

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25286030

研究課題名(和文)局在表面プラズモン誘起力の実空間計測と生体分子揺らぎ制御への応用

研究課題名(英文) Plasmonically-induced optical force spectroscopy for spatio-temporal control of biomolecular recognition

研究代表者

原 正彦 (Hara, Masahiko)

東京工業大学・総合理工学研究科(研究院)・教授

研究者番号：50181003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、金属ナノ構造の近傍に生成される光勾配力を利用して生体分子の揺らぎを制御する手法の開発研究を行った。原子間力顕微鏡を用いてプラズモン増強光誘起力を高感度かつ定量的に計測する手法を確立し、その光誘起力が入射するレーザー光の波長、金ナノ粒子のサイズによって異なることを実証した。また、金属ナノギャップ間の光誘起力を用いると生体分子認識確率が微小(12%)ながら向上することがわかった。光誘起力以外に光誘起熱も分子認識確率上昇の一因として考えられるため、低発熱性のシリコンナノ構造の利用も検討し、その有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：We developed a promising method to control biomolecular reactions with the use of optical force originating from plasmonically-induced strong gradient electric field in the vicinity of metallic nanostructures. Optical forces generated between two metallic nanostructures were quantitatively and qualitatively characterized by our advanced atomic force microscopy (AFM) with high force sensitivity. The optical forces were significantly dependent on the incident laser wavelength, and size and shape of the metallic nanostructures. The strongly-enhanced optical forces enabled us to increase probability of biomolecular recognition by around 10%. Finally, as an alternative to the plasmonic structures, dielectric nanostructures with high-refractive index were developed in order to suppress laser-induced heat generation toward non-invasive biomolecular analysis.

研究分野：ナノテクノロジー

キーワード：ナノバイオ 光ピンセット 原子間力顕微鏡 ナノフォトニクス プラズモニクス

1. 研究開始当初の背景

生体高分子の構造は周囲の熱揺らぎのエネルギーによって絶えず変化し、この構造揺らぎによって生体機能が発現すると言われていた。最近では、従来の「鍵と鍵穴」式の固いモデルではなく「揺らぎ」を利用した柔軟なモデルが生体分子間相互作用機構として提唱され、揺らぎと生体分子認識機能の相関解明に関する研究が盛んに行われている。特に、単一分子蛍光共鳴エネルギー移動を用いた生体分子認識反応ダイナミクスの計測と解析が国内外で精力的に行われている [Sugawa, Biosystem, 2007 他多数]。さらに、原子間力顕微鏡 (AFM: Atomic Force Microscope) を用いた動的力分光法によって、生体分子認識相互作用のポテンシャルや結合寿命を測定することも可能である [Melkel, Nature, 1999]。申請者はこれまでに、動的力分光法を用いて生体分子認識能の相互作用時間依存性を測定し、相互作用時間が長いほど認識確率が上昇することを見出し [Arai, Langmuir, 2011]、生体分子の揺らぎと分子認識機構に密接な関係があることを示した。しかしながら、上記の一連のアプローチは、生体分子揺らぎの受動的観測に基づく定性的議論に留まり、揺らぎと分子認識の相関を直接的かつ定量的に議論するには不十分であった。

2. 研究の目的

本研究では、光勾配力を利用して揺らぎを制御する手法を確立することを目的とした。通常、光を単純に集光しただけでは十分な電場勾配を得られないため、波長よりも十分小さい構造を捕捉制御することができない。本研究では、金属ナノ構造間に光を照射したときに誘起される局在表面プラズモンの巨大電場増強効果に着目し、このプラズモン増強光誘起力を用いてタンパク質一分子程度の微小物体の揺らぎを局所的に制御することを目指した。

3. 研究の方法

(1) AFM を用いた表面プラズモン増強光誘起力の計測と分光制御

AFM を用いてプラズモン増強光誘起力を高感度かつ定量的に計測する手法を確立する。金属コートした AFM 探針と金ナノ粒子間にレーザー光を照射し、金属探針-金属粒子間のナノギャップに局在表面プラズモンポラリトンを誘起する。レーザーを照射した状態でフォースカーブ測定を行い、金属探針-金属粒子間に作用するプラズモン増強光誘起力とその作

用領域を実測する。

局在表面プラズモンによる電場増強効果が入射光の条件 (波長、強度、偏光) や金属ナノ構造のサイズに依存することは周知であるが、プラズモン増強光誘起力も同様な依存性を示すことが期待される。本研究では、入射光条件や金属ナノ粒子のサイズを変化させながら上記のフォースカーブ測定を行い、光誘起力の作用力・作用領域 (局在性)・種類 (引力または斥力) の変化を観測し、光誘起力の制御を実現する。

(2) ダイポールナノアンテナに生成される光誘起力の解析

光補足力を効率よく増幅させるために金製のダイポールナノアンテナを設計・作製し、ナノギャップ間に生成される光誘起力を実験的に評価する。

(3) 揺らぎと分子認識機構の相関解析

抗原・抗体タンパク質の熱揺らぎを抑制した時の抗原-抗体反応確率を動的力学分光法を用いて定量測定し、熱揺らぎを制御した時の分子認識能変化を解析する。この時の抗原・抗体タンパク質の構造揺らぎを分析し、揺らぎと分子認識機構の相関を定量的かつ定性的に解明する。

4. 研究成果

(1) 金属ナノ探針と基板上的金属ナノ粒子間にレーザー光を照射した際に生じるプラズモン増強光誘起力の基礎特性 (力と作用領域)

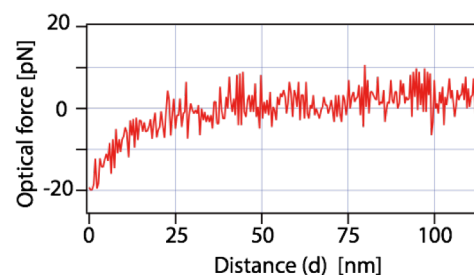
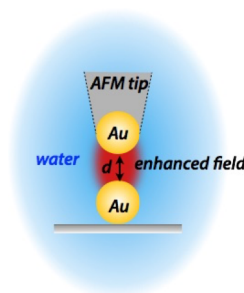


図 1: レーザー照射した金ナノ粒子間の距離を AFM で制御しながら測定した光誘起力

を測定するシステムを構築した。具体的には、表面プラズモンポラリトンを誘起するためのレーザー入射光学系を設計・作製し、10pN程度の高い力検出感度を有するフォーススペクトル測定用 AFM システムに組み込んだ。フォースカーブ測定時の金属探針-金属ナノ粒子間距離の制御とプラズモン励起用のレーザー光の ON/OFF 制御を同期させ、レーザー照射時と無照射時の力の差分を計測しながらフォースカーブ測定を行い、プラズモン増強光誘起力のみを選択的に自動計測する手法を開発した。また、大気中では水の凝着層の存在によって凝着力がプラズモン増強光誘起力の検出を妨害するため、溶液中で測定を行えるシステム環境を構築した。本装置を用いて光誘起測定を行った結果、図 1 に示す様に、金ナノ探針と金ナノ粒子の距離が数十 nm の領域でプラズモン増強光誘起力が作用していることがわかった。この光誘起力の強さは、入射するレーザー光の波長、金ナノ粒子のサイズによって異なることもわかった。また粒子のサイズが異なると引力のみならず斥力も発生することがわかった。

(2) 分子認識反応を制御可能な十分強い光誘起力を発生させるために、ダイポールナノアンテナ構造の設計と作製を行った。アンテナ構造のアンテナ長およびギャップサイズを制御することによってプラズモン共鳴波長をチューニングし、ギャップの近傍で電場増強度が最大になるアンテナ構造を最適化した。生体分子の光補足に主眼に置き、生体分子の光吸収が小さい近赤外領域でプラズモン共鳴波長を有するナノアンテナ構造を作製することに成功した。異なるギャップ間隔(10 nm, 20 nm, 25 nm)を有するナノアンテナ構造(100 個ずつ)の光散乱スペクトルを測定し、プラズモン共鳴波長を抽出してヒストグラム化したものを図2に示す。ギャップ間隔が小さくなるにつれて、プラズモン共鳴波長が長波長側にシフトすることがわかった。また、近接場光学顕微鏡を用いてダイポールナノアンテナの近傍に生成される増強電場をマッピングした結果、20nm程度のサイズの増強電場がギャップ間において局在していることがわかった。これにより、ギャップ間において強い電場勾配力が作用することが実証された。

さらに、ナノサイズのポリスチレンビーズを原子間力顕微鏡(AFM)カンチレバー探針先端に固着し、作製したダイポールアンテナ構造のギャップ部位においてビーズを光補足し、その時の光補足力を AFM 力測定した。入射レ

ーザーの強度に比例して AFM の検出力が増大することが確認され、AFM で検出した力が光誘起力に起因することが実証された。しかしながら、レーザー光強度が十分強い場合は、ダイポールナノアンテナの金属表面における光熱効果によってダイポールナノアンテナの形状が球状に熱変形し、光誘起力が低減することがわかった。今後は金属の熱変形を誘起しない程度の入射レーザー光強度で実験をおこなう必要があることがわかった。

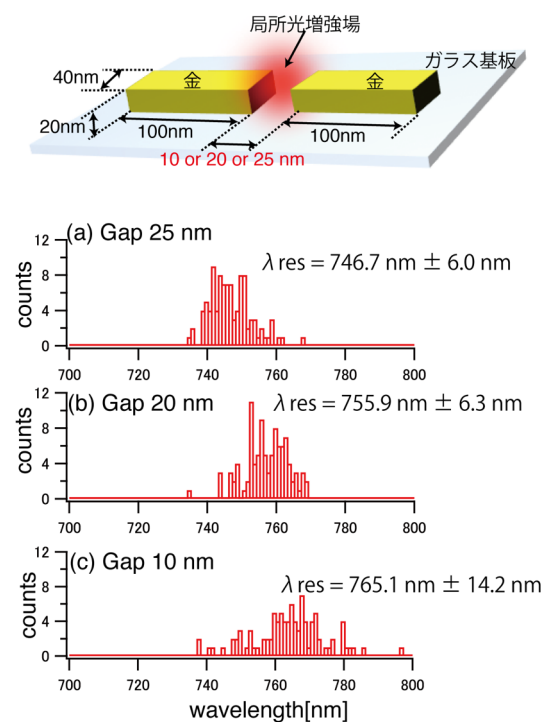


図 2:異なるギャップ間隔を有するダイポールナノアンテナのプラズモン共鳴波長測定結果

(3) (1)で確立した AFM をベースとした光誘起力測定装置を用いて、レーザー照射下における分子認識反応の制御を試みた。具体的には、原子間力顕微鏡探針表面と基板上に修飾した生体分子 (ストレプトアビジン、ビオチン)を用いて、分子認識反応の制御を行った。532 nm の励起波長のレーザー光を用い、金属探針と金属基板間に局在表面プラズモンが誘起されやすいラジアル偏光で入射した状態で分子認識反応力測定を行った結果、微小ではあるが 12%程度反応確率が向上した。この原因としては、プラズモン増強効果に起因する電磁気学的な摂動効果と、それにとまなう光誘起熱による効果が考えられる。有限要素法による光誘起熱計算を行ったところ、当該のレーザー光強度を照射した際に金属探針と

金属基板間に発生する光誘起熱は 100 度程度まで上昇していることがわかった。タンパク質などの生体分子は熱による変性する可能性があるため、熱の発生を抑制できる代替材料として高屈折率誘電体の利用も検討した。シリコンやゲルマニウムなどの材料を用いると、高い電場増強度を得ると同時に熱の発生を金属と比べて大幅に低減できることを示した。特に、光誘起熱の要因を排除するために、低損失な電磁場共鳴構造であるシリコンナノダイマーの利用を検討した。電磁場解析を行った結果、直径が 100 nm~200 nm 程度のシリコンナノ粒子を用いれば、光誘起熱の発生を 10 度以下に抑えながら、100 シリコンナノダイマー間に作用する光誘起力を可視域において -200pN(引力)から 200pN(斥力)まで制御できること示した。またシリコンナノ粒子間の距離によっても光誘起力の大きさを制御できることがわかった。これにより、金属ナノダイマーではなく低損失なシリコンナノダイマーを用いれば、分子認識反応制御における光誘起力の効果を評価できる見通しが立った。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① M. Oguchi, M. Mochizuki, T. Yano, M. Hara, T. Hayashi, "Light-transmittable Ultrasoother Gold Film for Gap-mode Tip-enhanced Raman Scattering Spectroscopy" *Chem. Lett.* **43**, 808-810 (2014). 査読有
DOI: 10.1246/cl.140093
- ② A. Portela, T. Yano, C. Santschi, H. Matsui, T. Hayashi, M. Hara, O. J. F. Martin, and H. Tabata, "Spectral tunability of realistic plasmonic nanoantennas" *Appl. Phys. Lett.* **105**, 091105 1-4 (2014). 査読有
DOI: 10.1063/1.4894633
- ③ Y. Tsuchimoto, T. Yano, M. Hada, K. G. Nakamura, T. Hayashi, and M. Hara, "Controlling the Visible Electromagnetic Resonances of Si/SiO₂ Dielectric Core-Shell Nanoparticles by Thermal Oxidation" *Small*, **11**, 4844-4849 (2015). 査読有
DOI: 10.1002/smll.201500884
- ④ T. Yano, Y. Tsuchimoto, M. Mochizuki, T. Hayashi and M. Hara, "Laser Scanning Assisted Tip-Enhanced Optical Microscopy for Robust Optical Nanospectroscopy," *Appl. Spectrosc.* in

press. 査読有

- ⑤ A. Portela, T. Yano, C. Santschi, O. J. F. Martin, H. Tabata, and M. Hara, "Highly sensitive SERS analysis of the cyclic Arg-Gly-Asp peptide ligands of cells using nanogap antennas" *J. Biophoton.* in press. 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- ① [招待講演]原 正彦 "自己組織化, 時空間機能, そして揺律創発—origin of life, origin of intelligence に向けて—" 日本化学会第 95 春季大会, 2015 年 3 月 27 日, 日本大学 (千葉県) .
- ② [招待講演]原 正彦 "揺律場の科学に向けて第 62 回応用物理学会春季学術講演会, 2015 年 3 月 12 日, 東海大学 (神奈川県) .
- ③ [招待講演]矢野 隆章, 土本 悠太, 林 智広, 原 正彦, "プラズモン光増強場を用いたナノ力学分光", レーザー学会第 35 回年次大会, 2015 年 1 月 12 日, 東海大学 (東京都) .

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 正彦 (HARA, Masahiko)
東京工業大学・総合理工学研究科・教授
研究者番号: 50181003

(2) 研究分担者

矢野 隆章 (YANO, Taka-aki)
東京工業大学・総合理工学研究科・助教
研究者番号: 90600651

林 智広 (Hayashi, Tomohiro)
東京工業大学・総合理工学研究科・准教授
研究者番号: 30401574