

平成 26 年 4 月 16 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650310

研究課題名(和文) ナノプラズモニック遺伝子銃の創出

研究課題名(英文) Nanoplasmonic gene gun

研究代表者

寺川 光洋 (Terakawa, Mitsuhiro)

慶應義塾大学・理工学部・講師

研究者番号：60580090

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：金微粒子の新規な打ち込み方法として、増強局在近接場光生成プラズマ駆動による新規粒子推進を実験実証した。FDTD法を用いた理論計算と実験研究により、推進速度、推進角度、推進された粒子径を調べ、空間拡がりの小さい推進が可能であることを明らかにした。将来展望として、本研究において観察されたレーザー照射による形状変化がない条件をより詳細に調べることで、内包もしくは結合した薬剤分子に影響を与えることなく推進が行えるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：We proposed and demonstrated nanosphere propulsion by using femtosecond-laser excited enhanced near-field. Velocity, angle, and diameter of propelled nanospheres were investigated and high spatial controllability of the propulsion was demonstrated based on the FDTD calculation and experiments. Little structural change was observed after the propulsion, indicating the potentiality to the drug propulsion with less damage effect to the embedded molecules.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：低侵襲治療システム レーザー医療 レーザードラッグデリバリー 増強局在近接場光

1. 研究開始当初の背景

遺伝子等高分子を細胞内へ輸送する技術は、遺伝子治療、再生医療、iPS 細胞の作製等、次世代医療の成否を握る鍵技術である。しかし、有望視されていたウイルスベクター法の毒性や抗原性に基づく副作用が報告されて久しいが、高導入効率・高スループット・安全性を全て満足した物理的高分子輸送技術は確立していない。遺伝子銃を用いた方法は、1990 年代後半から研究が進められてきた。この方法では、DNA をコーティングした金微粒子をヘリウムガスとともに加速させ、標的部に衝突させて細胞内へ導入する。導入対象の組織や臓器を問わない高面積導入法であるが、その対象は外部に晒された部位もしくは開腹部位に限定される。

金微粒子を非集光フェムト秒レーザーでプラズモン励起すると、プラズモン散乱近接場光の増強部がナノスケール領域に発生する。フェムト秒レーザー照射により基板と基板上に散布した粒子との間に強い光増強場が発生する。本研究では、この物理過程におけるプラズマ推力に着目した。

2. 研究の目的

本研究では、高速増強近接場光を用いてレーザー推進による高分子導入技術を創出することを目的とした。具体的には、金微粒子の新規な打ち込み方法として、増強局在近接場光パルス生成プラズマ駆動を用いた。フェムト秒レーザー照射により金微粒子と金属基板表面に生じる増強近接場光生成プラズマにより、金微粒子に推力を与えた。並行して実施した理論計算により、金微粒子加速に適したレーザーパラメータおよび粒子径を調べた。

3. 研究の方法

レーザー照射により金微粒子近傍に得られる光増強度を調べるため、Finite-Difference Time-Domain (FDTD) 法を用いた。波長 800 nm の連続光を、Si 基板上の金微粒子に照射したときの光増強度分布を計算した。金微粒子の直径を $D=100$ nm から 600 nm まで変化させ、光増強度分布を算出し、エネルギー保存則を用いてそれぞれの粒子径に対する推進速度を求めた。さらに、レーザー入射角度を 0° から 85° まで変化させ、推

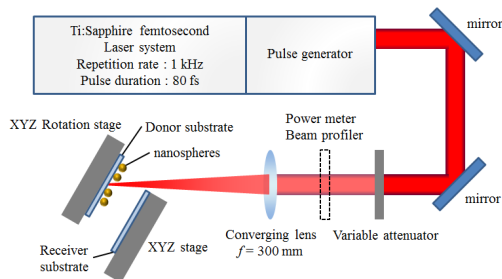


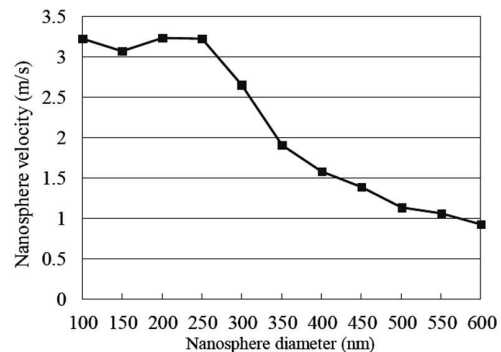
図 1 微粒子推進の実験構成図

進角度を算出した。

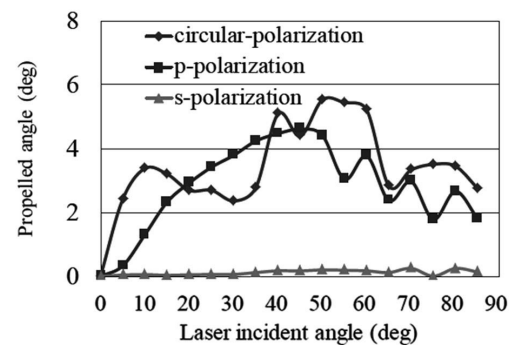
実験の概要図を図 1 に示す。実験では、直径 200 nm の金微粒子コロイド溶液を Si 基板へ滴下し、スピコートで基板全体に金微粒子を塗布してドナー基板とした。Ti:Sapphire フェムト秒レーザーより中心波長 800 nm、パルス幅 80 fs、ガウシアン分布のレーザーパルスを出力した。焦点距離 300 mm のレンズを用いてドナー基板表面に集光した。集光スポットは長軸 $840 \mu\text{m}$ 、短軸 $677 \mu\text{m}$ の楕円形状である。ドナー基板表面における平均フルエンスは $200 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ とした。レーザー基板には Si を用いた。回転ステージを用いてレーザーの入射角度を 20 度または 45 度に調整し、固定した。照射後のドナー基板およびレーザー基板を SEM(走査型電子顕微鏡)で観察した。また、推進された微粒子が金粒子であることを確認するために EDX(エネルギー分散型 X 線分光装置)を用いて元素分析を行った。

4. 研究成果

図 2(a)に金微粒子の推進速度の粒子径依存性を、図 2(b)に推進角度のレーザー入射角度および偏光依存性の計算結果を示す。金微粒子の推進速度は 100 nm から 250 nm の粒子径まではほぼ一定であり、粒子径が 250 nm



(a)



(b)

図 2 理論計算により計算した金粒子速度の粒子径依存性(a)および推進角度の照射角度依存性 (b)

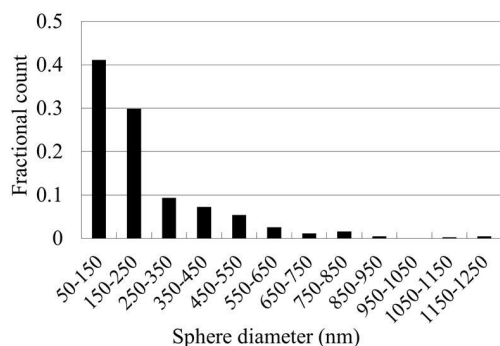


図3 レーザー基板上的金微粒子の寸法分布

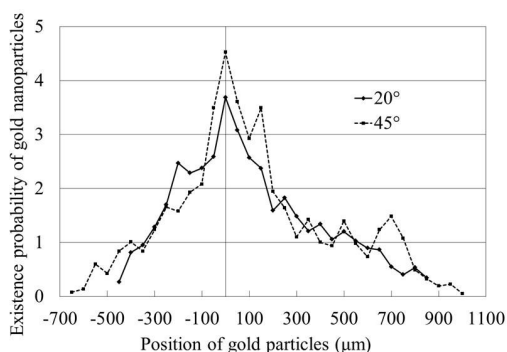


図4 レーザー基板上的金微粒子の堆積位置分布

より大きくなると推進速度が減少することがわかった。推進角度については、s 偏光ではレーザーの入射角度にかかわらず 0 度を示し、基板に対して垂直に推進される。p 偏光、円偏光ではレーザーの入射角度を変化させると推進角度は変化し、最大で 5.5 度変化することが示された。

図3にレーザー基板上に存在する金微粒子の寸法分布を示す。50-250 nm の粒子が全体の70%以上を占めることがわかった。この粒子は、レーザー照射から推進にかけて金微粒子が溶融、分裂したものであると考えられる。直径 250 nm よりも大きい粒子は分裂した金微粒子が推進中あるいは推進後に溶着したと考えられる。250 nm よりも大きい粒子を少なくするためには、レーザー照射による微粒子の温度上昇に伴う溶着を防ぐ必要がある。

レーザー基板上の金微粒子の堆積場所分布を図4に示す。x 軸方向 50 μm 毎に SEM 画像を取得し、SEM 画像全体の面積に対する金微粒子の面積を金微粒子の堆積場所として計算し、存在確率が最大となる位置を原点とした。レーザーの入射角度が 20 度では、レーザー基板上の金微粒子は、約 1300 μm の領域に存在しており、レーザー入射角度が 45 度では約 1650 μm に存在した。原点から x 軸の正と負の方向で粒子の存在確率の空間分

布が異なり、x 軸正の方向では遠方まで金微粒子が存在していることがわかる。図2に示した計算結果では、p 偏光、入射角度 20 度で照射した場合の推進角度は 2.92 度である。ドナー基板とレーザー基板の間隔は 5 mm であることを考慮し、図4において密度が最も大きい地点に存在した金微粒子が集光領域の中心から推進されたと仮定すると、照射領域の端から推進された金微粒子は集光径の半値 420 μm と基板間隔から計算した 255 μm の和である 675 μm まで金微粒子が推進されたと概算できる。実験では金粒子は計算よりも広い範囲に存在するものの、金微粒子の空間分布の半値全幅はレーザー入射角度が 20 度および 45 度ではそれぞれ約 500 と 300 μm であることがわかる。すなわち、本研究により実験および計算いずれにおいても空間拡がりの小さい推進が可能であることが明らかになった。

以上より、本研究では増強局在近接場光生成プラズマ駆動による新規粒子推進を実験実証した。将来展望として、本研究において観察されたレーザー照射による形状変化がない条件につき、より詳細に調べることで、内包もしくは結合した薬剤分子に影響を与えることなく推進が行えるものと期待される。

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2件)

(1) T. Shinohara, M. Terakawa, "Gold nanosphere propulsion by using femtosecond laser-excited enhanced near field," 査読有, Applied Physics A (オンライン先行公開), 2014, DOI: 10.1007/s00339-014-8328-0

(2) T. Honda, M. Terakawa, M. Obara, "Enhanced near-field properties of a gap of TiO₂ nanosphere pairs for 3D photocatalytic optical trap," 査読無, Proceedings of SPIE 8274, 2012, 82740Z/1-8, DOI: 10.1117/12.907207

〔学会発表〕(計6件)

(1) 発表者: 篠原拓也, "The shape of nanospheres propelled by femtosecond laser-excited enhanced near field," SPIE Photonics West 2014, 2014年2月3日, San Francisco, CA, USA

(2) 発表者: 篠原拓也, "Spatial and size distribution of gold nanospheres propelled by femtosecond laser-excited enhanced near field," International Workshop on the Fabrication and Application of Microstructured Optical Devices, 2014年2月28日, 横浜

(3) 発表者: 篠原拓也, "Calculational

studies on controllability of nanosphere propulsion by using femtosecond laser-excited enhanced near field," Conference on Lasers and Electro-Optics Pacific Rim (CLEO-PR 2013), 2013年7月3日, 京都

(4) 発表者: 篠原拓也, "フェムト秒レーザー励起局在増強近接場光生成プラズマによる微粒子推進," 第73回応用物理学会学術講演会, 2012年9月13日, 松山

(5) 発表者: 篠原拓也, "レーザー励起局在増強近接場光による粒子推進を目指した光増強場解析," 第12回レーザー学会東京支部研究会 2012年3月6日, 東京

(6) 発表者: 本多俊之, "Enhanced near-field properties of a gap of TiO₂ nanosphere pairs for 3D photocatalytic optical trap," Photonics West 2012, 2012年1月21日, San Francisco, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺川 光洋 (TERAKAWA MITSUHIRO)

慶應義塾大学・理工学部・専任講師

研究者番号: 60580090

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし