

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19760138

研究課題名（和文） 一分子熱制御のための近接場蛍光サーマルプローブの開発

研究課題名（英文） Development of Near-field Fluorescent Thermal Nanoscopy for Single Molecule Thermal Control

研究代表者

田口 良広 (TAGUCHI YOSHIHIRO)

慶應義塾大学・理工学部・助教

研究者番号：30433741

研究成果の概要：

ゲノム創薬やテーラーメイド医療の飛躍的な進展のためには、生体分子の構造と諸性質のナノレベルでの解明が必要不可欠である。特に生体分子モーターやヒートショックプロテインに代表される機能性たんぱく質の温度応答特性のナノレベル分析は細胞のメカニズムを分子レベルで解明する上で無くてはならない。本研究では、ナノメートル空間分解能を有する近接場蛍光熱顕微鏡を原理の段階から開発し、ナノレベルの高感度温度計測技術を確立するに至った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,700,000	0	2,700,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	180,000	3,480,000

研究分野：ナノ熱工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：ナノバイオ、熱工学、走査プローブ顕微鏡、マイクロ・ナノデバイス、計測工学

1. 研究開始当初の背景

本研究『一分子熱制御のための近接場蛍光サーマルプローブの開発』は機能性たんぱく質の分子構造とその温度応答特性、力学特性のナノレベル分析のために必要不可欠な単一分子のセンシング技術を確立することを目的としている。特に生体分子機能発現では非接触・非侵襲で系を乱さない計測・制御技術が望まれており、本研究では単一分子レベ

ルでの光学的計測が可能な近接場光を用いて、蛋白質等の細胞をターゲットとしたナノメートルオーダーの空間分解能を有した温度計測・熱刺激のための近接場蛍光サーマルプローブの基盤技術を開発する。本研究により、『ナノ分子システムデザイン』と呼べる新しい学際領域を創生できる。

2. 研究の目的

前述したように、ナノレベルの温度センシング技術の開発が望まれているが、熱的性質を精緻にモニタリングした研究例は国内外を見ても例を見ない。この理由として①ナノメートルオーダーの空間分解能での温度測定技術が皆無であること、②ナノレベルでの熱制御技術が無いことが挙げられる。

とりわけ生体分子機能発現では非接触・非侵襲で系を乱さない計測・制御技術が望まれるために、その技術的要求レベルは極めて高い。ナノメートルオーダーでの温度モニタリングと熱制御が可能となれば、一分子レベルで機能発現を制御が可能(換言すれば、どこかの遺伝情報を発現させるかを熱的に制御し、力学情報との相互補完により新しいたんぱく質を創生可能)となり、熱的・力学的センシングとシンセシスの融合により『ナノ分子システムデザイン』と呼べる新しい学際領域の創生を可能とする。研究代表者が新規に提案するナノ分子システムデザインは、一分子ソーティング技術、一分子力学制御技術、一分子熱制御技術を融合した全く新しいプロテオミクス概念を創生するものであり、その社会的インパクトは計り知れない。

本研究課題『一分子熱制御のための近接場蛍光サーマルプローブの開発』は蛋白質等の細胞をターゲットとしたナノメートルオーダーの空間分解能を有した温度計測・熱刺激のための近接場蛍光サーマルプローブの基盤技術を開発することを目的としている。

3. 研究の方法

(1)測定原理

図1に本測定法の測定原理の概要を示す。近接場ファイバーは、先端に光の波長より十分に小さい微小開口を有する。その微小開口にレーザーを照射すると、開口近傍に非伝播光成分である近接場光が励起される。近接場光の大きさは開口径のみに依存し、光の波長には依存しないため、光の回折限界を超えた高空間分解能が実現可能である。本測定法では近接場光によって測定試料表面に修飾した蛍光プローブを励起し、近接場蛍光を検知する。蛍光寿命 τ は輻射緩和過程と無輻射緩和過程における遷移確率 W_r 、 W_{nr} を用いて、

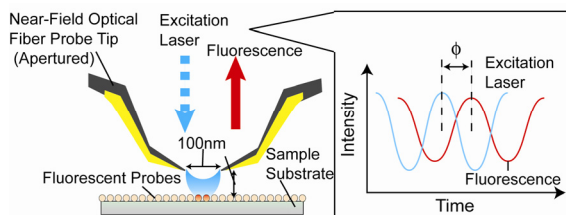


図1 近接場蛍光熱顕微鏡の測定原理

$$\tau = \frac{1}{W_r + W_{nr}},$$

と表される。ここで、

$$W_{nr} \propto \exp\left(\frac{-\Delta U}{k_B T}\right),$$

である。ただし、 $-\Delta U$ は熱失活に伴う熱エネルギー、 k_B はボルツマン定数、 T は温度である。よって蛍光寿命は温度に対して負の依存性を有する。位相分解蛍光寿命測定法では励起光を周期変調し、励起光に対する蛍光の位相差を測定する。位相差 ϕ 、変調周波数 f 、蛍光寿命 τ には、

$$\tau = \frac{\tan \phi}{2\pi f},$$

の関係があり、逆問題解析により蛍光寿命を算出する。

(2)測定装置

図2に本測定法の測定装置の概要を示す。励起用レーザーはファイバーカップラーを介して近接場ファイバーに入射し、ファイバー先端の開口近傍に近接場光を生成する。ファイバー先端と試料間の距離は水晶振動子を用いたAFM機構で数十~数百nmに保持されている。近接場光によって試料表面で励起された蛍光は近接場ファイバースコープで集光され、ディテクターで検知される。信号検知はロックイン検出を行っている。

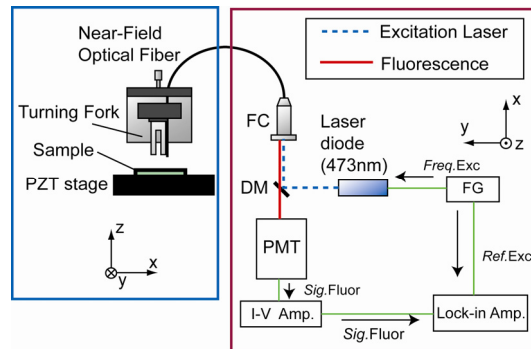


図2 fluor-NOTN 装置概要

4. 研究成果

(1)Qdot ナノ粒子の近接場蛍光寿命の測定

本研究では、温度プローブとして Qdot ナノ粒子を選定した。Qdot ナノ粒子は高い量子収率、長い蛍光寿命、可逆的な温度依存性を有するため温度計測に適している。また、Qdot ナノ粒子は蛋白質等の細胞と自己組織的に修飾が可能であり、ナノレベルの温度プローブとして機能を発現することが可能である。本研究では、655

