

# 高感度分子吸着検出センサーの開発

## — 高度な診断・診療のためのバイオ分子検出技術の開発 —

藤巻 真\*、栗津 浩一

特定の物質の存在を高感度で検出するセンサーは、医療や創薬、環境などの分野でその高機能化が切望されている。我々は、診断、診療のための高性能なセンサーを目指し、基本技術として導波モードを用いた高感度分子センサーの開発を行った。本センサー開発において、我々は、ナノ穴形成技術の適用、光学シミュレーションと実験結果のフィードバック、検出板作製工程の見直しを経て、センサーの高感度化、安定化に成功した。本稿では、これらの研究シナリオ及びシナリオ実現に用いた要素技術、各要素技術の構成方法とそれにより達成したセンサー技術の特性に関して述べる。また、ブレイクスルーによって得られた飛躍的な検出性能の向上についても報告する。

**キーワード:** バイオセンサー、導波モード、導波路、エバネセント場、分子吸着

## Development of high-sensitivity molecular adsorption detection sensors

### – Biomolecular detection for highly-developed diagnosis, medication, and medical treatments –

Makoto Fujimaki\* and Koichi Awazu

High sensitivity sensors for detection of molecules are aspired in various fields of application, particularly in medical technology, pharmacy and environmental sciences. In the present research, we have developed a high-performance molecular detection sensor for diagnosis, medication, and medical treatments that utilizes waveguide modes as basic technology. We successfully obtained sensors with high sensitivity and stability by applying nano-perforation technology, optical simulation and experiments, and an originally developed sensing-plate fabrication process. In this report, the scenario of the present research, elemental technologies and their synthesis for achieving the scenario and the properties of the realized sensors are described. In addition, a rapid progress in sensing performance obtained by a breakthrough is reported.

**Keywords:** Biosensor, waveguide modes, optical waveguide, evanescent field, molecular adsorption

### 1 はじめに

医療におけるセンサーに求められる重要な役割の1つに、病気の早期発見が挙げられる。近年の目覚ましい医療の進歩から、様々な疾患に起因する物質が特定されてきており、これらの物質の有無を検出することによって、罹患の有無や進行具合を判定できる。疾患は早期発見によって、治癒の可能性が格段に高くなる。疾患を早期に発見するには、これらの物質が低濃度である段階でも、感度良く検出できることが求められる。つまりセンサーにはより高い感度が要求される。

センサーに求められる役割としては、この他に、疾患の原因の特定、患者の経過の観察が挙げられる。例えば、風邪や食中毒の場合、その症状を引き起こしたウイルスや菌を短時間で特定することが求められる。ある疾患によ

て入院した患者に薬を投与した場合、その薬の効果が出ているのかどうかのその場観察も重要である。これらの状況下では、センサーは、その場で迅速に検出を行うことが求められる。このような場合、センサーには検出感度に加えて、持ち運びに適した程度にコンパクトであること、測定環境に依存しない検出が可能であることが望まれる。

高性能なセンサーによって病気の早期発見、早期の特定、ストレスの少ない正確な経過観察が可能となれば、患者の早期回復が期待でき、その結果、患者の肉体的負担の軽減、治療期間の短縮及び医療費の削減が実現できる。もちろん、微量物質を検出できる方法は数多く存在するが、医療現場で用いることを考えると、安価である必要があり、また、装置操作に比較的熟練を要さなくともよいものでなければならない。既にいくつかの疾患などに対し

産業技術総合研究所 近接場光応用工学研究センター 〒305-8562 つくば市東 1-1-1 中央第4  
Center for Applied Near-Field Optics Research, AIST Tsukuba Central 4, Higashi 1-1-1, Tsukuba, 305-8562, Japan \* E-mail: m-fujimaki@aist.go.jp

Received original manuscript March 9,2009, Revisions received April 21,2009, Accepted May 11,2009

ではこのような条件をある程度満たすセンサーが考案され実用化されており、イムノクロマトグラフィー法を用いたインフルエンザの診断（ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社 タミテストインフルエンザ AB、DS ファーマバイオメディカル株式会社 QuickVue ラビッド SP influ、など）、金コロイドクロマト免疫測定法を用いた妊娠検査（ロート製薬株式会社 ドゥテスト、株式会社アラクス チェックワンファスト、など）などがその例として挙げられる。

しかしながら、多くの場合、疾患に起因する物質の濃度があまりに低かったり、他の物質との分離が困難であったという理由のために、これを克服する有効なセンサーが開発されておらず、今後の開発に大きな期待が寄せられている。このようなニーズを受け、小さな病院でも短時間で、初期段階の病気を発見できるようにするためのバイオセンシング技術を確立することを目標に、様々な特定の微量物質を感度良く検出でき、持ち運びが可能な程度にコンパクトで、測定環境に依存しない安定な検出が可能な、バイオ物質センサーの開発を行った。また、特に人由来の検体、例えば血液や尿や唾液を対象に検出を行う場合、様々な物質が混在しているため、検出したい物質以外の物質（夾雑物）に検出を邪魔されてしまうことが大きな問題となる。よって、夾雑物の影響を受けにくくするための開発も行った。

## 2 分子吸着検出センサー開発

図1にセンサー開発に求められる課題、課題克服によって期待できる性能、得られた性能によって享受できるメリットを示す。このように、目的とするセンサーは、特定の物質（検体）の存在を感度良く、安定に、そして低ノイズで検出するものである。我々は、本センサーの開発に、検体を特異的に捉え、その結果生じる誘電環境の変化を導波モード<sup>用語1</sup>の変化によって検出する手法を基本技術として用いた<sup>[1][2]</sup>。以下に本技術の特徴及び本開発によって行った高機能化に向けたシナリオを説明する。

### 2.1 エバネセント場結合型導波モードセンサーの原理とセンサーに求められる性能

課題	期待できる性能	得られるメリット	応用
高感度化	小さい分子の検出。 少量・低濃度物質の検出。	様々な疾患・病原体の特定。 初期段階での疾患の特定。	医療 創薬 健診 健康 環境測定 テロ対策
高安定化	物理的安定性の向上。 化学的安定性の向上。 温度に対する感度の安定性。	キズによる誤診の防止。 ハンドリング時に壊れにくい。 センサーの長寿命化。 安定した製造。製造誤差の低減。 検体に対して安定。 (酸、アルカリ、腐食性、反応性)。 空調が不要。屋外で使用可能。	
低ノイズ化	夾雑物、非特異吸着の影響低減。	正確な診断。高感度な診断。	

図1 センサーに求められる課題、期待される性能、得られるメリット及び応用分野

我々が開発を行ったエバネセント場<sup>用語2</sup>結合型導波モードセンサー（Evanescent-field-coupled waveguide-mode sensor、EFC-WM センサー）と非常に似た機構を持ち、主に研究開発用として市販されているバイオセンサーとして、表面プラズモン<sup>用語3</sup>共鳴（SPR）を用いたセンサーが知られている<sup>[1]</sup>。EFC-WM センサーの仕組みの理解を容易にするために、この既に実用化されている SPR センサーの測定原理を簡単に説明する。

一般に SPR センサーでは高屈折率ガラス基板表面に金属薄膜を堆積し、金属薄膜面と反対側の面に基板と同一のガラスで形成されたプリズムを配する。一般に、金属薄膜には、可視光で表面プラズモンを励起することができる Au や Ag が用いられる。図2 (a) に SPR センサーに最も良く用いられる光学系を示す。この光学配置はクレッチマン配置と呼ばれる<sup>[3]</sup>。クレッチマン配置において、プリズム側から全反射条件下で光を入射すると、ある特定の入射角において金属薄膜表面に表面プラズモンが励起される。この入射角度を共鳴角と呼ぶ。共鳴角付近で光を入射して金属薄膜による反射光の強度を測定すると、入射光が表面プラズモンと結合することによって反射光強度が著しく減少する。表面プラズモンは、金属表面の誘電率の変化に敏感であることから、表面に生体分子などが吸着すると、この共鳴角が変化し、光の反射光強度が大きく変化する。この反射光強度の変化を検出することによって、生体分子の吸着を検出する。特定分子のみを検出するため、金属表面には、検出対象分子を特異的に吸着する物質を表面修飾しておく。

