

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22686076

研究課題名(和文) 近赤外光応答四重極共鳴局在表面プラズモンセンシングプレートの開発

研究課題名(英文) Quadrupole-mode plasmonic nanoshell array for NIR-responsible optical sensors

研究代表者

是津 信行 (ZETTSU, Nobuyuki)

信州大学・工学部・准教授

研究者番号：10432519

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,100,000円、(間接経費) 5,730,000円

研究成果の概要(和文)：コアにポリスチレンナノ粒子，その表面を金薄膜で被覆したプラズモニックナノシェルアレイにおいて，600-1200nmの光と共鳴するナノシェル構造の作製に成功している．また，隣接するナノシェル粒子間距離を制御することにより，ナノ粒子アレイの集団的なプラズモン共鳴が発現することを見出した．これにより，従来では100nMレベルの検出感度を100万倍以上の10fMレベルまで高感度化することに成功している．本年度は，元素戦略の一環として，シェルに用いている金に代わる代替材料を探索したところ，銅薄膜を被覆して作製したPS@CuナノシェルアレイにおいてもpMレベル検出達成の見込みが得られた。

研究成果の概要(英文)：We have succeeded in the preparation of plasmonic PS@Au nanoshells that resonates with the light of 600-1200nm and its surface. Further, controlling the nanoshell particle distance between adjacent provided the collective plasmon resonance mode. As a result, it has been able to 10fM level sensitivity. This value was of 1 million or more times higher sensitivity than that of conventional LSPR sensors. In this work, we tried to explore alternative materials to replace the gold is used for the shell, resulting pM level detection in the PS@Cu nanoshells array produced by coating a copper thin film.

研究分野：総合理工

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学

キーワード：表面プラズモン 自己組織化 ナノ粒子 バイオセンサー

### 1. 研究開始当初の背景

情報・通信分野、ナノバイオ・ナノ医療分野・ナノ計測分野において、非接触・非破壊・高速検査可能な光素子の必要性は高い。しかし、光はいったん放出されると四方八方へと拡がる性質をもつため、真の意味で光を自在に操作するためには、極微小領域へ光を強く閉じ込める必要がある。これを実現するための理想的な解の一つとして、プラズモニックナノ構造が挙げられる。プラズモニックナノ構造には、光で直接励起可能な局在型表面プラズモン共鳴(LSPR)と呼ばれる振動電場が形成される。金属と誘電体の界面に光が閉じ込められ、伝播することなく粒子表面のナノ空間に局在化することを特徴とし、ナノ粒子周辺の微小な誘電率変化をLSPR周波数のシフトにより検出できる。つまり、プラズモニックナノ粒子の表面は生体分子間の相互作用による生物学的事象を高感度に検出するため恰好のプラットフォームといえる。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、アルツハイマー病等のバイオマーカー分子のピコmolレベルの超高感度検出を可能とする局在型表面プラズモンセンシングプレートの開発および早期実用化に向けた製造プロセスの設計に挑戦している。超高感度検出実現のためには、個々のナノ構造体表面に複雑かつ大きな電気分極を発生させ、プラズモン励起共鳴周波数分布を狭幅化することが必要不可欠となる。近年、ナノ構造体間のギャップ部分において 'hot spot' とよばれる非常に大きな電場増強がみられ、周囲環境の変化を検出するプラズモンセンシングの高感度化が試みられている。このためナノギャップを有するナノ構造体周期配列に着目し、高精度かつ高効率なアレイ化を実現するための作製プロセスの設計と要素技術の構築に取り組んだ。

### 3. 研究成果

ブレードコートを用いて、50x50 mm<sup>2</sup> サイズの基板に、1.0 x10<sup>7</sup> cm<sup>-2</sup> の密度で集積したPS ナノ粒子アレイを作製した。PS ナノ粒子には、平均粒子径  $\phi=320$  nm の市販のものを用いた。その後、大気圧ヘリウムプラズマを用いた等方性エッチングにより PS ナノ粒子をドライエッチした。処理時間に対してナノ粒子の直径は直線的に減少することがわかった。平均粒子径減少速度は 40 nm/min と見積もることができた。処理時間に対して線形的に直径が変化するため、任意の時間加工することで、球状形状を維持したまま要望の直径の PS ナノ粒子アレイを得ることができるといえる。初期ナノ粒子径を変化させることにより、任意の粒子径、粒子間距離の実現が可

能であった。

さらに、ナノ粒子アレイの表面を真空蒸着により膜厚 20nm の Au 超薄膜で被覆し、Au@PS ナノシェルアレイを作製した。コア粒子径の異なる (210, 200, 180nm) 各ナノシェルアレイの消光スペクトルを図 1 に示す。全てのナノシェルは近赤外領域に共鳴ピークを示した。また、ナノシェル間の隣接に伴いピーク位置が赤外方向へシフトした。これらの結果は FDTD 法を用いた解析結果に合致するものであった。コア径 180 nm のナノシェルでは、800 nm 付近の共鳴ピークが長波長側と短波長側に分裂することがわかった。コア径 210nm のナノシェルでは、970 nm と 600 nm にそれぞれ明確な共鳴ピークを示した。

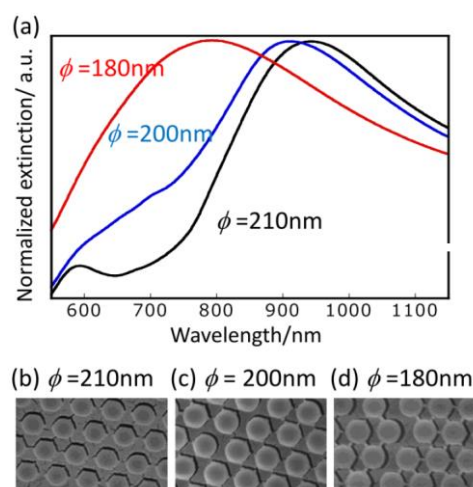


図 1. コアの径の異なる PS@Au ナノシェルアレイの可視-近赤外消光スペクトル(a)と SEM 像(b-d)

有限差分時間領域 (FDTD) 法を用いて、Au ナノシェルアレイ表面近傍における電場分布を数値解析的に計算し、共鳴ピークの分裂の起源を明らかにした。解析結果から復元した PS@Au ナノシェルアレイの消光スペクトルを図 2 に示す。このとき、ナノシェルの中心間距離、シェル厚をそれぞれ 320, 20 nm とし、コア径を変化させた場合にナノギャップ部分に誘起される増強電場分布に注目して計算した。数値解析計算より、以下の結果が得られた。(1)近赤外光領域に極大消光ピークをもつ。(2) ナノシェルの隣接に伴い、主ピークが赤外方向へシフトし、副ピークが顕在化する傾向にあった。(3) 主ピークはナノギャップ間に誘起された増強電場に、副ピークはナノシェル内部に発現した LSPR 現象にそれぞれ由来することがわかった。

実験結果と同様に、コア径が大きく、粒子間距離が狭まることによって共鳴ピークが分裂することがわかった。600 nm と 719 nm

の光をそれぞれ入射し、ナノシェル近傍に発生する増強電場解析から、短波長側の共鳴はナノシェル単体、長波長側の共鳴はナノシェル間隙のカップリングプラズモンに由来していることがわかった。つまり、隣接するナノシェル粒子間距離を制御することで、ナノ粒子アレイの集団的なプラズモン共鳴が発現することを見出した。

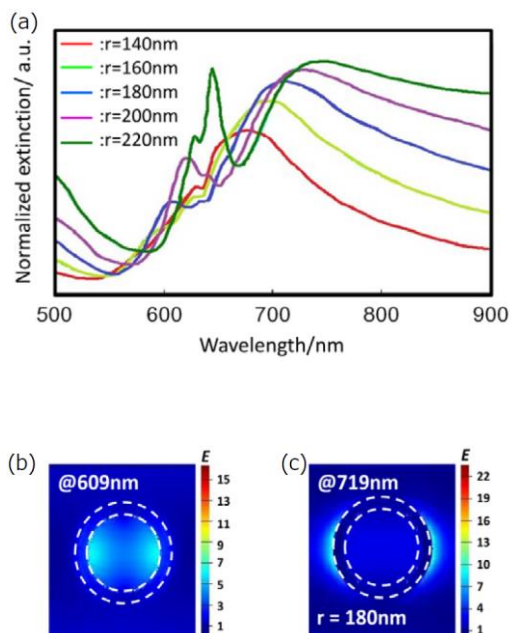


図 2. (a)FDTD 計算より復元した PS@Au ナノシェルアレイの(a)消光スペクトル (b,c) ナノシェル近傍に発生する光増強電場分布

抗原抗体反応を駆動力としてバイオマーカーがナノ粒子表面に化学吸着することにより、ナノ粒子表面の局所的な誘電率が変化する。この誘電率の変化は、プラズモン共鳴周波数のシフトにより検出できる。そこで、誘電率の異なる溶液中にナノ粒子膜を浸漬し、プラズモン共鳴波長シフト量からナノシェルアレイの誘電率変化に対する応答性を調べることで、プラズモンセンサの感度を簡易的に評価した。各コア径の (210, 200, 180 nm) ナノシェルアレイの誘電率変化に対するプラズモン共鳴波長変化を図 3a に示す。変化の傾きから誘電率応答性を見積もった結果、コア径が 210、200 nm のナノシェルアレイは約 300 nm/RIU の応答性を示した。直系 10-20 nm の金ナノ粒子では 50 nm/RIU 程度、ナノシェル単体では 200 nm であることから、ナノシェル間隙に発生するカップリングモードを利用することで、金ナノ粒子に対して 6 倍、ナノシェルに対して 1.5 倍高い感度を示すことがわかった。次に、ストレプトアビジンとビオチンによる抗原抗体反応を用いて、ストレプトアビジンの化学吸着セ

ンシングを行った。ナノシェル表面に対して Langmuir 型の吸着が見られ、その検出限界は 5 フェムトモラリティであった (図 3b)。ナノシェルのカップリングプラズモンを用いることで、従来の 100 ナノモラリティレベルから 100 万倍以上高い 10 フォムトモラリティレベルまで高感度化することに成功した。

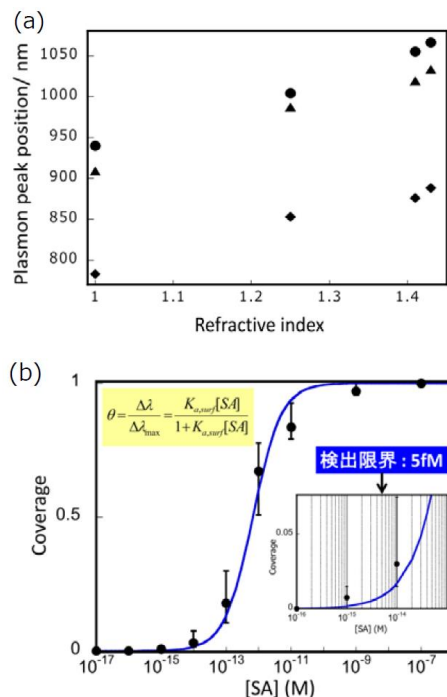


図 3 (a)屈折率の異なる溶媒中に浸漬したときの、PS@Au ナノシェルアレイのプラズモン共鳴波長変化(●コア径:210 nm), (▲コア径 200 nm), (■コア径 180 nm)。(b) ビオチンで被覆した PS@Au ナノシェルアレイによるストレプトアジピンの化学吸着検出。

これまでの研究により、第一の競合技術といえる水晶振動子を使った化学吸着センサ (QCM) の検出感度と同等、またはそれ以上を実現してきた。また、近赤外光センシングという新しい価値観を創出し、光検出の有用性をいっそう高めた。QCM の検出感度はそろそろ理論的、技術的限界に近付いている一方で、LSPR センサーの感度向上についてはまだ十分な余力があると考えられる。これまでに用いてきたプラズモンは主に、ナノシェル粒子の双極子モード励起が中心であった。この場合、角運動量のそろった双極子モードプラズモンのみが励起される。一方で、四重極子に代表される多重極子によるプラズモンを同時に励起することができれば、高次の多重モードの発現により粒子内電気分極分布をより複雑化できる。電磁場計算から、多重モ

ードの発現には、ナノシェルに構造非対称性の導入が効果的である。また、多重振動モードプラズモン励起により、周辺屈折率変化応答性の飛躍的高感度化が期待できる。

そこで多重振動モードプラズモンを利用した、アトモリティ検出可能な超高感度LSPRセンサーの具現化に挑戦した。具体的には、“対称性の破れ構造”をもつプラズモニックナノシェル（ナノコーン）アレイの作製を試みた。図4には、PS@Au ナノコーン加工プロセスの模式図とSEM像、電磁場計算から見積もったナノシェル近傍の電界強度分布を示す。これまでの大気圧プラズマを用いたナノ粒子のエッチングを行う際に、新たにイオン液体をエッチングマスクに用いた。イオン液体に浸っている領域はプラズマによりエッチングされずに、プラズマに曝された領域だけがエッチングされる（図5）。ナノシェルアレイの誘電率応答性から調べたナノコーンアレイの周辺屈折率変化感度は520nm/RIUであった。これらの結果は、アトモリティ検出可能な十分な応答性が得られる見通しがあったといえる。

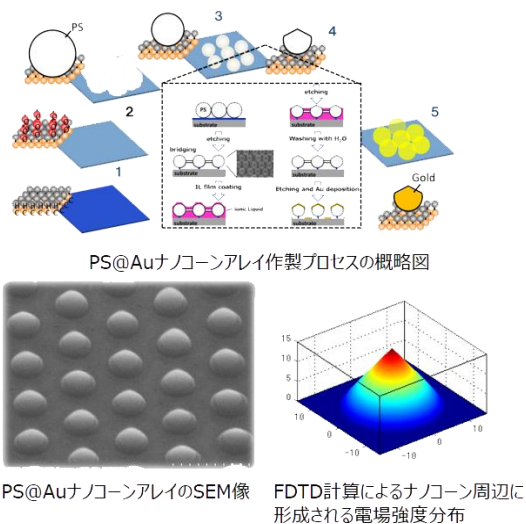


図4. イオン液体をエッチングマスクに用いたナノコーン作製プロセスの概念図と得られたナノコーンのSEM像と電磁場計算解析結果

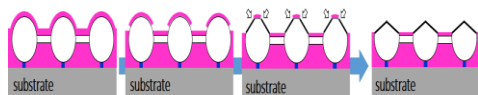


図5. ナノコーン形成メカニズム模式図

元素戦略の一環として、シェルに用いている金に代わる代替材料の探索を進めた。スクリーニングの結果、銅薄膜を被覆して作製したPS@Cu ナノシェルアレイにおいてもpMレベル検出達成の見込みが得られた（図6）。

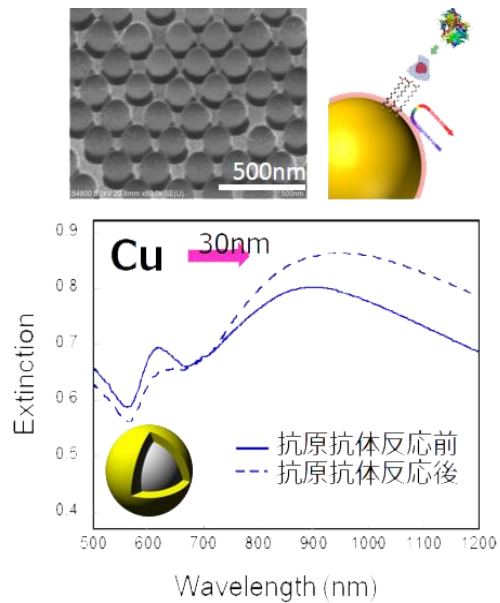


図6. PS@Cu ナノシェルアレイのSEM像と抗原抗体反応前後における消光スペクトル変化

#### 5. 主な発表論文等（計4件）

- ① S. Uchida, N. Zettsu, K. Endo, K. Yamamura, Fundamental research on the label-free detection of protein adsorption using near-infrared light-responsive plasmonic metal nanoshell arrays with controlled nanogap, *Nanoscale Lett.*, **8**(1), 271 (2013) (査読有)
- ② M. Fukuda, N. Zettsu, I. Yamashita, Y. Uraoka, H. Watanabe, The absorption mechanism of titanium-binding ferritin on to amorphous oxide, *Coll. Surf. B*, **102**, 435-440 (2013) (査読有)
- ③ T. Hashimoto, N. Zettsu, B. Zheng, M. Fukuda, I. Yamashita, H. Watanabe, Practical protein removal using atmospheric-pressure helium plasma for densely packed gold nanoparticle arrays assembled by ferritin-based encapsulation/transport system, *Appl. Phys. Lett.*, **101**, 073702 (2012) (査読有)
- ④ S. Uchida, K. Yamamura, N. Zettsu, Fabrication of Precise Asymmetric Nanoshells Array with Nanogaps for A Label-Free Immunoassay Based on NIR-light Responsive LSPR, *Key Engineering Materials*, **523-524**, 680-685 (2012) (査読有)
- ⑤

#### 〔学会発表〕（計8件）

- ① N. Zettsu, K. Teshima: Shape-Controlled Metallodielectric Nanoshell Arrays for Near-IR Light Responsible Highly Sensitive Plasmonic Sensor, ICSE2013, Invited, Nov. 2013



- ② 是津信行, 手嶋勝弥:「ナノ粒子の超精密分散集積化と光・電子デバイス応用」信州コロイド&界面科学研究会第7回セミナー, 招待講演, 2013年10月
- ③ 是津信行, 我田元, 手嶋勝弥, 大石修治:「近赤外光応答局在表面プラズモンセンサの開発」第6回ものづくりをつなぐ会研究発表会, 招待講演, 2013年6月
- ④ 内田修平, 田口敦清, 山村和也, 是津信行:「近赤外光応答型 PS@Au ナノシェルアレイを用いた化学吸着センシング」2012年度応用物理学会学術講演会 2012年9月
- ⑤ S. Uchida, N. Zettsu, K. Yamamura, Approach to a Nanoscale Optical Biosensor using Nanoshell Array for A Label-Free Immunoassay based on NIR-light Responsive LSPR, Fifth ACFT, Oct. 2012
- ⑥ S. Uchida, K. Yamamura, N. Zettsu, Fabrication of Precise Asymmetric Nanoshells Array with Nanogaps for A Label-Free Immunoassay Based on NIR-light Responsive LSPR, 14th ICOE, Nov. 2012
- ⑦ S. Uchida, N. Zettsu, K. Yamamura, Femtomolar-level detection of streptavidin using near-IR responsible PS@Au plasmonic nanoshell array with a controlled nanogap, 2012 MRS Fall Meeting, Nov. 2012
- ⑧ S. Uchida, N. Zettsu, K. Yamamura, Label-free detection of biotin-streptavidin binding pair by using near-IR responsible plasmonic nanostructures array with a controlled nanogap, E-MRS 2013 Spring Meeting, May. 2013

[その他]

ホームページ等

<http://www.kankyo.shinshu-u.ac.jp/~oishilab/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

是津 信行 (ZETTSU, Nobuyuki)

信州大学・工学部・准教授

研究者番号: 10432519