

日本ードイツ 国際共同研究「オプティクス・フォトニクス 第2期」 2021年度 年次報告書	
研究課題名（和文）	プラズモニック金属ナノ構造を用いた高感度・高機能性 SERS/OW/LSPR バイオセンサーの開発
研究課題名（英文）	Novel plasmonic materials based on nanogap features for ultrasensitive and reproducible SERS/OW/LSPR biosensing for biomedical applications
日本側研究代表者氏名	民谷 栄一
所属・役職	産業技術総合研究所 先端フォトニクス・バイオセンシン グオープンイノベーションラボラトリ ラボ長
研究期間	2020年10月1日～2023年9月30日

## 1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
民谷 栄一	産業技術総合研究所 先端フォ トニクス・バイオセンシングオ ープンイノベーションラボラト リ ラボ長	研究統括 LSPR イムノセンサーの設計 EC バイオセンサーの設計
寺田 侑平	産業技術総合研究所 先端フォ トニクス・バイオセンシングオ ープンイノベーションラボラト リ 特別研究員	LSPR イムノセンサーの作成と評価
Wilfred Espulgar	産業技術総合研究所 先端フォ トニクス・バイオセンシングオ ープンイノベーションラボラト リ 特別研究員	ナノ金属 LSPR センサーの設計と評価
齋藤 真人	大阪大学 大学院工学研究科 物理学系専攻 応用物理学コー ス 助教	LSPR イムノセンサーの製作と特性解 析
大崎 脩仁	大阪大学 大学院工学研究科 物理学系専攻 応用物理学コー	ナノイムノセンサーの評価

	又 博士学生	
西森 靖	古野電気株式会社 技術研究所 フェロー	研究統括
春岡 正起	古野電気株式会社 技術研究所 第2研究部 第2研究部長	研究管理、連携推進
多田 啓二	古野電気株式会社 技術研究所 第2研究部 光応用研究室 主任	OW バイオセンサーの開発、解析
梶 祥一郎	古野電気株式会社 技術研究所 第2研究部 光応用研究室 一般社員	OW バイオセンサーの開発、解析
河尻 武士	古野電気株式会社 技術研究所 第2研究部 光応用研究室 一般社員	OW バイオセンサーの開発、解析
栗田 昌昭	田中貴金属工業株式会社・新事業カンパニー・担当研究員	SERS/EC-SERS バイオセンサーの設計、作製
麻田 敬雄	田中貴金属工業株式会社・新事業カンパニー・部長	SERS/EC-SERS バイオセンサーの設計、作製
窪田 秀一	田中貴金属工業株式会社・新事業カンパニー・チーフマネージャー	SERS/EC-SERS バイオセンサーの設計、作製
松村 徹	田中貴金属工業株式会社・新事業カンパニー・リーダー	SERS/EC-SERS バイオセンサーの設計、作製
権藤 麻衣子	田中貴金属工業株式会社・新事業カンパニー・研究員	SERS/EC-SERS バイオセンサーの設計、作製
田中 慎一	呉工業高等専門学校・自然科学系分野・准教授 呉医療センター・中国がんセンター 院外研究員（兼任）	生体分子修飾技術の開発及び生体計測技術の構築
黒木 太司	呉工業高等専門学校 電気情報工学分野 教授 呉医療センター・中国がんセンター 院外研究員（兼任）	生体計測の最適化及びデータ解析
江口 正徳	呉工業高等専門学校 電気情報工学分野 准教授 呉医療センター・中国がんセンター 院外研究員（兼任）	生体計測の最適化及びデータ解析
氷室 貴大	呉工業高等専門学校 電気情報工学分野 特命准教授 呉医療センター・中国がんセンター 院外研究員（兼任）	生体計測の最適化及びデータ解析

## 2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

本年度は昨年度に引き続きドイツと連携し、検出したい生体試料に合わせた金属ナノ基板の設計・作製について推進する。さらに、金属ナノ基板上への生理活性を維持した生体分子固定化法について確立し、各グループで LSPR/OW/SERS/EC-SERS イムノ/バイオセンサーの作製及びそれらのセンサー特性を評価し、計測条件について最適化する。加えて、エクソソームや細胞に

についても検出可能なナノ電極や計測条件を検討し、将来的に臨床試料へも応用可能な生体計測術の開発も実施する。

### 3. 日本側研究チームの実施概要

本年度は当初の計画通り研究を進め以下のような成果が得られた。

**(1) ナノ構造 LSPR センサーの設計と評価：**LSPR バイオセンサーの作製・評価を実施した。特に、楕円面ピラー構造を持つ、再現性の高い LSPR 基板の作成を実現した。ドイツ側の共同研究機関であるテミコン社から供与されたナノインプリントリソグラフィ（NIL）とレーザー干渉リソグラフィ（LIL）でパターン化したモールドを電鍍でニッケルシムに転写した基板を低コストで作成することに成功した。基板はプラズモン活性化のために金でスパッタリングされ、厚みに応じて感度と性能を変化させることができた。その結果、ナノピラー構造により 2 つの共振ピーク (I,II) が発生し、金の厚さが 30 nm のときに最高の感度を得ることができた。COMSOL シミュレーションにより、ピーク I は主にナノピラーの下部から、ピーク II はナノピラーの上部から発生することが明らかになった。今後は、この基板がバイオセンシング用途にどのように利用できるかを検討する。

**(2) 誘電泳動法と抗体の分子特異性を利用したエクソソーム検出技術の開発：**フォトリソグラフィを用いて楕円アルミ電極上に直径 20  $\mu\text{m}$  の穴の開いた絶縁膜を作製することでエクソソームの捕集デバイスを調整した。続いて、印加電圧、周波数、溶液の導電率について最適化し、colo201 細胞由来エクソソーム（直径約 70 nm）の捕集に成功した。FITC 蛍光染色したエクソソームの捕集について、蛍光観察を実施したところ、エクソソームは円形電極の中央に特異的に吸着する様子が確認された。

**(3) ナノプローブ sensor の開発及び *in vivo* イメージングへの応用：**本研究では癌のマーカータンパク質である癌転移活性化因子(PAR1)をターゲット分子として選択し、PAR1 に対して特異的に結合する白金ナノプローブ（発光波長：630 nm）を用いて PAR1 の特異的検出を行った。PAR1 を発現している転移性乳癌細胞(MDA-MB-231)を移植して作製したモデルマウスへ白金ナノプローブを投与後、癌部位から明るい蛍光が観察され癌組織について選択的標識及び生体内におけるマーカータンパク質(PAR1)の特異的標識に成功した。

**(4) ①OW バイオセンサーの 1 次試作、光学系の試作：**OW を利用した生体分子計測手法の実証実験について完了した。1 次試作 OW バイオセンサーのグレーティングカプラの SEM 観察を実施しデバイスの構造を評価した。次に、OW バイオセンサーを評価するための光学系とレスポンスカーブを測定し、原理通りの挙動が得られていることを確認した。**②OW バイオセンサーの 2 次試作：**ドイツ側に 2 次試作チップの図面と金型の作製を依頼し、それらについて SEM を用いて評価した。

**(5) EC-SERS バイオセンサー作製に向けた電極構造の設計：**ドイツから提供されるナノ構造を持つ基板の仕様にあわせて、実験計画の変更を行った。① 大阪大学、テミコン社から供給されたナノインプリント基板のナノ構造を調査し、ナノ構造の形状データを得た。② 提供されたナノ構造上に各種厚さの金薄膜を形成した。40-50 nm 近傍で構造色を呈しており、SERS 活性が期待できるサンプルが得られた。このサンプルは、各機関に提供し、光学データを取得する予定である。③ 各膜厚で作製した Au のナノ構造を詳細に観察し、光学シミュレーションの基礎データを得た。光学シミュレーションの結果と実際の光学特性を比較し、最適な膜の形成方法を来期議論する。④ 次年度に向け、EC-SERS 用のパターン設計を行った。