

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18310069

研究課題名（和文）金ナノロッド単粒子薄膜を利用した新規センシング技術の開発

研究課題名（英文）Development of novel sensing method using gold-nanorod monolayer films

研究代表者

新留康郎（NIIDOME YASURO）

九州大学大学院工学研究院応用化学部門（分子）・准教授

研究者番号：50264081

研究成果の概要：

リン脂質修飾金ナノロッドを凝集させ、さらに乾燥させた後に、溶液中に再分散できる条件を見いだした。リン脂質修飾金ナノロッドには過剰な界面活性剤や高分子を含まず、最小限のリン脂質とカチオン性界面活性剤でその分散安定性が保たれている状態である。このため、乾燥した金ナノロッドは金属光沢を示した。この状態で金ナノロッドを冷蔵庫に保管することで不可逆な凝集を抑制できることがわかった。これは新しい金属ナノ粒子の保管方法・表面修飾方法として他に例を見ないものであり、今後の学術的あるいは応用に向けた研究展開が期待される。

液液界面を利用した単粒子薄膜作製法により、金ナノロッドの凝集状態を制御できることを明らかにするとともに、高分子電解質で表面修飾した金ナノロッドをガラス基板に静電相互作用で固定する方法を確立した。基板に固定した金ナノロッドは明確な表面プラズモンバンドを示すことから、ナノロッドが孤立状態で固定できることが明らかになった。この金ナノロッドに抗体を固定し、更に抗原となるタンパク質を結合させた。それぞれのステップで表面プラズモンバンドの変化をモニターしたところ、抗体・抗原の吸着に伴って再現性の良いピークシフトが得られることを明らかにした。この実験によって得られたピークシフトは従来の報告にない大きなものであり、金ナノロッドセンサーの実用化に向けた大きな技術的進歩が得られた。また、検出感度も 10^{-10} M のオーダーの下限を有しており、今後の最適化によって従来のセンサーを上回る検出感度を実現できることが明らかになった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	9,600,000	2,880,000	12,480,000
2007年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ構造科学

キーワード：金ナノロッド・表面プラズモン・プラズモンセンサー

1. 研究開始当初の背景

申請者らは液液界面に金ナノ粒子が析出する現象を見いだした(図1)。この現象は金ナノ粒子が関わる界面現象として大変興味深い。金ナノ粒子を含む界面構造を定量的に明らかにすることで、液液界面における2次元的な粒子凝集に関する重要な知見が得られると予測された。さらに、本研究では液液界面の単粒子薄膜を基板上に固定する技術を開発することを目的の一つとした。

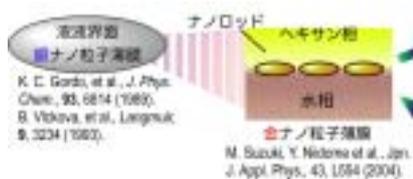


図1 液液界面の単粒子薄膜の模式図

Langmuir-Blodgett(LB)膜の例にあるように、動的な界面(気液、液液界面)から固液界面に薄膜を移し取る際には、流動配向やドメイン構造の変換など興味深い現象が付随する。これらの界面現象を利用して金ナノロッドを基板上に配向固定することにより、近赤外域に偏光特性を有する薄膜を形成することができると予測された。本研究ではこの薄膜への物質吸着によって金ナノロッドの配向・凝集状態が変化することを動作原理とする近赤外センシング手法を構築することを目標とした。近赤外光は波長が長いため夾雑物による吸収や散乱による影響を受けにくい。また、金ナノ粒子の凝集状態変化は劇的な吸収スペクトル変化を起こすことが知られている。金は化学的な安定性に変え優れた材料であり、これをガラス基板上に薄膜化することで保存安定性に優れたセンサー基板を構築することができる。従来の溶液中の金ナノ粒子を用いた分光分析技術と比較して、簡便性と再現性に優れた分析手法を提供できると考えられた。これらの特徴を生かすことで、オンサイトでのスクリーニング検査(新型肺炎(SARS)や鳥インフルエンザの検出)に有用な新規分光分析技術への展開が期待された。

2. 研究の目的

本研究では、液液界面での金ナノ粒子単粒子薄膜形成を基盤技術として、界面現象の定量的解析と金ナノロッドを用いた近赤外分光分析への応用展開をめざした。学術研究と実用技術の開発研究の良い相互作用により、真に独創的なナノ粒子凝集系の解析&応用技術を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

生理活性物質による金ナノ粒子表面修飾を行った。静電相互作用や金チオール結合を用いて金ナノロッド表面の修飾を行った。金ナノロッド表面のキャラクタリゼーションは、吸光分析、ゼータ電位測定、質量分析によって行った。さらに、近赤外発光ダイオードとシリコンフォトダイオードを利用した簡便な分光分析キットを作製した。

4. 研究成果

液液界面を利用した金ナノロッド単粒子薄膜の作成条件の最適化を行った。製膜時に共存させる界面活性剤を選択し、さらに金ナノロッドの表面状態を制御することにより、金ナノロッドの分散状態を制御できることを明らかにした。単粒子膜の分光分析やSEM観察により、各種表面修飾剤と金ナノロッドの凝集状態との相関を明らかにすることができた。また、同様の手法で作成した金ナノ粒子単粒子薄膜を利用して、表面増強ラマン散乱分光測定を行い、表面構造の変化とラマン散乱効率の定量的に議論した。(雑誌論文26)

DNA やタンパク質、さらに脂質の表面修飾に成功した。さらにPEG鎖の修飾により生体親和性を改善できることが明らかにした。一連の研究成果により、金ナノロッドの多様な表面修飾を実現できた。この成果は単粒子薄膜の幅広い物性制御に有用であり、単粒子薄膜を用いた新規分析技術の実現に大きく寄与するものである。

金ナノロッドを静電的にガラス基板上に固定することにより、基板上の金ナノロッドの凝集状態を制御できることが明らかになった(図2、雑誌論文24)。

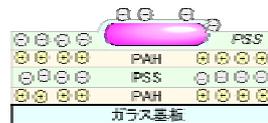


図2 静電吸着単粒子薄膜の模式図

この方法は液液界面を利用した単粒子薄膜形成法と比較して、粒子がスタックしにくく、孤立分散に近い状態で金ナノロッドを基板に固定できる点に特徴がある。しかし、吸着密度という点では液液界面による製膜法に劣ることから、目的に応じて二つの製膜法を併用する必要があることが明らかになった。本研究では液液界面での単粒子薄膜形成法に加えて、この静電吸着による固定法も検討した。

ガラス基板表面にポリアリルアミン塩酸塩(PAH)を固定し、基板表面をカチオン性にした。この基板を、ポリスチレンスルホン酸(PSS)で表面修飾した金ナノロッド溶液に浸漬することにより、金ナノロッドを基板表面に固定した。金ナノロッド固定基板は孤立分散の金ナノロッドの分光特性を有し、近傍の環境(屈折率)に敏感であった。

本研究では基板固定金ナノロッドの表面にタンパク質の一種であるアビジンを固定することに成功した。これにより、アビジンに選択的に吸着するビオチンを修飾した各種生理活性物質を金ナノロッド表面に固定することが可能となった。本研究ではカチオン性のタンパク質であるプロタミンにビオチンを修飾し、アビジン修飾金ナノロッド表面に吸着させた(図3)。

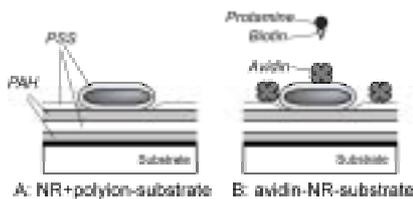


図3 アビジンおよびビオチン化プロタミンの金ナノロッドへの吸着

表面修飾各ステップの吸収スペクトルを測定することで、金ナノロッド近傍の屈折率変化をモニターすることができた。図4、図5に示す通り、各種物質の吸着に伴う金ナノロッドのピークシフトは全部で約113 nmであった。

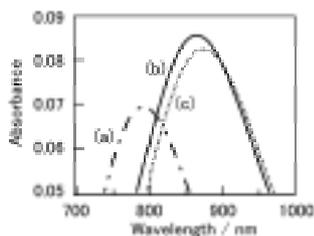


図4 金ナノロッド固定基板の吸収スペクトル変化: (a)金ナノロッド固定基板、(b)リン酸緩衝溶液浸漬後、(c)アビジン修飾後

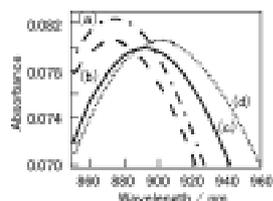


図5 金ナノロッド固定基板の吸収スペクトル変化: (a)アビジン修飾基板(図4(c)と同一)、(b)ビオチン溶液浸漬後、(c)プロタミン溶液浸漬後、(d)ビオチン化プロタミン修飾後

このシフト量は従来の報告された金ナノロッド近傍の屈折率変化に由来するシフトの約3倍に相当する。しかも従来の報告は基板を浸漬する溶媒を変えて得られたシフトであり、金ナノロッド表面の吸着物質の変化だけで非常に大きなピークシフトが得られたことは驚きに値する。今後、新しいナノ粒子センサーとして各種生理活性物質の検出に寄与できると期待できる。この成果は現在投稿準備中である。

アビジン/ビオチン結合を用いた系を踏まえて、抗原抗体反応による金ナノロッドのスペクトル変化を検討した。抗前立腺腫瘍マーカー(PSA)抗体を金ナノロッドに固定し(図6) PSAの濃度に対する金ナノロッドのピークシフトをプロットした(図7)。



図6 抗PSA抗体を固定した金ナノロッド固定基板の模式図

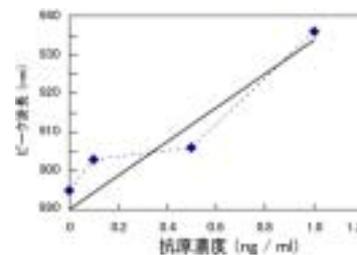


図7 抗原(PSA)濃度に対するピーク波長変化

PSAの濃度に対してピーク位置は概ね直線的に変化し、金ナノロッド近傍の屈折率がPSAの吸着に伴って直線的に変化することを明らかにすることができた。PSAによる前立腺がんのスクリーニングは4 ng/mlがしきい値と言われており、本手法は既に実用レベルの検出感度を有していることが明らかになった。本成果も現在投稿準備中である。

金ナノロッドの分光特性変化は主として近赤外域で起こるため肉眼で感度よく検出することは困難である。本研究では金ナノロッドの近赤外域の吸収変化を簡便に検出する簡易分光分析装置の試作し、金ナノロッド薄膜の分光特性変化を検出するために十分な性能を有していることが明らかになった。

さらに、本研究では、リン脂質修飾金ナノロッドを凝集させ、さらに乾燥させた後に、溶液中に再分散できる条件を見いだした。リン脂質修飾金ナノロッドには過剰な界面活

性剤や高分子を含まず、最小限のリン脂質とカチオン性界面活性剤でその分散安定性が保たれている状態である。このため、乾燥した金ナノロッドは金属光沢を示した。この状態で金ナノロッドを冷蔵庫に保管することで不可逆な凝集を抑制できることがわかった。これは新しい金属ナノ粒子の保管方法・表面修飾方法として他に例を見ないものであり、今後の学術的あるいは応用に向けた研究展開が期待される。

本研究では液液界面を利用した単粒子薄膜作製法により、金ナノロッドの凝集状態を制御できることを明らかにするとともに、高分子電解質で表面修飾した金ナノロッドをガラス基板に静電相互作用で固定する方法を確立した。この金ナノロッドに抗体を固定し、表面プラズモンバンドの変化をモニターしたところ、抗体・抗原の吸着に伴って再現性の良いピークシフトが得られることを明らかにした。この実験によって得られたピークシフトは従来の報告にない大きなものであり、金ナノロッドセンサーの実用化に向けた大きな技術的進歩が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 22 件)

1. Rapid Formation of Silver Shells on Gold Nanorods in a Micellar Solution of Hexadecyltrimethylammonium Chloride
Yoshifumi Okuno, Koji Nishioka, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
Chemistry Letters, **2009**, Vol. 38, No. 1, pp. 60-61. (平成 21 年 1 月)
2. Photothermal Reshaping of Gold Nanorods Depends on the Passivating Layers of the Nanorod Surfaces
Yukichi Horiguchi, Kanako Honda, Yuichi Kato, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
Langmuir, **2008**, Vol. 24, No. 20, pp. 12026-12031. (平成 20 年 8 月)
3. In vivo monitoring of intravenously injected gold nanorods using near-infrared light
Takuro Niidome, Yasuyuki Akiyama, Kohei Shimoda, Takahito Kawano, Takeshi Mori, Yoshiki Katayama, and Yasuro Niiodme
Small, **2008**, Vol. 4, No. 7, pp. 1001-1007. (平成 20 年 7 月)
4. Photoinduced Release of Oligonucleotide-conjugated Silica-coated Gold Nanorods Accompanied by Moderate Morphological Changes
Yukichi Horiguchi, Shuji Yamashita, Takuro Niidome, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
Chemistry Letters, **2008**, Vol. 37, No. 7, pp. 718-719. (平成 20 年 6 月)
5. Surface Modification of Gold Nanorods using Layer-by-Layer Technique for Cellular Uptake
Hironobu Takahashi, Takuro Niidome, Takahito Kawano, Yasuro Niiodme, and Sunao Yamada
Journal of Nanoparticle Research, **2008**, Vol. 10, No. 1 pp. 221-228. (平成 20 年 1 月)
6. Formation of Gold Nanorod-Myoglobin Aggregates by Electrostatic Interactions and Their Photochemical Properties
Rumiko Kitagawa, Kanako Honda, Hirofumi Kawazumi, Yasuro Niiodme, Naotoshi Nakashima, and Sunao Yamada
Japanese Journal of Applied Physics, **2008**, Vol. 47, No. 2, 1374-1376. (平成 20 年 2 月)
7. Photochemical Reactions of Ketones to Synthesize Gold Nanorods
Koji Nishioka, Yasuro Niiodme, Sunao Yamada
Langmuir, **2007**, Vol. 23, No. 20, pp. 10353-10356. (平成 19 年 9 月)
8. Surface Modification of Gold Nanorods with Synthetic Cationic Lipids
Yasuro Niiodme, Kanako Honda, Keisuke Higashimoto, Hirofumi Kawazumi, Sunao Yamada, Naotoshi Nakashima, Yoshihiro Sasaki, Yoshihiko Ishida, Jun-ichi Kikuchi
Chemical Communications, **2007**, No. 36, pp. 3777-3779. (平成 19 年 9 月)
9. Expression of Plasmid DNA Released from DNA Conjugates of Gold Nanorods
Yukichi Horiguchi, Takuro Niidome, Sunao Yamada, Naotoshi Nakashima, and Yasuro Niiodme
Chemistry Letters, **2007**, Vol. 36, No. 7, pp. 952-953. (平成 19 年 7 月)
10. Extraction of Hexadecyltrimethylammonium Bromide from Gold Nanorod Solutions: Adsorption of Gold Nanorods on Anionic Glass Surfaces
Kanako Honda, Hirofumi Kawazumi, Sunao Yamada, Naotoshi Nakashima, and Yasuro Niiodme
Transaction of Material Research Society of Japan, **2007**, Vol. 32, No. 2, pp. 421-424. (平成 19 年 6 月)
11. Stable Incorporation of Gold Nanorods into N-isopropylacrylamide Hydrogels and

- Their Rapid Shrinkage Induced by Near-IR Laser Irradiation
Atsushi Shiotani, Takeshi Mori, Takuro Niidome, Yasuro Niidome, and Yoshiaki Katayama
Langmuir, **2007**, Vol. 23, No. 7, pp. 4012-4018. (平成19年2月)
12. Spatio-Selective Surface Modification of Glass Assisted by Laser-Induced Deposition of Gold Nanoparticles
Hironobu Takahashi, Yasuro Niidome, Hideyuki Hisanabe, Keita Kuroiwa, and Sunao Yamada
Thin Solid Films, **2006**, Vol. 515, Nos. 4-5, pp. 1618-1622. (平成18年12月)
 13. Pulsed-Laser Induced Flocculation of Carbon Nanotubes Solubilized by an Anthracene-Carrying Polymer.
Kaori Narimatsu, Yasuro Niidome, and Naotoshi Nakashima
Chemical Physics Letters, **2006**, Vol. 429, No. 4-6, pp. 488-491. (平成18年10月)
 14. 金ナノ粒子レーザー誘起固定化の制御とセンシングへの応用
本多加菜子、新留 康郎、河済博文、山田淳
分析化学、**2006**, Vol. 55, No. 9, pp.675-679. (平成18年9月)
 15. PEG-Modified Gold Nanorods with a Stealth Character for in vivo application
Takuro Niidome, Masato Yamagata, Yuri Okamoto, Yasuyuki Akiyama, Hironobu Takahashi, Takahito Kawano, Yoshiaki Katayama, and Yasuro Niidome
Journal of Controlled Release, **2006**, Vol. 114, No. 3, pp. 343-347. (平成18年9月)
 16. Photothermal Reshaping of Gold Nanorods Prevents Further Cell Death
Hironobu Takahashi, Takuro Niidome, Ayuko Nariai, Yasuro Niidome, and Sunao Yamada
Nanotechnology, **2006**, Vol. 17, No. 17, pp. 4431-4435. (平成18年8月)
 17. End-to-End Assemblies of Gold Nanorods Adsorbed on a Glass Substrate Modified with Polyanion Polymers
Kanako Honda, Yasuro Niidome, Naotoshi Nakashima, Hirofumi Kawazumi, and Sunao Yamada
Chemistry Letters, **2006**, Vol. 35, No. 8, pp. 852-853. (平成18年8月)
 18. Deposition of Indium Oxide Thin Films Assisted by Gold Nanoparticles in Cyclohexane
Yasuro Niidome, Hideyuki Hisanabe, Takahiro Kawasaki, and Sunao Yamada
Thin Solid Films, **2006**, Vol. 513, Nos. 1-2, pp. 60-63. (平成18年8月)
 19. Heat-induced Morphological Control of Gold Nanoparticle Films for Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Measurements
Mototsugu Suzuki, Yasuro Niidome, and Sunao Yamada
Colloid and Surfaces A, **2006**, Vol. 284-285, pp. 388-394. (平成18年8月)
 20. Two-dimensional Aggregates of Gold Nanorods Prepared at a Hexane-Water Interface in the Presence of Additional Amphiphilic Molecules
Yasuro Niidome, Minami Yamaguchi, Hironobu Takahashi, and Sunao Yamada
Transactions of the Materials Research Society of Japan, **2006**, Vol. 30, No. 2, pp.571-574. (平成18年6月).
 21. Gold Nanorod-Sensitized Cell Death: Microscopic Observation of Single Living Cells Irradiated by Pulsed Near-Infrared Laser Light in the Presence of Gold Nanorods
Hironobu Takahashi, Takuro Niidome, Ayuko Nariai, Yasuro Niidome, and Sunao Yamada
Chemistry Letters, **2006**, Vol. 35, No. 5, pp. 500-501. (平成18年4月)
 22. Stabilizing of plasmid DNA in vivo by PEG-modified cationic gold nanoparticles and the gene expression assisted with electrical pulses
Takahiro Kawano, Masato Yamagata, Hironobu Takahashi, Yasuro Niidome, Sunao Yamada, Yoshiaki Katayama, and Takuro Niidome
Journal of Controlled Release, **2006**, Vol. 111, No. 3, pp. 382-389(平成18年4月)
- [学会発表](計9件)
1. 2008.12.11, International Symposium on Molecular and System Life Sciences, Photoinduced Release of Oligonucleotide from Silica-coated Gold Nanorods, Yasuro Niidome, Yukichi Horiguchi, Takuro Niidome
 2. 2008.12.2, MRS 2008 Fall Meeting, Gold Nanorod-modified Substrates for Localized Plasmon Resonance Sensing of Biomolecules, Yasuro Niidome, Kanako Honda, Yuki Nakamura, Naotoshi Nakashima
 3. 2008.11.10, 理研シンポジウム, Preparation and application of anisotropic metal

- nanoparticles, Yasuro Niiodme
4. 2008.6.15, 82nd Colloid and Surface Science Symposium, Preparation of Dried Gold nanorods by the Addition of
 5. 6-Amino-1-hexanethiol Hydrochloride, Kanako Honda, Hirofumi Kawazumi, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
 6. 2008.6.15, 82nd Colloid and Surface Science Symposium, Pulsed-Laser Triggered Release of DNA from Gold Nanorod-DNA Conjugates, Yukichi Horiguchi, Takuro Niidome, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
 7. 2008.6.15, 82nd Colloid and Surface Science Symposium, Photochemical synthesis of gold nanorods, Yasuro Niiodme, Koji Nishioka
 8. 2007.11.27, MRS 2007 Fall Meeting, Photoinduced Release of Plasmid DNA from Gold nanorod Conjugates, Yukichi Horiguchi, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niiodme
 9. 2007.3.14, Fourth International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, Formation of Gold Nanorod - Myoglobin and-Nanorod Aggregates by Electrostatic Interactions and Photochemical Properties, Kanako Honda, Rumiko Kitagawa, Yasuro Niiodme, Sunao Yamada

〔図書〕(計6件)

1. 金ナノテクノロジー：その基礎と応用、春田正毅編集、金ナノロッドの合成、シーエムシー出版(新留 康郎) 2009年
2. Molecular Nano Dynamics, Ed. H. Fukumura, Wiley, "Spectroscopy and Photoreactions of Gold Nanorods in Living Cells and Organisms", Yasuro Niiodme and Takuro Niidome (Chapter review), in press.
3. ナノ粒子の創成と応用展開、米澤徹編集、金ナノロッドの合成と構造、フロンティア出版(新留 康郎) pp. 27-34、2008年1月
4. Handai Nanophotonics Vol. 3, Chapter 20, "Gold nanorods: application of bioscience and medicine", Elsevier, Yasuro Niiodme and Takuro Niidome, pp. 297-307, 2007.
5. 第5版実験化学講座、20・1巻、12章4節、ナノ粒子分析試薬、丸善(山田 淳、新留 康郎) pp. 574-586. 2007年1月30日
6. プラズモンナノ材料の設計と応用技術、

山田 淳監修、第15章金ナノロッドのフォトニクス、シーエムシー出版(新留 康郎) pp. 200-213、2006年6月15日

〔産業財産権〕

出願状況(計8件)

1. 「金微粒子とその製造方法、およびその用途」
発明者：新留 康郎、新留 康郎、大賀 晃、森 健、片山佳樹
出願番号：特願 2008-171300
出願人：国立大学法人九州大学、三菱マテリアル株式会社、大日本塗料株式会社
出願日：2008年6月30日
2. 「分析用チップとその製造方法およびその分析方法」
発明者：新留 康郎、本多加菜子、新留 康郎
出願番号：特願 2008-118414
出願人：新留 康郎、新留 康郎、三菱マテリアル、大日本塗料
出願日：2008年4月20日
3. 「金属ナノ材料の製造方法およびそれにより得られる金属ナノ材料」
発明者：新留 康郎、西岡宏司、奥野嘉文
出願番号：特願 2008-023265
出願人：国立大学法人九州大学
出願日：2008年2月1日
4. 「金属微粒子の表面処理方法とその金属微粒子の乾燥体ないし分散液」
発明者：新留 康郎、本多加菜子
出願番号：特願 2007-302938
出願人：九州大学、三菱マテリアル、大日本塗料
出願日：2007年11月22日

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等：<http://www.nanorod.net>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新留 康郎 (NIIDOME YASURO)

九州大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号：50264081

(2) 研究分担者

川崎 英也 (Hideya Kawasaki)

関西大学・化学生命工学部・准教授

研究者番号：50322285