

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23750140

研究課題名（和文） 発光性金属クラスターを集積した高機能ナノ粒子の創製

研究課題名（英文） Preparation of high functional nanoparticles integrated luminescent metal cluster

研究代表者

松尾 保孝 (MATSUO YASUTAKA)

北海道大学・電子科学研究所・准教授

研究者番号：90374652

研究成果の概要（和文）：本研究は、発光する金属クラスターを作製し、表面プラズモンを有する金属ナノ粒子上に集積させることで発光効率を向上させた階層構造を持つ新しい発光する金属ナノ粒子を作製することとである。特に DNA を用いた作製方法により生体親和性の高い光る金属ナノ粒子を試みた。その結果、核酸塩基の種類により発光の特徴が変わることがわかり、長時間安定な金属クラスター作製に成功した。この結果、様々な応用が可能であることがわかった。

研究成果の概要（英文）：In this study, the luminescent metal cluster was prepared with DNA and I tried to prepare the hierarchical nanoparticles on the surface covered with luminescent metal cluster. I have investigated the enhancement of luminescence of metal cluster was induced by plasmonic metal nanoparticles. As a results, the luminescent wavelength shifted by base sequence of nucleic acid.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：光物性、ナノ粒子、DNA

1. 研究開始当初の背景

金属ナノ粒子（特に金や銀ナノ粒子）は可視域に表面プラズモンに由来する吸収を持つことや電場増強効果を有することから、物理化学的な現象面からデバイス応用まで幅広く研究がなされている。一方、発光という点に関しては金が二光子励起で発光するという現象が報告されてはいるが発光効率は低く、研究例は少ない。これまで、DNA を鋳型とした金属ナノ構造体の作製について研究を進める過程で DNA を用いて作製した銀ナノ粒子が可視域で非常に強い発光を示すことを見いだした。これは DNA を保護層としてもつ銀ナノ粒子表面に生じた銀クラスターによる発光と考えている。これは銀ク

ラスターと銀ナノ粒子の光学特性が強く結合することで発光が増強したためだと考えている。しかし、銀ナノ粒子と銀クラスター間の光相互作用・発光メカニズムの詳細については明確になっていないために、金属クラスターの発光応用については進展がない状態であった。

2. 研究の目的

発光性金属クラスターを、プラズモンを有する金属ナノ粒子表面に集積した階層構造を持つ新規な発光を有する金属ナノ粒子の創製と光機能の解明を目指した。具体的には DNA を鋳型とする銀クラスターを作製し、金あるいは銀ナノ粒子表面に集積した高機

能ナノ粒子の作製を試み、構造解析や分光計測によって光物性や化学的特性などの分析を試みた。同一金属種でありながら発光と電場増強という異なる機能を発現・結合させることで生じる新規の光機能性について検討した。また、発光性金属クラスター作製にDNAを用いることで生体適合性を併せ持つ高機能ナノ粒子の創製を目指した。

3. 研究の方法

本課題ではDANと硝酸銀水溶液の混合溶液から銀イオンを化学的に還元し、DNAによって保護された発光性銀クラスターを作製する。作製条件（溶液濃度、還元剤、DNAの塩基配列等）をパラメータとして発光性銀クラスターの形状・発光スペクトルの制御・安定性について検討を行った。その後、末端にチオール基を持つDNAにより銀クラスターを作製し、チオールによる表面交換反応を利用してプラズモンを有する金あるいは銀ナノ粒子上に発光性銀クラスターを集積したナノ粒子の作製を試みた。TEMによる銀クラスターおよび銀クラスター集積ナノ粒子の構造解析、XPSやFT-IRによるDNAの結合状態解析、吸収・発光スペクトルやナノ粒子の散乱スペクトル、発光寿命といった光物性測定から銀クラスター-金属ナノ粒子間の光相互作用について考察を行った。

また、ナノ粒子-金属クラスター間の光相互作用を解析する上でナノ粒子の粒径分布や発光強度が弱いことなどが影響し、正確な光相互作用について計測・評価が困難になることから、電子ビームリソグラフィとリフトオフ法を用いることでガラス基板表面上にプラズモンを有する100nm程度の金属ナノ構造を高精度に作製し、この金属ナノ構造上に発光性銀クラスターを集積した。この基板を用いた顕微分光を行うことで高感度に光相互作用の解析を試みた。

4. 研究成果

シトシン(C)が12個連なった一本鎖DNA(オリゴヌクレオチド:dC12)を含む緩衝溶液に硝酸銀水溶液を加え、さらに還元剤(NaBH₄)を加えた。(Fig.1)

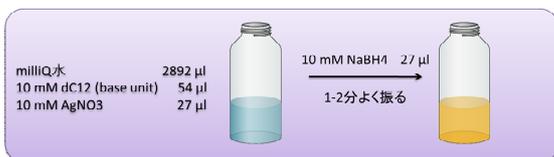


Fig.1 銀クラスター作製プロセス

その結果、発光が観測できた。(Fig.2)

また、この発光は3時間程度の時間スケールで徐々に増強することがわかった。(Fig.3) 既報の銀クラスター発光スペクトルと一致していることから、銀クラスター

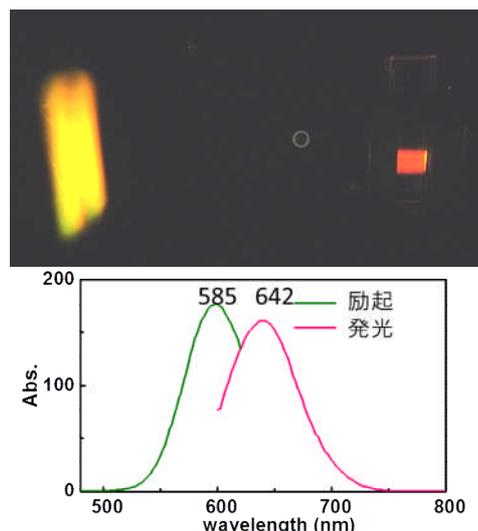


Fig.2 クラスター発光(上・右の赤色)と励起・発光スペクトル(下)

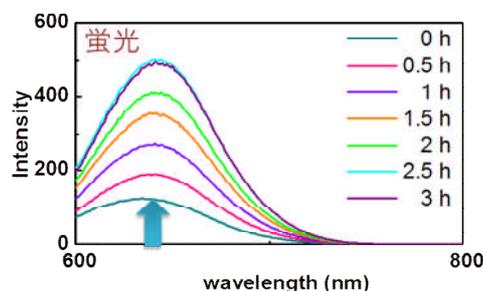


Fig.3 発光スペクトルの時間変化

が生成されていると考えられ、発光させることに成功した。また、時間発展があることから銀クラスターは徐々に生成量を増やしていくことと考えられる。

次に、金や銀ナノ粒子に集積するために、末端にチオール基を持つdC12を含む緩衝溶液に硝酸銀水溶液を加えた混合溶液を作製し、この溶液に還元剤(NaBH₄)を加えた。その結果、未修飾dC12と同様の発光スペクトルが観測された。また、チオール基ではなく、アデニン5量体を追加したオリゴヌクレオチド(dC12A5)を用いて銀クラスターを作製したところ、ピーク波長が長波長にシフトして発光することがわかった。このことから末端修飾は発光波長に影響を与えるが、銀クラスターの生成を阻害することや発光を消光させる現象は起こらないことを家訓することができた。

さらに、作製した銀クラスターの発光が金属ナノ粒子のプラズモンによって増強あるいは消光される過程を観察するために、金ナノ粒子との混合溶液を作製した。しかしながら、明確な発光増強を確認することはできなかった。

そこで、より精度の高い測定のために電子

ビーム描画 (EB) を用いたナノリソグラフィ技術を活用して、100nm 程度の金ナノブロック構造が隣接した金ナノダイマー構造を作製した。これに、銀クラスター溶液を滴下することでチオール基を介して金ナノ構造への銀クラスターの結合・集積化を試みた。消光は観測されなかったことから金ドットに銀クラスターが密着することなく集積化したと考えている。一方、金ナノダイマー構造は隣接する部分に非常に強い増強電場が生じ、増強ラマン散乱などが誘起されることが知られている。オリゴヌクレオチド自身も強いラマン散乱光を誘起することが知られているが、今回の測定ではそのシグナルは観測されなかった。このことから、金ナノダイマー上に効率的に銀クラスターが集積できていないことや、銀クラスターの吸収帯とプラズモン波長がカップリングしなかったことが原因として考えられる。

金ナノ粒子と銀クラスターのエネルギー的なカップリングを検証するために、dC12の末端に蛍光色素である FITC を修飾した分子での銀クラスター作製を試みた。その結果を Fig. 4 に示す。それぞれの励起帯を個別に励起したところ、それぞれの発光が観測され、蛍光エネルギー移動 (FRET) の様な現象は確認できなかった。オリゴヌクレオチドに種々の分子を修飾する場合は一定長さのリンカー分子が挿入される。この長さを考えると、FRET は起こりにくいことが予想され、今回の結果はそれを確認したこととなった。このこ

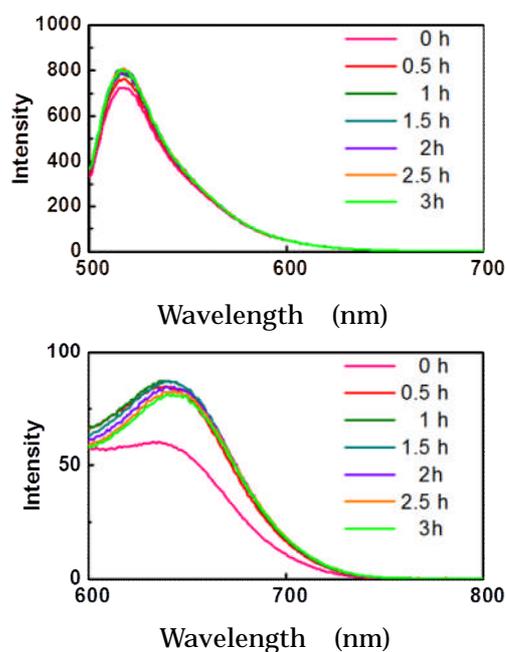


Fig. 4 FITC 結合型・銀クラスターの発光スペクトル (上) FITC 励起 (下) 銀クラスター励起

とから金ナノ粒子などに固定化した際にもエネルギー移動の様な現象は起こらないと考えられる。

今後はナノ構造への結合・固定化方法の検討、また、結合させるナノ構造材料として銀やアルミニウムなどの異なる材料について検討を行い、目的とするプラズモン増強を利用した発光増強を引き起こす階層構造が実現できる方法を探索する。

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 5 件)

(1) Shota Sekiguchi, Kenichi Niikura, Yasutaka Matsuo, and Kuniharu Ijro, Hydrophilic Gold Nanoparticles Adaptable for Hydrophobic Solvents, Langmuir, **28** (2012) 5503-5507, DOI: 10.1021/la300299x (査読有り)

(2) Guoqing Wang, Ayako Ishikawa, Asumi Eguchi, Yasunobu Suzuki, Shukichi Tanaka, Yasutaka Matsuo, Kenichi Niikura, Kuniharu Ijro, Sequence-Specific Metallization of Single Divalent DNA-Nanoparticle Conjugates: A Potential Route to Single-Electron Devices, CHEMPLUSCHEM, **77** (2012) 592-597 DOI: 10.1002/cplu.201200096 (査読有り)

(3) S. Sekiguchi, K. Niikura, Y. Matsuo, S. H. Yoshimura, K. Ijro, Nuclear transport facilitated by the interaction between nuclear pores and carbohydrates, Rsc Advances, **2**, (2012) 1656-1662 DOI: 10.1039/C1RA00616A (査読有り)

(4) G. Wang, T. Nishio, M. Sato, A. Ishikawa, K. Nambara, K. Nagakawa, Y. Matsuo, K. Niikura, K. Ijro, Inspiration from chemical photography: accelerated photoconversion of AgCl to functional silver nanoparticles mediated by DNA, Chemical Communications, **47** (2011) 9426-9428 DOI: 10.1039/C1cc13385c (査読有り)

(5) K. Nagakawa, K. Niikura, T. Suzuki, Y. Matsuo, M. Igarashi, H. Sawa, K. Ijro, Virus Capsid Coating of Gold Nanoparticles via Cysteine-Au

Interactions and Their Effective Cellular Uptakes, Chemistry Letters, 43 (2011) 113-115
DOI: 10.1246/Cl.2012.113
(査読有り)

[学会発表] (計 8 件)

① Yasutaka Matsuo, Kyouji Honma, Kuniharu Ijro, Hiromi kimura-Suda, Detection of herbal medicine ingredient by Surface Enhanced Raman scattering Spectroscopy, Seventh International Conference on Molecular Electronics and Bioelectronics, 2013 年 03 月 17 日～2013 年 03 月 19 日、福岡国際会議場 (福岡市)

②本間教嗣、松尾保孝、居城邦治、木村一須田廣美、表面増強ラマン散乱分光法を用いた生薬の分析、第 6 回バイオ関連化学シンポジウム、2012 年 9 月 6 日～2012 年 9 月 8 日 北海道大学 (札幌市)

③ Guoqing Wang, Yasutaka Matsuo, Kenichi Niikura, Kuniharu Ijro, DNA-mediated photoconversion of AgCl to functional nanocrystals, Spring 2012 San Diego ACS National Meeting & Exposition, 2012 年 3 月 25 日-3 月 29 日, San Diego Convention Center, (サンディエゴ, アメリカ)

④鈴木康修、江口明日美、松尾保孝、新倉謙一、居城邦治、DNA ブラシの光マイクロパターンニングとデバイスへの応用、日本化学会第 92 春季年会、2012 年 3 月 25 日～28 日 慶應義塾大学 (横浜市)

⑤ Guoqing Wang, Aya Tanaka, Yasutaka Matsuo, Kenichi Niikura, Kuniharu Ijro, DNA-Templated Self-Assembly of Conductive Nanowires, EcoDesign2011, 2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日 京都テルサ(京都市民総合交流プラザ) (京都市)

⑥ Guoqing Wang, Yasutaka Matsuo, Kenichi Niikura, Kuniharu Ijro, DNA-Mediated Photoconversion of AgCl to Functional Nanocrystals, The 38th International Symposium on Nucleic Acid Chemistry (ISNAC2011), 2011 年 11 月 9 日-11 月 11 日 北海道大学 (札幌市)

⑦関口翔太、新倉謙一、松尾保孝、居城邦治、量子ドットの 3 次元ネットワークの作製、第 63 回コロイドおよび界面化学討論会、2011 年 9 月 7 日-9 月 9 日、京都大学 (京都市)

⑧ Guoqing Wang, Yasutaka Matsuo, Kenichi Niikura, Kuniharu Ijro, DNA-Mediated Photoconversion of AgCl to Functional Nanoparticles, ナノ学会第 9 回大会, 2011 年 6 月 2 日～6 月 4 日 北海道大学 (札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松尾 保孝 (MATSUO YASUTAKA)

北海道大学・電子科学研究所・准教授

研究者番号：90374652

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし