

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00870

研究課題名（和文）バイオ特化型-先端増強ナノラマン計測法の創出

研究課題名（英文）Tip-enhanced Nano-Raman measurement techniques for biological applications

研究代表者

VERMA Prabhat (Verma, Prabhat)

大阪大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：60362662

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 35,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、先端強調ラマン散乱顕微鏡法を用いて、液体環境での操作とナノスケールの安定性を実現することを目指した。我々は、先端強調ラマン散乱顕微鏡システムを液体環境で操作するためのAFMヘッドを新たに開発し、さらに垂直および水平のドリフトを補償する二つのフィードバックシステムを開発した。これらの成果を活かして、ナノスケールでの長時間先端強調ラマンイメージングを可能にした。生命科学の研究に新たな可能性をもたらす重要な成果である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先端増強ラマン散乱顕微鏡は、回折限界を超えたナノスケールの空間分解能でラマンイメージングが可能な非常に強力な顕微法である。しかしながら、技術的な問題で、生命科学への応用例は限られていた。本研究では、液中環境下で動作する先端増強ラマン散乱顕微鏡を構築した。さらに、高い安定性を実現することによって、ラマン信号の弱い生体試料でも長時間にわたってイメージングできるようにした。生きた生体試料をナノレベルの空間分解能でラマン観察できるようにする上で非常に重要な成果であり、学術的にも社会的にも非常に大きな意義を有する。

研究成果の概要（英文）：This research aims to achieve operation in a liquid environment and nanoscale stability using Tip-Enhanced Raman Scattering (TERS) microscopy. We developed a new AFM head for the operation of the TERS system in a liquid environment, and additionally, we created two feedback systems to compensate for vertical and horizontal drifts. As a result, this enhanced system enables long-duration TERS imaging at the nanoscale, bringing new possibilities for the study of biological samples.

研究分野：先端光計測

キーワード：先端増強ラマン顕微鏡 近接場光学 プラズモニクス 超解像光学顕微鏡

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Tip-enhanced Raman scattering (TERS) microscopy, which realizes Raman imaging with nanoscale spatial resolution using the plasmon-enhanced and highly confined light field generated at the apex of a metal-coated nanotip, has been utilized in various fields due to its powerful nano-analytical capabilities [P. Verma, Chem. Rev., 117, 6447 (2017)]. It has made particularly remarkable contributions in the field of materials science as a method for analyzing internal distortions and defects in materials, at the nanoscale. This nanoimaging technique is also expected to make significant contributions to the field of life sciences, but its application has been limited to the observation of static materials, such as fixed or dried biological samples. There are many challenges, such as measurements in a liquid environment and ultra-stable measurement with nanoscale precision. As a result, the development of a technique that can directly and non-invasively image living biological samples in their true form at the nanoscale resolution is still lacking. The aim of this research project is to overcome various technical challenges that hinder the application of TERS to biological samples and create a bio-specialized TERS microscope that can visualize living biological samples at the nanoscale under ultra-stable conditions. Such upgradation of TERS microscopy will have the potential to make it a foundational technology that plays an extremely important role in the advancement of life sciences.

2. 研究の目的

This research aims to develop an advanced microscopy system tailored for observing biological samples using TERS. We address two key challenges in this research. Firstly, we enhance the AFM and related components to facilitate operation in a liquid medium. Secondly, we focus on developing an innovative feedback system to compensate for nanoscale drifts, commonly encountered under ambient conditions. By achieving nanoscale precision in drift compensation, we enable extended-duration acquisition of TERS images at the nanoscale resolution, well-suited for investigating biological samples.

3. 研究の方法

First, we focused on adapting the TERS system for operation in a liquid environment. This involved replacing the AFM head in the existing system with a new head designed for liquid compatibility. Optics and electronics were adjusted accordingly, requiring minor technical upgrades. Subsequently, we aimed to develop a drift-compensation system to stabilize the TERS imaging at the nanoscale under ambient conditions. To achieve this, we devised two distinct feedback systems, one for compensating vertical drift and another for horizontal drift.

4. 研究成果

The TERS microscope underwent extensive enhancements incorporating crucial technological advancements to make it suitable for studying biological samples. Primarily, the traditional AFM head was substituted with a specialized AFM head designed to operate in a liquid environment. This setup allows for the immersion of both the AFM tip and the sample in water or any preferred liquid. Figure 1(a) provides a schematic representation of the TERS experimental configuration, and Fig. 1(b) shows a picture of the new AFM head that works in liquid. To assess the functionality of this upgraded TERS system, we conducted TERS spectroscopy on carbon nanotubes (CNT) in water. A strongly enhanced TERS spectrum and the corresponding TERS image are displayed in Figs. 1(c) and 1(d), respectively.

An essential and significant upgrade involved achieving nanoscale stabilization for the TERS system. Although there are existing drift compensation systems, they lack the precision required for nanoscale applications. In this research, we developed two distinct feedback systems: one to compensate for the vertical drift of the objective lens (z-direction) and another to compensate for the horizontal drift of the tip (x- and y-directions).

To optimize the correction of objective lens drift, we employed a piezo-controlled objective scanner and a laser-reflection sensing scheme. Figure 2(a) illustrates the setup for the focus stabilization system, where a piezo-controlled objective scanner was integrated with the objective lens, and a guide laser was introduced into the optical microscope at a high incident angle. The

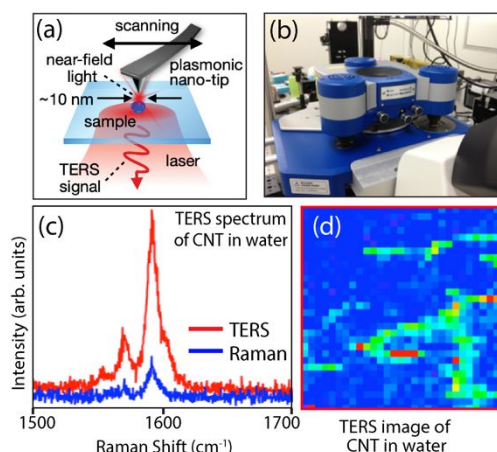


Fig. 1: (a) Schematic of TERS configuration, (b) a picture of AFM head for that works in liquid, (c) normal Raman and TERS spectra of CNT measured in water, and (d) TERS image of CNT in water.

reflected light was detected by a lateral position sensor. The position of the reflected light on the sensor corresponds to the displacement of the focus plane along the optical axis, as depicted in the insets of Fig. 2(a). The positional signal detected is fed through a closed-loop piezo-controller, which generates a feedback signal to the objective scanner, which maintains the focus plane. Figures 2(b) and 2(c) display the measured displacements in the position of the focus plane over a period of 100 minutes without feedback and 8 hours with feedback, respectively. When the feedback system was inactive, the focus position experienced a shift of a few hundred nanometers, as shown in Fig. 2(b). Conversely, with the feedback system active, the focus position remained tightly fixed within ± 5 nm, as demonstrated in Fig. 2(c).

After compensating for the drift in the focus, our next objective was to address tip drift compensation in the horizontal plane using a laser scanning-assisted technique. The concept of this new and innovative technique is illustrated in Fig. 2(d), where Galvano-scanners were utilized to rapidly scan the incident laser spot around the metallic tip, creating a scattering image of the tip (inset of Fig. 2(d)). This image enabled precise calculation of the shift in the tip position, allowing for the correction of the relative position between the tip and the laser spot. This compensation process could be carried out automatically and efficiently during measurements. We monitored the time-dependent displacement of the relative position between the tip and the laser spot for 35 minutes without feedback and for 90 minutes with feedback. Figure 2(e) depicts the results, showing that in the absence of the feedback system, the relative displacement increased over time. Within 35 minutes, the tip drifted more than 200 nm in the x-direction and 60 nm in the y-direction. However, with the implementation of the lateral tip drift correction system, the tip remained localized within ± 10 nm from the center of the focus spot for the entire 90-minute duration, as depicted in Fig. 2(e). Finally, we demonstrated ultra-stable long-duration TERS imaging measurement at nanoscale resolution, for which we chose a large 2D sample of tungsten disulfide (WS_2) material, which was a good sample for this test experiment. We performed TERS imaging for 7 hrs without any signal degradation (Fig. 2(f)), although this could easily continue for a much longer duration under newly developed nanoscale stabilizing system.

We were able to develop this ultra-stable TERS imaging system that is capable of working in liquid environment and can measure TERS imaging at the nanoscale spatial resolution for an extremely extended duration. This system is perfectly suitable for investigating biological samples, which will bring new possibilities to study those samples under their natural physiological conditions at the nanoscale and will play an extremely important role in the advancement of life sciences.

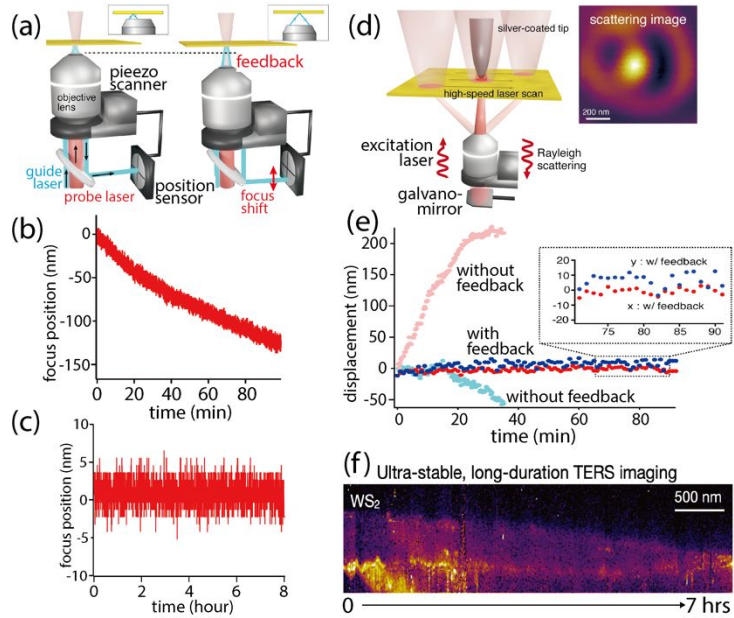


Fig. 2: (a) Setup for focus stabilization system, (b) focus drift in the absence of feedback, and (c) nanoscale stabilization of focus. (d) Scheme for tip stabilization in lateral directions, and (e) strong nanometric stabilization with feedback. (f) Long-duration ultra-stable TERS imaging of WS_2 for 7 hrs without degradation.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Umakoshi Takayuki, Urakami Takumi, Kidoguchi Haruki, Yang Keishi, Verma Prabhat, Sato Hirofumi, Higashi Masahiro, Tsukamoto Ikuko	4. 巻 127
2. 論文標題 Raman Spectroscopic and DFT Study of COA-Cl and Its Analogues	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry A	6. 最初と最後の頁 1849 ~ 1856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.2c08382	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yadav Ravi, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 12
2. 論文標題 Numerical characterization of optical properties of tapered plasmonic structure on a cantilever pyramidal tip for plasmon nanofocusing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 AIP Advances	6. 最初と最後の頁 085216 ~ 085216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0106066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Umakoshi Takayuki, Kawashima Koji, Moriyama Toki, Kato Ryo, Verma Prabhat	4. 巻 12
2. 論文標題 Tip-enhanced Raman spectroscopy with amplitude-controlled tapping-mode AFM	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-17170-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kato Ryo, Moriyama Toki, Umakoshi Takayuki, Yano Taka-aki, Verma Prabhat	4. 巻 8
2. 論文標題 Ultrastable tip-enhanced hyperspectral optical nanoimaging for defect analysis of large-sized WS ₂ layers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabo4021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abo4021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Ryo, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 125
2. 論文標題 Raman Spectroscopic Nanoimaging of Optical Fields of Metal Nanostructures with a Chemically Modified Metallic Tip	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 20397 ~ 20404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.1c04823	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriyama Toki, Umakoshi Takayuki, Hattori Yoshiaki, Taguchi Koki, Verma Prabhat, Kitamura Masatoshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Polarization Raman Imaging of Organic Monolayer Islands for Crystal Orientation Analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 9520 ~ 9527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.0c06313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taguchi Koki, Umakoshi Takayuki, Inoue Shota, Verma Prabhat	4. 巻 125
2. 論文標題 Broadband Plasmon Nanofocusing: Comprehensive Study of Broadband Nanoscale Light Source	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 6378 ~ 6386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c11541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sam Rhea Thankam, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 10
2. 論文標題 Probing stacking configurations in a few layered MoS2 by low frequency Raman spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78238-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sam Rhea Thankam, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 13
2. 論文標題 Defect-related anomalous low-frequency Raman scattering in a few-layered MoS2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 072003 ~ 072003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1882-0786/ab9a91	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Ryo, Taguchi Koki, Yadav Ravi, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 31
2. 論文標題 One-side metal-coated pyramidal cantilever tips for highly reproducible tip-enhanced Raman spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanotechnology	6. 最初と最後の頁 335207 ~ 335207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1361-6528/ab90b6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Umakoshi Takayuki, Tanaka Misaki, Saito Yuika, Verma Prabhat	4. 巻 6
2. 論文標題 White nanolight source for optical nanoimaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba4179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba4179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Ryo, Igarashi Shun, Umakoshi Takayuki, Verma Prabhat	4. 巻 3
2. 論文標題 Tip-Enhanced Raman Spectroscopy of Multiwalled Carbon Nanotubes through D-Band Imaging: Implications for Nanoscale Analysis of Interwall Interactions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Nano Materials	6. 最初と最後の頁 6001 ~ 6008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnm.0c01188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takayuki Umakoshi, Masaki Taniguchi, Prabhat Verma	4. 巻 124
2. 論文標題 Anharmonic effects in single-walled carbon nanotubes analyzed through low-temperature Raman imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 6922-6928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c00416	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Rhea Thankam Sam, Takayuki Umakoshi, Naoko Namba, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, Prabhat Verma	4. 巻 13
2. 論文標題 Probing inter-molecular interactions of dinaphthothienothiophene (DNNT) molecules in a transistor device using low-frequency Raman spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 22010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1882-0786/ab6e0d	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Takeshi Sugiyama, Naoko Namba, Takayuki Umakoshi, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, and Prabhat Verma	4. 巻 9
2. 論文標題 Orientation analysis of pentacene molecules in organic field-effect transistor devices using polarization-dependent Raman spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-51647-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Takeshi Sugiyama, Naoko Namba, Takayuki Umakoshi, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, Prabhat Verma	4. 巻 12
2. 論文標題 Raman spectroscopic studies of Dinaphthothienothiophene (DNNT)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma12040615	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Prabhat Verma
2. 発表標題 Plasmonically Enhanced Spectroscopies for Optical Nanoimaging and Sensing
3. 学会等名 7th IEEE-EDTM Conference 2023 in Seoul (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Prabhat Verma
2. 発表標題 White-nanolight-source for background-free nano-optical investigation
3. 学会等名 MRS Fall Meeting 2022 in Boston (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toki Moriyama, Ryo Kato, Takayuki Umakoshi, and Prabhat Verma
2. 発表標題 Large-area Raman spectral nano-analysis of 2D materials by long-term TERS imaging
3. 学会等名 JSAP-OSA joint symposia 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi and Prabhat Verma
2. 発表標題 Plasmon nanofocusing for near-field optical imaging
3. 学会等名 Global Nanophotonics 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi, Ryo Kato, Bikas Ranjan and Prabhat Verma
2. 発表標題 Tunable Plasmonics for Sensing and Nano-Raman-Imaging
3. 学会等名 Optics & Photonics Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	馬越 貴之 (Umakoshi Takayuki) (00793192)	大阪大学・工学研究科・講師 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------