

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24651146

研究課題名(和文)金マイクロパターンによる表面支援脱離・イオン化質量分析法の開発

研究課題名(英文)Gold Micro-patterns for Surface-assisted Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry

研究代表者

新留 康郎(Niidome, Yasuro)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50264081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：表面支援脱離・イオン化質量分析(SALDI-MS)法に用いる金マイクロ/ナノ構造を構築した。マイクロコンタクトプリンティング法によってサブミクロンサイズの金パターンをITO基板上に構築することに成功したが、この基板のSALDI効率は極めて低かった。金ナノ粒子(金ナノロッド)を組織化する方法によってサブミクロンサイズの凝集体を作成して、SALDI効率を評価した。SALDIのための最適構造は10個以下のナノロッド凝集体から得られることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Gold micro/nano structures were prepared to be used for surface assisted Laser desorption/ionization mass spectrometry (SALDI-MS). We succeeded in preparing sub-micron-scale patterns of gold on an ITO plate using a micro-contact printing method; however, the sub-micron-patterns did not show efficient SALDI efficiencies. Gold nanoparticles (nanorods) were deposited on a plate to obtain aggregates up to sub-micron scales, and then the SALDI efficiencies of those were evaluated. The best nanostructures for the SALDI processes were found to be small aggregates which contained less than 10 nanorods.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：金ナノロッド マイクロコンタクトプリンティング ナノ機能材料 SALDI-MS

1. 研究開始当初の背景

有機分子をイオン化支援の「マトリックス」として用いるマトリックス支援脱離・イオン化質量分析(MALDI-MS)法は生体関連物質に限らず各種有機物の汎用的な分析法として広く用いられている。MALDI-MSのイオン化プロセスは非常に複雑な反応であるため、その詳細は未だに解明されていない。マトリックス分子は経験的に選別され、タンパク質やDNAなどターゲット物質の種類に応じて「推奨」分子が挙げられている。一方、本研究で取り扱った表面支援脱離・イオン化質量分析(SALDI-MS)法はマトリックス分子を用いずに質量分析に用いる基板そのもの、あるいは導電性基板に固定したナノ粒子等を光吸収材として脱離・イオン化を起こす手法である。SALDI-MSではマトリックス分子のフラグメントが存在しないため、代謝生成物などの低分子化合物の検出に有利である。SALDIの場合もMALDIと同様に、その脱離・イオン化プロセスは必ずしも明確になっているわけではない。

申請者らは高分子修飾金ナノ粒子の光吸収によってオリゴペプチドのSALDI-MS測定が可能であることを学術論文に報告した(Nanoscale, 2011, 3, 3793)。高分子修飾金ナノ粒子を用いて超高感度の質量分析が実現可能であることは従来の理解では考えにくいことである。新しい脱離・イオン化のメカニズムを考える必要があることがわかった。

2. 研究の目的

金マイクロパターン表面の表面修飾分子を幅広く検索することで、金クラスターおよび表面修飾分子のフラグメントを抑制し、ターゲット分子の選択的脱離・イオン化を実現できる表面修飾法を実現する。また、金ナノ構造を積極的に制御する事により、分子イオンの脱離効率とナノ構造の相関を比較する。

3. 研究の方法

本研究ではマイクロコンタクトプリンティング法の最適化を行い、金マイクロパターンの高精細化に取り組んだ。各種有機物を修飾してターゲット物質の脱離・イオン化の制御を試みた。さらに、ナノサイズからサブマイクロンサイズまで金ナノロッドの構造を制御し、イオン化効率と金の構造体の相関を明らかにした。

4. 研究成果

Polydimethylsiloxane (PDMS)を用いたマイクロコンタクトプリンティング法の実験条件を最適化し1 micron以下のパターンを製作する技術を確認した。

PDMSは化学エッチングしたシリコン基板上で重合させ、ピラミッド状の突起を有するスタンプを製作した(図1)。このスタンプにOctadecanethiol (ODT)をキャストし、金蒸着表面に接触させる事でODT吸着膜を製作した。フェリシアン化カリウムを含むエッチ

ング溶液で金蒸着膜を酸化溶解する際に、ODT修飾部分が残存し、エッチングパターンを構築できた。図2は今回作製した金パターンのSEM像である。PDMSスタンプの接触圧を制御する事により、パターンサイズを制御できる事がわかった。0.4 gfの力でスタンプを蒸着面に圧着したところ、1 μm程度の大きさのパターンが得られた。周囲に細かい金のフラグメントが残っている状態ではあるが、孤立粒子のプラズモンを示す可能性がある1 μm以下までパターンサイズを小さくできたのは大きな進歩であった。

