

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 10 月 3 日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06856

研究課題名(和文)メタマテリアルを用いたナノ流体デバイスによる超高感度赤外分光法の創成

研究課題名(英文) Nanofluidics device embedded with metamaterials: ultra-sensitive platform for IR absorption spectroscopy

研究代表者

Le Thu Ha Chuong (Le, ThuHaChuong)

国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究領域・国際特別研究員

研究者番号：60752144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は生体分子分析用の超高感度赤外吸収分光法としてメタマテリアルを装荷したナノ流体デバイスを開発した。赤外分光法の感度を向上させる工夫として金属の表面プラズモン効果を利用する方法が多く提案されたが、この効果を最大限に利用するには、分子が増強された電場領域(ホットスポット)内に存在する必要がある。そこで本研究はナノ流体を利用して検出分子をメタマテリアルのホットスポットに導入できるナノ流体デバイスを考案した。試作したデバイス用IC-H官能基の赤外吸収バンドを検出したところ、これまで開発された方法と比べ2桁以上の感度向上が確認された。本手法はラベルフリー検出法として生体分子分析に貢献できる。

研究成果の概要(英文)： This study reports a nanofluidic device embedded with metamaterials for ultra-sensitive infrared (IR) absorption detection. Plasmonic nanostructures were intensively studied to improve the sensitivity of IR spectroscopy, yet positioning analytes at the hot-spot is a challenging issue. Here we proposed and fabricated a nanofluidic device consists of a metal (Au) square-disks array on the top wall of channel, and a metal mirror on the bottom. The nanochannel with several tens of nms in depth plays the role of dielectric spacer layer, in which the photons are accumulated and the electromagnetic field is significantly enhanced. When the analyte whose IR absorption is spectrally overlapped with this mode is introduced, its strong coupling with this plasmon mode induces a significant amplification in molecular absorption signal. This device offered an improvement of sensitivity by two orders of magnitude compared to state-of-the-art metamaterials induced IR spectroscopies.

研究分野：分析化学、光機能材料

キーワード：赤外分光 マイクロ・ナノ流体デバイス メタマテリアル ラベルフリー検出

## 1. 研究開始当初の背景

近年、医療診断分野において、生体内分子の機能解析をすることにより、がんの早期診断や個別化治療に有用なバイオマーカーの探索を目指すプロテオミクスやメタボロミクスの研究が盛んに行われる。そのため、標的単一細胞の組織、または単一細胞から採取したタンパク質等をラベルフリーで定性、並びに定量する方法が要求される。これまで多数報告されてきたラベルフリー分析法の中、質量分析と核磁気共鳴分光法 (NMR) が注目されているが、両方ともリアルタイムで生きている細胞内の分子構造とその機能を解明することが未だ困難である。<sup>[1]</sup>

一方、赤外分光法は、分子の振動による赤外吸収を測定することで、分子の化学結合や構造の情報が得られ、特に生体分析では、タンパク質構造機能解析に非常に有力な手法とされているが、生体分子への応用は難題を抱えている。それは、従来の赤外分光法の抵感度に起因すると考えられる。赤外吸収の起源である分子振動のモル吸収係数は電子遷移に由来する可視光吸収と比べ2-3桁ほど低いのである。また、水の強い吸収による妨害を受けるため水溶液中での赤外分光分析が困難である。<sup>[2]</sup> 近年、赤外吸収を増強させる方法として金属微粒子、金属薄膜やプラズモニック・メタマテリアルを用いた表面増強赤外吸収分光法 (SEIRA) が注目されてきた。<sup>[3]</sup> メタマテリアルとはナノ構造体と光波との相互作用を利用して、構造 (形・サイズ・材料) を変えることで物質の光学特性を制御できる材料である。特に近年、赤外光領域で応答するメタマテリアルが報告され、赤外領域における電場増強係数から、赤外吸収を $10^5$ - $10^6$ 倍に増強できると予想される。<sup>[4]</sup> 金属表面に局在する表面プラズモンの電場増強効果を利用する方法が多く提案されたが、この効果を最大限に利用するには、分子が増強された電場領域 (ホットスポット) 内に存在する必要がある。しかし、従来の技術ではその制御は困難であった。そこで、本研究はナノ流体工学を利用する極微小空間内 (幅や深さが数十 nm 程度) における分子捕獲操作に着想した。そして、ナノ流体操作による分子をメタマテリアルのホットスポットに輸送できるデバイスを考案した。上記の学術的な背景と問題点を踏まえて、プラズモニック・メタマテリアルとナノ流体デバイスと組み合わせた新たなデバイス構築を提案し、超高感度な赤外吸収分光法の創成に挑む。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、赤外光応答のプラズモニック・メタマテリアルとナノ流体デバイス融合させ、新たな赤外分光デバイス構築を作り上げ、超高感度な赤外分光法を開発することである。具体的には、赤外領域で動作するメタマテリアルをナノ流体デバイスに集積化することで、電場増強効果により赤外吸収を

向上させる。更にナノ流体の特徴である数十 nm 空間での分子捕獲操作を利用し、検出対象分子をメタマテリアルのホットスポットに導入できるデバイスを実現する。また、提案したデバイスの極めて短い光路長を生かし、水の吸収の影響を極限まで低減させ、生体分子分析に向けた赤外分光法の実現を目指す。本手法が成功すれば、革命的な分析ツールを与え、細胞やタンパク質等をインタクトな状態かつリアルタイムで構造機能解析を可能とし、医療診断やバイオマーカーの探索研究へ大いに貢献できる。

## 3. 研究の方法

考案したデバイスは図 1 (a) で示したように、平らな金ミラーと中赤外光に共振する金属微小光共振器の間に数十 nm (深さ) の流体チャンネルが挟み込まれた構造となった。この構造に無偏光の垂直入射に対して、中赤外領域に強いプラズモン共鳴モードが表した。さらに、有限要素法を用い共鳴モードを解明したところ、微小光共振器で照射によって生じた電気双極子が金属ミラーに反対向きの電気双極子を誘導することが分かった。この二つの電気双極子が互に干渉して打ち消し合う現象が起こり、四極子モードが形成された。また、計算結果によると、この共鳴モードにおいて電場と磁場とも微小光共振器と金属ミラーの間、すなわちナノチャンネル部分に蓄積することが明らかとなった (図 1(c))。つまり、ナノチャンネルの部分が電磁波のホットスポットとなった。そこにターゲットとした分子を導入すれば、分子と前述の四極子モードとの相互作用を最大限に引き起こすことができ、分子の赤外吸収検出感度を著しく向上させる。

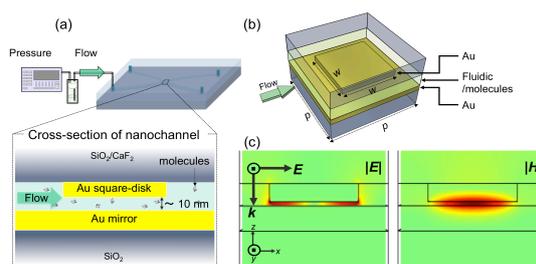


図 1 (a) 提案したデバイスの概念図 (b) 単位セルの構造 (c) 四極子共鳴モードにおいて電場と磁場とも微小光共振器と金属ミラーの間 (ナノチャンネル) に蓄積している。

この構造において、微小光共振器と金属ミラーの距離は共鳴モードに非常に大きく影響するため、その距離をナノメートルスケールで制御する必要がある。しかし、従来の流体デバイスの作製技術では難しい課題であった。そこで、本研究は金属ナノ構造体を装荷するかつナノギャップを精密に制御できるナノ流体デバイスの製作方法を開発した。具体的には、デバイス作製過

程の鍵となった室温でガラスやフッ化カルシウム(CaF<sub>2</sub>)基板同士を接合する手法を開発した。[報告論文①]

#### 4. 研究成果

作製したデバイスを用い、以下の検証実験を実施した。

##### (1) 定性分析の実証

本デバイスによる定性分析の原理検証を行った。一例として、C-H 官能基をターゲットした検出デバイスを設計・作製した。CCl<sub>4</sub> 溶媒で満たしたデバイスの反射スペクトルは図 2 (a) で示したように、作製した構造は 2800~3000cm<sup>-1</sup> において、四極子モードに由来する強い共鳴ピークを表している。C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>/CCl<sub>4</sub> 溶液を導入した時のスペクトルは、3つの C-H 振動の吸収ピークが従来構造の持っている反射ディップの中に堅調に現れた。この結果はデバイスの分子定性の実証となった。さらに、この場合、分子の振動モードは光共振器として扱うことができる。分子と前述したプラズモンモードの相互作用は光共振器同士結合の理論に基づきモデル化することができた。このモデルによってフィッティングされたスペクトルは実験スペクトルがほぼ一致したことから、理論モデルの有効性が実証され、測定したスペクトルの解析法として採用された。

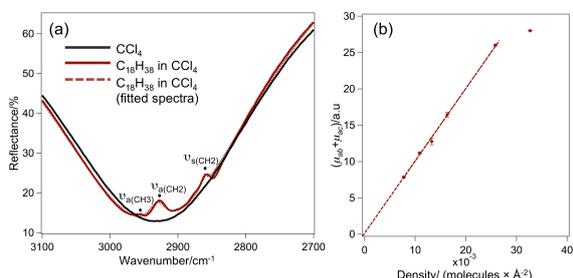


図 1 (a) C<sub>18</sub>H<sub>38</sub> 分子の C-H 振動に由来する 3つの振動モードがメタマテリアルの広い反射ディップの中に明確な吸収ピークとして検出された (b) 分子のシグナルと濃度依存性

##### (2) 定量分析の実証

次に、作製したデバイスに濃度の違い C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>/CCl<sub>4</sub> 溶液を導入してスペクトルを測定した。得られたスペクトルと解析モデルから抽出した分子の信号と濃度依存性を調べたところ、図 2(b) で示したように、低い濃度領域において線形的な関係性が得られた。この結果から、本デバイスの優れた定量分析性能が確認された。得られた検量線から検出限界における分子密度が ~10 × 10<sup>-4</sup> 分子/Å<sup>2</sup> と見積ることができた。この値はこれまでに報告されたメタマテリアルを用いた赤外分光法(SEIRA など)よりも 2桁以上の感度向上を示している。つまり、分子をメタマテリアルのホットスポットに

導入することによって、分子とメタマテリアルの相互作用を最大限に誘導することができた。結果として感度を著しく増強させることが実証された。また、自己組織化単分子膜をメタマテリアル表面に吸着する従来の検出方法とは違い、本手法が正確にターゲットした分子の数をコントロールすることができる。そのため、従来 SEIRA などで困難であった定量分析も可能となった。[5]

##### (3) 水溶液中のタンパク質の測定

赤外吸収分光法は生体分析への応用にあたり、水の強い吸収による妨害が大きな課題となっている。水吸収を抑制する方法として光路長(空間的相互作用)を短くする工夫が多く行われたが、その祭タンパク質などの分子信号も制限されている。そこで、本デバイスは極めて短い光路長を有するにも関わらず、プラズモンニック・メタマテリアルを利用することにより、光と分子との時間的なインタラクションを長くする効果を与える。そのため、極めて短い光路長でも分子を高感度に検出できる。この性質を利用して、水溶液中のタンパク質の検出を試みた。図 3 でタンパク質の吸収バンド(1600~1800cm<sup>-1</sup>)に合わせ設計・作製したデバイスの反射スペクトルを示している。水と水溶液中の Lysozyme(2 mg/ml)で満たされたデバイスの反射スペクトルから、タンパク質の吸収が明確に確認された。また、差スペクトルからタンパク質の Amid I と Amid II の吸収バンドが抽出することができた。このように、本デバイスは水溶液中での赤外吸収検出性能を示しており、生体分子のラベルフリー分析に十分に貢献できると考えられる。

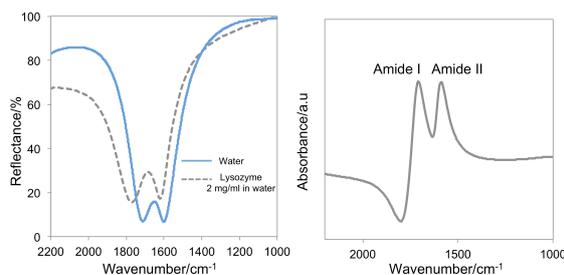


図 3 (a) Lysozyme(2 mg/ml)で満たされたデバイスの反射スペクトル (b) 差スペクトルから抽出したタンパク質の Amid I と Amid II の吸収バンド

一方、本課題は研究開始当初の目標範囲には含まれなかったが、開発されたデバイスを利用してナノ空間に閉じ込まれた水分子やタンパク質分子の構造解析にも成功した。また、ナノ空間における化学反応をプロービングする方法としても適応できると期待される。

このように、本研究は、プラズモンニック・メタマテリアルとナノ流体デバイスを組み合わせた新たな超高感度赤外吸収分光分析デバイスを開発した。本デバイスはナノ流体

工学を利用して検出対象分子をプラズモニック・メタマテリアルのホットスポットに導入できるという大きな特徴がある。それにより、これまでに開発されたメタマテリアルを用いた赤外分光法と比べ2桁以上の超高感度向上を実現した。また、従来困難であった定量分析や水溶液中での赤外吸収測定も成功した。従って、本研究は研究開始当初に設定した目標をほぼ全て実証できた。さらに、開発された方法はナノ空間における赤外分光分析が可能とし、ナノ空間に閉じ込まれる物質の特異現象を開拓する新たな展望も示した。今後の発展は分析化学に限らず、基礎化学やナノ科学に新たな知識をもたらすと期待できる。

[参考文献]

<sup>[1]a)</sup> B. Domon et al., *Science* **312**, 212-7 (2006) (b) K. Wüthrich et al, *Nat. Struct. & Mol. Biol.* **8**, 923-5 (2001)

<sup>[2]a)</sup> K. Ataka et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **49**, 5416-24 (2010) (b) R. Adato et al., *Nat. Com.* **4**, 2154:1-10 (2013) <sup>[3]</sup> M. Osawa et al., *Appl. Spectrosc.* **47**, 1497-1502 (1993) <sup>[4]</sup> L. Novotny et al., *Nat. Photonics.* **5**, 83-90 (2011) <sup>[5]</sup> A. Ishikawa et al., *Sci. Rep.* **5**, 12570 (2015).

## 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)

(1) Thu H. H. Le, T. Tanaka, “Plasmonics-nanofluidics hybrid metamaterial: an ultrasensitive platform for infrared absorption spectroscopy and quantitative measurement of molecules”, *ACS Nano* (in press, DOI: 10.1021/acsnano.7b02743) (査読あり)

(2) S. W. Heo, Thu H. H. Le, T. Tanaka, I. Osaka, K. Takimiya, and K. Tajima, “Cumulative gain in organic solar cells by using multiple optical nanopatterns”, *Journal of Materials Chemistry A* **5**, 10347 (2017) (査読あり)

(3) Thu H. H. Le, and T. Tanaka, “Novel nanofluidic configuration with metamaterials integrated for ultra-sensitive infrared absorption spectroscopy”, *The proceedings of the 20<sup>th</sup> International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*, 1112 (2016) (査読あり)

[学会発表] (計 5 件)

(1) Thu H. H. Le, “Nanofluidic device embedded with metamaterials for ultra-sensitive infrared absorption spectroscopy and its application”, 日本化学会第 97 春季年会、2017年3月16日-19日、慶應義塾大学理工学部・東京

(2) Thu H. H. Le, “Nanofluidic devices with metamaterials embedded for ultra-sensitive infrared absorption spectroscopy”, The 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology, 2016年11月8日-12日, Ha Long・Vietnam

(3) Thu H. H. Le, “Novel nanofluidic configuration with metamaterials integrated for ultra-sensitive infrared absorption spectroscopy”,

The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, 2016年10月9日-13日, Dublin・Ireland

(4) Thu H. H. Le, “Design of plasmonic metamaterials for novel photothermal spectroscopy”, SPIE Nanoscience+Engineering 2016, 2016年08月28日-09月01日, San Diego・USA

(5) Thu H. H. Le, “Novel photothermal spectroscopy using plasmonic metamaterials for detection in nanofluidics”, The 9th International Conference on Nanophotonics, 2016年03月21日-25日, Taipei・Taiwan

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

Le Thu Ha Chuong

(Le Thu Ha Chuong)

国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究領域・国際特別研究員

研究者番号：60752144

(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

( )