微小流体光学に向けたチップ内組み込みレーザーの研究

鯨光 浩太¹, 吉岡 宏晃¹, 片岡 周作¹, 鳴石 奈穂子², 田中 喜秀², 興 雄司¹

¹九州大学大学院 システム情報科学研究院 (〒819-0395 福岡市西区元岡744)

²産業技術総合研究所 健康工学研究部門 (〒563-8577 大阪府池田市緑丘1-8-31)

Development of Integratable Laser for Optofluidic Chip

Kota KUWAMITSU,¹ Hiroaki YOSHIOKA,¹ Shusaku KATAOKA,¹

Nahoko NARUISHI,² Yoshihide TANAKA,² and Yuji OKI¹

¹Faculty of Information Science and Electrical Engineering, Kyushu University, 744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395

²Advanced Institute Science and Technology (AIST), 1-8-31 Midorigaoka, Ikeda, Osaka 563-8577

(Received August 22, 2012)

Integratable and disposable solid-state dye lasers with a distributed feedback waveguide structure were studied. We fabricated the coupling of a methacrylate copolymer waveguide and similar substrate and demonstrated primitive fluorescence detection. We also developed laser integration on a beam-shaper with an optical fiber for fluidic chips of polydimethylsiloxane.

Key Words: Optofluidic, Microflowcytometry, Dye laser, Waveguide, PDMS

1. はじめに

有機色素レーザーはレーザーの初期より研究されてきたレーザーである。有機蛍光分子は、分子設計により様々な波長特性の設計が可能で、高いスペクトル輝度と誘導放出断面積を持つ一方、短い蛍光寿命に起因する高い励起光強度と光化学反応などによる分子構造の変性による劣化が不可避である。媒質が液体であれば、循環系や成型の為のセルなどが必要で総じて複雑であるものの、劣化問題はさほど問題にならないが、有機溶媒の可燃性やコンタミネーションの問題から一般での応用は難しい。そこで、固体レーザーが主要なレーザー装置となる一方で、可燃性・汚染問題解決のアプローチの一つとして、有機分子を固体レーザーとして発振させる研究もこれまで行われてきた¹⁻⁴⁾。

我々は、固体色素レーザーの利点として液相プロセスが可能な高分子マトリクスに着目し、有機導波路構造を印刷的技術で構築するプリンタブル導波型レーザーの研究を行ってきた⁵⁾。特に微小アプリケーションのチップ内に直接レーザーを構築することで、励起光としての固定波長レーザー光をアプリケーションに必要な波長に変換して必要に応じて近接照射できる。将来的に有機LDの発振はこうしたデバイスをさらに発展させることが予測できるが、光励起レーザーであっても現実的な出力強度で、調整・メンテナンス不要な使い捨て光源が可能となる点で興味深い。本稿では、optofluidicチップの一例としてマイクロフローサイトメトリーチップを対象の一

つに、有機固体レーザーを組み込む上でのポイント进行研究した結果について報告する。

2. レーザー作製プロセスとアラインメント

Fig. 1にプリンタブルプロセスを示す。これまで高分解能ディスペンサー(武蔵エンジニアリング, ML-5000XII)と細線描画用SUSニードル(岩下エンジニアリング, PRN0.06, 内径0.06 mm)を組み合わせたロボット描画装置を利用して、断面幅60 μm~120 μmの導波路直接描画を行ってきた。我々が開発した無溶媒ブレポリマーペン描画法(以降ペン描画と呼称)では、高粘度状態のポリメタクリル酸メチル(PMMA)と未重合のメタク

Fig. 1 Process for printable waveguide of DFB laser array.

リル酸メチル(MMA)の混合状態の「プレポリマー」を作製し、これに色素を混合してペン描画に利用する。描画後のポストアニール(72°C, 120 min)によりMMAを蒸発あるいは重合させて固化を完了し、その後回折格子を記録することで分布帰還構造(DBF)を作製する⁶⁾。導波路は縦シングル横マルチモードにすることで出力を増やす構成になっており、膜厚は3~5 μm となるが、膜厚が一定でないとDFBの発振スペクトル幅が広がったりASEなどによる広帯域な成分が増大したりする。

微小ストライプの描画後固化において、低粘度溶液はマランゴニ対流が支配的になり、断面プロファイルがM字型に、高粘度溶液では $\cap$ 字型となる。しかし、ペン描画法では、導波路の屈折率制御にも利用するメタクリル酸2-ヒドロキシエチル(HEMA)との共重合プレポリマーのブレンド比率を調整することで、両者の中間点の台形型の断面プロファイルを得ることが可能である。この場合、導波路の中央部分には厚さの変化がないフラットトップとなり、良好なレーザースペクトルを得ることができる。

マイクロフローサイトメトリーにおける流路の断面寸法は60~100 μm 程度が一般的で、ここにレーザーを近接照射する際には光束幅はこれらよりも細い30 μm 以内に抑えるのが理想的である。Fig. 3に、レーザー導波路を組み込んで直接励起光を流路内に結合させる時、考え得るアラインメントを図示する。流路を維持するため

Fig. 2 Measured waveguide cross section profiles in various copolymer composition.

Fig. 3 Laser alignment for microflowchannel coupling. Single mode confinement direction is parallel (left) and perpendicular (right) to the flow direction.

にポリマー素材では隔壁の厚さが数10 μm 以上必要であり、そのため、レーザー出射部から50 μm 程度伝搬したビームが流路と鎖交した時のビーム幅が分解能を決定することになる。よって、レーザー導波路の組み込み向きはシングルモードの閉じ込め方向を流路の流れに平行に配置する(a)と、垂直に配置する(b)で異なる。

配置(a)ではシングルモード閉じ込め方向のビーム広がりが大きくなる。屈折率構造が対称であるシングルモード導波路の基本TE₀モードであれば、ガウスビーム理論計算でビーム広がり近似でき、ビーム出射位置のフィールド幅を5~7 μm にしないと条件を満足できない事が予測できる。しかし、波長600 nmでコアを5 μm とするとシングルモード条件を満足できない。また、レーザーを横励起する場合、励起光をシート状に成形・入射する方向は流路に沿った方向となり、励起光光学系をチップに埋め込まないと励起がしにくい。

配置(b)は作製が容易である一方、マルチモード閉じ込め方向が流路内での分解能を決めるため、導波路の幅を20~30 μm 程度まで狭める事が望ましい。しかし、PRN0.06ノズル内径は0.06 mmであり、描画幅60~100 μm では分解能も上がらない。

3. PMMAを利用したプロトタイプチップ

3.1 作製手順

まずはPMMAのプロセスのみを利用した単純な流路チップへの組み込みを行った。作製の容易な配置(b)をここでは採用した。既にエキシマーレーザーのマスク露光によるレジストを用いないプロセスを用い、チップの作製とレーザーの組み込みを行ったプロセスをFig. 4に示す⁷⁾。KrFエキシマーレーザー(Lambda Physik, COMPEX 110)で石英マスクを通してPMMA基板を露光し、ウェットエッチングで深50 μm のレーザー用溝と、深さ90 μm の流路溝を作製する。その後、ペン描画により、クラッド層を描画し、その上にレーザー層を作製した。レーザー層は色素の添加により屈折率が0.004程度上昇することを利用して導波路を構成している。レーザーは右下のように流路の高さから見て中央に配置されている。

Fig. 4 Process of PMMA flowchannel and laser waveguide.

る。描画で作製したチップでは導波路端でレーザーが乱されるため、この部分には屈折率をそろえたp(HEMA:MMA)を埋めることでビーム散乱を抑えた。DFBを作製後、電極をリザーバーに取り付け、電解質とゲルを流路に詰めた。

Fig. 5は作製したチップの外観である。流路設計は屈曲させてチャンネル長を95 mmまで伸ばし、流路の最後の部分には色素として、rhodamine590, pyromethene567, LDS722, LDS798の4種類の色素をドーピングしたレーザーを組み込んだ。それぞれの発振波長は590, 600, 580, 690, 790 nmである。4つの15 μ Lのリザーバーには白金電極をセットし、R1にNileblue690等の色素を注入後、リザーバーR1-R2間に40 V/cmの電圧をかけて十字点まで導入後、R3-R4に70 V/cmをかけてFig. 5下のように電気泳動で試料を切り出した。

3.2 レーザー特性評価と電気泳動実験

Fig. 6は一つのレーザーのスペクトルと、それによる蛍光のスペクトルである。レーザー光は600 nmに同調してあるが、励起光である532 nmも観測されている。ノイズとなるのは蛍光の波長域700 nm付近まで伸びて

いるレーザー導波路からの色素蛍光(ASE)であるが、色素濃度の調整とDFB構造を強めに作製する事で、レーザーピーク強度の 10^{-4} 程度まで抑える事に成功している。濃度を変えて計測した結果、背景光レベルが200 nM相当であり、背景光の除去の工夫がまだ必要であるものの、初めて組み込みレーザーによるLIF(Laser induced fluorescence)計測に成功した。

最後に、切り出し後にレーザー(600 nm)を励起しながら流路中を電気泳動する試料からの蛍光を検出した。Fig. 7にその結果を示す。泳動開始から4150秒後をピークとして、時間パルス幅が473秒となり、理論段数は $N = 5.55(T_p/W_T)^2$ により427であった。これは一般的なクロマトグラフィより劣るが、屈曲の多い流路を利用したのが理由であると考えられ、また、レーザーのアライメントが(b)型でレーザー幅も100 μ mと広いことも原因の一つであると考えられる。

こうした結果から、Fig. 3 (b)の構成ではなく構成(a)でのレーザーの組み込みを考え、同時に実際のマイクロフローサイトメトリーチップに近い設計での実験を行うため、作製組み込み対象をPDMS、配置(a)を採用して研究行う必要性が明らかになった。

4. 励起光学系集積レーザーのPDMS組み込み

本節では、励起光学系の面内組み込みと配置(a)採用に伴う問題点の洗い出しを目的に研究を行った。前述の実験ではレンズを組み合わせた光学系で励起光をシート状に集光する光学系を利用し、チップ上方から入射していたが、配置(a)では光学系をPDMSチップの厚さ1~2 mmの空間に埋め込む必要がある。ペン描画を最大限に利用した作製法で組み込みアライメントを調査できる組み込みレーザーを作製した⁸⁾。

4.1 作製手順及び組み込み手順

Fig. 8に設計した組み込み型集積レーザーの概念図を示す。PMMAフィルム(125 μ m厚)を用い、光ファイバをこれに結合してビームを一方方向にのみ広げるビーム成

Fig. 5 Photo image of prototype of PMMA flow cytometry chip with laser (above) and sample infusion at cross point (below).

Fig. 6 Spectra of DFB dye laser, pumping laser stray light, and fluorescence from samples of which concentration is 0~0.1 mM.

Fig. 7 Temporal modification of laser induced fluorescence from fabricated chip. Sample is nileblue690 and laser dye is rhodamine590.

Fig. 8 Schematic of laser on organic-film beam shaper and its fabrication process.

型フィルムを発売した。フィルムの端面を光学研磨し、この上にペン描画法により屈折率差を小さく設計した三層を積層描画した。なお、コア膜厚を安定させるため、クラッド層は125 μm 幅一杯に、コア層は60~100 μm 幅に抑え、2層描画後にDFB構造を記録後、第3層をコートした。このように幅125 μm のエッジ領域に同系ポリマーを3層積層することは従来のスピコート等では不可能であり、ペン描画により初めて可能となったと言える。ポストアニール後、ウルトラマイクロトーム (Sorvall社, UltraMicrotome MT-1)を用いてレーザーの出射面を作製した。各導波路の屈折率制御は共重合ポリマー $p(\text{MMA}_{1-x}:\text{HEMA}_x)$ で主に行い、屈折率の校正はプリズムカプラー (メトリコン社, Model2010)により波長633 nmに対する実測値を元に行なった。

Fig. 9はPDMSチップへの組み込み手順を示す。PDMSチップを作製するモールドマスターとしてはSU-8 3035 (マイクロケム)を用いてSiウエハー上に作製し、流路断面サイズは60 μm □とし、屈曲のないストレートのパターンを用いた。これに作製したレーザー付きビーム成型フィルムとクリーブした石英光ファイバ(125 μm 径, 105 μm コア)をそれぞれ独立でアラインメントした後、PDMSを接合部に投入してアラインメントを調整しつつ固定を行なった。レーザー出射光が流路位置にあるSU-8に照射するアラインメント調整を行い、レーザー出射部と流路の距離は60~70 μm に調整して固定した。

Fig. 9 Integration procedure of laser and organic film beam shaper into PDMS flowcytometry chip.

固定後全域にPDMSを注入し、チップを完成させ、固化後にモールドマスターからリフトオフしてPDMS薄膜で蓋をしてチップとした。PDMSには室温硬化型高精細PDMS (信越石英, SIM-360)を用いた。

作製例の写真をFig. 10に示す。写真中央にはrhodamine6Gを利用したDFBレーザーが埋め込まれており、レーザーへの励起光入射は光ファイバからビーム成型フィルムを経由してチップ外への光の漏れが無いように行われている。組み込まれたレーザーの長さは5 mm, 膜厚は3 μm でクラッドとの屈折率差は0.0015程度に設計した。Fig. 10の左下はレーザー出力部とマイクロ流路の結合部の顕微鏡写真であり、レーザーと流路の距離は70 μm とし、レーザー出力が流路と鎖交する様にアラインメントを調整している。レーザー導波路の屈折率設計はコア1.495, クラッド1.493となるよう、共重合ポリマーのHEMA添加率をそれぞれ5%, 2.5%とした。コア厚は約3.5 μm である。周囲のPDMSは屈折率が1.408で、これもビーム成型フィルムではクラッドとして機能する。

Fig. 11にクラッドによるビーム広がり抑制の結果を示す。実測ではレーザーを無固化のPDMS中で動かし、流路との距離を変えながら流路側壁の散乱光を顕微鏡

Fig. 10 Photoimage of PDMS chip with integrated laser waveguide and organic film beam shaper. Inset (left below) is the microscopic image of coupling point.

Fig. 11 Beam divergence and width across flow-channel. Solid line is numerical calculation and mark is experimental result.

CCDカメラ(Nikon eclipse Ti)で観測し、画像処理後ガウシアンフィットしたビームプロファイルから半値幅を求め、ビーム広がり角を求めた。クラッドによる広がり抑制層がない場合、コア層厚 $3.5\text{ }\mu\text{m}$ に対して広がり角は 95 mrad であった。対して、クラディングを施したレーザーは $10\sim 19\text{ mrad}$ が観測された。Fig. 11に計算によるガウスビーム広がり角を示すが、計測結果(○マーク)から出射時のビームフィールド全幅(e^{-2})は $7\text{ }\mu\text{m}$ と見積もられ、コア厚の $3.5\text{ }\mu\text{m}$ より大きくはみ出させることに成功している。対して、広がり防止がない場合、非対称導波路の為か広がり角が大きく $3.5\text{ }\mu\text{m}$ フィールド幅の計算結果とも合致しない。一方でビーム絶対幅の観測結果(●マーク)は共に同様の理論計算(破線)より $20\text{ }\mu\text{m}$ 近く大きな値が得られている。これは観測系の分解能の問題などが考えられるが、ビーム広がり角を抑える事で流路に鎖交するビーム幅を、ほぼ $30\text{ }\mu\text{m}$ 一定にできた。

コア・クラッドの屈折率差を 0.001 とする場合、コアにドーパされた色素に起因する屈折率異常分散が屈折率差に与える影響を無視できない。色素添加による屈折率変化はこれまでも考慮して設計を行ってきたが、今回、色素をpyromethene567に変更して発振波長を 570 nm と短い領域に設定した際、シングルモード設計されていたにもかかわらず導波モードが2つ確認され、設計通りの結果を得ることができなかった。屈折率の異常分散を吸収バンドと誘導放出バンドをローレンツプロファイルでフィッティングして計算すると、pyromethene色素分子の密度 8 mM で屈折率変化量の概算は発振波長域で $0.001\sim 0.002$ 程度と見積もられ、励起の反転分布の状況での変化も無視できない事が分かった。このため、屈折率設計には色素添加による正常分散屈折率の増減だけでなく異常分散や励起条件までも考慮する必要がある、実験による発振特性を確認しながら屈折率設計を行なう必要性も明らかとなった。

蛍光測定光源用レーザーとしても一つ重要な条件として、長波長側の背景光成分の低減がある。励起された蛍光色素の発光波長と同じ波長域のレーザー光成分は観測用フィルタでカットできないためDFBレーザーにおいてどの程度抑えるかが重要である。発振波長よりも 10 nm 長波長側の線強度は通常の色素レーザーでは 10^{-3} 程度の抑制率であるが、色素濃度を下げるあるいは色素の蛍光波長の長波長域での発振を用いることにより、 2×10^{-4} 程度まで低減することができている。

最後に、色素レーザーと流路間のアラインメントを行なうため、流路に流れる色素から蛍光を観測している様子をFig. 12に示す。右の流路は校正用の流路で、左は測定用である。標識色素Cy5[®]とスペクトル特性が類似している色素として、1,1,3,3,3',3'hexamethylindodicarbocyanine iodide(HIDCI)水溶液を使用して測定を行った。校正用流路での蛍光幅は $38\text{ }\mu\text{m}$ 程度となっている。

このようにレーザー組み込みチップにおける問題点を

Fig. 12 HIDCI fluorescence image and beam intensity profile.

一つ一つ解決し、蛍光検出実験を行なう段階まで現在研究は進んでいる。一方で、問題点も明らかになっており、良好な蛍光信号を得る事ができる歩留まりや作製手順の煩雑さから、次のステップとしてPDMSチップに直接描画する手法への回帰も検討中である。現在 $20\text{ }\mu\text{m}$ 細線描画に部分的に成功しているため構成(a)によるアラインメントでもPDMS内組み込みで分解能をある程度確保できる見通しがある。

5. まとめ

全PMMAのモノリシックなマイクロ流路チップへのレーザーの組み込みプロトタイプを行い、レーザー蛍光実験を行った。さらにレーザーのアラインメントや構築向きの検討を行い、PDMSチップへの複合有機材料・光ファイバ導光を利用したチップ組み込みも行い、レーザー組み込みにおけるアラインメントやビーム広がり角の最適化設計の検討と実験による問題確認を行った。今後はアラインメントの問題を解決し、具体的な信号検出実験に進むために、作製プロセスの改善と実験を行っていく。

参考文献

- 1) F. Duarte: Opt. Commun. **117** (1995) 480.
- 2) A. Maslyukov, S. Sokolov, M. Kaivola, K. Nyholm, and S. Popov: Appl. Opt. **34** (1995) 1516.
- 3) A. Costela, I. Garcia-Moreno, R. Sastre, D.W. Coutts, and C. Webb: Appl. Phys. Lett. **79** (2001) 452.
- 4) Y. Oki, S. Miyamoto, M. Tanaka, D. Zuo, and M. Maeda: Optics Commun. **214** (2002) 277.
- 5) Y. Yang, R. Goto, S. Omi, K. Yamashita, H. Watanabe, M. Miyazaki, and Y. Oki: Opt. Express **18** (2010) 22080.
- 6) Y. Oki, T. Yoshiura, Y. Chisaki, and M. Maeda: Appl. Opt. **41** (2002) 5030.
- 7) S. Kataoka, N. Kamogawa, M. Tanaka, H. Watanabe, K. Yamashita, M. Miyazaki, S. Kuhara, and Y. Oki: Tech. Digest of The 6th Asia Pacific Laser Symposium (2008) 53.
- 8) K. Kuwamitsu, H. Yoshioka, R. Goto, H. Watanabe, N. Naruishi, Y. Tanaka, and Y. Oki: Tech. Digest of IQEC/CLEO Pacific Rim (2011) 378.