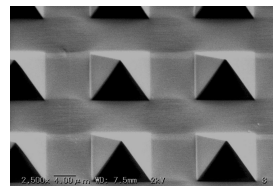


図1 PDMSスタンプのSEM像 ピラミッドの頂点間の間隔は10 μm

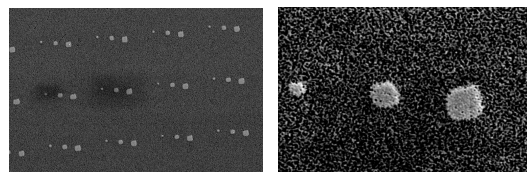


図2 金マイクロパターン 右は左の拡大図 最小のパターンは直径約1 μm スタンプを基板に押し付けた力はパターンが小さい順に0.4, 0.5, 0.6 gfであった。

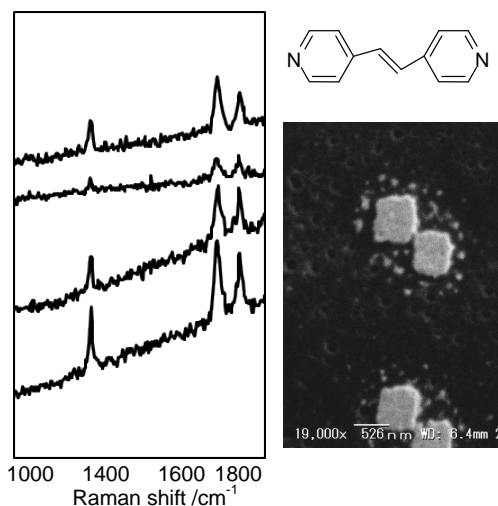


図3 金マイクロパターンから得られたラマンシグナル パターンの1辺は約0.8 μm。分子構造は測定に用いた1,2-di(4-pyridyl)ethylene

図3に約0.8 μmのパターンを隣接して作成し、パターン部位からのラマンシグナルを測定した結果を示す。近傍にわずかなフラグメントがあるものの、図2と比較して余分な金パターンが無いパターンを作成できるまでに条件を最適化できた。このサブマイクロンサイズの金ナノパターンがラマンシグナルの

表面増強を起こすプラズモン特性を有することがわかった。

このパターンを用いて SALDI-MS 測定を行った。検出に用いた分子はオリゴペプチド：Angiotensin I (Mw. 1297)である。これは質量分析の標準試料として良く用いられる分子であり、比較的脱離イオン化しやすい物質であったが、残念ながらパターン近傍からの脱離イオン化の増強は観察されなかった。同時に、金イオン・クラスターの脱離イオン化も観察されなかった。サブミクロンサイズのナノ構造からは効率的な SALDI 現象が起きないことがわかった。エッジの複雑なナノ構造も SALDI 現象を引き起こさないことは期待に反した結果であった。

その後、マイクロコンタクトプリンティングの技術を最適化したものの、サブミクロンサイズが限界であった。別的手段を用いて、ナノサイズのパターン形成を行う必要があることがわかった。

金のナノパターンを作成するために、金ナノロッド固定基板を用いた。金ナノロッドは静電的相互作用で基板表面に固定し、浸漬時間と浸漬回数を最適化して、凝集状態を制御した。図4は固定基板の例である。

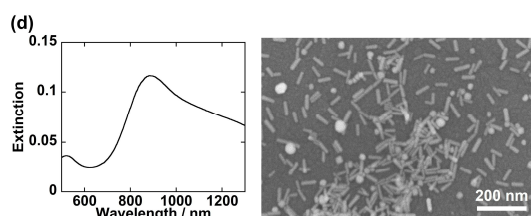


図4 金ナノロッド固定基板の分光特性とナノロッドの固定状態

金ナノロッドの SP バンドの半値幅が大きいとロッドの凝集体が多いことがわかった。図5は SALDI シグナル強度と SP バンドの半値幅の相関である。半値幅が 300 nm 前後で強いシグナルが得られることが判った。

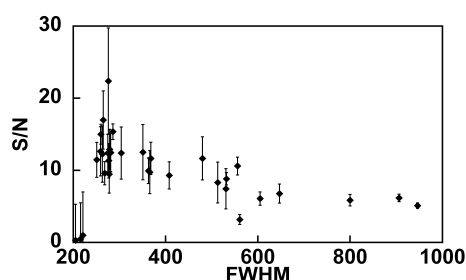


図5 SPバンドの半値幅(FWHM)とSALDIシグナル強度

この半値幅を示す金ナノロッド固定基板には3個から8個の金ナノロッド凝集体が多く分布しており、これら10個以下の金ナノロッドからなる凝集体が効率の良いSALDI現象を引き起こす事がわかった。

