様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：８２６３６
研究種目：基盤研究（Ｃ）
研究期間：2008～2010
課題番号：２０５１０１１２
研究課題名（和文）　単一蛍光分子制御技術及び計測システムの開発

研究課題名（英文）　Development of the technique to control single molecule fluorescence emitters and its measurement system

研究代表者
山田　俊樹（YAMADA TOSHIKI）
独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターナノ ICT グループ・主任研究員
研究者番号：１０３５９１０１

研究成果の概要（和文）：様々な周囲環境下、電磁場環境制御下における単一蛍光体の蛍光特性の評価及び制御を行った。改良型光電子増倍管を検出器として用いた時間相関単一光子計数システム及び屈折率マッチング媒体としてのイオン性液体と高開口数の液浸対物レンズ用いた新規な高効率な顕微集光ユニットを構築した。本研究において得られた成果はバイオナノセンシング及び光デバイス作製への広範な応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：We performed the evaluation and control of fluorescence characteristics of a single fluorescence emitter under various ambient- and electromagnetic-controlled conditions. We also developed a time-correlated single photon counting system with modified photomultiplier tubes as photon detectors as well as a new microscope light collection unit having an immersion objective with high numerical aperture and ionic liquid used as a refractive index matching medium. The results achieved in the present study provide us with a wide range of applications for nano-bio sensing and fabrication of optical devices.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００８年度	1,500,000	450,000	1,950,000
２００９年度	1,600,000	480,000	2,080,000
２０１０年度	500,000	150,000	650,000
総　計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：光計測、材料物性
科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス
キーワード：時間相関単一光子計数システム、イオン性液体、単一蛍光体、液浸対物レンズ、単一分子分光、単一光子光源

１．研究開始当初の背景

空間的に制御されて配置された有機分子１個或いは少数の分子を１つの能動素子として利用する「分子デバイス」が近年注目を集めている。分子系の単一電子トランジスターやスピンデバイス、単一の蛍光分子を用いた単一光子光源などがその例として挙げられる。また、単一蛍光分子からの蛍光を観測する技術はバイオ系分野ではセンシング技術としても用いられている。しかし、単一の蛍光分子制御技術（分子の置かれているマトリックス環境の制御、分子配

向制御、電場印加による発光の変化）に関してこれまでに包括的に研究を行った例はない。

２．研究の目的

（1）単一蛍光分子制御技術の開発

単一の蛍光体（単一の分子や単一のコロイド量子ドット）の置かれているマトリックス環境の制御、分子配向制御、電磁場環境制御、周囲の環境の制御（窒素雰囲気下、高真空下、低温等））を行い、その蛍光挙動評価を行う。

（2）計測システムの開発

上記と関連した単一の蛍光体からの蛍光を高効率に検出するための計測システムの開発を行う。

（1）及び（2）を通して、基礎的な知見を得ることにより、本技術の光デバイス、センシング等への将来的な応用を目指す。

３．研究の方法

（1）単一蛍光分子制御技術の開発

スピンキャスト法および申請者が開発してきたスプレー・ジェット法を用いて試料作製を行う。対物レンズを通した励起レーザー光のスポット内（1μmΦ程度）に単一または少数の蛍光体が含まれるように試料作製条件の調整を行う。単一の蛍光体が置かれているマトリックス環境の制御に関する研究にかんしては、いくつかの異なったポリマー中に蛍光体をドープし、単一の蛍光体に対してその蛍光挙動の違いについて研究を行う。電磁場環境制御に関しては、対向電極構造をもつ電極をも基板を準備し、そのギャップ間に蛍光体を配置し、矩形電圧又は交流電圧を印加しながら単一蛍光体レベルでの発光変化の評価をおこなう。またもう一つの周囲電磁環境の制御として、2 次元フォトニック結晶スラブ構造をもつ基板を準備し、その上に堆積させた単一の蛍光体に対する励起光の効率的な結合と発光の取り出しに関する研究を行う。周囲の環境の制御に関しては、窒素雰囲気下、高真空下、低温等の環境下における単一蛍光体の蛍光特性の評価を行う。

