

平成 30 年 5 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20870

研究課題名(和文) 可変ナノギャップを利用した表面増強ラマン散乱による生体高分子の高感度検出法の開発

研究課題名(英文) Development of surface-enhanced Raman scattering substrates with high sensitivity using active gap control system

研究代表者

三友 秀之(Mitomo, Hideyuki)

北海道大学・電子科学研究所・准教授

研究者番号：50564952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、超高感度バイオセンシング基材の創製を目指し、ハイドロゲルを基盤とした金属ナノ構造体を精密に動的に制御する機構の開発に取り組んだ。

1. 電子線リソグラフィを利用して金ナノ構造体パターンを作製し、ハイドロゲル表面に転写する手法に改良を加え、構造体の転写効率を高めることに成功した。また、金ナノ構造体の表面修飾を行うことで温度応答性ゲルへの転写も可能になった。
2. ギャップ距離の制御性について、電子顕微鏡による観察から評価し、ギャップ距離が数ナノメートル以下の精度で均一に制御可能であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, to fabricate a biosensing substrate with ultra high sensitivity, active control of gold nanostructures on hydrogels was studied.

1. The method, by which gold nanostructures prepared on the silicon substrates was transferred onto the hydrogel, was improved. As a result, gold nanostructures were efficiently transferred onto the hydrogel and the transfer onto the thermoresponsive hydrogel was also succeeded.
2. Active gap control of gold nanostructures on the hydrogel was evaluated by the electron microscopy. It was observed that the gap distances were homogenously changed in a nanometer-scale. This result supports precise control of the gaps is possible using volume change of the hydrogels.

研究分野：ナノ材料化学

キーワード：金ナノ構造 動的構造制御 表面プラズモン ゲル

1. 研究開始当初の背景

ナノテクノロジーの発展により様々な形・大きさのナノ材料が作製され、ナノサイズ of 材料が特異な性質・機能を示すことが明らかにされてきた。近年、この金属ナノ構造体表面におけるプラズモン(増強電場)によって、吸着分子のラマン散乱シグナルが著しく増強される表面増強ラマン散乱(SERS)を応用した高感度分子検出法の開発が注目を集めてきた。これまでに、局在表面プラズモンによる増強電場は、ナノ構造体の中でも鋭利な箇所で起こることが明らかになっており、現在このような金属ナノ構造体を有する SERS 測定用基板が開発・市販されている。一方、この局在表面プラズモンの増強電場は、隙間の狭いギャップ部分でより一層強く増強されることが明らかとなっているが、狭いギャップは高い増強効果を誘起するものの、狭すぎると標的分子がギャップに入りにくくなり、逆にラマン散乱が弱くなってしまふというジレンマが存在する。そのため、効率よく SERS による検出を行うには、標的物質の大きさに応じて最適な間隙を有する基板を選択・用意する必要があり、高感度センシングが期待されながらも実用化に向かなかつた。

2. 研究の目的

申請者は、既存の SERS 基板が抱えるギャップ距離の問題に対し、「ギャップの距離を自在に変えることができる金ナノ構造体を作製し、広いギャップにより効率よく標的物質を導入し、ギャップを狭めて高いラマン散乱シグナルの増強効果を得る」という解決策(コンセプト)を提案してきた。そして、外部環境変化により大きく体積変化するハイドロゲルに着目し、ゲルの上に金属ナノ構造体を形成することで動的にギャップ制御が可能なプラズモニック材料を作製し、SERS 測定の高感度化への効果を検証してきた。本研究では、最適な金属ナノ構造体の形や大きさ、およびギャップ距離の変化量について明らかにし、この技術をタンパク質やウイルスなどの生体物質を SERS によって高感度に検出可能な測定用基材へと展開することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 金ナノ構造体の作製には電子線リソグラフィ法を適用した。シリコン基板上に一辺が 100 nm 四方の金ナノドットをアレイ状に作製した。その基板上でポリアクリル酸ゲルを重合し、基板から剥がす事で、金ナノドットをゲル表面に転写した。

(2) ゲルの内部溶媒を水溶液から親水性イオン液体(IL: 1-Methyl-Imidazolium hydrogen sulfate)と水の混合溶媒に置換した。減圧して水を揮発させ、膨潤度の異なる複数の IL ゲルを作製した(図1)。耐真空性と導電性を得たポリアクリル酸ゲル表面の金ナノドットを走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

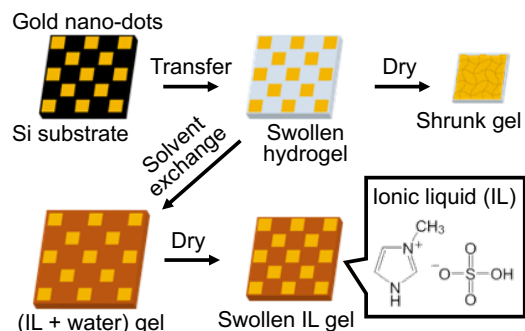


図1. シリコン基板上からハイドロゲルへの転写による金ナノパターンを有するゲルの調製と膨潤溶媒の置換によるイオン液体ゲルの調製

4. 研究成果

(1) 電子線リソグラフィにより作製した金ナノ構造体のハイドロゲルへの転写

ゲル上に固定化する金ナノ構造体について最適な形状を明らかにすることで、より高感度な表面増強ラマン散乱測定基板を作製できると期待された。そこで、形状を自在に制御可能な電子線リソグラフィ法を用いて 100 nm 程度の金ナノ構造体パターンを作製し、ハイドロゲル表面への転写を行った。過去の試料よりも構造体の大きさが小さいため、これまでに開発した方法 (*Adv. Mater.* **2012**, *24*, 5243-5248) では転写効率(再現性)が低く、転写に成功した試料においても肝心の頂点部分が変形して鋭さが失われてしまうことがわかつた。そこで、フォトリソグラフィにより外側に大きめの構造体を作製し、中心部分に電子線リソグラフィで微細な構造体を作製したところ、100%に近い転写効率が実現できることがわかつた。また、シリコン基板上でリソグラフィにより作製した金ナノ構造体をハイドロゲルへ転写する前に各種アルキルチオール分子で表面を修飾することで、構造体の頂点部分の鋭利さを維持できるようになることも明らかにした。さらに、転写前のアルキルチオール分子による修飾において、1級アミノ基を末端に有する 1-amino-undecanethiol を用い、縮合材(EDC)とアクリル酸を処理することで、新たに温度応答性のポリジエチルアクリルアミドゲルへの転写も可能になった。その結果、室温付近の温和な条件下における数度の温度変化でもギャップ距離の制御が可能になった(図2)。本手法は、様々なゲル表

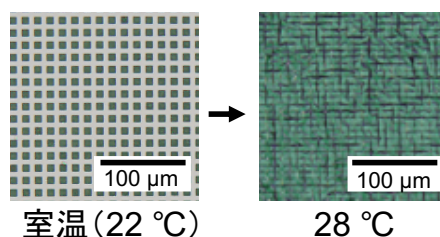


図2. 温度応答性ゲル表面に転写された金のパターン(μメートルサイズ)の温度変化におけるパターン変化の光学顕微鏡像

面への金属ナノ構造体の転写を可能にするものである。

(2) ゲルの体積変化におけるギャップ距離変化の定量

測定対象物質の大きさに対して最適なギャップ距離を設定することで、分子ふるい効果により混合物中から目的分子のシグナルのみを選択的に増強できるようになると考えられる。結果として、多くの夾雑物が存在する環境下においても微量の標的物質を検出可能なシステムへと展開できると期待された。そこで、まずはゲルの体積変化におけるギャップ距離変化の精密な測定を行った。ナノスケールの構造を観察するには一般的に電子顕微鏡が使われるが、ハイドロゲルにおいては測定時に真空下におかれて水が揮発することで収縮(変形)してしまうため、適用できなかった。本研究では、ゲルの膨潤溶媒を水からイオン液体に置換することで、ゲル状態でも電子顕微鏡観察が可能になることを明らかにした。特に、イオン液体と水の混合液に置換した後、減圧により水を揮発させる手法によって、様々な膨潤度のイオン液体ゲルの調製に成功した。膨潤状態の異なるゲル上の金ナノ構造体の電子顕微鏡観察を行い、各膨潤状態におけるギャップ距離とその均一性を評価した。その結果、イオン液体ゲルの膨潤状態(サイズ)の制御により、数ナノメートル以下の精度で均一に構造体を動かせることが明らかになった(図3)。また、顕微分光測定によって、ハイドロゲルと溶媒を置換したイオン液体ゲルのスペクトルが同様であることが確認され、ハイドロゲルの膨潤-収縮においてもナノメートルスケールの精度で均一にナノ構造体を動かすことができると期待された。

