

整理番号	2019-J-134	報告者氏名	當麻真奈
------	------------	-------	------

研究課題名

プラズモニック呈色膜を用いた高感度モバイル型バイオセンサの開発

<代表研究者> 機関名： 東京工業大学 職名：助教 氏名：當麻真奈

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：  
 機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

近年、人口の高齢化に伴う疾病の増加、食品の安全性や新たな感染症流行への懸念から、疾病に関連するタンパク質や核酸などの分子マーカーや病原体を含む生体分子の迅速・高感度検出技術の重要性が高まっている。本研究では、金属ナノ構造配列が示すプラズモニック色に着目し、検出標的の生体分子をセンサーチップの色の変化で検出可能なバイオセンサーを開発することを目的としている。呈色を示す金属ナノ構造としては、ポリスチレンの粒子膜に金属薄膜を製膜して得られる金属ナノドーム構造を用いた。本研究では、金属ナノドーム構造の作製に用いるポリスチレン粒子の配列状態が、金属ナノドーム構造の光学特性および基本的なセンサー性能にどのような影響を与えるかを明らかにするとともに、比色法で高感度な屈折率計測が可能な金属ナノドーム構造の色についての検討を行った。その結果、金属ナノドーム構造の色を最適化することによって、簡易な比色法による計測であっても、従来の分光法を上回るセンサー性能が得られる可能性が示唆された。本研究に関する研究成果は、国内および国際学会で口頭発表を行い、査読付きの学術誌へ投稿した。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

（口頭発表）

1. (Invited) **Mana Toma**, Color generation in plasmonic metasurface and biosensor application, 11th International Symposium on Organic Molecular Electronics (ISOME 2020), Aug. 2020.

2. **當麻真奈**. Plasmonic coloration of metal nanodome arrays and their biosensor application, ナノ学会 ナノ構造・物性ーナノ機能・応用部会合同シンポジウム, Feb. 2020.

（誌上）

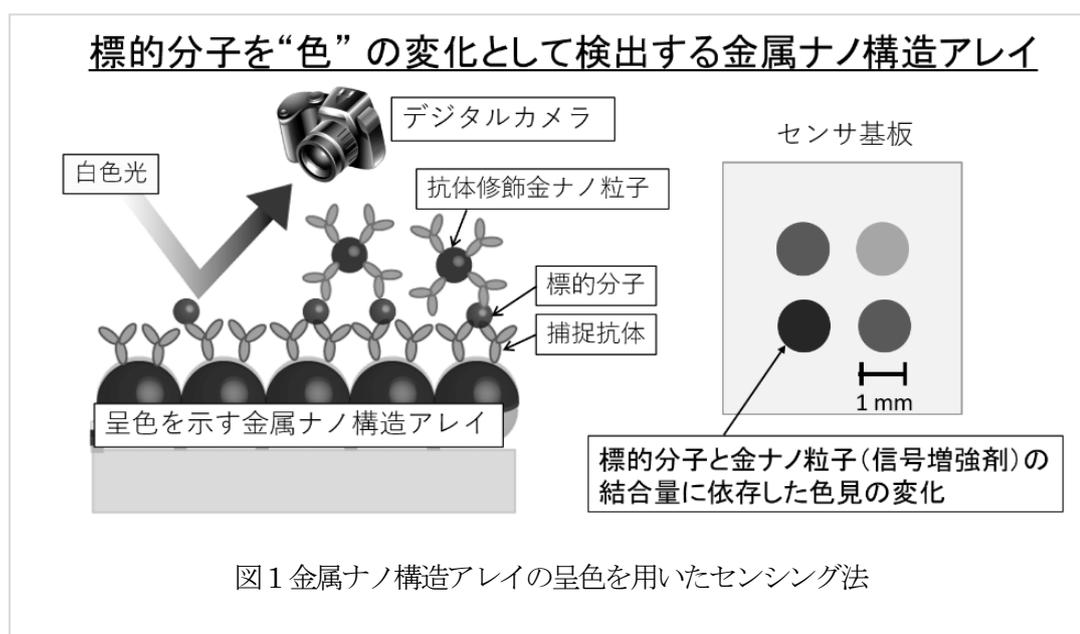
1. **M. Toma**, Y. Itakura, K. Kajikawa, “Effect of Arrangement of Ag Nanodomains on Performance of Plasmonic Sensor”, *Sensors and Materials* **33**, 201-209 (2021).

## <研究の目的、経過、結果、考察>

### 【研究の目的】

近年、人口の高齢化に伴う疾病の増加、食品の安全性や新たな感染症流行への懸念から、疾病に関連するタンパク質や核酸などの分子マーカーや病原体を含む生体分子の迅速・高感度検出技術の重要性が高まっている。金属をナノメートルスケールまで微細化した金属ナノ構造体は、表面プラズモン共鳴現象によって特異な光学特性を示し、生体分子を迅速かつ高感度に検出可能なバイオセンサー技術（プラズモニックバイオセンサー）へと応用されている。金属ナノ構造体の工夫によって、低濃度の生体分子の高感度検出が実現しつつある一方、分光器を用いた従来の測定法では、装置のコストダウンや小型化が課題であった。そこで、スマートフォンのカメラ機能を信号の計測に用いるモバイル型のプラズモニックバイオセンサーの研究が注目を集めている。本研究では、金属ナノ構造配列が示すプラズモニック色を利用し、検出標的の生体分子をセンサーチップの色の变化で検出可能なバイオセンサーを開発することを目的としている。モバイル端末のカメラ機能で取得されるカラー画像の RGB 値から計測可能なセンサー基板の色を信号値として利用することで、場所に依らず高感度に生体分子計測が可能なバイオセンサーの実現を目指している。

本研究で提案する比色型のプラズモニックバイオセンサーの概要を図1に示す。センサーの感応部には、鮮やかなプラズモニック色が見られる金属ナノ構造体配列を用いる。本研究ではプラズモニック呈色を示す金属ナノ構造として、金属ナノドーム構造を用いた。この構造は、ポリスチレンの微粒子が配列した粒子膜上に金属薄膜を成膜して作製できるため、構造作製に大型の微細加工装置が不要で、光学特性を決定づける構造パラメーターも容易に制御可能である、といった利点がある。従来の分光法に基づくプラズモニックバイオセンサーでは、生体分子の特異結合によって引き起こされる共鳴波長の変化量が、標的分子の検出感度を決定する重要な要素である。一方で、本研究で提案する比色型のプラズモニックバイオセンサーでは、共鳴波長の変化量に加えて、呈色の变化が現れやすい波長域に金属ナノ構造の共鳴波長を調整する必要がある。そこで、本研究では金属ナノドーム構造のプラズモニック色を制御し、比色法に適した色および構造パラメーターについての基礎的な検討を行った。



## 【これまでの研究経過と結果】

金属ナノドーム構造の共鳴波長を制御するパラメーターとしては、構造作製に用いるポリスチレン粒子の粒径や粒子の配列状態、製膜する金属薄膜の金属種や膜厚が挙げられる。これまでの研究で、粒径 200nm 程度のポリスチレン粒子を用いて作製した金属ナノドーム構造が、比色型のバイオセンサーに有用であることが明らかになっている[M. Toma *et al.* *Nanoscale advances* (2019)]。本研究で提案する比色型のプラズモニックバイオセンサーでは、センサー表面への生体分子の特異結合によって引き起こされる共鳴波長の変化を、カラー画像の RGB 値から変換した色空間座標の変化量として測定する。カラー画像の RGB 値の光強度の検出感度は波長依存性を持つため、バイオセンサーの測定感度も金属ナノ構造の共鳴波長に依存する。本研究でプラズモニック色を示すセンサー基板として用いる金属ナノドーム構造は、ポリスチレン粒子の配列状態や粒径によって発色の制御が可能である。そこで、本研究では、①構造のテンプレートとして用いるポリスチレン粒子の配列状態がセンサー性能に及ぼす影響の評価、および②ポリスチレン粒子の粒径による発色制御とセンサー性能評価を行ったので、以下にその結果を報告する。

### ① ポリスチレン粒子の配列状態がセンサー性能に及ぼす影響の評価

まず初めに、粒径 200nm のポリスチレン粒子の配列状態を変化させ、金属ナノドーム構造の光学特性を評価した。ポリスチレン粒子膜の作製にはスピコート法を用い、スピコート溶液の濃度を変化させ、粒子の被覆率と配列状態の異なるポリスチレン粒子膜を作製した。作製したポリスチレン粒子膜上に、銀薄膜を製膜し、銀ナノドーム構造を作製した。銀ナノドーム構造表面には、酸化防止膜として膜厚約 5nm の金を蒸着して用いた。センサー性能の評価には、分光法と比色法との比較を行うため、同一カ所での反射スペクトルと反射像の観察が可能な反射頭微分光装置を構築して用いた。基本的なセンサー特性の評価には、屈折率の異なる溶液を試料として屈折率感度測定を行った。図 2 に、作製した銀ナノドーム構造の配列の模式図と、反射スペクトル、および反射像を示す。スピコートしたポリスチレン溶液濃度を変化させることによって、ポリスチレン粒子の単層の最密構造、2次元クラスターおよび多層構造を作製できた。配列状態の異なる銀ナノドーム構造の反射スペクトルを測定したところ、配列状態に応じて反射スペクトルにディップとして現れる共鳴波長が 200nm 以上変化することが明らかになった。スペクトルの変化に伴い、水界面におけるセンサー基板の色も黄色、赤紫色、青緑色と大きく変化した。

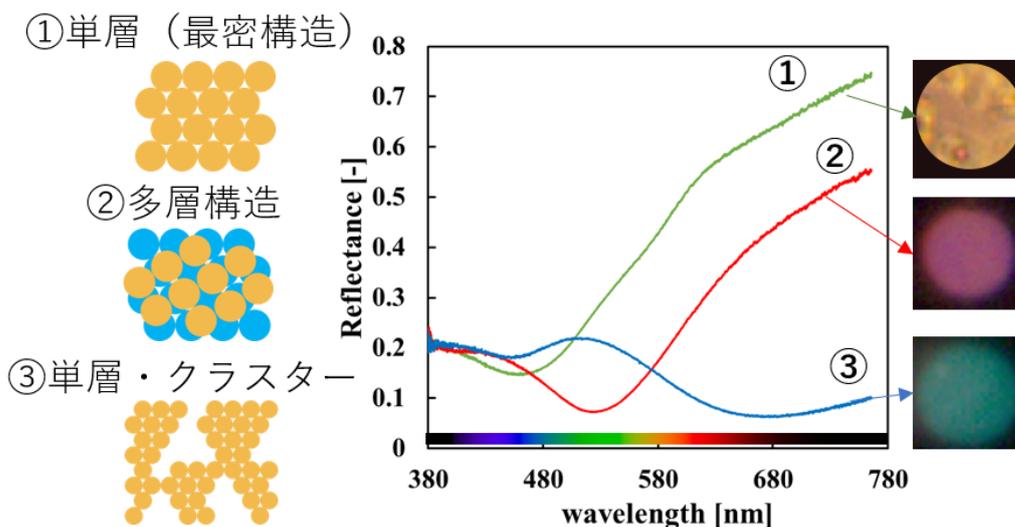


図 2. 作製した銀ナノドーム構造の配列状態、水界面での反射スペクトルおよび反射像。

反射スペクトルのディップ波長シフト量を指標として、溶液の屈折率感度測定を行った結果、ドーム構造が密に配列したセンサー基板のバルク屈折率感度が 278 nm/RIU (RIU : refractive index unit) であったのに対し、構造の被覆率の低いセンサー基板ではセンサー感度が 516 nm/RIU と 2 倍近く向上することが明らかとなった。しかしながら、反射像の RGB 値から算出した色相角度の変化量からは、赤紫色に発色する銀ナノドーム構造で最も高いバルク屈折率感度 ( $-396 \text{ deg/RIU}$ ) が得られ、分光法で最も感度の良かった単層 (低被覆率) で得られた値の約 2.5 倍となり、比色法によるセンサー感度のディップ波長依存性が明らかとなった。

## ② ポリスチレン粒子の粒径による発色制御とセンサー性能の改善

次に、ポリスチレン粒子の粒径による銀ナノドーム構造の発色制御を行った。ポリスチレン粒子の粒径を、200、250、300nm として、ポリスチレン粒子が単層・最密で配列した粒子膜を用いて銀ナノドーム構造を作製した。ポリスチレン粒子の粒径が 200、250、300 nm と大きくなるに従い、水界面中で反射スペクトルに現れる銀ナノドーム構造の反射ディップ波長は 445、560、595 nm に長波長シフトし、プラズモニック色も黄色、赤紫色、青緑色と変化した。カラー画像の RGB 値から変換した色相角度 (Hue) を指標として評価したバルク屈折率感度は、粒径 250nm のポリスチレン粒子で作製し、水界面において赤紫色に発色したセンサー基板で最も優れた屈折率感度および分解能が得られ、分光法による測定よりも性能が向上することが示された。FDTD 法を用いて反射スペクトルのシミュレーションを行った結果、反射スペクトル中の反射ディップが 570~600 nm の波長域で変化する際に、色相角度の変化量が最大となることが示された。このことから、銀ナノドーム構造のプラズモニック色を最適化することによって、簡易な比色法による計測でも分光法に劣らない優れたセンサー性能が得られる可能性が示唆された。

続いて、比色法で高感度な屈折率計測が可能な銀ナノドーム構造を用いた生体分子の検出を行った。この測定では、分子マーカーのモデル物質としてウサギ IgG を検出対象としたイムノアッセイを行った。銀ナノドーム構造を作製したセンサー基板に、抗ウサギ IgG 抗体を固定化し、ウサギ IgG の結合によるセンサー信号を測定した結果、非標識の直接検出においても数 nM レベルのウサギ IgG が検出可能であることが明らかとなった。

以上の結果から、銀ナノドーム構造からなるプラズモニック呈色膜を用いた比色型のプラズモニックバイオセンサーの開発に向けて基礎的な知見が得られた。特に、発色を制御することによって、高い屈折率感度が得られるセンサー基板の色が明らかとなり、直接検出法においても数 nM レベルでの生体分子の計測が可能であることが明らかとなった。現在、分子マーカーの高感度検出に向けて、分子マーカーを基板表面に補足するための生体識別素子およびセンサーの表面修飾法についての検討を進めている。また、モバイル端末を用いた分子マーカーの検出においては、銀ナノドーム構造を含む金属ナノ構造配列の更なる最適化による検出感度の向上や、測色の精度向上のための解析手法の確立などが今後の課題となる。