EFC-WM センサーに用いる検出板は、基板ガラス上に反射膜と透明誘電体導波路を持つ<sup>[4][5]</sup>。測定に用いる光学系には、SPR センサーと同じ光学系が使用可能である。図2 (b) はクレッチマン配置を用いた EFC-WM センサーの光学配置を示す。SPR センサーと同様にプリズムを介して光を入射すると、ある特定の入射角（共鳴角）において反射膜で発生するエバネセント場を介して入射光と導波路を伝搬する導波モードとのカップリングが生じる。この特定角度付近で光を入射すると、反射光強度が著しく増減す

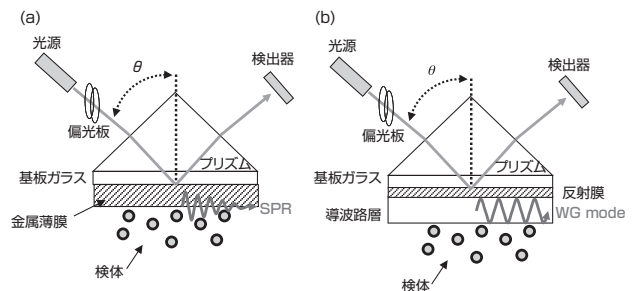


図2 (a) SPR センサーに用いられる光学配置、(b) EFC-WM センサーに用いられる光学配置。

る。導波モードも、SPRモードと同様、表面状態に敏感であるため、導波路の表面に生体分子などが吸着すると、上記の共鳴角が変化し、反射光強度の変化が生じる。この反射光強度の変化を利用し分子吸着を検出するセンサーがEFC-WMセンサーである。

SPRセンサーは、検体を標識物質で標識しないラベルフリーな検出手法であり、ラベル化を行わずとも十分に検体を検出できるだけの感度を持っていることが大きな特徴である。よって、煩雑なラベル化工程が不要で、その結果、検出が簡単に行えるという特徴がある。また、検体をラベル化しないことから、検体自身が持つ特性や特徴が損なわれない。したがって、対象となる分子の挙動、例えば、特定分子をどのような環境下で吸着するか、などを正確に観察することができる。しかし、感度という面では、標識物質を用いる高感度検出法、例えば酵素結合免疫吸着法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay<sup>[6]</sup>、エライザ法と呼ばれる）よりは2～3桁程度劣ると言われている（ただし、感度は、測定対象分子の種類や大きさ、測定対象分子の捕捉方法、測定環境、例えば、血液中か緩衝液中か、夾雑物は存在するか、など様々な要因に大きく左右されるため直接の比較は難しい）。EFC-WMセンサーもSPRセンサー同様、ラベルフリーな検出手法である。これまで、EFC-WMセンサーは、光反射物質に制限がないことやS波P波の両方が使えるなどの利点があるにもかかわらず分子吸着検出センサーとしてSPRセンサーの後塵を拝してきた。その最も大きな理由は、分子吸着時の共鳴角の変化量の絶対値がSPRセンサーに比べ小さいことである。しかしながら、EFC-WMセンサーでは共鳴角の幅が鋭く、よって小さな角度変化でも大きな反射率特性の変化が得られると言う特徴がある。また、SPRセンサーに比べ、EFC-WMセンサーでは導波路層を形成する分、作製工程が煩雑になる。しかし我々はこの導波路層を工夫することこそ、さらなる高感度化の鍵であると考えた。これらの特徴を活かしEFC-WMセンサーの感度を2～3桁向上できれば、分子吸着検出センサーの感度としては申し分無い。

感度の他に、使用する環境、特に室温に対する感度の安定化も求められる。感度が高い検出方法は、高感度であるがゆえに、環境の影響を受けやすい。一般に生体分子は、血液や尿や緩衝液など、何らか形で水に溶けている。水は温度によって誘電率が変化するため、SPRセンサーやEFC-WMセンサーのように誘電率の変化を検出するセンサーは、原理上温度に対して非常に不安定である。センサーを高機能化するに際し、この温度安定性の問題の解決は大変重要な課題である。

このように、EFC-WMセンサーを医療分野で使用可能

な有効な検出手法とするには、性能上求められる様々な課題がある。しかしながら、SPRが発現する材料しか使用できないSPRセンサーとは異なり、EFC-WMセンサーは、反射膜材料には光を反射する薄膜材料であればあらゆる材料が使用でき、また、導波路層には透明薄膜材料であればどのような材料でも使用できる、という大きな自由度があり、高感度化、高性能化の余地が多分にあった。そこで我々は、以下に示すシナリオを描き、センサーの高機能化に取り組んだ。

## 2.2 EFC-WMセンサー高機能化のシナリオ

まず我々は、導波路自体の構造に着目した。図3は、導波モードが励起されている時の導波路内の電界分布のシミュレーション結果を示す。ここでは、入射光は波長632.8 nmのS偏光、基板ガラスの屈折率は1.769、反射膜は厚さ40 nmのAu、導波路層は厚さ500 nmのシリカガラスであるとした。また、導波路表面は水に浸っているとした。入射光は、図の左側から照射されている。図から分かるように、電界は導波路内部で強く、導波路表面付近では弱くなってしまふ。この電界の強い位置に分子を誘導できれば、より高い感度で分子検出ができる。よって、我々は、導波路層に穴を形成し、検体を導波路内に誘導することを考えた<sup>[7][8]</sup>。この穴形成によって導波路の表面積が増えることから吸着する検体の個数も増加するため、より大きな感度の向上が望める。穴のサイズは、入射光の散乱を防ぐため、入射光の波長より十分小さいことが望ましい。よって、可視光を用いる場合、孔径は数10から100 nm程度でなければならない。また、穴はできるだけ深い方が、より大きな面積増加が望めるため、導波路層を貫通する程度に深いことが望まれる。このように直径が小さく、アスペクト比が高いナノ穴を形成する手法として、我々は、高速重イオン照射によって形成された潜トラックのフッ酸蒸気による選択エッチングを用いた<sup>[9]</sup>。本技術では、直径数10nmでアス

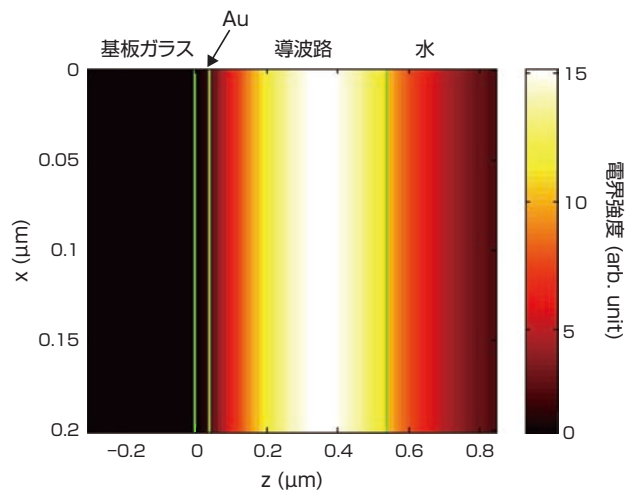


図3 導波モード励起時の導波路内電界強度分布。

ペクト比 40 以上のナノ穴の形成が可能である<sup>[8]</sup>。

次に我々は、検出板の材料、特に反射膜の材料について見直しを行った<sup>[5]</sup>。従来の EFC-WM センサーでは、反射膜に Au や Ag などの貴金属を用いる例が多く報告されている<sup>[10][11]</sup>。また、実際にこれらの材料を用いることによって、高い感度が得られていた。ところが、これらの金属は EFC-WM センサーに用いられるガラス基板やプラスチック基板、導波路層として用いられる誘電体層との密着性が非常に悪く、簡単に剥がれてしまうという問題点があった。したがって、実用に耐える高い信頼性を得るために、接着層を入れる必要があったが、この接着層の導入によって、センサーの感度低下や製品のコスト高、製造誤差の増大という悪影響が問題となっていた。光学シミュレーションによってどのような光学特性を持った材料が EFC-WM センサーに適するかを再検討し、また、実際に様々な検出板を作製して、センサーの性能比較を行った。

以上の開発の結果は以下の章で詳述するが、これらの結果を受けて、我々は、ナノ穴形成に適した導波路が Si を熱酸化して形成したシリカガラスであり、また、反射膜として Si を用いることが有効であることを見出した。これらの結果を踏まえ我々は、Silicon-on-Quartz (SOQ) と呼ばれるシリカガラス基板上に単結晶 Si 層を持つ貼り合せ基板<sup>[12]</sup>を検出板製造に用い、この単結晶 Si 層を酸化して導波路を形成する手法を考案した<sup>[13]</sup>。我々はこの手法で作製した検出板をモノリシック検出板と呼んでいる。また、我々は、このモノリシック検出板が吸着物の光吸収を敏感に捉えることを利用し、飛躍的な高感度化を達成した。このことは 4 章「ブレイクスルー」で述べる。図 4 はこの一連の研究開発の構成を示したものである。

### 3 開発の成果

本研究の取り組みによって得られた研究成果を以下に示す。

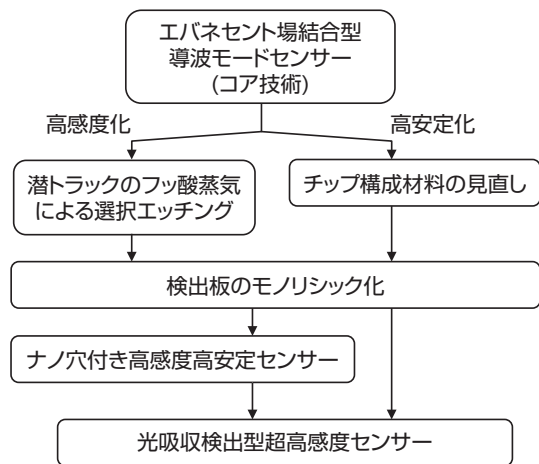


図 4 本研究開発の構成

### 3.1 ナノ穴形成技術による高感度化

上述のように、導波路へのナノ穴形成に、高速重イオン照射によって形成された潜トラックのフッ酸蒸気による選択エッチングを用いた。イオン照射には筑波大学の 12 MV タンデム加速器を用いた。イオン照射方法を図 5 に示す。150 MeV で加速した Au イオンを厚さ 0.8 μm の Al フォイルに照射する。すると、フォイルによってイオンが散乱され、均一で電流密度の低いイオンビームが形成される。イオンビームの電流密度はチップ上で 100 pA/cm<sup>2</sup> 程度となるように設定した。低い電流密度にする理由は、イオン照射量が 1 cm<sup>2</sup> 当たり 10<sup>9</sup> ~ 10<sup>10</sup> 個のオーダーと非常に少ないため、このような低い注入量を正確に制御するためである。エッチングには、20 % フッ酸による蒸気を用いた。フッ酸を入れた容器内に、フッ酸に浸らないように試料を入れ、試料をフッ酸蒸気にさらす。

図 6 は厚さ 2.0 μm の Si 熱酸化膜に Au イオンを照射した後、フッ酸蒸気で 60 分エッチングを行った時の表面及び断面 SEM 写真である。エッチング時のフッ酸温度は 21.5 °C とした。図より、熱酸化膜を貫通する穴が形成されていることが分かる。エッチング後の熱酸化膜の厚さは 1.9 μm であった。つまり穴のアスペクト比は 42 となる。このように、本手法によって数 10 nm オーダーの直径を持つナノ穴を精度良く多数形成できる。

この手法を用いて、実際にシリカガラス導波路を持つ検出板の導波路層にナノ穴を形成し、感度の向上を試みた。基板には、ガラス基板 (OHARA S-LAH66, 2 cm 角、厚さ 1 mm、屈折率 1.769 (波長 632.8 nm)) を用いた。反射膜には Au を用いた。また、Au とガラス基板、Au と導波路層の接着層として Cr 層を用いた。これらの膜は真空蒸着法によって形成した。Au の厚さは 53 nm、Cr の厚さは 0.8 nm とした。導波路層はシリカガラスをターゲットに用いた rf マグネトロンスパッタリング法によって形成した。導波路層の厚さは 550 nm とした。スパッタリング後、導波路層を緻密化するために大気中 600 °C で 24 時間熱処理した。この導波路表面に前述の方法でナノ穴形成を行った。Au イオン照射量は 5.0 × 10<sup>9</sup> cm<sup>-2</sup> とし、フッ酸蒸気

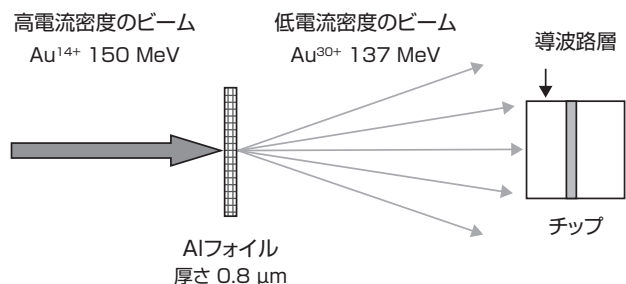


図 5 ナノ穴形成に用いるイオン照射方法

で30分間エッチングを行った。このときのフッ酸の温度は19.0℃とした。図7はエッチング後の検出板の表面及び断面SEM写真である。図に示すように、直径約30nmのナノ穴が観測される。また、この穴はAu層まで貫通していることが分かる。エッチング後の導波路層の膜厚は400nmであった。

作成した検出板にS-LAH66製の直角三角形プリズムを、マッチングオイルを介して密着させ、クレッチマン配置によって、反射率の入射角依存性の測定を行った。光源にはHe-Neレーザー（波長：632.8nm、S偏光）を用いた。導波路側には検体を保持するための液セルを配した。導波路層表面にビオチニル基を表面修飾し、ビオチン<sup>用語4</sup>に対するstreptavidin<sup>用語5</sup>特異吸着による反射率変化を観測することによって、検出感度を評価した。streptavidinはリン酸緩衝液中に溶かし、その濃度は100nMとした。図8に測定結果を示す。図8(a)はナノ穴を持つ検出板、図8(b)はナノ穴を持たない検出板を用いて測定し

た場合の結果を示す。白丸は液セル中をstreptavidinを含まないリン酸緩衝液で満たした際の反射特性、黒丸はstreptavidinを含むリン酸緩衝液を液セルに注入し、streptavidinがビオチンに吸着した後の反射特性である。いずれの場合も、導波モード励起による負のピークが観測され、streptavidin吸着によって、このピーク位置がシフトすることが分かる。ナノ穴を持つ基板によって得られたstreptavidin吸着によるこのピークのシフト量は0.38°であった。一方、穴を持たない基板でのピークシフト量は0.06°であった。このように、穴あけによって大幅な感度の向上が得られることを示すことができた。しかしながら、図8(a)に見られる様に、ナノ穴の形成によって、ピークの半値幅が広がり、深さが浅くなってしまった。これはエッチングによって、導波路層表面が荒れてしまったことによるものと考えられる。実際、図7に見られるように、エッチング後の導波路表面には粒子状の凹凸が観測される。この問題は、3.3章に記載のモノリシック検出板の開発によって、大幅に改善できた。

### 3.2 反射膜材料

EFC-WMセンサーの感度は、反射膜の光学特性に大きく依存する。そこで我々は、シミュレーションによって様々な反射膜材料に対するセンサー感度の予測を行い、また、実際に多種のセンサーを作製し検証を行った。

図9(a)、(b)、(c)は、それぞれ反射膜にAu、W、Si

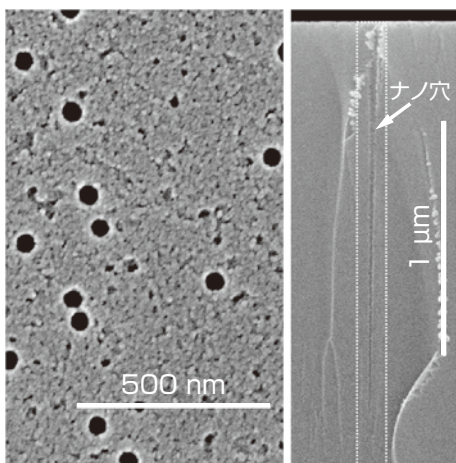


図6 Si熱酸化膜に形成したナノ穴の表面(左)及び断面(右)のSEM写真。

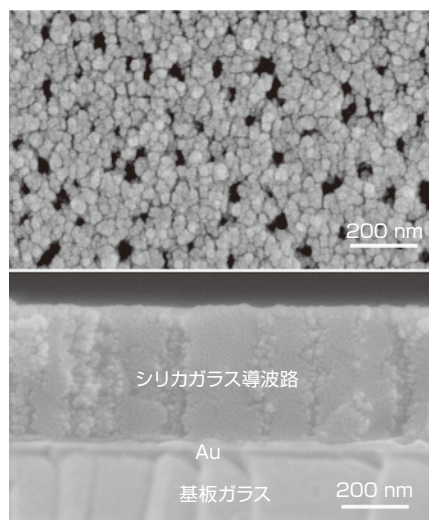


図7 ナノ穴を形成した検出板の表面(上)及び断面(下)のSEM写真。

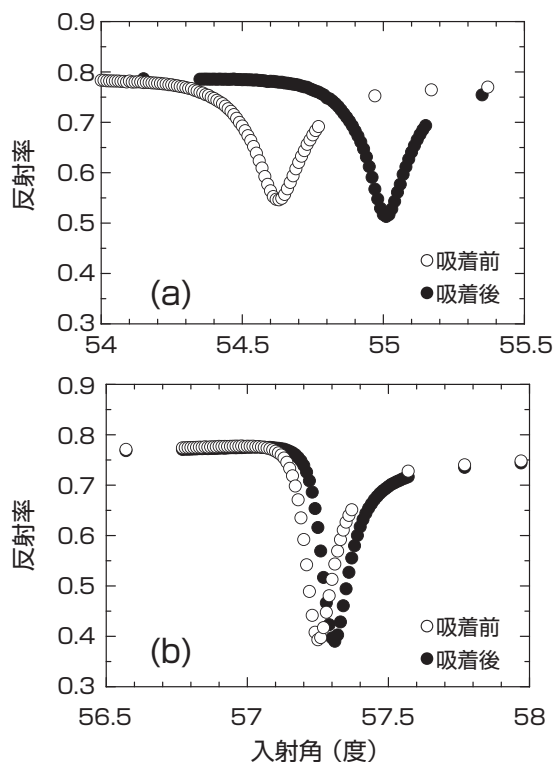


図8 ナノ穴あり(a)、及びナノ穴なし(b)の検出板を用いて観測した、ビオチン-streptavidin吸着前後の反射特性。

を用いた時の反射特性を計算した結果を示す。計算に用いた基板の屈折率は 1.769、反射膜の厚さはそれぞれ 40、20、30 nm、導波路層の屈折率と厚さはそれぞれ 1.485、500 nm とした。入射光は S 偏光された波長 632.8 nm の単色光とした。また導波路表面は水に浸っていると仮定した。反射特性に見られる形状は反射膜材料によって異なるものの、いずれの場合も反射特性においてピークが観測されることが分かる。反射特性における形状、つまり、波形が上凸となるか下凸となるかは、バックグラウンドとなる反射光強度と共鳴の状態によって決まる。これらのピークの位置は、導波路表面への物質吸着によってシフトする。

どのような光学特性を持つ材料が反射膜として好ましいかを知るために、反射膜材料の複素屈折率  $n + ki$  と検出感度の関係を計算した。計算結果を図 10 に示す。図は、導波路表面に厚さ 5 nm、屈折率 1.45 の物質が吸着した場合に得られる最大反射率変化量と、反射膜の  $n$  及び  $k$  との関係を示す。ここで、入射光の波長は 632.8 nm、基板ガラス及びプリズムの屈折率は 1.769 とした。また、導波路の厚さ及び屈折率はそれぞれ 350 nm、1.485 とした。光の入射角度、偏光方向及び反射膜の膜厚はシミュレーションによって最適値を導出した。得られた変化量が大きい複素屈折率を持つ材料が反射膜材料として好適な材料であるといえる。図中には、幾つかの材料の複素屈折率を黒点で示してある。計算結果から、従来から用いられてきた Au、Ag、Cu といった材料が高い感度を示すことが分かる。その次に高い感度を示すのは、Si や Ge などの、 $n$  が大きく  $k$  が小さい材料であることが分かる。

図中に記載した幾つかの材料を用いて実際に検出板を作製し、前述と同様のビオチン-ストレプトアビジン吸着の観測を行った。ストレプトアビジンは、直径が 5 nm 程度、屈折率が 1.45 であり、前記計算結果と近い結果が期待できる。表 1 に、作製に用いた反射膜材料と、各反射膜材料で得られたストレプトアビジン吸着時の最大反射率変化量  $|\Delta R_{ex}|$  と上記計算で得られた最大反射率変化量  $|\Delta R_{cal}|$  を示す。Au を反射膜に用いる際、接着層を入れない場合には検出板形成後に Au が剥がれてしまい、実験値は得られなかった。実験で得た値では、Cu を用いた際の  $|\Delta R_{ex}|=0.505$  が

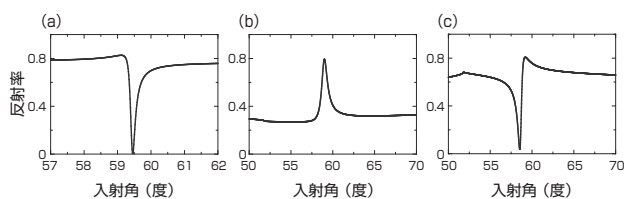


図 9 反射膜に Au (a)、W (b)、Si (c) を用いた時の反射率の入射角依存性。反射膜の厚さはそれぞれ 40、20、30 nm。

表 1 検出板作製に用いた反射膜材料と、 $|\Delta R_{ex}|$ 、 $|\Delta R_{cal}|$  の関係

反射膜材料	$ \Delta R_{ex} $	$ \Delta R_{cal} $
Au	NA	0.719
Cr/Au/Cr	0.263	0.380
Cu	0.505	0.683
Cr	0.064	0.101
W	0.070	0.098
a-Si	0.234	0.271
Ge	0.139	0.405

最も高い値であった。しかしながら、Cu も Au ほどではないが密着性が悪く、剥がれが生じた。Au 反射膜を用いる際、厚さ 0.8 nm の Cr 層を接着層として用いた場合、 $|\Delta R_{ex}|$  は 0.263 であった。得られた実験値中では大きな値と言えるが、Au のみを反射膜として用いた場合の計算値  $|\Delta R_{cal}|=0.719$  と比べると遙かに感度が低いことが分かる。次に大きな値は、a-Si を用いた場合の 0.234 であった。Ge は計算では大きな反射率変化が期待されたが、実際の感度は計算値の 3 分の 1 程度であった。これは計算値が単結晶 Ge の複素誘電率を用いて算出したものであり、一方、実験では、スパッタリング法で Ge 層を堆積したため、形成された Ge 層がアモルファスとなったためであると考えられる。

本研究より、従来使用されていた Au、Ag、Cu といった材料では、高い感度は得られるものの、安定性に問題があることが分かった。安定性は接着層の導入である程度解決できるが、接着層を用いた場合の感度は、Si を反射膜として用いた場合の感度と同程度であり、また Si はガラス材料との密着性が非常に高いことから、安定性と感度の両方を簡易に得るには Si は好適な反射膜材料であると言える。

### 3.3 モノリシック検出板

以上のアプローチから、我々のナノ穴形成技術が高感度化に有効であることが分かり、また、Si 反射膜も感度と耐

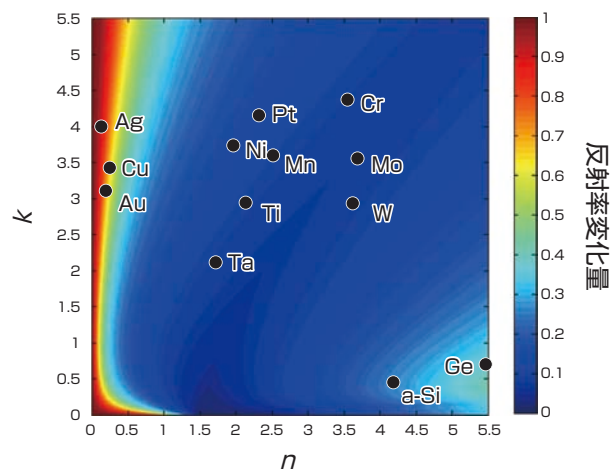


図 10 反射膜材料の複素屈折率と検出感度の関係の計算結果。図中の●は反射膜となりうる幾つかの材料の複素屈折率を示す。

久性の面で有効であることが分かった。しかし、図7のSEM像から分かるように、スパッタリング法によって形成した導波路層表面は、ナノ穴形成によって荒れてしまい、反射率特性の劣化を引き起こし、その結果、十分な感度向上が得られていなかった。図6に示したように、Si熱酸化膜では、このような表面荒れがほとんど生じないことから、我々は、導波路層形成にSiの熱酸化プロセスを導入できないか検討した。Siを反射膜に用いた場合、Si層を厚く形成しておき、その表面を熱酸化して導波路を形成すれば、Si熱酸化膜を導波路として持つ検出板を形成できる。この時、基板に用いるガラスには、高熱処理に耐えられるガラスを用いる必要がある。

このアイデアを実現するために、我々は検出板形成にSOQ基板を用いることを考案した。導波路形成には厚い酸化膜層が必要であるため、我々は、酸化速度が速い水蒸気酸化法<sup>[14]</sup>を取り入れ、SOQ基板のSi層を酸化することによって、シリカガラス基板上に単結晶Si反射層及びSiO<sub>2</sub>導波路層を持つ検出板を作製した。検出板の作製の様子を図11に示す。熱酸化前の単結晶Si層の厚さは440 nmであった。この層を、1000℃の水蒸気を含む酸素雰囲気中で1時間酸化したところ、Si層表面が酸化され、厚さ482 nmの導波路層が形成された。残った厚さ220 nmのSi層が反射膜として働くこととなる。これがモノリシック検出板である。

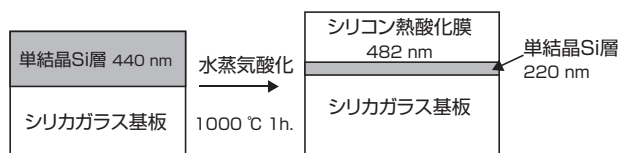


図11 SOQ基板の単結晶Si層を水蒸気酸化して検出板を作製するプロセスを説明する図。

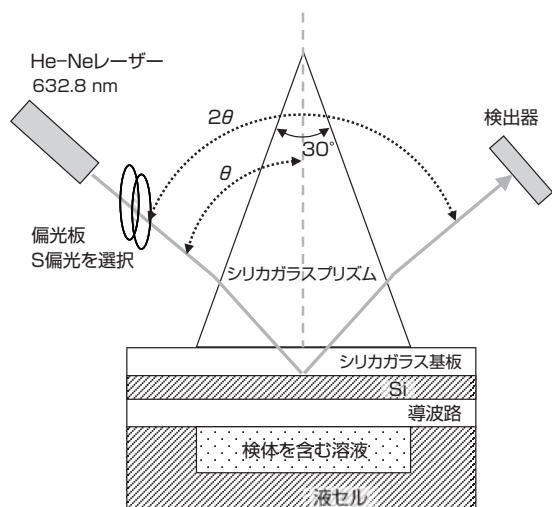


図12 モノリシック検出板を用い分子検出を行う際に用いた光学系。

作製した検出板は、図12に示すような光学系にセットし、分子検出実験を行った。図13(a)及び13(b)はそれぞれ、ナノ穴ありとナノ穴なしのモノリシック検出板を用いて、ピオチン-ストレプトアビジン吸着を検出した時の反射特性の変化を示す。入射光源にはHe-Neレーザー(波長632.8 nm)のS偏光を用いた。ナノ穴の直径は約50 nm、個数は $5 \times 10^9$ 個/cm<sup>2</sup>とした。図中の白丸が吸着前、黒丸が吸着後の反射光強度の入射角依存性を示す。ナノ穴形成によって、ピーク位置のシフト量が約10倍になっていることが分かる。また、ナノ穴形成によって、ディップの半値幅は若干大きくなったが、深さはほとんど変わらず、エッチング時のダメージ低減による効果が見られた。

ナノ穴形成による感度の向上を理論的にも確かめるため、我々は、フレネルの式を用いたシミュレーションを行った。図14(a)、(b)、(c)はシミュレーションに用いた構造の概念図である。図14(a)は従来のSPRセンサー、(b)はナノ穴が形成されていないモノリシック検出板を用いたEFC-WMセンサー、(c)はナノ穴が形成されたモノリシック検出板を用いたEFC-WMセンサーである。SPRセンサーのプリズムは屈折率が1.769の直角三角形プリズムとした。検出チップは、同屈折率の基板上に厚さ51 nmの金薄膜が形成されているとした。EFC-WMセンサーのプリズムは、頂角が30°で屈折率1.456の二等辺三角形プリズムとし、検出チップの基板はシリカガラス(n=1.456)とし、反

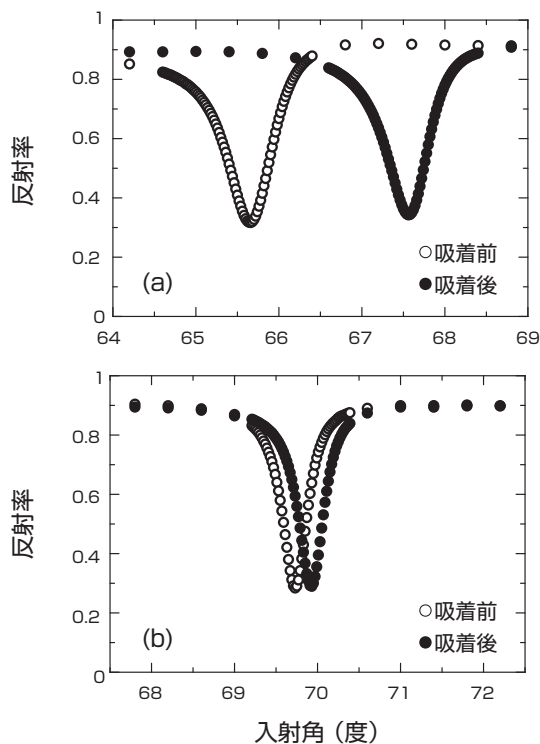


図13 ナノ穴あり(a)、及びナノ穴なし(b)のモノリシック検出板を用いて観測した、ピオチン-ストレプトアビジン吸着前後の反射特性。ストレプトアビジンの濃度は1.5 μM。

射膜の Si 層は厚さ 220 nm とし、導波路層の厚さは 450 nm とした。ナノ穴は実験条件と同様に、直径 50 nm、個数  $5 \times 10^9$  個/cm<sup>2</sup> とした。ストレプトアビジンの吸着を想定し、分子吸着時には、厚さ 5 nm、屈折率 1.45 の層（図中の薄ピンク色の層）が検出面に図のように形成されたと仮定した。図 14(d)、(e)、(f) はそれぞれ、図 14(a)、(b)、(c) に示した場合の分子吸着前後の反射特性の計算結果を示す。本センサーにおいては、ディップの半値幅(W) が小さく、ピーク位置のシフト量(S) がより大きいほど、つまり S/W 値が大きいほど感度が高い。表 2 に実験及び上記シミュレーションで得た分子吸着時の反射率変化量 ( $\Delta R$ )、S、W、S/W の値を示す。ナノ穴なしの EFC-WM センサーの場合、いずれの値も実験値と計算値がほぼ一致している。ナノ穴を形成した EFC-WM センサーの場合、S 値は実験値の方が大きくなった。実験値で得られた S=1.91 程度のシフト量を計算で得るには、ナノ穴の直径を 65 nm とし、個数を  $6 \times 10^9$  個/cm<sup>2</sup> とすれば良い。つまり、実験では、穴径及び穴の個数が、設定値より若干大きかったと思われる。

表 2 に示したように、S/W 値の実験値はナノ穴付きの場合で 2.98、ナノ穴なしの場合で 0.514 であった。これらの値はいずれも SPR センサーの S/W 値の理論値より大きく、ナノ穴なしの場合で約 4 倍、ナノ穴付きの場合では約 25 倍となっている。

モニタリング検出板は安定性においても優れている。モニタリング検出板では、基板、反射膜、導波路層がいずれも原子レベルで結合しており、物理的に非常に安定である。また、Si と SiO<sub>2</sub> のみで構成されており、化学的にも安定である。

表 2 SPR センサー及び EFC-WM センサーの感度比較。Sim. は計算値、Ex. は実験値。

	$\Delta R$	S	W	S/W
SPRセンサーSim.	0.15	1.00°	8.4°	0.12
SOQ ナノ穴なし Ex.	0.38	0.19°	0.37°	0.51
SOQ ナノ穴なし Sim.	0.40	0.17°	0.34°	0.49
SOQ ナノ穴形成 Ex.	0.60	1.91°	0.64°	2.98
SOQ ナノ穴形成 Sim.	0.63	0.72°	0.34°	2.12

#### 4 プレイクスルー

我々は、このセンサーを実際の様々な疾患に起因する物質の検出へ適応させるため、どのような物質の検出を試験したらよいか、病院などに対して調査を行った。この調査の過程で、我々は、実際に病院において、同様の目的で使用されている多くのセンサーが、着色量の濃度をもって疾患に起因する物質を検出していることに気付いた。モニタリング検出板は上述のように屈折率変化に対して敏感であるが、光吸収の変化、つまり「色」の濃さに対してより敏感である。そこで、我々はセンサーを「色」の変化をより敏感に検出できるように設計し直した。EFC-WM センサーの反射特性に見られるディップは、屈折率の変化に対しては、角度方向つまり横軸方向に変化し、光吸収の変化に対しては、反射強度の変化つまり縦軸方向に変化する。よって、縦方向の変化がより鮮明に現れるように検出板の構造を変更した。具体的には Si 反射膜層を薄くしたのである。

作製した検出板は、シリカガラス基板上に厚さ約 35 nm の単結晶 Si 層と厚さ約 520 nm の熱酸化 Si 導波路層を持つ。導波路層表面をビオチン修飾した後、この検出板を図 12 に示す光学系にセットし、Au ナノ粒子が付いたストレプトアビジンを検体とした検出試験を行った。この検体は直

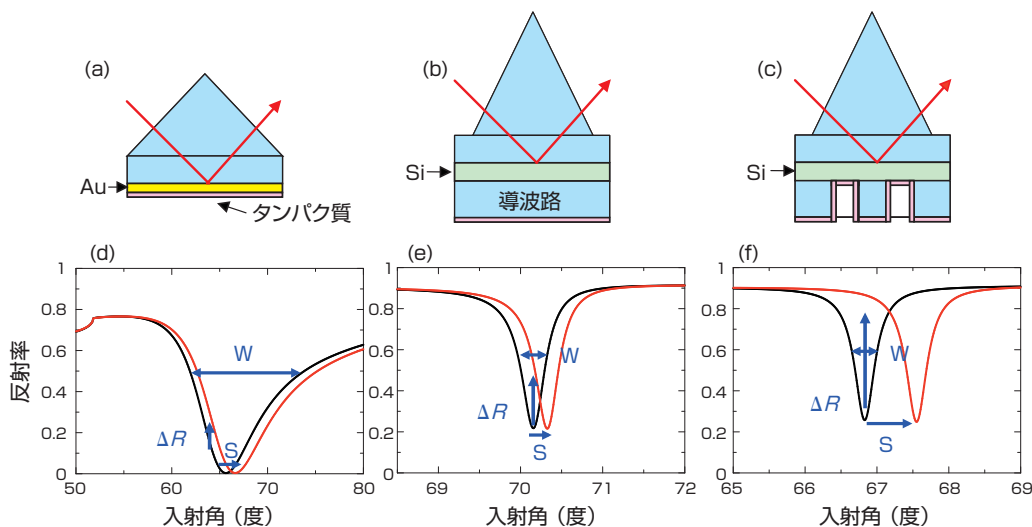


図 14 SPR センサー (a)、ナノ穴がない EFC-WM センサー (b)、ナノ穴が形成された EFC-WM センサー (c) において分子吸着が生じた時の概念図。(d)、(e)、(f) はそれぞれ、(a)、(b)、(c) に示した場合の分子吸着前後の反射特性の計算結果を示す。



径 20 nm の Au ナノ粒子に 4～5 個のストレプトアビジンが付いている。Au ナノ粒子は波長 632.8 nm において光吸収を持っている。この検体を 10 pM 含有するトリス緩衝生理食塩水を試料として用いた。図 15 は検体注入前後の反射率特性の変化を示す。白丸は注入前、黒丸は注入後 20 時間経過後の反射率特性を示す。最大で 0.046 の反射率の減少を観測することができ、上述のような低濃度の検体を検出することに成功した。

次に、色素を用いることによって感度向上が得られるかを試験するために、ストレプトアビジンを青色の色素である Coomassie Brilliant Blue G-250 で着色した後、ビオチンによるストレプトアビジンの捕捉を検出した。この色素は、波長 600 nm 付近に光吸収を持つ。検出板及び光学系は前述の試験と同様のものを用いた。この検体を 100 pM 含有するリン酸緩衝液を試料として、検出実験を行った。図 16 に試料注入前後の反射率特性の変化を示す。白丸は注入前、黒丸は注入後 1 時間経過後の反射率特性を示す。この場合も十分な大きな反射率変化が生じることが分かる。この検出感度は、これまでの EFC-WM センサーの感度と比べ約 3 桁高い感度である。

以上に示した 2 つの例では、いずれも検体の吸着による屈折率変化に伴うディップ位置の変化も生じていると思われるが、いずれの場合も分子の吸着量が少なく、ディップ位置の変化は明確には確認できない。また、このタイプのセンサーでも、ナノ穴形成によって感度のさらなる向上が期待できる。この試みは今後の課題としたい。

本手法では、ディップの深さの変化のみを測定するように設定すれば、検出感度が温度の変化の影響を受けなくなる。なぜなら、温度変化による水の屈折率変化はディップの角度方向の変化のみを生じ、ディップの深さ方向の変化を伴わないからである。また、この測定方法では、物質の光吸収を捉えて検出するため、光吸収を持たない物質が

吸着しても殆ど反射特性に影響を与えない。つまり、夾雑物が検出面に付着しても、その物質が検出光に対して光吸収を持たなければ検出されないことから、夾雑物の付着の影響を受けにくいという特徴も合わせ持つ。このように本手法は、従来法に比べて多くの優位点を持つ。

## 5 本研究の構成

以上に示した我々の開発の流れを図 17 にまとめる。我々は、本センサーの高機能化研究において、結果的に戦略的選択型と呼ばれる構成方法を用いた<sup>[15]</sup>。まず、コア技術である EFC-WM センサーの感度の向上を図るために、シミュレーションを元に、導波路層へのナノ加工を実施することを選択した。ナノ加工を実施することによって感度の向上を得ることができたが、新たにセンサーの物理的安定性と加工面の平坦性に問題が生じた。この問題を解決するために、材料選択に立ち返って、従来とは違った視点、つまり感度だけでなく密着性や加工性の高さを新たな基準として、反射膜材料の選択を行った。反射膜として Si が適していることを見出し、このことから熱酸化によって導波路層を形成する手法を考案した。均一性の高い、つまりナノ加工時に荒れが少ない熱酸化 Si 層を得るためには、単結晶 Si 層が良い。そこで、シリカガラス基板上に単結晶 Si 層を持つ SOQ 基板を用いることとした。この単結晶 Si 層を熱酸化して導波路を形成することによって、高い性能を持つセンサーを開発できたのは既述の通りである。このように、複数の要素技術を戦略的に組み合わせることによって、最終的な高機能センサーという統合技術を得ることができた。

## 6 今後の課題

本センサーを実用化するには 2 つの大きな課題がある。1 つは、実際の測定環境下、つまり様々な夾雑物が混在

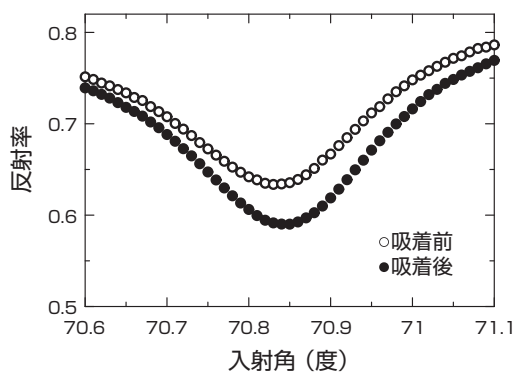


図 15 光吸収検出型モノリシック検出板を用いて観測した、金ナノ粒子が付いたストレプトアビジン（濃度 10 pM）がビオチンに吸着する前後の反射特性。

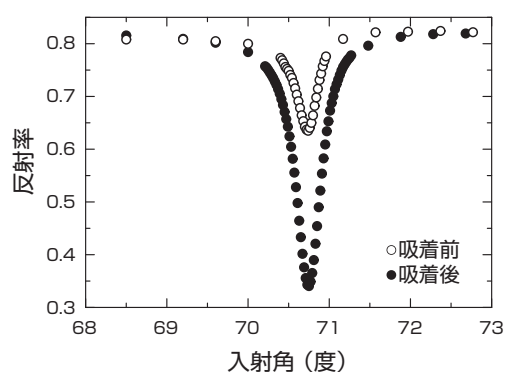


図 16 光吸収検出型モノリシック検出板を用いて観測した、Coomassie Brilliant Blue G-250 で着色したストレプトアビジン（濃度 100 pM）がビオチンに吸着する前後の反射特性。

する血液や唾液のような人由来の検体を用いて、実際の検出対象となる物質の検出を行い、その性能を示すことである。ここで重要なことは「選択性」である。より正確に、他の物質と検出対象物質を分離する高い選択性を得ることが第一の課題である。そこで、実際のアウトカム実現に向け、疾患に応じて、その疾患に起因した物質を特異的に捉える物質の開発が重要となる。また、本開発で得た、色による判別方法を積極的に取り入れ、目的とする検体に特異的に着色が可能な色素の開発により高い選択性を獲得していきたい。もう1つの課題はコストである。医療目的であることから、検出板の原価は高くとも100円程度であることが望まれる。この点は、集積化技術を取り入れ、量産化することによって、達成できるであろうと期待している。

## 7 おわりに

上述のようなセンサー開発によって、実際の応用面からの要求に十分答えられる検出感度を得ることができ、また従来のセンサーにおいて大きな問題であった、夾雑物の影響、温度変化の影響も低減できる可能性を示すことができた。開発した検出板は、物理的、化学的な安定性も高い。さらには、上記では触れなかったが、導波路をSi熱酸化膜で形成することによって、分子検出における表面修飾においてシランカップリングを利用できる点も大きい。シランカップリングは非常に強固で、簡易で、かつ安価な表面修飾方法であるからである。また、我々の装置は、コンパクト化にも向いている。現在、我々の検出機構を搭載した「広辞苑」と同程度の大きさの卓上型の装置を試作中である。

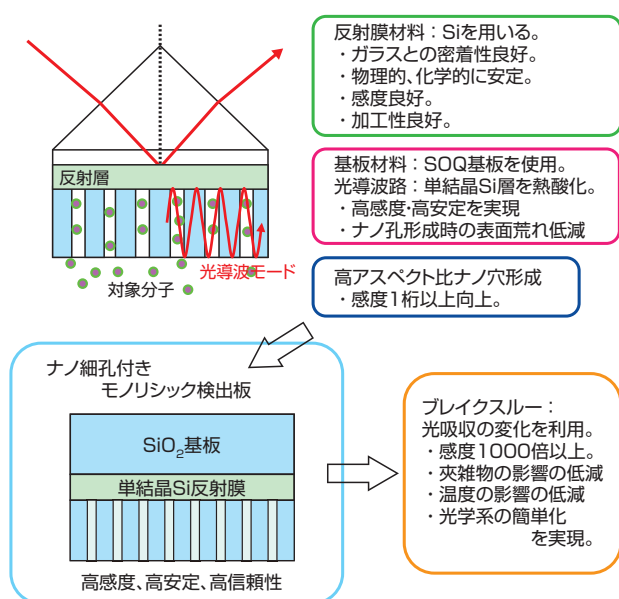


図 17 本研究開発の流れ

このように開発当初想定していた要素に対しては、十分な結果が得られている。今後、実際に本センサーを必要としている分野の研究者と交流を密にし、医療機関との連携、化学やバイオの分野の研究者との異分野連携を推進し、医療分野で活躍する検出器の実現を目指して、研究を進めていきたい。

## 謝辞

本研究開発において、導波モード測定実験を手伝って頂いた光技術研究部門バイオフォトニクスグループ 福田伸子研究員、早稲田大学理工学術院 大木義路教授及び大木研究室の学生諸氏、イオン注入実験を手伝って下さった筑波大学研究基盤総合センター応用加速器部門 小松原哲郎先生、シミュレーションを手伝って下さった近接場光応用工学研究センター 王曉民氏、Friedrich Schiller University Jena カーステン ロックスチュール博士、及び関係者の皆様に深く感謝の意を表します。

## 用語説明

用語1: 導波モード: 光が有限の媒体内を全反射して伝わる時、反射角は制限されてとびとびの角度となる。そのときの媒体内の光の強度分布は共鳴によって強めあったり弱めあったりする「節」を形成する。このような光強度分布を保ったまま光が伝搬する状態を導波モードと呼ぶ。一例として、光ファイバ内の光の伝搬モードが挙げられる。

用語2: エバネセント場: 光が反射する際、その光が反射する媒質内部に浸透する。この浸透した電磁場をエバネセント場と呼ぶ。全反射条件下では、1波長程度まで低屈折率な媒質側に光が浸透する。

用語3: 表面プラズモン: プラズモンとは、金属中の自由電子が集団的に振動する現象のことである。金属表面でのこの自由電子の振動のことを表面プラズモンと呼ぶ。一般に光はプラズモンとはカップリングしないが、エバネセント波は表面プラズモンとカップリングすることができる。つまり、エバネセント場によってプラズモンを励起することができる。

用語4: ビオチン: 分子量 244.31、分子式  $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ 。ビタミン B7、ビタミン H と呼ばれることもある。

用語5: ストレプトアビジン: 分子量約 60,000 の糖タンパク。ビオチンに対する親和性が非常に高く、このビオチン-ストレプトアビジンの吸着反応は、様々な生体分子やナノ粒子などの繋ぎ合わせに用いられている。

## 参考文献

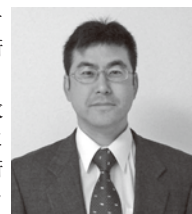
- [1] W. Knoll: Optical characterization of organic thin films and interfaces with evanescent waves, *MRS Bulletin* 16, 29-39 (1991).
- [2] W. Knoll: Interfaces and thin films as seen by bound electromagnetic waves, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 49, 569-638 (1998).
- [3] E. Kretschmann: Die bestimmung optischer konstanten von metallen durch anregung von oberflächenplasmaschwingungen, *Z. Physik* 241, 313-324 (1971).
- [4] M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, T. Ikeda, Y. Koganezawa and Y. Ohki: Biomolecular sensors utilizing waveguide modes excited by evanescent fields, *J. Microscopy* 229, 320-326 (2008).
- [5] M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, N. Fukuda, Y. Koganezawa and Y. Ohki: The design of evanescent-field-coupled waveguide-mode sensors, *Nanotechnology* 19, 095503-1-7 (2008).
- [6] J. Y. Douillard and T. Hoffman: Enzyme-linked immunosorbent-assay for screening monoclonal-antibody production using enzyme-labeled second antibody, *Methods in Enzymology* 92, 168-174 (1983).
- [7] K. Awazu, C. Rockstuhl, M. Fujimaki, N. Fukuda, J. Tominaga, T. Komatsubara, T. Ikeda and Y. Ohki: High sensitivity sensors made of perforated waveguides, *Opt. Express* 15, 2592-2597 (2007).
- [8] M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, T. Ikeda, Y. Ohki and T. Komatsubara: Nanoscale pore fabrication for high sensitivity waveguide-mode biosensors, *Microelectron. Eng.* 84, 1685-1689 (2007).
- [9] R. G. Musket, J. M. Yoshiyama, R. J. Contolini and J. D. Porter: Vapor etching of ion tracks in fused silica, *J. Appl. Phys.* 91, 5760-5764 (2002).
- [10] M. Osterfeld, H. Franke and C. Feger: Optical gas detection using metal film enhanced leaky mode spectroscopy, *Appl. Phys. Lett.* 62, 2310-2312 (1993).
- [11] K. H. A. Lau, L. S. Tan, K. Tamada, M. S. Sander and W. Knoll: Highly sensitive detection of processes occurring inside nanoporous anodic alumina templates: A waveguide optical study, *J. Phys. Chem. B* 108, 10812-10818 (2004).
- [12] T. Abe, K. Sunagawa, A. Uchiyama, K. Yoshizawa and Y. Nakazato: Fabrication and bonding strength of bonded silicon-quartz wafers, *Jpn. J. Appl. Phys.* 32, 334-337 (1993).
- [13] M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, Y. Koganezawa, Y. Ohki and T. Komatsubara: Silica-based monolithic sensing plates for waveguide-mode sensors, *Opt. Express* 16, 6408-6416 (2008).
- [14] B. E. Deal and A. S. Grove: General relationship for the thermal oxidation of silicon, *J. Appl. Phys.* 36, 3770-3778 (1965).
- [15] リチャードK.レスター, 小林直人: シンセシオロジーへの期待 -MITレスター教授へのインタビュー-, *Synthesiology* 1, 139-143 (2008).

## 執筆者略歴

藤巻 真 (ふじまき まこと)

1998年早稲田大学博士後期課程修了。博士(工学)。1998-2000年 日本学術振興会特別研究員として、早稲田大学、モンリオール

大学にて、光通信デバイスの研究に従事。その後、科学技術特別研究員として、電子技術総合研究所にてパワーエレクトロニクス素子、光通信素子の開発に従事。早稲田大学助教授を経て、2004年に産業技術総合研究所に入所。近接場光を用いたバイオセンシング技術の開発に従事している。産総研技術移転ベンチャーの取締役に就任し、産総研の技術の実用化に従事。本論文では、主に光学設計及び全体構想の取りまとめを行った。



粟津 浩一 (あわづ こういち)

1991年東京工業大学博士後期課程修了。博士(工学)。同年電子技術総合研究所入所、加速器応用工学の研究に従事。1996年から1998年までモンリオール大学招聘研究員。2001-2002年 新エネルギー・産業技術総合開発機構主任研究員、2002-2004年 分子科学研究所客員教授。2003年より産業技術総合研究所近接場光応用工学研究センターチーム長、2005年より東京大学工学系研究科客員教授、現在に至る。ナノフォトニクス、医療とビーム応用の融合領域の研究に従事している。本論文では、特にナノ穴形成技術及び導波路形成技術に関する検討を行った。



## 査読者との議論

## 議論1 研究開発シナリオについて

質問 (小林 直人: 産総研特別顧問)

超高感度な分子センサーの開発が今日必要なことは明白だと思いますが、今回の研究開発で達成を狙う成果が生まれると、今までにないような効果が期待できるのでしょうか。単に従来のセンサーに比べて、感度が高く安定で使いやすいと言うことに過ぎないのでしょうか。それらのみが成果であるとする、高感度化や安定化によって何がどう変わるのか、と言う点を是非記述し、そこにいたる研究開発シナリオも記述をお願いします。

回答 (藤巻 真)

センサー開発では、感度と安定性の向上が第一です。また、これらに並び重要な性能として、検体の正確な判別、つまり低ノイズな検出が挙げられます。性能別に「高感度化」「高安定化」「低ノイズ化」を取り上げ、具体的に何が課題かを示し、また各課題の解決によって享受できるメリット、さらには最終的な応用のターゲットとして図1としてまとめ、2章の冒頭に挿入しました。また、図4として研究のシナリオを図式化し、2.2章の最後に挿入しました。

## 議論2 要素技術の整理

質問 (小林 直人)

この論文の開発技術の眼目は、すでに開発されていた「エバネセント場結合型導波モードセンサー (EFC-WM)」の導波部に、高いアスペクト比の穴を多数あけることによりそこに多数の分子を吸着ないし接触させ、導波路モード変化による反射率変化を測定することにより感度を向上させたこと、さらにモノリシック検出板の開発による安定性の向上、光吸収による感度の更なる向上を図ったこと、にあると理解しました。

そこで、EFC-WMは、光反射物質に制限がないこと、S波P波の両方が使えるなどSPRより利点が多いのに、実用化されなかったのはなぜでしょうか。

回答 (藤巻 真)

EFC-WMセンサーの原理自身は古くから知られていました。分子吸着を測定するセンサーとしてSPRセンサーの後塵を拝してきた最も大きな理由は、分子吸着によって生じる共鳴角の変化量の絶対値がSPRセンサーに比べ小さいということと考えられます。また、導波路

層を形成する手間が掛かるという点もマイナスでありました。そのことを2.1章の後半に記載致しました。

質問（小林 直人）

著者らの主要な貢献の1つは、高いアスペクト比のナノサイズの穴を多数あけることにより感度を向上させたこと、であると理解しました。論文によると、高アスペクト比ナノ穴により検出物質が吸着される表面積が大幅に増大すること、導波路部分の光電場の大きな部分に検出物質を多数分布させること、により感度を向上させたとの記述がありますが、計算やシミュレーションによる合理的な議論が不足しています。穴の密度依存性などのデータも含めて、定量的な記述を行うことをお勧めします。

回答（藤巻 真）

ナノ穴形成による感度の向上を理論的にも確かめるため、我々は、フレネルの式を用いたシミュレーションを行い、また実験値とも比較を行いました。本センサーにおいては、ディップの半値幅（W）が小さく、ピーク位置のシフト量（S）がより大きいほど、つまりS/W値が大きいほど感度が高いと言えます。ナノ穴を形成したモノリシック検出板利用 EFC-WM センサーの場合、ナノ穴形成による S/W の増加は、シミュレーションで約4倍、実験値で6倍と、非常に大きな値を示しました。この点を、3.3章に感度向上を示す結果として追加しました。

質問（小林 直人）

最後の「ブレイクスルー」では、光吸収による反射率変化を利用して超高感度（約1000倍）なセンサーを実現したとのことですが、この場合には屈折率変化等誘電環境の変化、またそれが及ぼす角度変化はどのように影響しているのでしょうか。極めて微量のため角度変化への影響が少ないと理解して良いでしょうか。また、その場合でも、ナノ穴の効果は十分あったと考えられますか。そうであればその記述をお願いします。また、この場合でもクレッチマンの配置が最適なのでしょうか。

回答（藤巻 真）

この場合も角度変化は生じますが、吸着量が少なく、ほとんど角度変化は生じません。このことを4章に追記しました。また、まだ実験は行っていませんが、この場合もナノ穴の効果はあり、穴があった方が感度は高くなります。このことも4章に追記しました。クレッチマンの配置に関しては、ナノ穴あり、なしに係わらず、必ずしもクレッチマンにこだわる必要はありません。ただ、この系は組み上げが簡単で、光学系も単純なため、利用しやすいと考えられます。

### 議論3 構成的方法について

質問（小林 直人）

本研究では、構成学としての考え方の構築がまだ不十分だと思います。上記のとおり、個々の要素技術の内容と意義、効果などはよく記述されていますが、それを組み合わせて1つの超高感度で安定なセンサーを創り上げた構成のユニークさ、独創性などを詳細に記述することをお勧めします。

回答（藤巻 真）

我々は、本センサーの高機能化研究において、結果的に戦略的選択型と呼ばれる構成方法を用いました。まず、コア技術である EFC-WM センサーの感度の向上を図るために、シミュレーションを元に、導波路層へのナノ加工を実施することを選択しました。またセンサーの物理的安定性及び加工面の平坦性の問題を解決するために、材料選択に立ち返って反射膜材料の選択を行いました。反射膜として Si が適していることを見出し、さらにシリカガラス基板上に単結晶 Si 層を持つ SOQ 基板を用いることとしました。このように、複数の要素技術を戦略的に組み合わせることによって、最終的な高機能センサーという統合技術を得ることができました。この点に関する記述として新たに第5章を挿入し、また図17についてより詳しく説明することとしました。

### 議論4 今後の展開

質問（小林 直人）

本研究成果は分子吸着センサーの超高感度化・安定化という大きな成果を生み出したと考えられますが、実際の医療現場で実用に供されるには、まだ課題が多くあると思われます。実用化の見通しとそのために解決すべき課題を付け加えることを期待します。

回答（藤巻 真）

第6章中に、実用化の見通しと課題として、主としてノイズの低減、つまり夾雑物の除去、非特異吸着の低減、検体のより正確な認識を挙げました。また、コスト的な記述も加えました。これらの2つが解決できれば、本技術は実用化されるであろうと期待されます。

### 議論5 新型インフルエンザへの対応

質問（小林 直人）

この技術は、現在世界的流行が問題になっている新型インフルエンザ・ウィルスの早期発見に役立つでしょうか。

回答（藤巻 真）

現在、当グループで最も力を入れているテーマの1つがこの「新型インフルエンザ・ウィルスの超高感度検出と迅速な特定」です。研究段階としては、ウィルスの断片（HAと呼ばれる部分）の検出に成功した、というところですが、これまでに開発した高感度分子検出技術に応用し、近い将来、インフルエンザの感染拡大防止策として用いられるような装置開発を行っていきたく考えています。