

SICORP 日本-ドイツ

「オプティクス・フォトニクス」領域 第2期 事後評価報告書

1 共同研究課題名

「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」

2 日本ー相手国研究代表者名（研究機関名・職名は研究期間終了時点）：

日本側研究代表者

民谷 栄一(大阪大学 産業科学研究所・特任教授)

ドイツ側研究代表者

ウォルフガング フィッシャー(ライプニッツ光学研究所・部局長)

3 研究概要及び達成目標

本研究はナノインプリント (NI) 技術を用いて金属ナノ構造を作製し、表面増強プラズモン共鳴 (LSPR) および表面増強ラマン散乱 (SERS) を利用した高感度かつ高機能性バイオチップなどを開発し、新規の生体ナノ計測技術・医療診断技術の構築を開発した。

LSPR/SERS センサーでは多様なセンシングアプリケーションに対応可能なグラジェント・ナノ構造の開発に成功し、光導波路 (OW) センサーではガラス基板のチップ開発によって、溶液切り替え時における大幅な特性向上を達成した。また、ナノ-マイクロサイズ分画デバイスも開発し、ナノ粒子-マイクロ粒子の分画や単離・回収を可能にした。さらには、共同研究を通じて構成原子数（発光波長）を精密制御し生体適合性の高い金属ナノプローブの開発も行い、生体組織中における癌のマーカートンパク質の特異的検出及び新規の生体1分子計測技術を構築した。

4 事後評価結果

4.1 研究成果の評価について

4.1.1 研究成果と達成状況

バイオセンシング技術は今後の医療や生化学を支える極めて重要である。高感度化・高機能化を指向し、ナノプラズモニクスを利用したバイオセンサーの開発に関する研究が活発に実施されている。金属ナノ粒子、金属ナノ構造や様々な材料の微細加工について先駆的な研究を展開しているドイツ側チームとの国際共同研究を遂行し、日本側チームは、バイオセンシングデバイスの作製・評価を行い、マイクロアレイと表面増強プラズモン共鳴 (LSPR)、光導波路 (OW)、表面増強ラマン散乱 (SERS) 及び電気化学 (EC-SERS) を利用して、数百種類の生体分子反応について同時計測可能な高感度かつ高機能性バイオナノセンサーを実現した。

LSPR については、様々な範囲の標的分析物に対して、ラベルフリーで迅速な

センシング手段を可能にするため、バイオセンシングを行うためのセンサーデバイスとして優位である。この LSPR 現象は、プラズモニック基板と光の相互作用に大きく依存しており、共振特性はナノ構造の形状と化学的環境に大きく影響される。本研究では、基板上のスポット位置や光源の偏光方位を変えることで規則的に調整できる、広いスペクトル検出範囲を提供するグラジエント・ナノ構造を作製できることを明らかにした。作製した基板が、直線的に調整可能な勾配プラズモン応答を示した。この勾配プラズモニック応答は、作製したすべてのプラズモニック・チップにおいて、再現可能であることも示された。

OW に関しては、基材として樹脂よりもガラスを用いた方が、熱特性・応力特性が良く、性能向上が期待できるが、日本側の技術ではガラス基板にグレーティングカプラを形成することができなかった。そこで、ナノインプリントリソグラフィ (NIL) を用いてガラス基板上にナノ構造を作製する技術を持つドイツ側と協力し、ガラス基板の OW を作製した。ガラス基板の OW (ガラスチップ) を屈折率標準液で評価し、原理通りの挙動を確認した。また、樹脂基板の OW (樹脂チップ) よりも、溶液切り替え時の特性が良いことを確認した。

また、ナノインプリント (NI) 加工に必要なテンプレートと、そのテンプレートを鋳型にして NI 加工を行った。PET (ポリエチレンテレフタレート) 基板をドイツ側へ依頼した。日本側が希望する COP (シクロオレフィンポリマー) 基板を再作した。さらに、電極を最適設計することにより、SERS センサーを作製し、尿酸をサンプルとして、それまで観察しにくかった微弱なラマンシフトを計測することが出来た。この技術を利用して、多項目計測用の 8 端子型のアレイチップを作製した。

エキソソームは細胞で分泌される直径 50~150 nm の顆粒状の粒子で、離れた細胞や組織に細胞の情報 (DNA、RNA、脂質やタンパク質など) を伝達する役割を担っていることから、近年、細胞の情報を含んだ新規のバイオマーカーとして注目を集めている。エキソソームの単離・精製には、誘電泳動現象と交流電気浸透流を利用した。角度を持たせた楕円電極を新たに設計し、マイクロビーズとナノビーズの分画が可能である事を見出した。

以上のように、多くの要素技術の開発については、日独の連携によりに当初の目的は達成され、学術的にも高い成果が得られた。今後は、実用化へ向けてバイオセンサーの高集積化高性能化のための技術開発も必要かと思われる。

4.1.2 国際共同研究による相乗効果

本プロジェクトでは、高感度化バイオセンシングデバイスの開発を目指し、ナノプラズモニクスを利用したバイオセンサーの開発を目的とした。本研究を遂行するためには金属ナノ粒子、金属ナノ構造や様々な材料の微細加工について先駆的な研究を展開しているドイツ側チームとの国際共同研究が必要不可欠であった。

LSPR センサーに関しては、ドイツ側との協力により、基板表面に規則正しいナノピラーを形成することができ、基板のプラズモニック応答の再現性と感度が向上した。

また、金属ナノ電極と金属ナノプローブの開発については、合成条件 (反応

温度や反応時間など)の最適化に加え、合成される金属ナノプローブのサイズ(発光波長)と鋳型分子との相関について系統的に調べることで発光波長を精密制御した合成手法を確立した。さらに、日本側の分子修飾技術によって、金属ナノプローブを調整し、モデルマウス中の癌組織及びマーカータンパク質の特異的標識も実証できた。

さらに、共同研究によって、エキソソームの単離・精製を指向した分離デバイスの開発にも成功した。まず、共同でナノからマイクロサイズの金属電極構造を設計・作製し、交流電場を印加することで様々なサイズの粒子について捕集実験を行い、マイクロサイズの粒子には粒子の体積に依存する誘電泳動力が支配的に働き、ナノサイズの粒子には交流電気浸透流が支配的に働くことが明らかとなった。そこで、2つの現象を同時に利用可能な金属電極を設計し、ナノ粒子とマイクロ粒子について分画可能な分画デバイスを開発できた。以上の研究成果から、両国の得意とする技術の本共同研究を通じて融合させることによって、まだ研究が始まったばかりであるエキソソームへ応用・展開可能なサイズ分画デバイスの実現について実証できた。

このように、ドイツ側の微細構造作製技術を活用して日本側でさまざまな高機能センサーの開発に成功した。

4.1.3 研究成果が与える社会へのインパクト、我が国の科学技術協力強化への貢献

本研究課題では高度な金属ナノ粒子の作製や金属や樹脂・ガラスの微細加工技術を持つドイツ側との国際共同研究を遂行することによって、日本側だけでは実現できなかった以下の高精細なバイオセンシングデバイスや金属ナノプローブの実現に成功している。

今後の展開として、一例をあげれば、アプタマーや抗体アッセイを用いた実際のバイオセンシングアプリケーションに向け、本研究で得られた新たなプラズモニック基板の応用展開も期待できる。また、LSPRだけでなく、SERSへの応用が可能と考えられる。

また、金属ナノプローブの開発では、ドイツ側の持つ金属ナノ粒子合成技術を実験に取り入れることで、原子数(発光波長)を精密制御した金属ナノ粒子の合成手法を確立するだけでなく、磁性材料である白金を用いた金属ナノ粒子の合成へも応用・展開することによって強磁性と蛍光特性が共存したデュアル機能性金属ナノ粒子の開発にも成功している。本研究成果については、特許1件の出願及び学術論文1件投稿中(査読中)である。

さらに、ドイツ側との共同研究によって、サイズ分画デバイスの開発についても推進することができた。ドイツ側の持つ電極設計技術と微細可能技術を実験に取り入れることによって、不均一電場の発生及びマイクロ粒子の選択的な分離・捕集可能なデバイスが作製でき、ナノ粒子及びマイクロ粒子についてサイズ分画可能なデバイスを実現した。今後、日本側の持つ生体分子固定化技術と融合させることで、臨床試料(血液試料)中からエキソソームを特異的に単離・精製可能なサイズ分画デバイスの作製について進展が期待できる。

以上の研究成果から、両国の得意とする技術を実験を通じて融合させることで、多様なセンシングアプリケーションに対応可能なグラジェン

ト・ナノ構造及び LSPR/SERS センサーの開発、特性の良いガラス基板による OW センサーの実現、ナノ-マイクロサイズ分画デバイスの構築等、新規のバイオセンシングデバイスについて実現できた。このような成果に基づき、今後も本国際共同研究を継続していくことで、さらに高感度・高機能性なバイオセンシングの開発を推進することで、高精細な医療診断技術の創出が可能である。

4.2 相手国研究機関との協力状況について

ドイツ側の持つ微細加工技術や金属ナノプローブの合成技術は非常に高く、プラズモニク基板の作製や量産に向けたバイオチップ作製プロセスの実現には必要不可欠であると考えられる。

ドイツ側との連携により、本研究課題の遂行だけでなく、ドイツ Jena 地域のフォトリソグラフィを中心とする集約された研究開発セクター（IPTH、Fraunhofer、Abbe Center of Photonics）とのネットワークが形成できたことは、今後の新たな協働を進める上でも有用であった。開発できた新たな LSPR や SERS のデバイスに関しては、すでに基礎的な課題は解決しており、今後は、バイオセンシングへの応用を加速して進める。そのための共同関係は継続する。また、定期的な交流は国際シンポなどを通じて企画していく予定である。

ドイツ側の持つ NIL や微細加工技術は量産に向けた OW チップ作製プロセスの実現や、COP 樹脂表面の NIL 及びセンサーの基板の作製には必要不可欠であると考えられる。さらに、金属ナノプローブとしての金属ナノ粒子の開発についても非常に高い技術を有しており、共同研究を通じて、新規の蛍光性金属ナノプローブの開発や乳癌モデルマウス内のマーカータンパク質の特異的検出まで成功している。このように、ドイツ側と日本側の技術の融合によって高精度の金属ナノプローブを開発できれば、高再現性、高感度、複数分子同時計測可能なバイオセンシングシステムについて実現可能であることを見出し、今後も国際共同研究関係を継続することは本研究成果の実用化のために非常に価値があると考えられる。

このような背景から、今後も本国際共同研究を継続し、具体的なアプリケーションに向けて市場調査、製品コンセプトの抽出を行い、本研究成果の実用化や社会展開する取り組みだけでなく、国際特許の取得や共同研究による学術論文の発表なども活発に行っていく必要がある。

4.3 その他

当初はドイツの金属ナノ構造作製技術を用いてプラズモンセンサーの感度・再現性向上を狙う研究計画であった。日独の企業を中心にさまざまな連携研究が実施され、プラズモンセンサーを中心としてさまざまな技術開発が進展した。個々の成果は学術的にみて高いレベルのものであり、学術ジャーナルにも多く発表している。今後は、最終的な目的である高性能バイオセンサーの応用による社会貢献を見据えた研究開発を希望する。