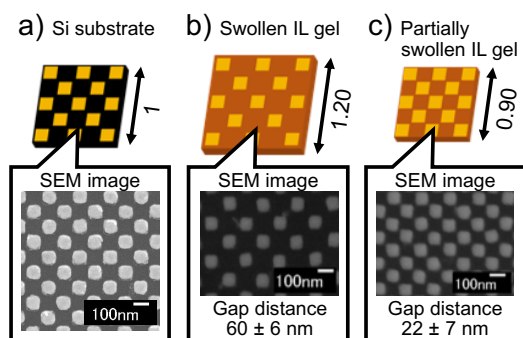


図3. シリコン基板上の金ナノパターン(a)と膨潤度の異なるイオン液体ゲル上の金ナノパターン(b, c)の電子顕微鏡像

本研究では、電子線リソグラフィ法により自由にデザインして金属ナノ構造体を調製し、ハイドロゲルの上に転写し、ナノメートルスケールの精度で均一に構造体を動かすことが可能であることを明らかにした。今後、金属ナノ構造体のギャップ距離を精密に制御することで、タンパク質やウイルスなど測定対象物質を大きさで選別してラマン散乱により高

感度に検出可能になることを実証していくことが必要である。本研究の成果は、市販の携帯型ラマン測定装置により簡便に食品等に付着した微量な食中毒毒素、ウイルスなどの危険物質を検出することや一滴の血液での健康診断など、人類の安全・安心に貢献できる有用な装置の開発につながると期待される。

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7件)

- (1) R. Iida, H. Mitomo, K. Niikura, Y. Matsuo, K. Ijiro, "Two-step Assembly of Thermoresponsive Gold Nanorods Coated with a Single Kind of Ligand", *Small*, **14**, 1704230 (2018), (査読有)
DOI: 10.1002/sml.201704230
- (2) K. Ijiro, H. Mitomo, "Metal nanoarchitecture fabrication using DNA as a biotemplate", *Polymer Journal*, **49**, 815–824 (2017), (査読有)
DOI: 10.1038/pj.2017.63
- (3) Y. Torii, N. Sugimura, H. Mitomo, K. Niikura, K. Ijiro, "pH-Responsive Coassembly of Oligo(ethylene glycol)-Coated Gold Nanoparticles with External Anionic Polymers via Hydrogen Bonding", *Langmuir*, **33**, 5537–5544 (2017), (査読有)
DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01084
- (4) S. Nakamura, H. Mitomo, M. Aizawa, Takeharu Tani, Y. Matsuo, K. Niikura, A. Pike, M. Naya, A. Shishido, K. Ijiro, "DNA Brush-Directed Vertical Alignment of Extensive Gold Nanorod Arrays with Controlled Density", *ACS Omega*, **2**, 2208–2213 (2017), (査読有)
DOI: 10.1021/acsomega.7b00303
- (5) H. Mitomo, S. Nakamura, Y. Suzuki, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijiro, "Preparation and characterization of double-stranded DNA brushes via surface-initiated enzymatic polymerization", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **17**, 8995–9001 (2017), (査読有)
DOI: 10.1166/jnn.2017.14367
- (6) J. Wei, K. Niikura, H. Mitomo, Y. Matsuo, K. Ijiro, "Formation of Plasmonic Vesicles through the Self-assembly of Sugar-terminated Fluorinated Oligo(ethylene glycol) Ligand-tethered Gold Nanoparticles", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **17**, 9149–9156 (2017), (査読有)
DOI: 10.1166/jnn.2017.14373
- (7) K. Nambara, K. Niikura, H. Mitomo, T. Ninomiya, C. Takeuchi, J. Wei, Y. Matsuo, K. Ijiro, "Reverse Size Dependences of the Cellular

Uptake of Triangular and Spherical Gold Nanoparticles", *Langmuir*, **32**, 12559-12567 (2016), (査読有)
DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b02064

[学会発表] (計 17 件)

- (1) 二瓶 瑞生・中村 聡・三友 秀之・松尾 保孝・居城邦治、「ITO 基板上に垂直配向した金ナノロッドアレイの作製と電場による配向変化」、日本化学会第 98 回年会 (2018)
- (2) S. Hamajima, H. Mitomo, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijiro, " Direct SEM observation of gold nanostructures on the polyacrylic acid gel surface", The 18th RIES-HOKUDAI International Symposium (2017)
- (3) M. Nihei, S. Nakamura, H. Mitomo, Y. Matsuo, K. Ijiro, " Orientation change of gold nanorods immobilized on the substrate under the electric fields", The 18th RIES-HOKUDAI International Symposium (2017)
- (4) 三友 秀之、中村 聡、相沢 美帆、松尾 保孝、新倉 謙一、宍戸 厚、居城 邦治、「DNA との静電相互作用を利用したカチオン性金ナノロッド配向集積化」、第 66 回高分子討論会 (2017)
- (5) 濱島 暁、三友 秀之、松尾 保孝、新倉 謙一、居城 邦治、「ハイドロゲル表面に作製した金ナノ構造体のギャップ距離変化の評価」、第 66 回高分子討論会 (2017)
- (6) 鳥居 悠、杉村 尚俊、三友 秀之、新倉 謙一、居城 邦治、「水素結合を介したオリゴエチレングリコール被覆金ナノ粒子とアニオン性高分子の pH 応答性共集合体形成」、第 66 回高分子討論会 (2017)
- (7) 三友 秀之、中村 聡、松尾 保孝、新倉 謙一、居城 邦治、「カチオン性金ナノロッドの相互作用を利用した配向制御」、第 68 回コロイド界面化学討論会 (2017)
- (8) H. Mitomo, S. Nakamura, A. Pike, Y. Matsuo, K. Ijiro, "DNA brush-assisted vertical alignment of gold nanorods and those chiral plasmonics", SPIE. optics+photonics (2017) (招待講演)
- (9) H. Mitomo, S. Nakamura, M. Aizawa, Y. Matsuo, K. Niikura, T. Tani, M. Naya, A. Shishido, K. Ijiro, "Vertically aligned gold nanorod array with a flexible structure immobilized onto DNA-grafted substrates", The 11th Asia-Pacific Conference on Near-Field Optics (APNFO11) (2017)
- (10) H. Mitomo, S. Nakamura, M. Aizawa, Y. Matsuo, K. Niikura, A. Shishido, K. Ijiro,

"Vertical alignment of gold nanorods through the immobilization onto DNA grafted substrates", 10th International Symposium on Nature-Inspired Technology (ISNIT2017)

- (11) H. Mitomo, S. Nakamura, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijiro, "Polymer-Supported Self-assembly of Gold Nanoparticles", The 28th International Conference on Molecular Electronics and Devices (IC ME&D 2017) (2017) (招待講演)
- (12) 中村 聡、三友 秀之、松尾 保孝、新倉 謙一、相沢 美帆、宍戸 厚、居城 邦治、「DNA ブラシを用いたロッド状金ナノ粒子の配向制御」、ナノ学会 第 15 回大会 (2017)
- (13) 濱島 暁、三友 秀之、松尾 保孝、新倉 謙一、居城 邦治、「ゲル表面に配置した金微細構造のギャップ制御と電子顕微鏡による直接観察」、日本化学会第 97 春季年会 (2017)
- (14) H. Mitomo, S. Nakamura, Y. Suzuki, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijiro, "Metal Pattern formations templated on DNA brushes", Asian Conference on Nanoscience and Nanotechnology 2016 (Asia NANO 2016) (2016)
- (15) 鳥居 悠、杉村 尚俊、新倉 謙一、三友 秀之、居城 邦治、「オリゴエチレングリコール被覆金ナノ粒子とアニオン性高分子の pH 依存的複合体形成」、第 65 回高分子討論会 (2016)
- (16) H. Mitomo, S. Nakamura, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijiro, "Tuning of anisotropic optical properties of gold nanorods by immobilization on DNA brush substrates", KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics 2016 (KJF-ICOMEF 2016) (2016)
- (17) H. Mitomo, K. Horie, Y. Matso, K. Niikura, K. Ijiro, "Dynamic change of self-assembled metal nanoparticle film providing a highly functional application", 16th International Conference on Organized Molecular Films (ICOMF16) - LB16 (2016)

[図書] (計 1 件)

- (1) H. Mitomo, K. Niikura, K. Ijiro, "Stimuli-responsive structure control of gold nanoparticle assembly", Stimuli-Responsive Interfaces -Fabrication and Application- (Springer), pp 127-145 (2017),
DOI: 10.1007/978-981-10-2463-4_8

[その他]

ホームページ :

<https://chem.es.hokudai.ac.jp>

アウトリーチ活動：

- (1) 北大こども研究所 (2018.3.26-27)
<https://www.hokudai.ac.jp/events/2018/02/post-653.html>
- (2) バイオミメティクス市民セミナー
(2018.1.6)
<https://www.museum.hokudai.ac.jp/lifelongeducation/publicevents/13067/>
- (3) 科学技術振興機構 (JST) スーパーサイエンスハイスクール (SSH) 事業「札幌啓成高校 SSH 北海道大学研修」 (2016.9.9)
- (4) 夢・化学 2 1 「北海道大学化学系への二日体験入学」 (2016.8.1-2)

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
三友 秀之 (MITOMO HIDEYUKI)
北海道大学・電子科学研究所・准教授
研究者番号： 50564952