SALDI が観察される基板では金イオンや金クラスターの脱離イオン化も同時に観察され

た。各種高分子や酸化チタンなどの酸化物を金ナノロッド固定基板に塗布し、金の脱離イオン化を抑制する事を試みたが、いずれの場合も SALDI 効率を損ねずに金イオンの生成を抑制する事はできなかった。すなわち、金イオンの脱離を抑制できる厚みの修飾層を作成すると、オリゴペプチドの脱離も抑制された。さらに、厚さ 20 μm の生体組織切片(マウス肝臓)を金ナノロッド上に張り付けた場合でも金イオンは観察された。金は中性の原子あるいはクラスターとして表面から脱離するために、有機物によって金イオンの脱離を抑制する事は困難である事がわかった。金属酸化物で被覆すると、ある厚みを越えた時点で金属酸化物の光吸収による脱離イオン化が起こる場合があり金ナノパターンとは無関係に SALDI 現象が起こった。

本研究ではマイクロコンタクトプリンティング法によってサブミクロンサイズの金のパターンを基板上に作製することに成功した。さらに金ナノロッドの組織化によって高効率な SALDI を誘起する事に成功したが、金イオン/金クラスターの脱離イオン化を適切に抑制する系を見いだす事ができなかった。逆に、金の脱離イオン化は非常に高効率に起こり、たとえ 20 μm の厚みを有する生体組織切片中であっても金ナノ粒子由来の金イオンを検出できた。この発見をもって、金ナノ粒子/金ナノ構造体をプローブとして用いる質量分析が可能である事を示す事ができた。

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)

Imaging Mass Spectrometry of Intravenously Injected Gold Nanorods in Mice

Masanori Fujii, Naotoshi Nakashima, Takuro Niidome, and Yasuro Niidome

Chemistry Letters, **2014**, Vol. 43, No. 1, pp. 131-133. DOI: doi:10.1246/cl.130864

Spontaneous Temperature Control Using Reversible Spectroscopic Responses of PNIPAM-coated Gold Nanorods

Kohei Shimoda, Tsuyohiko Fujigaya, Naotoshi Nakashima, and Yasuro Niidome

Chemistry Letters, **2013**, Vol. 42, No. 10, pp. 1247-1249. DOI: 10.1246/cl.130457

Electrochemical Oxidation of Silver Shells on Gold Nanorods in Potassium Chloride and Phosphate Buffer Solutions

Yuki Hamasaki, Naotoshi Nakashima, and Yasuro Niidome

Chemistry Letters, **2013**, Vol. 42, No. 9, pp. 1093-1095. DOI: 10.1246/cl.130350

[学会発表](計 9 件)

Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization

Mass Spectrometry using Metal Nano-/Micro-Structures
Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Yumi Taga, Naotoshi Nakashima
International Association of Colloid and Interface Scientists (IACIS 2012), 口頭講演, 2012. 5. 13, 仙台国際センター
表面支援レーザー脱離・イオン化質量分析法を用いた金ナノロッド表面のオリゴペプチドの検出
藤井 政徳、中嶋 直敏、新留 康郎
第 49 回化学関連支部合同九州大会, ポスター, 2012. 6. 30, 北九州国際会議場
SALDI-MS of oligopeptide using gold nanorods on ITO plates
Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Yumi Taga, Naotoshi Nakashima
The 19th International Mass Spectrometry Conference, (IMSC2012), 口頭講演, 2012. 9. 17, 京都国際会議場
Surface-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Using Gold Nanorods on ITO Plates
Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Naotoshi Nakashima
MRS Fall Meeting 2012, Poster, 2012. 11. 27, Boston, USA
異方性金属ナノ粒子の凝集状態と SALDI 脱離イオン化の相関
藤井 政徳、中嶋 直敏、新留 康郎
第 73 回分析化学討論会, 2013. 5. 19, 口頭講演, 北大函館キャンパス
金属ナノ粒子の凝集状態が質量分析法の脱離イオン化に与える影響の検討
藤井 政徳、中嶋 直敏、新留 康郎
第 50 回化学関連支部合同九州大会, ポスター, 2013.7. 6, 北九州国際会議場
金属ナノ粒子の凝集状態がレーザー誘起脱離イオン化に与える影響
藤井 政徳、中嶋 直敏、新留 康郎
第 64 回コロイドおよび界面化学討論会, 口頭講演, 2013. 9. 18 名古屋工業大学
Aggregates of metal nanoparticles for efficient laser-induced desorption/ionization processes
Masanori Fujii, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
The 4th Asian Symposium on Advanced Materials (ASAM-4), 2013. 10. 23, National Taiwan University of Science and Technology
Desorption of gold clusters from mouse tissue sections
Masanori Fujii, Naotoshi Nakashima, Takuro Niidome, Yasuro Niidome
The 4th Asian Symposium on Advanced Materials (ASAM-4), 2013. 10. 23, National Taiwan University of Science and Technology

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 1 件)

名称: ナノ粒子脱離イオンプローブ質量分析
発明者: 新留 康郎
権利者: 新留 康郎
種類: 特許
番号: 特願 2013-126186
出願年月日: 2013年6月15日
国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
新留 康郎 (NIIDOME, Yasuro)

研究者番号: 50264081

(2)研究分担者
なし ()

研究者番号:

(3)連携研究者
なし ()

研究者番号: