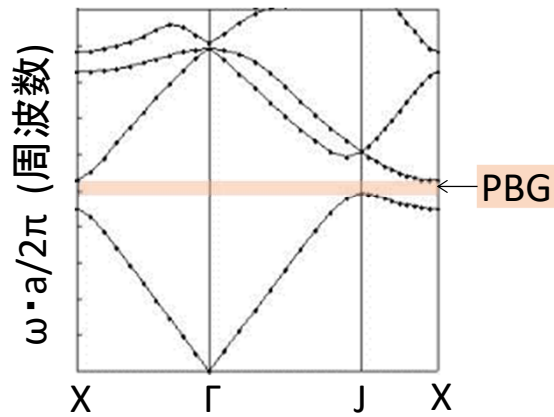
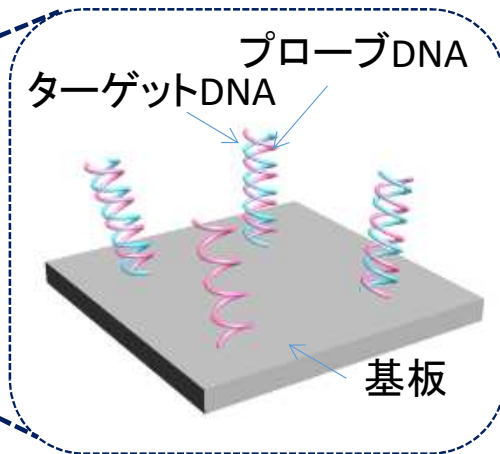
- ① ポリマー製PhCナノ共振器の設計・作製と光学特性評価
- ② ポリマー製PhCナノ共振器を用いたラベルフリーDNAセンシング

ポリマー製PhCナノ共振器を用いたDNAセンシング～

Defect無



Defect有



PBG
PBG中に新たなモードが出現
⇒ 特定波長を反射

① ポリマー製PhCナノ共振器の設計・作製と光学特性評価

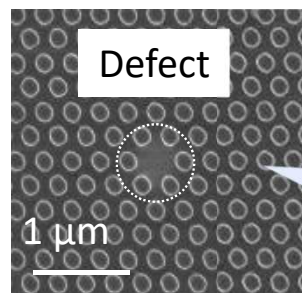
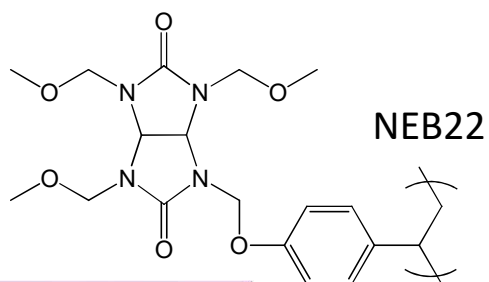
4

設計・作製

作製法方 : 電子線リソグラフィ

基盤 : Si

レジスト剤 : NEB22



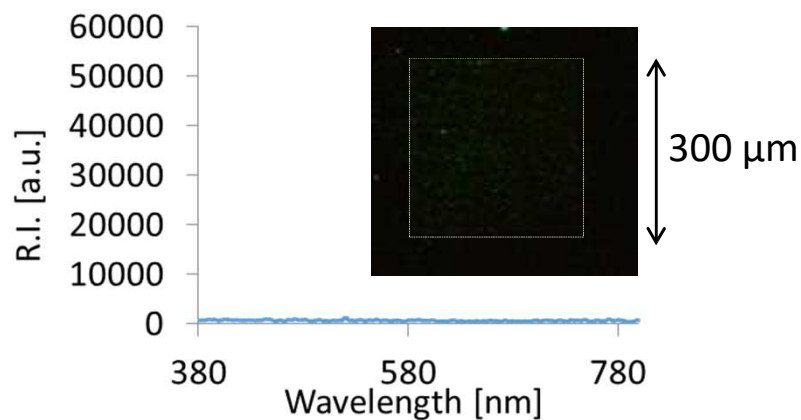
PhCのSEM像

設計値
ピラー直径 : 168 nm
単位格子 : 280 nm
反射波長 : 532 nm

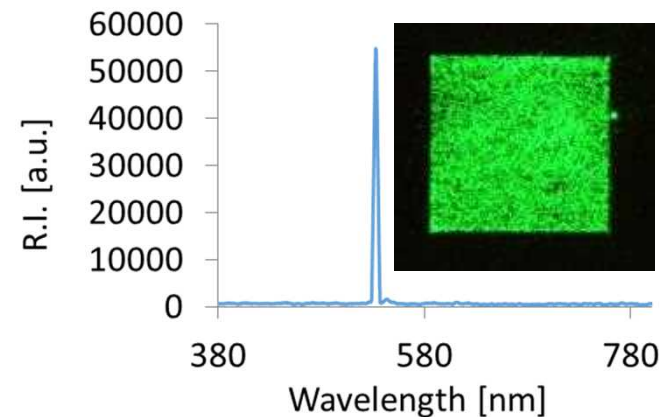
実測値
ピラー直径 : 168.9 nm
単位格子 : 277.0 nm

光学特性評価

Defect無



Defect有

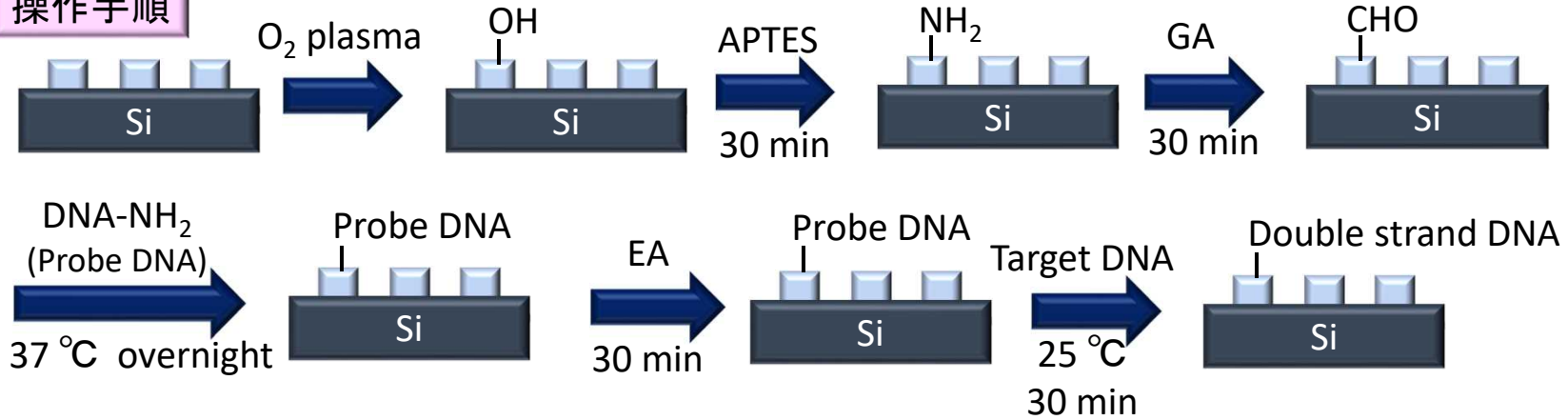


Defect有 ⇒ 特定波長光を反射

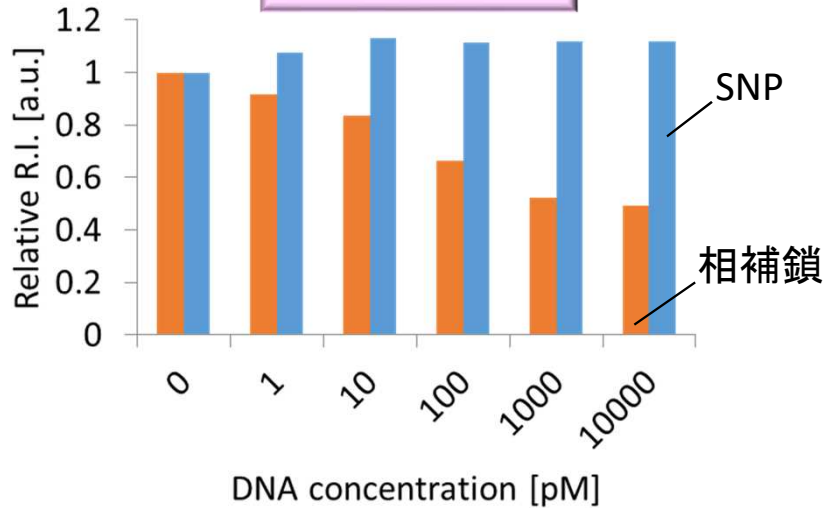
② 点欠陥PhCを用いたラベルフリーDNAセンシング

6

操作手順



ピーク強度変化



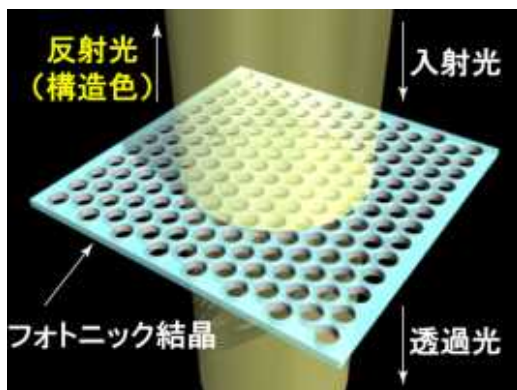
試料DNA・・・腫瘍壊死因子発現配列
(Tumor Necrosis Factor : TNF- α)

Probe : NH₂ - ACC ACC ACT TC
 相補鎖 : GGT TTC GAA GTG GTG GTC TTG
 SNP : GGT TTC GAA GCG GTG GTC TTG

・ラベルフリーDNAセンシング : 成功
 ・検出下限 : 1 pM

フォトニック結晶を用いたセンシング

フォトニック結晶 (Photonic crystal: PhC)



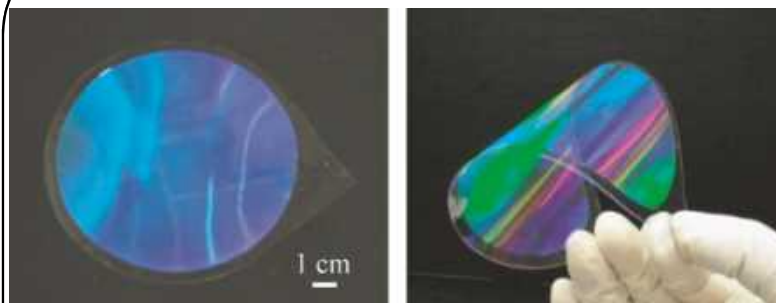
特徴

- ・ナノメートルサイズの誘電体周期構造
- ・特定波長の光を回折・反射
- ・周辺屈折率変化に対して鋭敏



屈折率変化を検出するセンサー応用

ナノインプリント製PhCセンサー



Cyclo-olefin polymer (COP)製PhC
孔径:ピッチ:230 nm
サイズ :4 inch

利点

- ・大面積を作製可能 :最大A4サイズ
- ・樹脂フィルム上へ作製 :安価
- ・作製が簡便 :量産が可能



種々のセンサー応用

N. Li *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, 2013
T. Endo *et al.*, *Lab Chip*, 2012

PhCを用いたセンシングの課題

PhC-試料界面の屈折率差

センシング原理

試料溶液 ($n > 1.33$)

