

課題番号	LR007
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	プラズモニック結晶ナノアンテナ構造による革新的ナノバイオ計測
研究機関・ 部局・職名	九州大学・先導物質化学研究所・教授
氏名	玉田 薫

1. 当該年度の研究目的

<p>本研究は、金属ナノ微粒子の多次元（1次元、2次元、3次元）結晶および複雑系における局在プラズモンの協同励起（collective resonance）に関する申請者の独創的研究を、癌マーカー高感度検出やリアルタイム1分子計測に応用しライフ・イノベーションを推進しようというものである。平成25年度は平成24年度の成果を踏まえながら、プロジェクト最終年として計画を一部変更し、バイオ応用において実施例を出すことに集中した。</p> <p>1. <u>高感度プラズモン増強蛍光バイオセンサーの試作</u> 我々が開発した微粒子シートを実際にバイオ系研究者に使用してもらい、その実用効果ならびに応用の方向性を検討する。特に細胞イメージングへの応用価値について確認する。</p> <p>2. <u>金微粒子による1分子蛍光イメージング</u> 高分解能イメージングに適用できるのが銀微粒子シートを用いる本法の最大の利点である。銀微粒子に代わり金微粒子を用いることで、蛍光が増強できる波長範囲を広げ、多色イメージングについて検討する。生体観察における用途を広げるのが目的である。</p> <p>3. <u>バイオセンサー試作</u> アビジン-ビオチン反応によるバイオセンシングモデル実験や、TiO₂やZnOなどの高屈折率材料にスペーサーを変え、蛍光増強度を上げる検討など、平成24年度に達成できなかった内容について継続検討する。さらに、①金微粒子による蛍光消光を使ったバイオセンサーや、②目視で反応が確認できるフルカラーセンサーなど、本プロジェクトの基盤的成果を用いた新規バイオセンサーの開発に注力する。</p> <p>4. <u>これまでの成果のまとめ</u> プロジェクト前半で明らかにした多次元・複雑系プラズモン特性等について、論文／著書としてまとめる。</p>
--

2. 研究の実施状況

1. 高感度プラズモン増強蛍光バイオセンサーの試作（細胞観察）

我々が開発した微粒子シートでは、基板から数 10nm の領域でのみ明確な蛍光増強特性が現れる。高分解能イメージングに適したこの手法は、タンパク質 1 分子や細胞膜の観察に適していると考えられる。広島大学医歯薬保健学研究院との共同研究により、銀微粒子二次元シート基板上での細胞蛍光観察を試みた結果、細胞の接着点についてより高いコントラストで可視化することができた。また、銀微粒子シート上への接着細胞において、接着抑制効果が確認された。すなわち本実験を通じて、接着界面における高分解能画像に加えて、銀微粒子の細胞（生体）毒性に関わる重要な知見を得ることができた。

2. 金微粒子による 1 分子蛍光イメージング

図 1 の蛍光像は、銀微粒子シートを蛍光増強に用いて、TRITC 色素（488nm 励起、600–681nm 発光）を用いた実験であるが、これを金微粒子シートに代えて、Alexa-Fluor647 色素（591nm 励起、615–678nm 発光）染色によるイメージング実験を実施した。蛍光増強度に関する定量的議論はまだ未達であるが、銀微粒子シート上と同様に、金微粒子シート上画像で接着点のコントラストの向上を確認できた。さらに、銀微粒子シートとは異なり、金微粒子シート上では細胞接着がガラス基板同様に良好であることを確認した。両微粒子ともに疎水性キャッピング分子で被覆した構造を有することから、細胞接着性の違いは、有機分子によるものではなく、金属コアの性質によるものであると考えられる。

3. バイオセンサー試作

銀微粒子シート上 SiO₂ スペーサー層にシランカップリング剤を介してストレプトアビジンを固定化、その上にビオチン分子で修飾した金微粒子を分子認識的に吸着させるモデル実験系を確立した。これを用いて、①金微粒子による蛍光消光を使った高感度バイオセンサー、②リトマス紙のように目視で反応が確認できるフルカラーバイオセンサーの基本システムの考案に成功した。本成果について、現在論文準備中。

さらに蛍光増強度低下の一因であったスパッタ成膜による微粒子シートのダメージを回避する目的で、今期 SiO₂ 蒸着装置を導入し、より温和な条件で、1nm 以下の厚み制御下で SiO₂ スペーサー層を成膜できるように設備を整えた。TiO₂ や ZnO などの高屈折率材料については、スペーサー層への直接のエネルギー移動による蛍光失活が顕著であり、期待したような蛍光増強度の向上はみられなかった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. E. Usukura, S. Shinohara, K. Okamoto, J. Lim, K. Char, <u>K. Tamada</u>*, Highly confined, enhanced surface fluorescence imaging with two-dimensional silver nanoparticle sheets, Appl. Phys. Lett., 104, 121906 (2014). ISSN:0003-6951, E-ISSN: 1077-3118 2. M. Yamamoto, R. Ueda, T. Terui, K. Imazu, <u>K. Tamada</u>, T. Sakano⁴, K. Matsuda, H. Ishii, and Y. Noguchi*, Wavelength dependence and multiple-induced states in photoresponses of copper phthalocyanine-doped gold nanoparticle single-electron device, Jpn. J. Appl. Phys. 53, 01AC02 (2014). ISSN online: 1347-4065, print: 0021-4922 3. D. Tanaka, S. Shinohara, E. Usukura, P. Wang, K. Okamoto, and <u>K. Tamada</u>*, High-sensitivity surface plasmon resonance sensors utilizing high-refractive-index silver nanoparticle sheets, Jpn. J. Appl. Phys. 53, 01AF01 (2014). ISSN online: 1347-4065, print: 0021-4922 <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Akira Baba, Keisuke Imazu, Akihito Yoshida, Daisuke Tanaka and Kaoru Tamada, Surface Plasmon Resonance Properties of Silver Nanoparticle 2D Sheets on Metal Gratings, accepted in SpringerPlus (2014).
<p>会議発表 計 19 件</p>	<p>専門家向け 計 18 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>K. Tamada</u>, Application of Multilayered Silver Particle 2D Crystalline Films, The 2013 International Symposium on Modern Optics and Its Applications (ISMOA2013), Bandung, Indonesia, June 26, 2013. (口頭、招待講演) 2. <u>K. Tamada</u>, Bio-application of Multidimensional Metallic Nanoparticle Sheet, ICMAT 2013, Singapore, July 4, 2013. (口頭、招待講演) 3. <u>K. Tamada</u>, Dimensional Optical Property of Self-assembled Metallic Nanoparticles, IUPAC 9th International Conference on Novel Materials and their Synthesis (NMS-IX) & 23rd International Symposium on Fine Chemistry and Functional Polymers (FCFP-XXIII), Shanghai, China, October 18, 2013. (口頭、招待講演) 4. <u>K. Tamada</u>, Bio-Application of Ag Nanoparticle 2D Sheet, Annual Meeting of the Physical Society of Republic of China, Taichung, Taiwan, Jan. 22, 2014. (口頭、招待講演) 5. 玉田 薫, 金属微粒子積層膜によるフルカラーコーティング, 学振 136 委員会「将来加工技術シンポジウムin九州」ヒルトン福岡シーホークス, 2014.3.3. (口頭、招待講演) 6. Wang Pangpang, Patterning on a 2D crystal nano sheet composed of silver nano-particles using AFM local oxidation nano-lithography, 日本化学会第 94 春季年会, 名古屋大学, 2014.3.27-30 (口頭、招待講演) 7. 大岩 さゆり, Wu Wenya, Chan Yinthai, 岡本 晃一, 玉田 薫, Localized surface plasmon field-enhanced fluorescence on Au nanoparticle sheet, 第 21 回日本化学会九州支部・韓国化学会支部合同セミナー, 2013.6.13. (ポスター、一般講演) 8. Pangpang Wang, Koichi Okamoto and Kaoru Tamada, Optical Properties of Silver Nanoparticle Monolayer with Patterns, 2013 JSAP-MRS Joint Symposia, Doshisha

様式19 別紙1

	<p>University, Kyoto, Japan, 2013.9.16-20. (口頭、一般講演)</p> <p>9. 臼倉英治, 岡本晃一, 玉田薫, 銀ナノ粒子2次元シートの電場増強効果を利用した蛍光増強基板, 第74回応用物理学会秋季学術講演会, 同志社大学, 2013.9.16-20. (口頭、一般講演)</p> <p>10. 臼倉英治、岡本晃一、玉田薫, 銀微粒子2次元シート基板の蛍光増強効果, 第64回コロイドおよび界面化学討論会, 名古屋工業大学, 2013.9.19. (口頭、一般講演)</p> <p>11. 臼倉英治, 岡本晃一, 玉田薫, 銀微粒子2次元シート基板を利用した蛍光顕微鏡観察, 2013年真空・表面科学合同講演会(第33回表面科学学術講演会), つくば国際会議場, 2013.11.25. (口頭、一般講演)</p> <p>12. 出川亮, 朴秀知, 坂井伸行, 立間徹, 岡本晃一, 玉田薫, 金属微粒子多層積層膜を用いた非接触光触媒作用の評価, 2013年真空・表面科学合同講演会(第33回表面科学学術講演会), つくば国際会議, 2013.11.25. (口頭、一般講演)</p> <p>13. 大岩さゆり, Wu Wenya, Chan Yinthai, 岡本晃一, 玉田薫, 金属微粒子ナノシートにおける蛍光増強特性評価, 2013年真空・表面科学合同講演会(第33回表面科学学術講演会), つくば国際会議, 2013.11.25. (口頭、一般講演)</p> <p>14. 出川亮, 朴秀知, 坂井伸行, 立間徹, 岡本晃一, 玉田薫, 金属微粒子多層積層膜を用いた非接触光触媒作用の評価, 応用物理学会九州支部学術講演会—九州支部設立60周年記念大会, 長崎大学, 2013.11.30. (口頭、一般講演)</p> <p>15. 臼倉英治, 柳瀬雄輝, 岡本晃一, 玉田薫, 金属微粒子シートを用いた蛍光顕微鏡観察, 第11回プラズモニクス研究会, 広島大学, 2014.1.24. (口頭、一般講演)</p> <p>16. 田中大輔, 臼倉英治, 大岩さゆり, 今津圭介, 岡本晃一, 玉田薫, 金・銀ナノ粒子混合LB膜の局在プラズモン共鳴特性, 第11回プラズモニクス研究会, 広島大学, 2014.1.24. (口頭、一般講演)</p> <p>17. 篠原修平, 岡本晃一, 玉田薫, 銀ナノ微粒子二次元シートによる蛍光増強, 第60回応用物理学会春季学術講演会, 神奈川工科大学, 2014.3.28. (口頭、一般講演)</p> <p>18. 田中大輔, 臼倉英治, 大岩さゆり, 今津圭介, 岡本晃一, 玉田薫, 金・銀ナノ粒子混合LB膜の局在プラズモン共鳴特性, 第60回応用物理学会春季学術講演会, 神奈川工科大学, 2014.3.28. (口頭、一般講演)</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>19. 玉田薫, 金属微粒子を使ったフルカラーコーティング, 第5回新潟大学イノベーションサロンセミナー, 新潟大学ベンチャービジネスラボラトリー, 2014.11.22.</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.cm.kyushu-u.ac.jp/ 本プログラムの紹介</p> <p>その他研究所のWebサイトトップページにて、研究成果掲載中 (金属微粒子によるフルカラーナノコーティング)</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>新潟大学イノベーションサロンという「産・官・学・地域」の交流会にて、新潟燕三条地区地元事業者を対象に、金属微粒子のプラズモニクス応用に関する講演ならびに技術交換会に講師として参加した。http://www.vbl.niigata-u.ac.jp/saron5.pdf</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>指導学生の受賞等</p> <p>大岩さゆり，第21回日本化学会九州支部・韓国化学会支部合同セミナー ポスター賞 「Localized surface plasmon field-enhanced fluorescence on Au nanoparticle sheet」(2013.6.13)</p> <p>出川亮，応用物理学会九州支部学術講演会－九州支部設立60周年記念大会－ 発表奨励賞「金属微粒子多層積層膜を用いた非接触光触媒作用の評価」(2013.11.30)</p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	108,000,000	96,250,000	11,750,000	0	0
間接経費	32,400,000	28,875,000	3,525,000	0	0
合計	140,400,000	125,125,000	15,275,000	0	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	6,129,896	11,750,000	0	17,879,896	17,879,896	0	0
間接経費	7,200,000	3,525,000	0	10,725,000	10,725,000	0	0
合計	13,329,896	15,275,000	0	28,604,896	28,604,896	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	8,038,469	小型SiO2蒸着装置、冷却水循環装置、実験器具等
旅費	900,342	研究成果発表旅費(ISMOA国際シンポジウム)等
謝金・人件費等	8,126,268	博士研究員人件費等
その他	814,817	学会参加費、分析費等
直接経費計	17,879,896	
間接経費計	10,725,000	
合計	28,604,896	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
小型SiO2蒸着装置	株式会社アール デック製 RD002- SiO2	1	6,499,500	6,499,500	2014/2/7	先端物質化学研 究所