

1P061

原子間力顕微鏡を用いた近接場光還元銀ナノ微粒子による表面増強ラマン散乱

(関学大・理工) ○北濱康孝、鈴木利明、尾崎幸洋

【序】近年、表面増強ラマン散乱 (SERS) バイオイメージングの開発が進められている。SERS は銀ナノ微粒子二量体の間隙におけるプラズモン共鳴増強電磁場によって発現するので、単一分子レベルでも検出可能な感度の高さと数 nm オーダーの空間分解能が理論上は可能である。さらに、振動モードのシャープなピークから対象分子の詳細な同定ができる上に、水分子には不活性なので水を豊富に含んだ生体系の分析に適している。

SERS バイオイメージング測定は、生体細胞表面に銀ナノ微粒子を吸着させる手法で行われている。しかしながら、この手法では銀ナノ微粒子を選択的に吸着させることができないという欠点がある[1]。一方、硝酸銀水溶液に細胞を浸して化学あるいは光還元で細胞膜上に銀ナノ微粒子を生成させる手法も行われている。還元剤を使う化学還元法では細胞全体を銀ナノ微粒子が覆ってしまうことになるし、光還元法の場合は集光位置を選択することで銀ナノ微粒子を任意の場所に生成することも可能だが、空間分解能は光の回折限界に制限されてしまう[2]。

そこで、原子間力顕微鏡 (AFM) で用いられるカンチレバーの先端に極微小な開口を作り、そこに光を照射して近接場を発生させる。硝酸銀水溶液を含ませたゲルに開口カンチレバーを近づけ、近接場光還元により任意の位置に単一銀ナノ微粒子を作製し、その形状と SERS スペクトルのその場測定を試みた。

【実験】4%のポリビニルアルコール水溶液に $2\mu\text{M}$ の硝酸銀、 $2\mu\text{M}$ のクエン酸ナトリウム、 $2\mu\text{M}$ のカチオン性チアシアニン色素分子、 2mM のチオシアン酸カリウムを加えた後、4%のホウ砂 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 水溶液を体積比 10:1 で混合して、色素などを含んだゲルを生成させる。AFM (ユニソク社製) に取り付けた開口カンチレバー (開口径 200nm) をこのゲル表面に近づけて、488nm のレーザー光を開口部に照射し、近接場光還元で銀ナノ微粒子を作製した。

【結果と考察】まず、試料のゲルに通常的手法 (50 倍の対物レンズ) でレーザー光を集光し、far-field SERS の測定を行ったところ、チアシアニン色素分子由来のラマンスペクトルが観測された。還元剤であるクエン酸ナトリウムを添加しない場合はスペクトルが観測されず、色素の吸着を助けるチオシアン酸カリウムを添加しない場合はスペクトルが弱かった。このスペクトルの強度は、光

照射の時間が長いほど強かった（図 1）。これは、光還元により銀ナノ微粒子が生成して SERS が発現していることを示している。また、試料のゲルを一昼夜冷暗所で乾燥させて far-field SERS の測定を行ったところ、銀イオンが無い場合には色素分子ではなく、ポリビニルアルコール由来のラマンスペクトルが観測された（図 2）。このことも、試料ゲル中の色素分子が銀ナノ微粒子により SERS として観測されたことを示している。

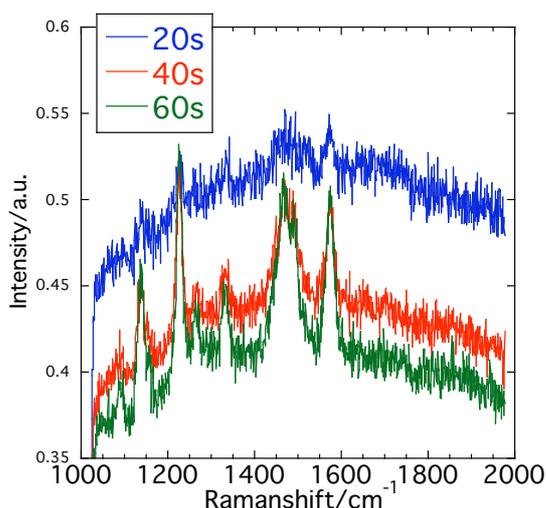


図 1 試料ゲルからの時間分解 SERS スペクトル

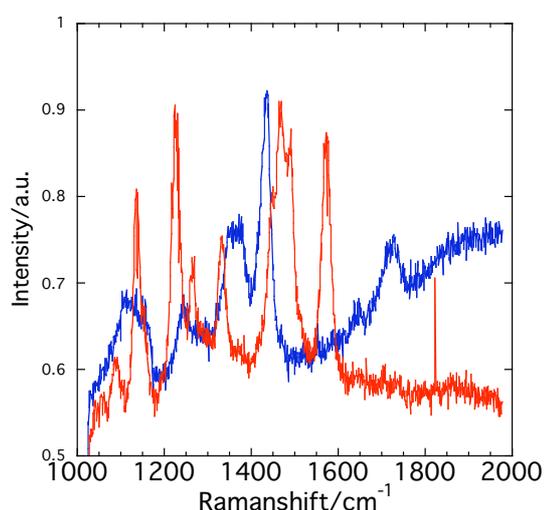


図 2 銀イオン有り（赤）と無し（青）の試料ゲルからのラマンスペクトル

開口カンチレバーで光照射前のゲル表面を AFM 測定して平滑であることを確認した。レーザー光を照射して 3 分後に測定すると、直径 280~220nm、高さ 20nm の隆起が観測された（図 3）。この隆起の直径はカンチレバーの開口径にほぼ等しいので、銀ナノ微粒子凝集体ができたものと考えられる。また、異なる場所で 5 分間レーザーを照射した後に AFM 測定すると、照射前には無かったくぼみが観測された。こちらは長時間照射したために、生成した銀ナノ微粒子凝集体のプラズモン共鳴による熱の発生でゲルに穴があいたのではないかと思われる。このような銀ナノ微粒子凝集体からの近接場 SERS の測定を行う。

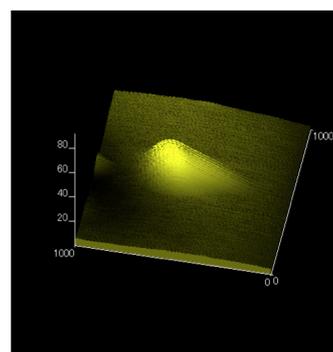


図 3 近接場光還元後の試料ゲルの AFM 画像（1 μ m x 1 μ m）

【参考文献】

- [1] A. Sujith, T. Itoh, H. Abe, K. Yoshida, M. S. Kiran, V. Biju, M. Ishikawa, *Anal. Bioanal. Chem.*, **394**, 1803 (2009).
- [2] Y. Kitahama, T. Itoh, T. Ishido, K. Hirano, M. Ishikawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, in press.