nmの蛍光を発光するQdot655® 蛍光試薬を選定した。
位相分解蛍光寿命測定法による温度測定を行うために、Qdotナノ粒子の蛍光寿命と温度依存

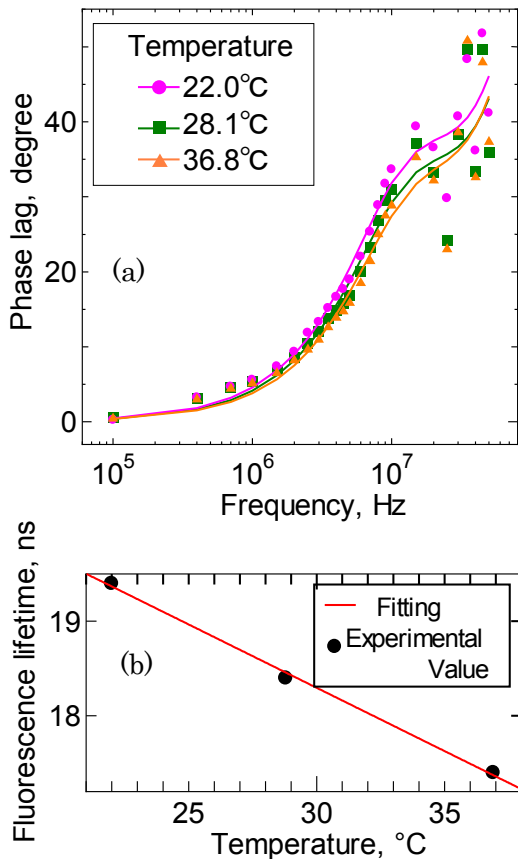


図3 Qdot655 ナノ粒子の蛍光寿命温度依存性

性を評価する必要がある。まず本測定法でQdot655®の近接場蛍光を検知し、蛍光寿命とその温度依存性を計測した。近接場ファイバーは先端の開口径が約100nmのものを用いているため、光学的な空間分解能も同程度である。100kHz~50MHzの周波数帯域で強度変調された励起光に対する蛍光の位相差を測定した。図3(a)に周波数に対する位相差曲線の温度依存性を示し、図3(b)に位相差曲線から解析された蛍光寿命の温度依存性を示す。近接場蛍光寿命の温度依存性が確認され、温度係数は、0.13 nsK⁻¹と算出された。

(2) ナノスケール温度測定のための予備的測定
① ナノ細線ヒーターの温度分布解析

Fluor-NOTNの空間および温度分解能を検証する試料として、通電加熱によりジュール発熱する線幅500nmの金属(Permalloy Ni₈₁Fe₁₉)細線ヒーターを製作した。細線ヒーターは、電子線描画を用いた微細加工技術で、表面が熱酸化処

理されたSi基板上に製作した。
ナノ細線ヒーターに発生するナノスケールの温度分布を計測する技術は、確立していない。そのため細線ヒーターを分解能試験試料として用いるために、温度分布シミュレーションが必要である。ナノ細線ヒーターは、形状が単純であるため、温度分布シミュレーションが容易であり、ナノスケールの空間および温度分解能測定に適している。温度分布解析は、有限要素法による三次元熱伝導解析(Coventor Ware®)を用いた。解析では、500nm幅の六面体の要素(Extruded brick)でメッシュを作成した。図4(a)に温度分布解析に用いた解析モデルを示す。細線の両端を電流源として、Si基板裏面に温度300Kの等温条件を設定した。また細線の上部は空気層を仮定した。細線中心からx方向に1.5μmの範囲A-A'の温度上昇の解析結果を図4(b)に示す。図4(b)より、細線中心において温度上昇が発生し、さらに細線中心から1μmの領域で94%温度減衰があることが解析された。よって細線近傍にナノメートルオーダーの温度勾配が励起されていることが示された。