屈折率差 $\Delta n < 2.67$

Si ($n = \text{approx. } 4.00$)

試料溶液 ($n > 1.33$)

屈折率差 $\Delta n < 0.20$

COP ($n = 1.53$)

PhC-試料間の屈折率差を検出に利用

→測定対象

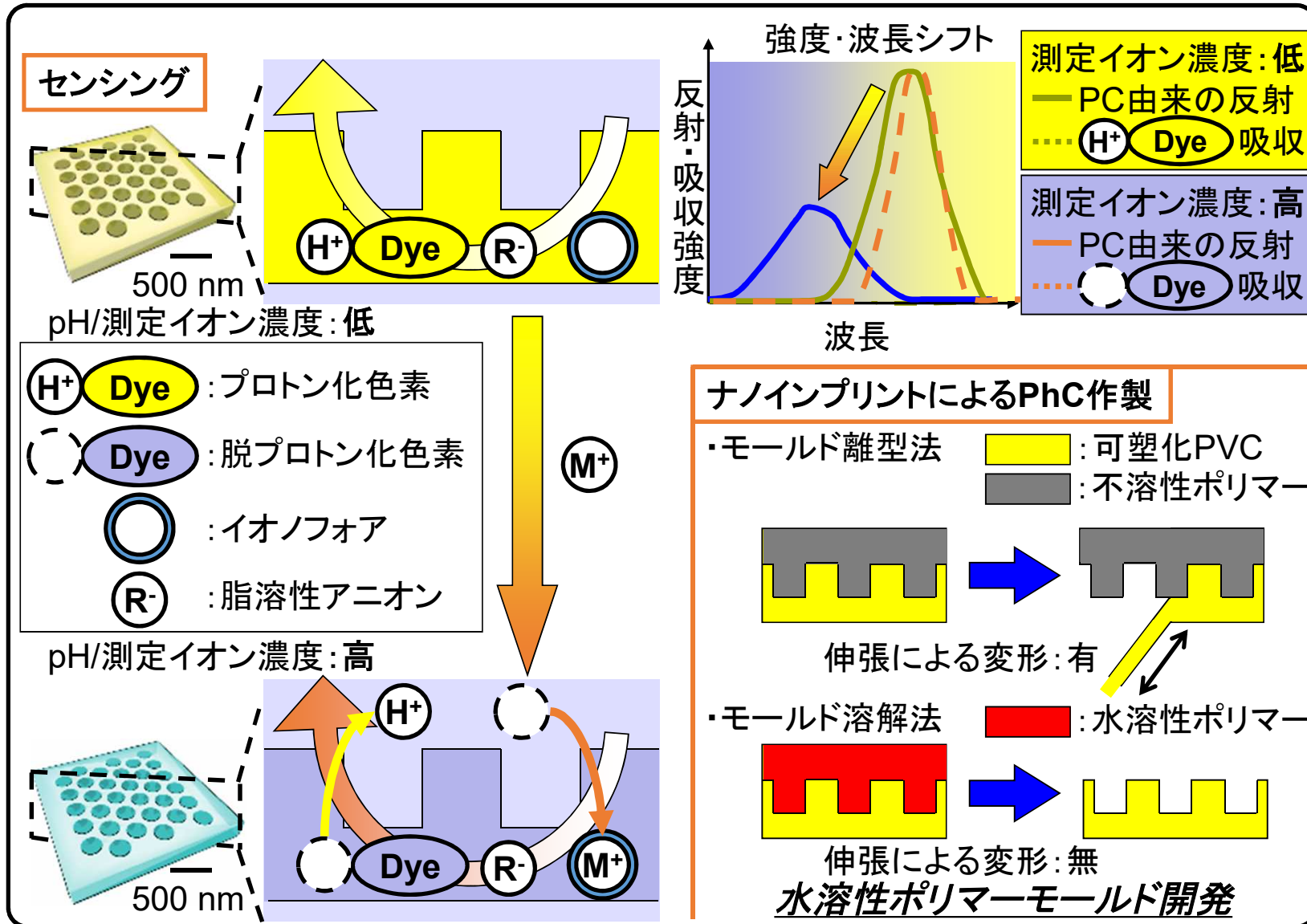
- ・高分子(タンパク質・DNA): 屈折率差大
→検出・定量可能
- ・低分子(イオン等): 屈折率差小
→検出・定量困難

課題に対する解決策

物質の選択的抽出能を有するPhC開発

- PhC内部への測定対象抽出 ⇒ PhC材料の物性変化を測定
- 測定対象: イオン・低分子 ⇒ サイズの小さな分子を高感度測定可能
- 光学イオンセンサー材料 ⇒ イオン認識素子・色素含有可塑化ポリ塩化ビニル(PVC)
- バルクへのイオン抽出 ⇒ 色素の吸収・屈折率変化

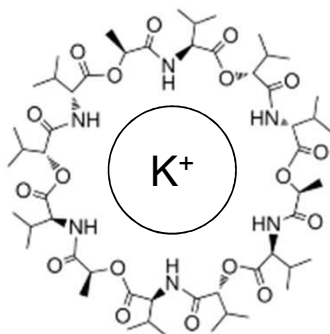
センシングコンセプト



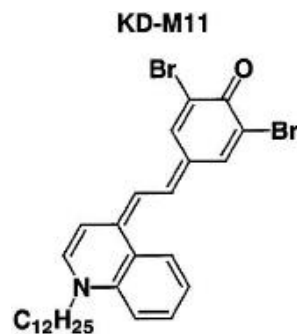
イオン抽出能を有するPVC製PhC作製と応答性評価

イオン認識素子包含PVC製PhCの作製

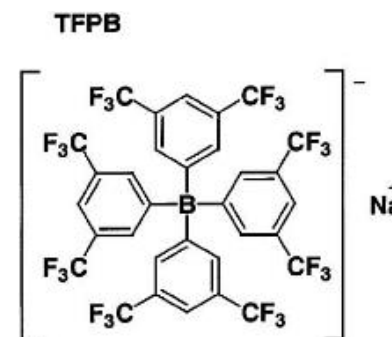
バリノマイシン
(K⁺イオノフォア)



KD-M11(脂溶性色素)



TFPB(脂溶性アニオン)



PVC製PhC組成

PVC	:40 mg
NPOE	:80 mg
THF	:1174.77 mg
バリノマイシン	:4.51 mg
KD-M11	:2.28 mg
TFPB	:3.74 mg

試料調製

試料溶液

応答性評価

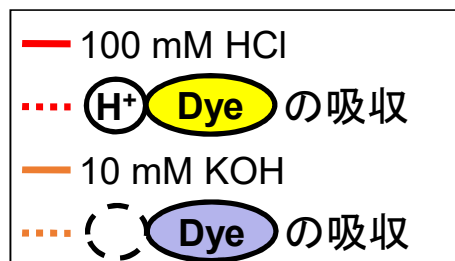
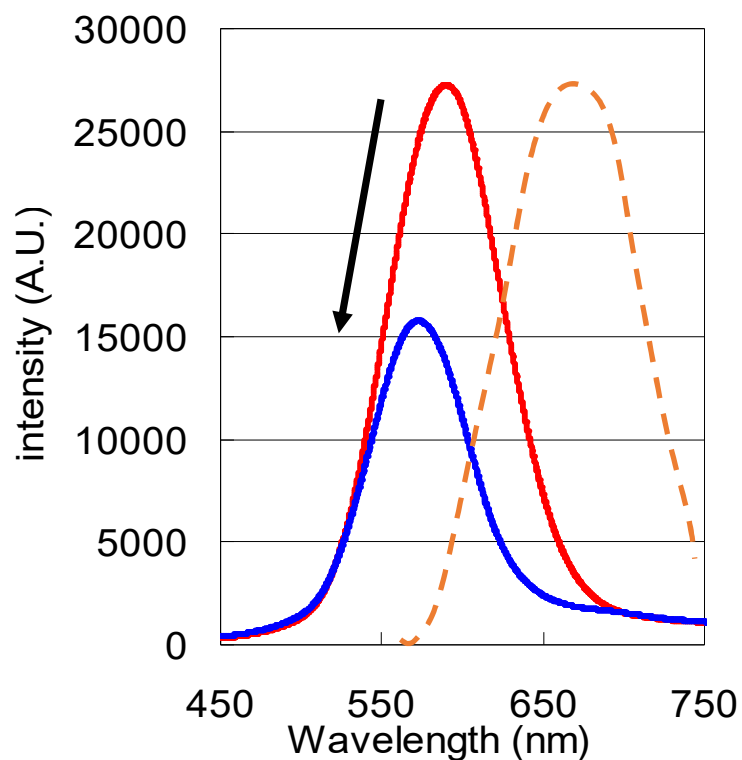
緩衝液	:pH 2.5 グリシン/HCl buffer
KOH	:10 mM
HCl	:100 mM

選択性評価

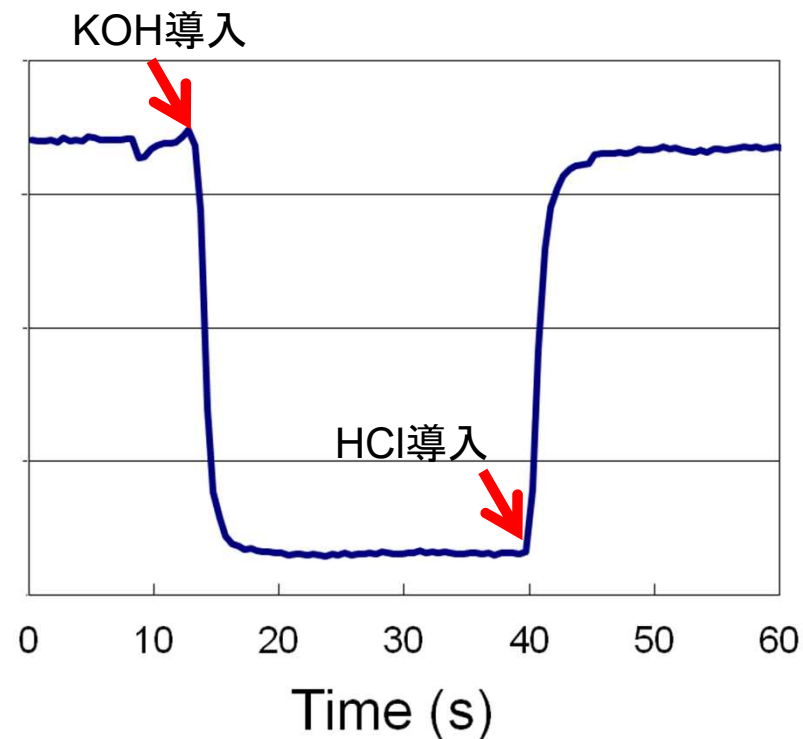
緩衝液	:pH 2.5 グリシン/HCl buffer
KCl	:10 ⁻¹ ~10 ⁻⁶ M
NaOH	:10 ⁻¹ ~10 ⁻⁶ M

イオン認識素子包含PVC製PhCの応答性評価

スペクトル変化



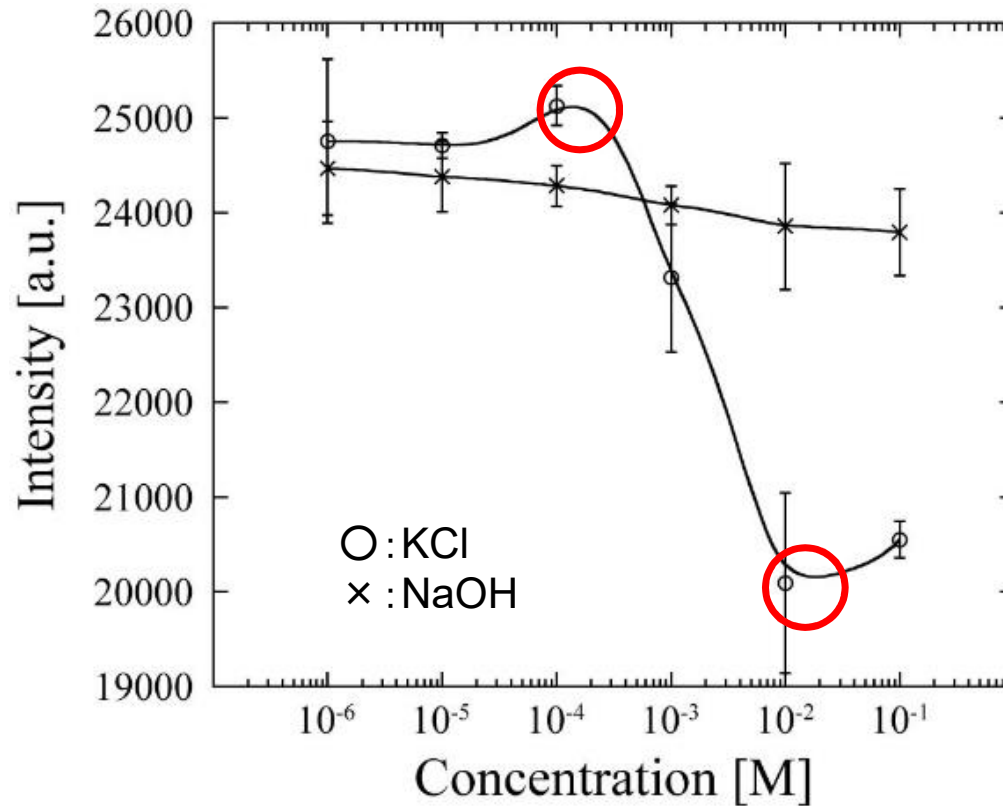
経時変化



スペクトル測定結果
: 脂溶性色素の脱プロトン化
→ ピーク強度の減少
経時変化測定結果
: カリウムイオン・プロトン抽出
→ 10秒以内

イオン選択性評価

イオン濃度依存性



- ・カリウムイオン選択性
→確認
- ・ $10^{-2}, 10^{-4}$ Mで強度変化に差異
→カリウムイオンによる
屈折率変化検出

KCl溶液 : イオン抽出有 → ピーク強度減少 **大**
NaCl溶液 : イオン抽出無 → ピーク強度減少 **小**

プリンタブルフォトニクス製デバイスの利点

幅広い応用分野

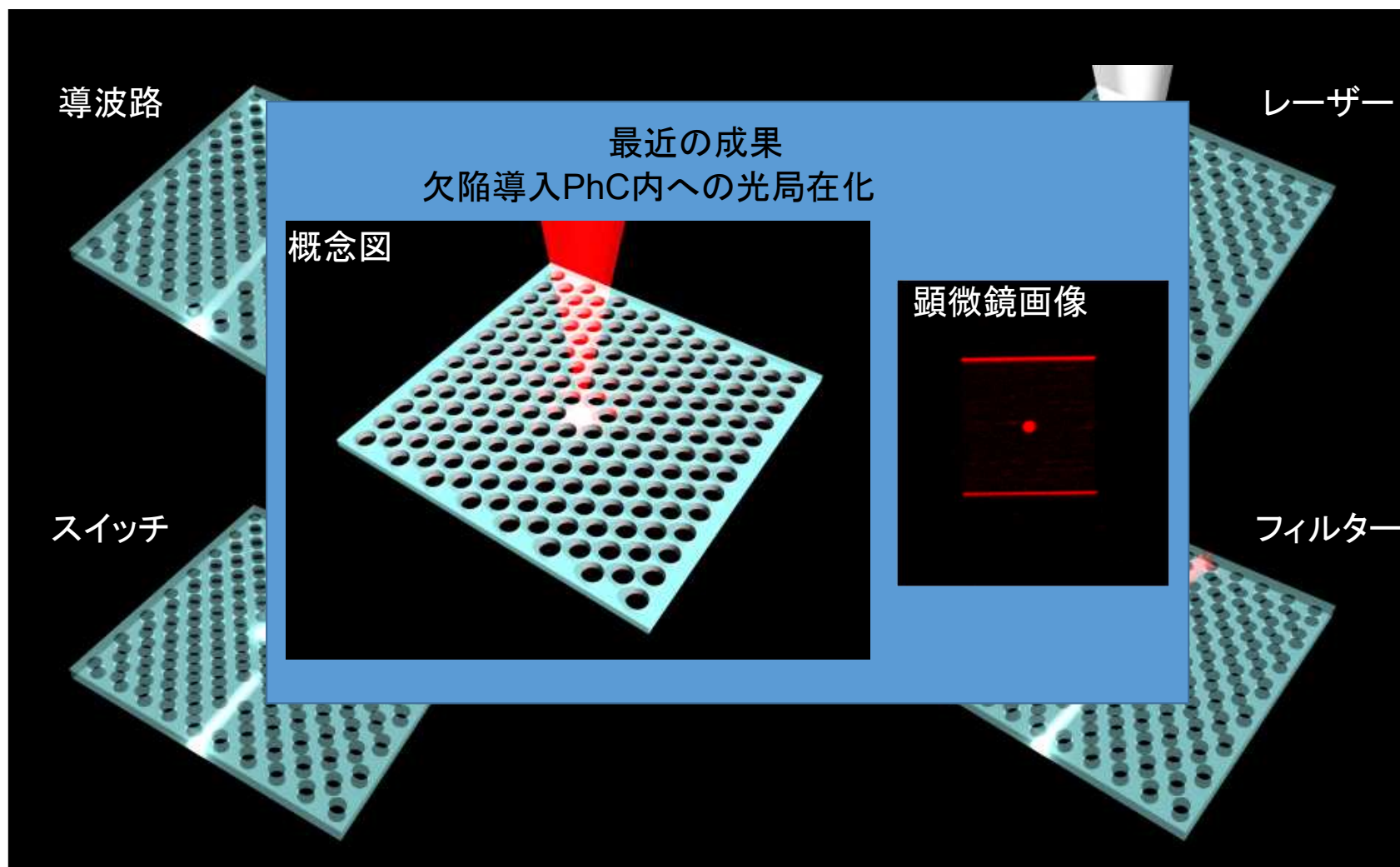
- ・医療：早期診断/健康管理への応用
- ・創薬：新規薬剤候補・薬効のスクリーニング
- ・環境・エネルギー：環境モニタリング、太陽光発電
- ・通信：光通信、フレキシブルデバイス

産業応用性

- ・低スイッチングコスト
- ・設備投資額・維持費削減(クリーンルームなど)
- ・材料の低コスト化(シリコン・ガラス→ポリマー)

ハンドヘルド医療機器市場：2011年110億米ドル
(カロラマ・インフォメーション 発行「Handhelds in Healthcare」)

ナノフォトニクスを基盤技術としたデバイス将来展望



お問い合わせ先

大阪府立大学

統括コーディネーター 上田 卓司

統括コーディネーター 中尾 圭司

TEL 072-254 - 9128

FAX 072-254 - 7475

e-mail URA-center@ao.osakafu-u.ac.jp