（2）計測システムの開発

上記のような様々な環境下において、効率に蛍光を検出するために、高効率蛍光集光系及び検出系の開発を行う。

４．研究成果

（1）単一蛍光分子制御技術の開発

ポリメタクリル酸メチル（PMMA）中にドープした単一蛍光体（量子ドットコロイド（CdSeTe/ZnS コアシェルナノクリスタル））に対して、パルスレーザー励起を行い、蛍光のブリンキング（蛍光の明滅現象）統計の励起光強度依存性を計測した。強い励起光強度においてそのブリンキング統計において新規な現象を見出した。また、それは PMMA 中とポリスチレン(PS)中とでは異なるっていることとが明らかにした。これは単一の蛍光体が置かれているマトリックス環境の制御に関連した研究成果である。

周囲電磁環境の制御として、窒化ケイ素(SiN)及び五酸化タンタル(Ta_2O_5)の 2 次元フォトニック結晶スラブを作製し、その上に配置された蛍光体(CdSe/ZnS コアシェルナノクリスタル)の蛍光特性の研究を行った。2 次元フォトニック結晶構造による励起光の蛍光体への効率的な結合と蛍光体からの蛍光の効率的な取り出しによる蛍光増強が観測された。SiN の 2 次元フォトニック結晶を用いた実験では、単一ではなく比較的多数の蛍光体に対する実験であったが、2 光子励起による、大きな蛍光増強が観測された。また、超低バックグラウンド蛍光を持つ $Ta_2O_5$2 次元フォトニック結晶スラブの作製に成功し、その上に堆積させた蛍光分子（ペリレンビスイミド）に対して単一蛍光分子レベルでの蛍光増強に関する研究が行えるようになり、最近、単一蛍光分子に対して、励起光の効率的な結合と発光の取り出しに成功した。

また周囲の環境制御下（大気下、高真空下、窒素雰囲気下）において、単一蛍光体（CdSe/ZnS コアシェルナノクリスタル、クマリン 6）の蛍光特性（蛍光寿命、蛍光強度の時間依存性（フォトブリーチング、ブリンキング等）、光アンチバンチング）がそれぞれの周囲環境下において大きく異なることを見出した。

これらの研究を通して、単一の蛍光体制御技術に関して基礎的な多くの知見が得られた。単一の蛍光体の応用として、単一光子光源や高効率な蛍光プローブ等が考えられる。本研究成果は将来的には量子通信デバイスやナノバイオセンシング（単一分子分光）に応用されていくものと期待される。

（2）計測システムの開発

上記で述べた研究を進めるにあたって、平行して計測システムの開発を行った。効率的に蛍光を検出するために量子効率が高く、ダークカウントが非常に小さく、検出面積が比較的大きい改良型光電子増倍管（浜松ホトニクスス社製）を用いた時間相関単一光子計数計測システムを構築した（図 1)。更に、高真空下及び様々な周囲ガス環境下において高効率高分解能で蛍光を集光できるよう、屈折率マッチング媒体として高真空下においても揮発しないイオン性液体と開口数(NA:1.3〜1.5)の高い液浸対物レンズを高真空中（〜10^{-6} Torr）に置く光学配置を用いた新規な顕微鏡ユニットを作製した（図 2)。本研究においては、高真空中での不揮発性に加えて、自家蛍

光が小さい、屈折率のマッチングがよいイオン性液体を見出すことが重要なポイントであったが、所望のイオン性液体見出すことに成功した。

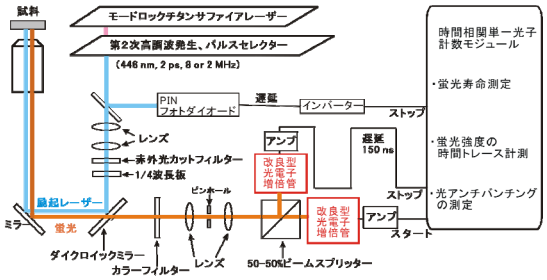

図 1　改良型光電子増倍管を検出器として持つ時間相関単一光子計数システム

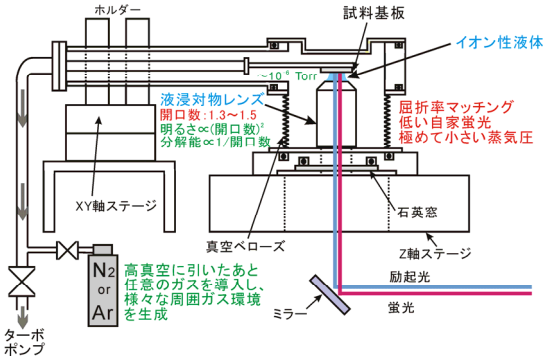

図 2　新規顕微ユニットの概要図

高真空中及び様々な周囲ガス環境下で動作する新規顕微ユニットは、蛍光計測だけでなく、そのような環境下における顕微ラマン計測、非線形光学顕微計測(主に SHG)、表面プラズモン顕微計測、蛍光顕微鏡像、暗視野・明視野顕微鏡像計測に広く応用できると考えられる。将来的には有機材料、無機材料、バイオ系材料に対する様々な光計測に対して新規顕微ユニットの広範や応用が期待できる。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)

① Toshiki Yamada, Akira Otomo, "Optimization of microscope unit for studying fluorescence emitters under high-vacuum and ambient gas conditions: Optical properties for various ionic liquids as a refractive index matching medium", to be published in Physics Procedia. (査読有)

② Takahiro Kaji, Toshiki Yamada, Rieko Ueda, Xingsheng Xu, Akira Otomo, "Fabrication of two-dimensional Ta205 photonic crystal slabs with ultra-low background emission toward highly sensitive fluorescence spectroscopy", Optics Express, 19, 1422-1428 (2010). (査読有)

③ Xingsheng Xu Toshiki Yamada, Shiyoshi Yokoyama, "Modification of two-photon excited fluorescence from quantum dots in SiN photonic crystals", Optics Letters, 35, 309-311 (2010). (査読有)

④ Xingsheng Xu, Shuai Chen, Toshiki Yamada, "Antibunching and blinking from a single colloidal CdSe quantum dot", Science China, 53, 1619-1625 (2010). (査読有)

⑤ Toshiki Yamada, Akira Otomo, "Time correlated single photon counting system with a modified objective unit for studying fluorescence emitters under high-vacuum and ambient gas conditions", Japanese Journal of Applied Physics, 49, 01AE04-1-5 (2010). (査読有)

⑥ 山田俊樹, "蛍光体研究のための時間相関単一光子計数系及び高真空及び周囲ガス環境下における高効率集光系の開発　ーイオン性液体と液浸対物レンズの使用ー", 情報通信学会技術研究報告, Vol. 109 (No. 251), 35-40, (2009). (査読無)

⑦ Kenichi Goushi, Toshiki Yamada, Akira Otomo, "Excitation intensity dependence of power-law statistics in nanocrystal quantum dots", Journal of Physical Chemstry C, 113, 20161-20168 (2009). (査読有)

⑧ Xingsheng Xu, Toshiki Yamada, Rieko Ueda, Akira Otomo, "Two-photon excited fluorescence from CdSe quantum dots on SiN photonic crystals", Applied Physics Letters, 95, 221113-1-3 (2009). (査読有)

⑨ Xingsheng Xu, Toshiki Yamada, Shiyoshi Yokoyama, "Corrlation between antibunching and blinking of photoluminescence from a single CdSe quantum dot", The European Physics Journal D, 55, 691-697 (2009). (査読有)

⑩ Toshiki Yamada, Akira Otomo, "Time-correlated single photon counting system and light-collection system for studying fluorescence emitters under high-vacuum condition: Use of immersion objective and ionic liquid", Thin Solid Films, 518, 432-436 (2009). (査読有)

⑪ Xingsheng Xu, Hongda Chen, Toshiki Yamada, Akira Otomo, “Single-photon source in strong photon-atom interaction regime in quasiperiodic photonic crystals”, Europhysics Letters, 84, 67003-p1-p6 (2008). (査読有)

⑫ Xignsheng Xu, Toshiki Yamada, Akira Otomo, “Photostability of single-photon emission from a single quantum dot in the 650-nm wavelength band at room temperature”, Applied Physics B, 93, 539-543 (2008). (査読有)

⑬ Toshiki Yamada, Kenichi Goushi, Xingsheng Xu, Akira Otomo, “Time correlated single photon counting and optical measurement systems for studying single fluorescent emitters under high vacuum conditions”, Thin Solid Films, 517, 1507-1511 (2008). (査読有)

〔学会発表〕(計 13 件)

①梶貴博, “高感度蛍光顕微鏡法実現に向けた 2 次元 Ta205 フォトニック結晶の作製”, 2011 年春季第 58 回応用物理学関連連合講演会, 2011 年 3 月, 予稿集による発表扱い.

②梶貴博, “超低バックグラウンド発光の 2 次元フォトニック結晶を用いたペリレンビスイミドの蛍光増強”, 日本化学会第 91 春季年会 (2011), 2011 年 3 月, 予稿集による発表扱い.

③ Takahiro Kaji, “Enhancement of dye fluorescence using photonic crystal slabs with ultra-low background emission”, 6th International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, 2011 年 3 月, 予稿集による発表扱い.

④ Toshiki Yamada, “Optimization of microscope unit for studying fluorescence emitters undue high-vacuum and ambient gas conditions”, 9th International Conference on Nano Molecular Electronics, 2010 年 12 月 15 日, 神戸国際会議場、兵庫県.

⑤ Takahiro Kaji, “Fabrication of low background two-dimensional Ta205 photonic crystals for observing fluorescence enhancement of organic dyes”, 9th International Conference on Nano Molecular Electronics, 2010 年 12 月 14 日, 神戸国際会議場、兵庫県.

⑥梶貴博, “2 次元フォトニック結晶基板上に吸着した色素分子の発光挙動”, 2010 年光化学討論会, 2010 年 9 月 8 日, 千葉大学, 千葉県.

⑦ Toshiki Yamada, “Optimization of microscope objective unit for studying fluorescence emitters under high-vacuum and ambient gas conditions and its applications”, 6th International Symposium on Organic Molecular Electronics, 2010 年 6 月 11 日, 千葉大学, 千葉県.

⑧山田俊樹, “蛍光体研究のための時間相関単一光子計数系及び高真空及び周囲ガス環境下における高効率集光系の開発 ーイオン性液体と液侵対物レンズの使用ー”, 電子情報通信学会有機エレクトロニクス研究会, 2009 年 10 月 23 日, 中央電気倶楽部, 大阪府.

⑨山田俊樹, “時間相関単一光子計数系と高真空中高効率集光系 ーイオン性液体と液浸対物レンズの使用ー”, 第 56 回応用物理学関係連合講演会, 2009 年 3 月 30 日, 筑波大学, 茨城県.

⑩山田俊樹, “高真空中時間相関単一光子検出系と単一発光体蛍光挙動解析”, 日本化学会第 89 春期年会, 2009 年 3 月 28 日, 日本大学理工学部船橋キャンパス, 千葉県.

⑪ Toshiki Yamada, “Time-correlated single photon counting system and modified objective unit for studying fluorescence emitters under high vacuum condition”, Fifth International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, 2009 年 3 月 17 日, 宮崎国際会議場, 宮崎県.

⑫ Toshiki Yamada, “Fluorescence characterization of single emitters and development of modified microscope unit in high vacuum in conjunction with time-correlated single photon counting system”, 8th International Conference on Nano-Molecular Electronics, 2008 年 12 月 16 日, 神戸ポートピアホテル, 兵庫県.

⑬ Toshiki Yamada, “Time-correlated single photon counting and optical measurement systems for studying single fluorescence emitters in high vacuum conditions”, 2nd International Symposium on the Manipulation of Advanced Smart Materials, 2008 年 5 月 29 日, 淡路夢舞台国際会議場, 兵庫県.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称：フォトニック結晶
発明者：梶貴博, 山田俊樹, 大友明
権利者：(独) 情報通信研究機構
種類：特許
番号：2011-046586

出願年月日：2011 年 3 月 3 日
国内外の別：国内

名称：試料観測方法、光学顕微鏡及び蛍光相関分析装置
発明者：山田俊樹
権利者：（独）情報通信研究機構
種類：特許
番号：2008-316489
出願年月日：2008 年 12 月 12 日
国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

６．研究組織
(1)研究代表者
山田　俊樹（YAMADA　TOSHIKI）
研究者番号：10359101
独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターナノ ICT グループ・主任研究員

(2)研究分担者
（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：

(4)研究協力者
梶　貴博（KAJI　TAKAHIRO）
研究者番号：40573134
独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究センターナノ ICT グループ・専攻研究員