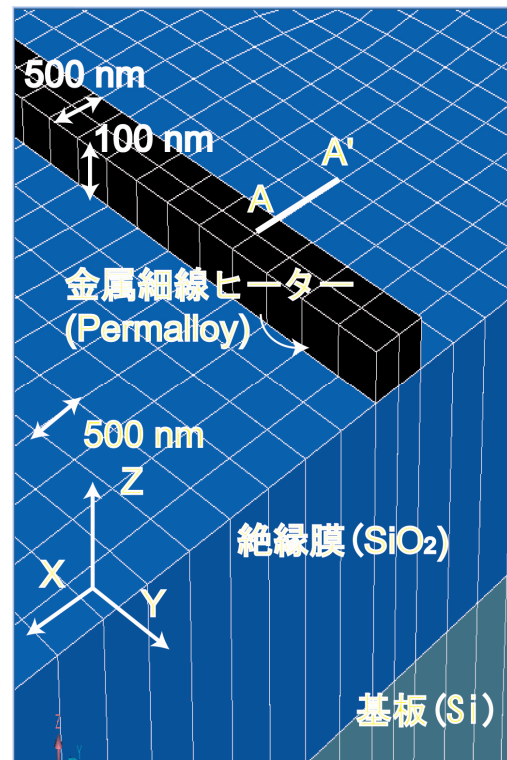


図4(a) 金属細線ヒーターの温度分布解析

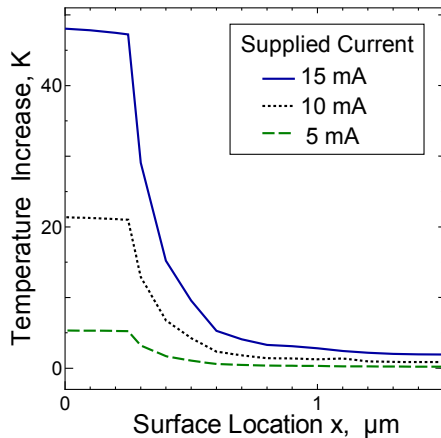


図 4 (b) 金属細線ヒーターのジュール発熱-電流依存性

② ナノ細線ヒーターの温度変化測定

次に予備的測定として、通電によりジュール発熱したナノ細線ヒーターの温度変化を、Fluor-NOTN で測定した。温度変化は通電した電流がゼロの時を基準とし、計測された蛍光寿命の変化から、前述した温度係数を用いてナノ細線ヒーターの温度変化を解析した。温度上昇の測定値と解析値を図 5 に示す。図 5 より測定値と解析値は最大 1.6 °C の温度範囲で良好な一致を示している。よって Fluor-NOTN による蛍光寿命計測において初めて相対温度測定に成功した。

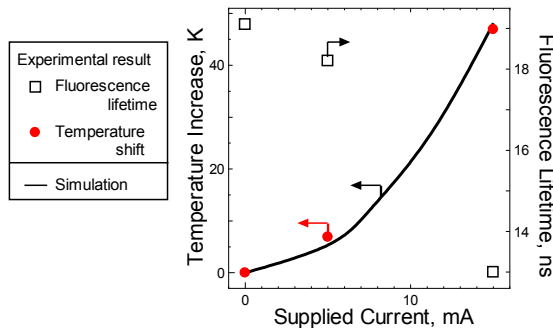


図 5 近接場蛍光熱顕微鏡による金属細線ヒーターの温度分布計測結果

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 3 件)

① Taguchi, Y., Oka, T., Saiki, T., and Nagasaka, Y., “Development of Near-field

Fluorescence Life-time Thermometry”, *Nanoscale and Microscale Thermophysical Engineering*, (2009) in press. (selected as the cover image) 査読有り

② Taguchi, Y., Ebisui, A., and Nagasaka, Y., “Miniaturized optical viscosity sensor based on a laser-induced capillary wave”, *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, Vol. 10, No. 4, pp.044008-044013, (2008). 査読有り

③ Jigami, T., Kobayashi, M., Taguchi, Y. and Nagasaka, Y., “Development of Nanoscale Temperature Measurement Technique Using Near-field Fluorescence”, *International Journal of Thermophysics*, Vol. 28, No. 3, pp.968-979, (2007). 査読有り

[学会発表] (計 3 件)

① Kasakake, T., Taguchi, Y., Saiki, T., and Nagasaka, Y., “Development of high sensitivity nanoscale temperature detection by polarized near-field light”, *The 18th European Conference on Thermophysical Properties*, (Pau, France), (02/09/2008). 査読有り

② 岡巧, 地紙平, 田口良広, 齋木敏治, 長坂雄次, “位相分解蛍光寿命測定法と近接場顕微技術を用いたナノスケール温度測定法の開発”, 第 45 回日本伝熱シンポジウム, (日本伝熱学会, 筑波, 2008 年 5 月 21 日), pp. 251-252. 査読有り

③ 地紙平, 田口良広, 齋木敏治, 長坂雄次, “近接場蛍光寿命を用いたナノスケール温度計測法の開発”, 第 28 回日本熱物性シンポジウム, (日本熱物性学会, 札幌, 2007 年 10 月 25 日), pp. 151-153. 査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田口 良広 (TAGUCHI YOSHIHIRO)
慶應義塾大学・理工学部・助教
研究者番号：30433741

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし