博士学位論文

生体超分子援用プロセスの高機能化と新規光電子デバイスへの応用に関する研究

橋 元 達 也

2013年1月

大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻

工學 1636

博士学位論文

生体超分子援用プロセスの高機能化と新規光電子デバイスへの応用に関する研究

橋　元　達　也

２０１３年1月

大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻

目次

略語表

略語	定義
AFM	Atomic Force Microscope
Ala	Alanine
Arg	Arginine
Asp	Asparagine acid
ATR	Attenuated Total Reflection
DLS	Dynamic Light Scattering
FG (3 章)	Ferritin with Au(Gold) aptamer
FG (5 章)	Forming Gas
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GNP	Gold nanoparticle
LED	Light Emitting Device
LSI	Large-scale Integrated circuit
LSPR	Localized Surface Plasmon Resonance
Lys	Lysine
MOSFET	Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor
Nb-TiO_2	Nb-doped TiO_2
OLED	Organic Light Emitting Device
Pro	Prorine
RF	Radio Frequency
RIU	Refractive Index Unit
rms	Root Mean Square
SEM	Scanning Electron Microscope
SERS	Surface Enhanced Raman Scattering
SoC	System-on-Chip
SPR	Surface Plasmon Resonance
SSD	Solid-State Device
TBF	Ti-Binding Ferritin
TEM	Transmittance Electron Microscope
TFG	Ferritin with Ti aptamer and Au(Gold) aptamer
TFG-GNP	Gold nanoparticle covered with TFG shell
XPS	S-ray Photoelectron Spectroscopy

第1章　序論

1.1　半導体デバイスに求められる新規性

現代社会において，ライフサイエンスや情報通信技術(Information and Communication Technology: ICT)，エネルギーなどの分野では，ナノテクノロジーは科学技術の進歩や課題解決に貢献し，産業の振興や人間の豊かな暮らし，安全・安心で快適な社会を実現する重要な技術シーズとなっている．物質を原子レベルで制御し，デバイスとして使うという考えは，既に 1950 年にかの有名な Richard P. Feynman 氏に示されていた．しかし，「ナノテクノロジー」という用語は，1974 年に谷口紀男氏が提唱した用語であり，その定義は「主に原子 1 個や分子 1 個の単位で素材を分離・形成・変形するプロセスからなる」としている．この定義は，1980 年代にさらに K. Eric Drexler 氏が発展させ，ナノスケールの現象やデバイスの技術的重要性を説いた．そして，「ナノテクノロジー」という用語は世界的に使われるようになった．

現在，大規模集積回路(Large-Scale Integrated circuit: LSI)を構成する基本素子の MOSFET(Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor)に代表される半導体デバイスは，既に「ナノテクノロジー」の領域に突入しており，デバイス寸法は数十 nm オーダーに達している．20 世紀後半にトランジスタが発明されて以降，Moore の法則に従い[1]，微細化がここまで達成されてきた背景には，リソグラフィ技術を主としたトップダウン型半導体プロセスの進歩がある．そして現在もなお，リソグラフィ技術に関し，精力的に研究開発が行われ，さらなる微細化による MOSFET の性能向上が日々追求されている[2]．また，新しい半導体材料やデバイス構造等を採用したポストスケーリング技術[3-5]を用い，微細化によらない MOSFET の性能向上を目指す研究も盛んである．近頃では，このような，MOSFET など既存の半導体デバイスの性能向上を目指す研究開発方針を「MORE Moore」と呼んでいる(図 1.1)．しかしながら，スケーリング則[6]に従った MOSFET の高性能化は，いよいよ物理的限界を迎えつつある．また，ポストスケーリング技術も課題は山積みである．そこで近年，LSI の高性能化への要請とは別に，ナノスケールの領域のみで発現する概念・現象を利用し，新たな機能を付加した新機能半導体デバイスの研究開発が行われるようになってきている．この研究開発方針は，「MORE Moore」と対比して「MORE than Moore」と呼ばれている(図 1.1)．

中でも，新機能半導体デバイスを実現するためのアプローチとして，大きさが数 nm から数十 nm の金属や半導体のナノ粒子の利用が検討されている．ナノ粒子は，そのサイズが微小であることから，バルク材料では得られない，強常磁性[7,8]や量子効果[9,10]，局在表面

プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)[11]といった現象を発現する．図 1.2 に，Google Scholar において，2000 年以降の各年毎に"nanoparticle"で検索した際の検索結果数を示す．Google Scholar は文献の他に特許も検索するので，検索結果数はその検索した材料・技術の流行度を示す一つの指標となる．ナノ粒子"nanoparticle"の検索結果数は，1990 年ごろあたりから年々増えていき，2000 年初期頃に 10,000 件を突破している．その後も上昇していき，2009 年あたりで飽和している．ナノ粒子の材料は，半導体，金属，生体材料など様々なものが存在する．その中でも，金ナノ粒子は，有望なプラズモニックナノ粒子として，2000 年ごろから注目され始め，"Gold nanoparticle"での検索結果数の増加傾向は，現在に至るまで止まっていない．"nanoparticle"の中で占める"Gold nanoparticle"の割合も，それに従い増加しており，2011 年には 1 割を超えている．金ナノ粒子の最大の特徴は，優れたプラズモニック特性を持ちながら非常に安定していることにある．独特な光学特性とは LSPR であり，可視光域の光を強く吸収・散乱する．近年では，その特徴を利用し，バイオセンシング応用に加えて[12,13]，プラズモニック機能デバイスへの利用も始まっている[14-16]．さらに，化学合成技術の発展に伴い，形状やサイズを制御した金ナノ粒子を比較的容易に作製できるようになってきていることも[17,18]，金ナノ粒子のデバイス応用研究の加速を促している．

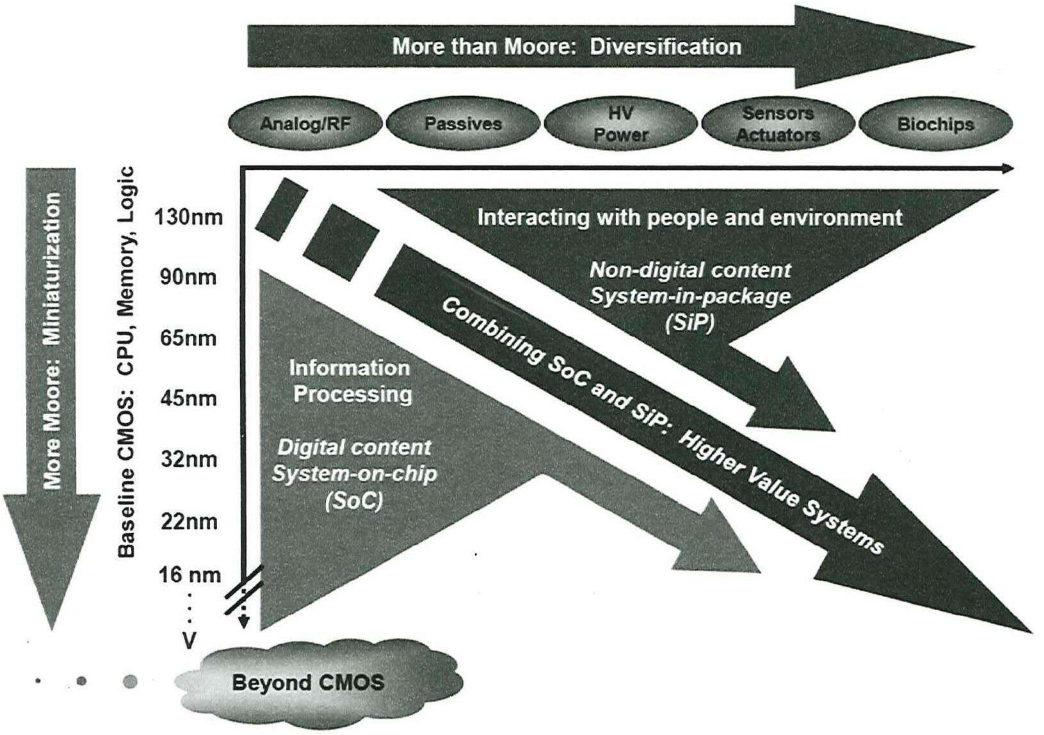

図 1.1　ITRS road map における半導体デバイスの研究開発指針[2].

このように，金ナノ粒子を筆頭とする金属・半導体ナノ粒子の研究が盛んに行われており，その特徴を生かすことで，新機能半導体デバイスの実現が期待されている．しかしながら，そのためには，多種多様な金属ナノ粒子を均一な大きさで制御性良く半導体基板上に集積する必要がある．数 nm スケールの加工は，従来の光リソグラフィ技術では困難であり，その代替案である電子線リソグラフィ[19,20]等も，コストや露光時間などの面で課題を抱えている．そこで，金属ナノ粒子が注目され始めた2000 年初期より，ナノ構造体から所望のデバイスを構築するボトムアップ型バイオ応用プロセスが注目されるようになってきている．

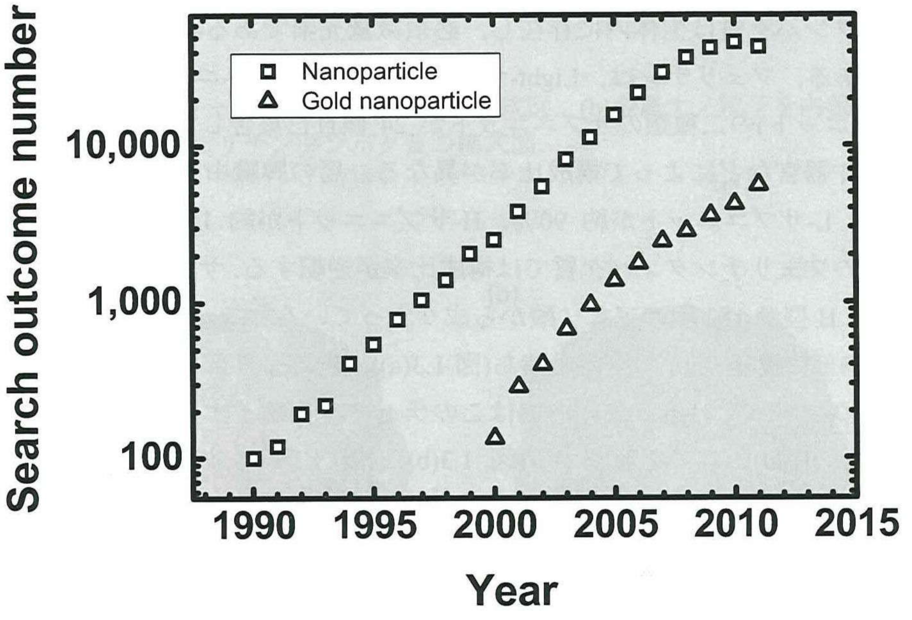

図 1.2　Google scholar 上で，各年代の範囲において"nanoparticle"及び"Gold nanoparticle"のキーワードで検索した検索結果数.

1.2　バイオナノプロセス

ボトムアップ型バイオナノプロセスとは，生体分子のバイオミネラリゼーション能や自己組織化能を用いてナノ構造物を形成し，このナノ構造物をデバイス，もしくは，デバイス作製のプロセスに用いることである．生体分子であるタンパク質の中には，無機金属や半導体を析出する能力(バイオミネラリゼーション)を持つタンパク質や，特定の金属・金属酸化物表面を認識する(特異的認識)ペプチドが存在し，それらは遺伝子情報により同一な構造(均一ナノ構造)が複製可能である．よって，トップダウン型半導体プロセスとボトムアッ

プ型バイオナノプロセスの融合プロセスでは，タンパク質のバイオミネラリゼーション能と特異的認識ペプチドを用い，基板上の任意の位置に均一な金属ナノ粒子，あるいは，ワイヤを内包したタンパク質を配置し，ナノエレクトロニクスを作製する研究が進められている．しかしながら，タンパク質などの生体分子を用いてデバイスを作製する場合，溶液中に存在する生体分子の基板上への固定技術が重要であり，基板と生体分子間の相互作用について深く理解しなければならない．近年，数多く存在する生体超分子の中でも，フェリチンタンパク質を利用したバイオナノプロセスが注目され，種々の金属ナノ粒子を半導体基板上に配置する技術が報告されている．

1.2.1　フェリチンタンパク質

フェリチンタンパク質は生体内に存在し，必須微量元素である鉄の量を調節する鉄貯蔵タンパク質である．フェリチンは，Light-サブユニット(L-サブユニット)と Heavy-サブユニット(H-サブユニット)の二種類のサブユニットが 24 個自己集合したヘテロ構造であり，存在する生物種や器官などによって構成比率が異なる．馬の脾臓由来フェリチンタンパク質の構成比率は，L-サブユニットが約 90%，H-サブユニットが約 10%となっている．また，馬の心臓由来のフェリチンタンパク質では構成比率が逆転する．サブユニットの L 型は 175 個のアミノ酸，H 型は 182 個のアミノ酸から成り立っている．フェリチンタンパク質は，外径が 12nm で内部に直径 7nm の空洞を持ち(図 1.3(a))，内部と外部は 8 個の直径 0.3～0.4nm のチャネルでつながっている．生体内ではこのチャネルを鉄イオンが通り，フェリハイドライト($5Fe_2O_3$・$9H_2O$)のコアを形成する(図 1.3(b))．体内で鉄イオンが過剰な場合，フェリハイドライトのコア形成が促進され，鉄イオンが不足するとフェリチン内部の酸化鉄コアが取り崩されて生体内に鉄イオンが供給される[10]．このコア形成メカニズムはバイオミネラリゼーションと呼ばれている．本バイオナノプロセスでは，均一・均質なナノブロックとしてフェリチンタンパク質を用いるため，遺伝子工学的に作製された L-サブユニットだけからなる L 型リコンビナントフェリチンを用いる．L 型リコンビナントフェリチンも鉄酸化物コアを形成する能力を持っている．さらに，バイオミネラリゼーションの条件により，Co，In，Cu など種々の金属酸化物や金属，半導体材料等からなるコアも形成・内包することができる[21-25]．

また，フェリチンタンパク質は図 1.4 に示す電荷分布と疎水・親水分布を持っている．その特徴は，まず電荷分布に関しては，図 1.4(a)，(b)から判断されるように負電荷を示す領域が多いことがあげられる．そして，3 回対称付近は負電荷を持ち，4 回対称では電荷がほぼない．一方，疎水性と親水性に関しては，図 1.4(c)，(d)に示したように，細かい領域で混在している．3 回対称性と 4 回対称性がはっきりと見られるが，特に大きな疎水性領域は存在しない．3 回対称付近は，上述のように負に帯電した親水性領域であり，4 回対称付近は，疎水性でも親水性でもない中間的な性質である．

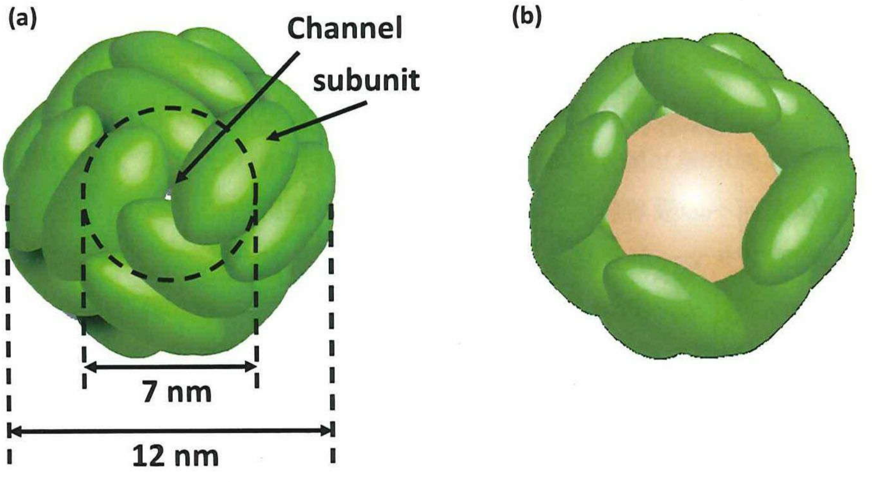

図 1.3　(a)フェリチンタンパク質の模式図．(b)金属ナノ粒子を内包しているフェリチンタンパク質の模式図．

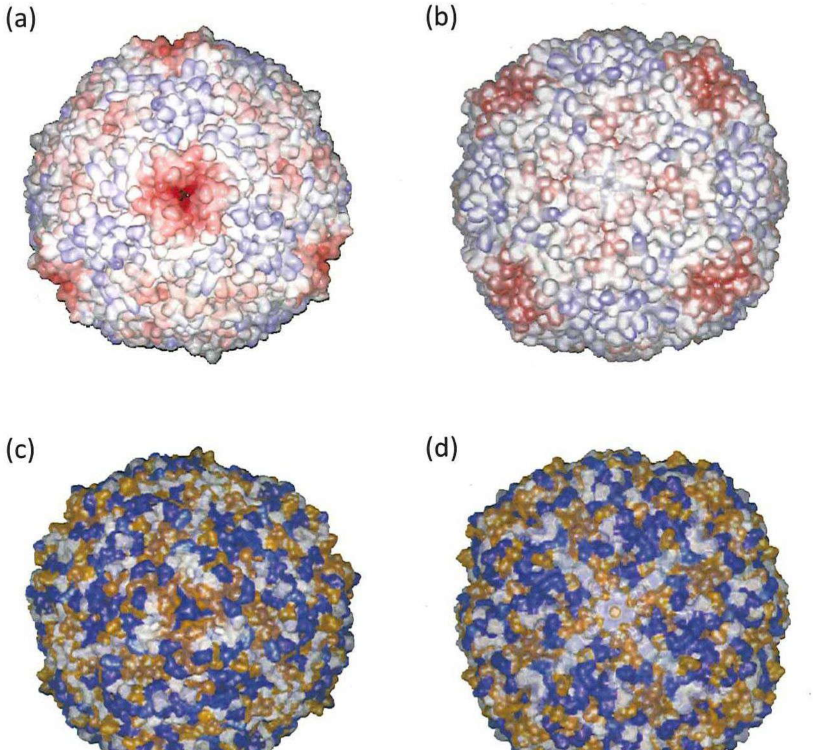

図 1.4　(a)3 回対称と(b)4 回対称のフェリチンタンパク質表面の電荷分布(赤:負電荷，青:正電荷)．(c)3 回対称と(d)4 回対称の疎水・親水領域分布(青:親水性，橙:疎水性)．

1.2.2　Ti アプタマー修飾フェリチンタンパク質

現在，フェリチンタンパク質の配置を制御する方法として，特定の金属や金属酸化物表面を認識するアプタマーを修飾したフェリチンタンパク質を用いる手法がある[22,23]. アプタマーとは，数残基のアミノ酸から構成されたペプチドであり，アミノ酸の組み合わせや配列の順番で固体表面への吸着特性が変化する．近年，佐野らによって，Ti 表面に特異的吸着能を示す Ti アプタマーが発見された[26]. Ti アプタマーは，アルギニン(Arg)-リシン(Lys)-ロイシン(Leu)-プロリン(Pro)-アスパラギン酸(Asp)-アラニン(Ala)で構成されている(図 1.5(a))．アミノ酸は，側鎖の種類からその性質を分類することができ，ペプチドを構成するそれぞれのアミノ酸がどの程度吸着挙動に寄与しているのかを知ることは重要である．そこで佐野らは，Ti アプタマーのアミノ酸をそれぞれ一つずつアラニンに置換した Ti アプタマーミュータントを合成し，Ti への吸着性を調べた[26]. その結果，図 1.5(b)に示すように，Ti アプタマーの Asp のカルボキシル基($-COO^-$)と Arg のアミノ基($-NH_3^+$)が，Ti 表面に存在する自然酸化膜 TiO_x 由来の$-OH_2^+$と$-O^-$との間で静電相互作用している吸着モデルが提案されている．また，電荷を持たない Pro は，Asp のカルボキシル基と Arg のアミノ基同士が相互作用しないように，ペプチドの構造を保持する役割を担っていると考えられている．

Ti アプタマー修飾フェリチン(Ti-Binding Ferritin: TBF)は，遺伝子改変により，L-サブユニットのN末端(図 1.6)に Ti アプタマーを組み込む(図 1.5(a))．具体的には，L-サブユニット遺伝子の 5'末端にペプチドを構成する遺伝子を挿入し，この遺伝子を大腸菌において発現させることで Ti アプタマーがついた L-サブユニットを作製する．このサブユニットが自己組織的に 24 個集まることで，TBF が作製される．この TBF を用いることにより，Ti パターン上へ金属ナノ粒子を配置することが可能となる[27,28]. TBF を用いてデバイス作製を行うためには，TBF の表面吸着挙動を理解することは非常に重要である．

そこで，林らは原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)を用いて，Si や Ti などの固体表面に対する TBF の吸着力を測定している[29]. 報告によると，TBF の Ti に対する吸着力は，ペプチドを修飾していないフェリチンタンパク質の吸着力の約 4.5 倍である．一方，Si に対する TBF の吸着力も同様に増大する．Si と Ti への TBF の吸着力を比較した場合，Ti への吸着力は Si の吸着力の約 2 倍である．これらの結果について，林らは Ti 表面と Si 表面に存在する電荷を持つ終端基の違いからその吸着力の差について考察している．上述したように，Ti 表面は $-OH_2^+$と$-O^-$の正負の電荷を有するが(図 1.5(b))，Si 表面には OH 終端由来の負の電荷$-O^-$しか存在していない．一方，Ti アプタマーは Arg のアミノ基と Asp のカルボキシル基による正負の電荷を備えている．したがって，Ti アプタマーと互いの正負の電荷が対になる Ti 表面に比べ，負の電荷しか存在しない Si 表面では吸着力が半減するというものである．

林らは同様に，TBF の Ti アプタマーの一部のアミノ酸をアラニンに置きかえた TBF ミュータントの吸着力測定を実施し，それぞれのアミノ酸が TBF の吸着力に及ぼしている影響について検討している[30]. その結果，佐野らの考察と同様，Arg と Asp が TBF の吸着力に

大きく寄与していることを見出し，さらに，Lys もわずかながら吸着に影響を与えると報告している．

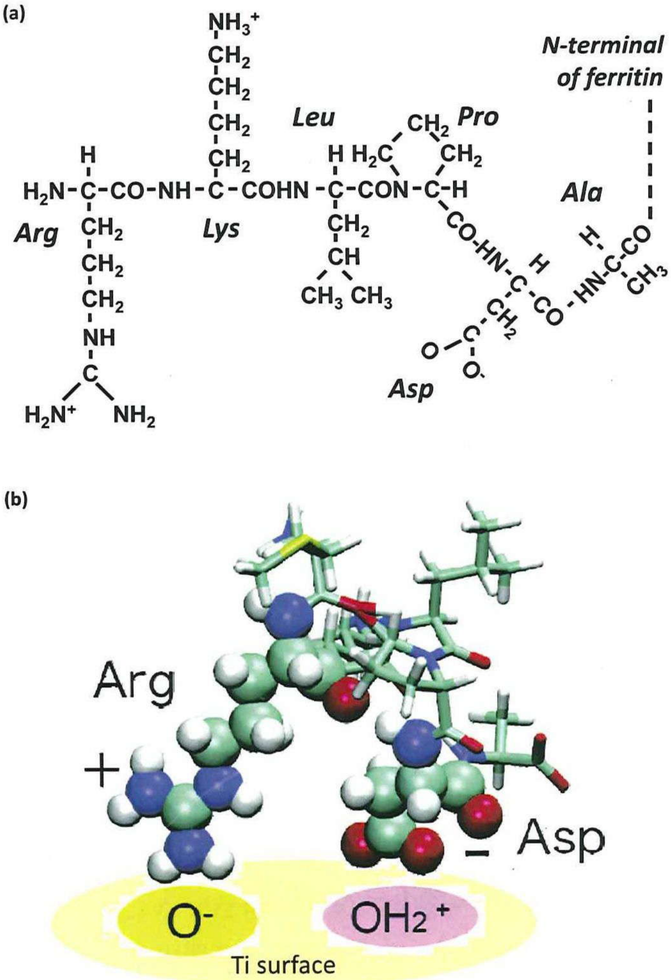

図 1.5　(a)Ti アプタマーの化学構造式．(b)Ti アプタマーの Ti 表面吸着モデル．

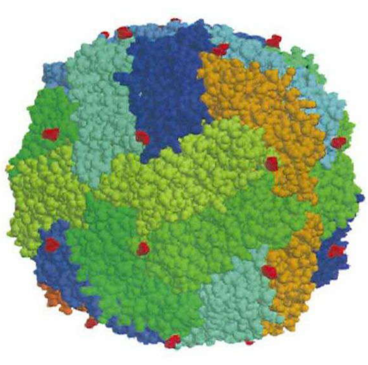

図 1.6　フェリチンタンパク質の各サブユニットの N 末端の位置．赤点で示す．

1.2.3　バイオナノプロセス応用による新規半導体デバイス作製とその課題

これまで，TBF を用いることで，大きさが均一な種々の金属ナノ粒子を選択的に配置することが達成されており，単電子トランジスタ[31]や量子ドットメモリ[32]等が作製された．これらは，直径数 nm 以下の金属ナノ粒子特有の量子効果(クーロンブロッケード)を利用しており，新規半導体デバイス作製において，バイオナノプロセスの長所を発揮した結果であると言える．単電子トランジスタの場合，従来のリソグラフィ技術を用いて数百 nm の電極を作製するだけで良く，クーロン島となる金属ナノ粒子は，バイオナノプロセスを用いることで，電極間に自己組織的に配置される(図 1.7(a))．作製された単電子トランジスタからは，低温下で，良好なクーロンブロッケード特性が確認されている．また，量子ドットメモリでは，バイオナノプロセスにより，電荷保持層となる領域に金属ナノ粒子を高密度に配置することで(図 1.7(b))，メモリの電荷保持能力を劇的に高めた．さらに，多層金属ナノ粒子層を有する量子ドットメモリの作製を目指し，TBF の Ti アプタマーのバイオミネラリゼーション能により，TBF 層の上に Ti 薄膜層を形成し，TBF を積層する手法も提案されている[33]．しかしながら，このようにデバイス作製に応用されているにもかかわらず，Ti アプタマーを修飾した TBF の選択吸着機構については未だ不明な点が多い．前項において，TBF の吸着力の差について言及したが，AFM を用いた吸着力測定の条件下では，実際は動的である吸着挙動の状況とは異なる．よって，提案された TBF の吸着機構は，TBF の吸着力に関して制限して適用されるものであり，TBF の動的な選択吸着機構を解明するには不十分である．しかしながら，TBF を用いたバイオナノプロセスは，金属ナノ粒子を利用した新規半導体デバイスを作製するという目標において非常に重要であるため，TBF の Ti 選択吸着メカニズムを理解することは必要不可欠である．

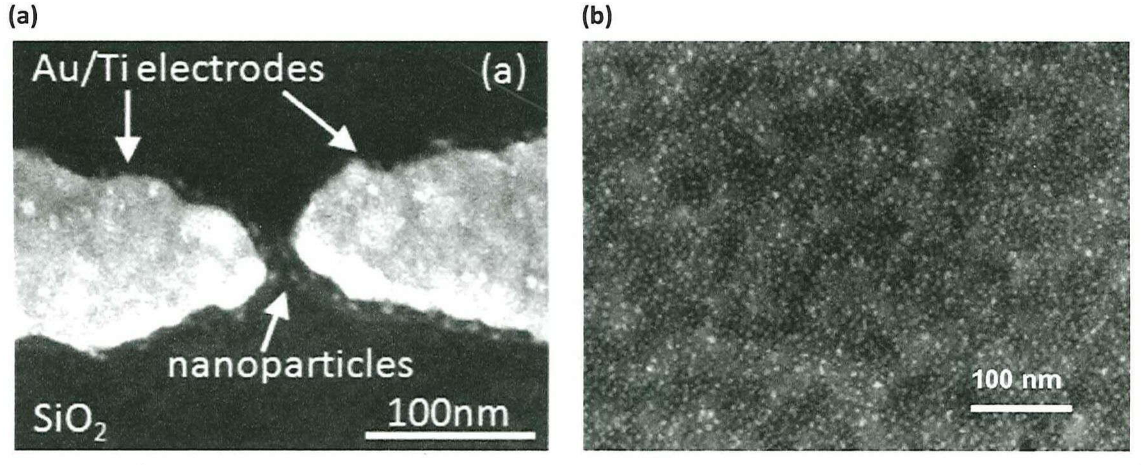

図 1.7　(a)バイオナノプロセスを利用した単電子トランジスタの SEM 像[31]．(b)バイオナノプロセスにより，量子ドットメモリの電荷保持層として高密度集積した金属ナノ粒子の SEM 像[32]．

また，従来技術では，フェリチンタンパク質に内包可能な材料種や粒子サイズは限定されている．特に，金ナノ粒子に代表されるプラズモニック粒子のバイオミネラリゼーションは達成されておらず，プラズモニック機能デバイスへの応用は困難である．そこで近年，それらの制限を取り払い，バイオナノプロセスをプラズモニック機能デバイスへ応用するため，共同研究者である鄭博士により，遺伝子改変フェリチンタンパク質を用い，金ナノ粒子をフェリチンタンパク質のサブユニットで覆う方法が提案された[34]．この手法については，第 3 章で詳述する．しかしながら，内包する金ナノ粒子は，フェリチンタンパク質空洞内部のサイズ(直径 5nm)を超えておらず，プラズモニック粒子として扱うには大きさが不十分である．よって，プラズモニック機能デバイス応用には，より大きな金ナノ粒子をフェリチンタンパク質で覆うことが求められている．

このように，現在も，バイオナノプロセスには課題は多く存在する．よって，新規光電子デバイス作製のためには，それらの課題を一つずつ克服していく必要がある．次節では，バイオナノプロセスを利用した新規光電子デバイス作製に向け，有望な材料として注目している金ナノ粒子に焦点を当てる．

1.3　金ナノ粒子のプラズモック機能デバイスへの応用例

本研究では，ボトムアップ型バイオナノプロセスとトップダウン型半導体プロセスを融合することで，新しい半導体デバイスが作製可能となることを期待している，そして，実現を目指す新機能半導体デバイスの中には，金ナノ粒子を利用したプラズモニック機能デバイスも視野に入れている．なぜなら，種々の金属ナノ粒子の中でも，プラズモニック粒子である金ナノ粒子は，光検出器や太陽電池のような光電子半導体デバイスの高機能化に有用であると考えられているからである．また，その安定性と LSPR の特徴を生かし，バイオセンシング応用も盛んである．本節では，LSPR 現象について理論を簡単に述べた後，バイオセンサーや光電子デバイスへの金ナノ粒子の応用例について紹介する．

1.3.1　局在表面プラズモン共鳴

固体物理におけるプラズモンとは，自由電荷(ほとんどの場合は電子)の集団振動のことであり，プラズマ物理学におけるプラズマ波に相当する．但し，プラズモンという呼び名は，フォノンなどと同様に量子力学的な準粒子と見なす場合のものである．固体中でのプラズモンは，自由電荷の疎密波であり，電荷の振動にともなって電磁場の振動が誘起される．この電磁場の振動は，電荷の振動に影響するため，両者の振動が結合した系をつくることになる．一般に，プラズモンやフォノンのような固体中での集団振動を素励起と呼び，素励起が電磁波と結合した系をポラリトンと呼ぶ．したがって，自由電荷の集団振動が電磁波と結合した系はプラズモンポラリトンと呼ばれる．表面(または，境界面)では，固体中で

のプラズモンとは状況が異なり，表面での境界条件を満たす別の集団振動が存在することになる[35]．これを表面プラズモンと呼ぶ，表面プラズモンはプラズマ物理学におけるプラズマ表面波に相当する[36]．また，金属を微小化してナノオーダースケールまで小さくすると，ナノ粒子の近傍領域に局在化したプラズモンが発生する．以下，金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴の理論について簡単に述べる．

粒径 d の粒子と電磁場の相互作用は，粒径が粒子周囲の媒質中を通る光の波長λよりはるかに小さい場合，単純な準静的近似により記述できる．この場合，調和的に振動している電磁場の位相は，粒子を超えても実質的に一定であるので，電磁場中に存在する粒子について考えることで，空間的に広がりのある電場分布を計算することができる．また，時間依存性は，電場分布の解に加えることができる．

図 1.8 に示すように，半径 a の等方的な球が，一様な静電場 $\mathbf{E}=E_0\mathbf{z}$ 中の原点に位置している場合を考える．球周囲の媒質は，誘電率ε_mで等方的に広がって吸収はないとし，電場は z 軸と平行方向にかかっているとする．球の誘電応答は誘電関数$\varepsilon(\omega)$によって記述され，ここでは単純に複素誘電率εと表現する．電場と静電ポテンシャルの関係式 $\mathbf{E}=-\nabla\varphi$ より静電ポテンシャルを求めてから，静電ポテンシャルを記述するラプラス方程式$\nabla^2\varphi=0$ を解くことで，次式に示す球内部と球外部の静電ポテンシャルを得ることができる．

$$\Phi_{in} = -\frac{3\epsilon_m}{\epsilon+2\epsilon_m}\mathbf{E}_0 r\cos\theta \tag{1.1}$$

$$\Phi_{out} = -\mathbf{E}_0 r\cos\theta + \frac{\epsilon-\epsilon_m}{\epsilon+2\epsilon_m}\mathbf{E}_0 a^3\frac{\cos\theta}{r^2} \tag{1.2}$$

球外部の静電ポテンシャルは，分極モーメント $\mathbf{p}$ を導入すると，

$$\mathbf{p} = 4\pi\epsilon_0\epsilon_m a^3\frac{\epsilon-\epsilon_m}{\epsilon+2\epsilon_m}\mathbf{E}_0 \tag{1.3}$$

と書き換えることができる．式(1.3)より，印加電場が球内部に引き起こす分極モーメントの大きさは，印加電場の大きさに比例することがわかる．また，分極率 α は，$\mathbf{p}=\varepsilon_0\varepsilon_m\alpha\mathbf{E_0}$ の関係式より，次式であらわさられる．

$$\alpha = 4\pi a^3\frac{\epsilon-\epsilon_m}{\epsilon+2\epsilon_m} \tag{1.4}$$

この複素分極率の絶対値$|\alpha|$は，分母の球周囲の誘電率と球内部の複素誘電率の関係が，$\mathrm{Re}[\varepsilon]=-2\varepsilon_m$ の条件のとき極大値を取る．実際に光がナノ粒子に入射する場合は，静電場を $\mathbf{E_0}=\mathbf{E}\exp(-\omega t)$として時間の項を加えるだけでよい．

よって，(1.4)式で記述されているとおり，複素分極率が極大値をとるようなある特定の周波数，すなわち，ある特定の波長の光が入射すことによって，入射光の電場振動はナノ粒子内部の自由電子の集団振動と共鳴し，その波長の光を最大限に吸収・散乱する．これが局在表面プラズモン共鳴である．近年，この局在表面プラズモン共鳴時に発生する，ナノ粒子周囲の増強電場や散乱効果を利用し，表面増強ラマン散乱(Surface Raman Enhanced

Scattering: SERS)による高感度バイオセンシング[12,13]や高変換効率のプラズモニック太陽電池[37]，高発光効率有機発光素子(Light-Emitting Device: LED)[38]などの研究開発が報告されている．

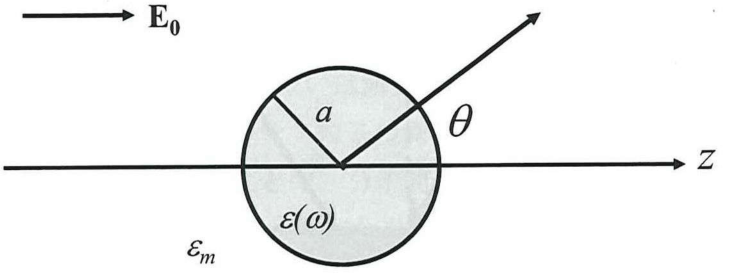

図 1.8　誘電率ε_mの媒質中に存在する誘電率εのナノ粒子．z 方向に平行に一様な電界 $\mathbf{E_0}$ がかかっている．

1.3.2　バイオセンサー応用

現在，高感度で簡便なバイオセンサーへの要求は，医療現場での癌の早期発見に向けた検査や食品における糖度計測など，あらゆる方面から高まってきている．そのような状況の中，標識試薬が必要なく，短時間測定が可能で簡易なバイオセンサーの研究開発が盛んに行われている．近年報告された，金属薄膜から観察される表面プラズモン共鳴(Sureface Plasmon Resonance: SPR)現象を利用したバイオセンサー[39]は，全反射減衰(Attenuated Total Reflection: ATR)法を用いた Kretschmann 配置[40]と呼ばれるプリズムを用いた光学系を使用している．図 1.9(a)に示すように，光がプリズムと外との界面で全反射するとき，その界面にエバネッセント波といわれる，表面だけを伝わる波がごくわずかににじみだす．一方で，金属の薄膜にも入射光により，表面の電子の集団振動による波，すなわち表面プラズモンが生じる．この２つの表面波の波数が一致すると共鳴が起き，光のエネルギーの一部が SPR を励起するために使われ，反射光として戻るエネルギーが減る．共鳴が起こる光の入射角は，周囲の誘電体層の状態に非常に敏感で，その角度の変化を見ることにより，単分子層程度の分子の吸着や脱離を検出することができる．この SPR センサーはすでに実用化され，金属薄膜表面に修飾した抗原に対応する抗体の検出によく用いられている．しかし，このSPR センサーは，プラズモン励起のために全反射条件を満たさなければならず，さらに，角度を変えながら反射光の強度の変化を感度良く検出する必要がある．また，大掛かりな光学系を必要とし，センシングデバイス部分・装置自体の小型化が困難であるなど様々な問題が指摘されており，簡易で小型なバイオセンサーには適していない．

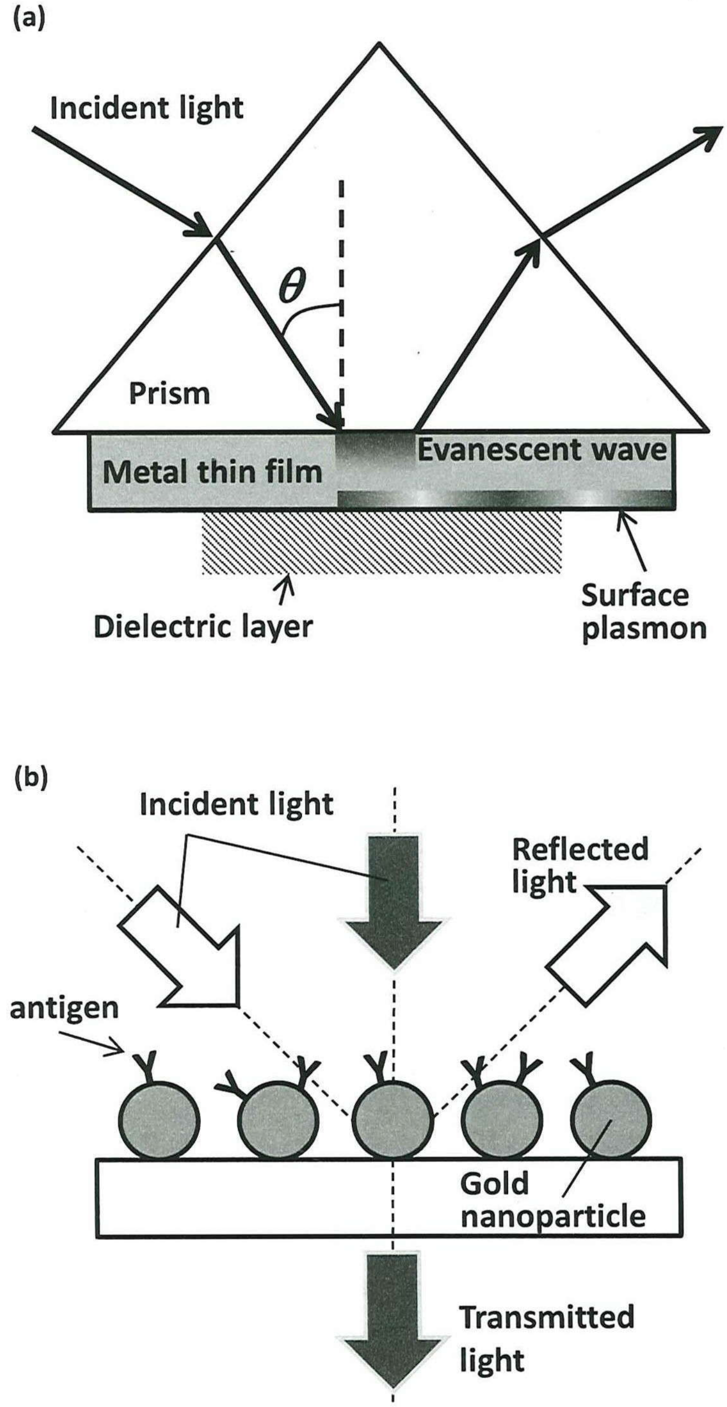

図 1.9　(a)Kretschmann 配置による金属薄膜の表面プラズモン共鳴を利用したバイオセンサーの模式図．入射光に対する反射率を角度を振りながらモニタリング．(b)金ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴を利用したバイオセンサーの模式図．金ナノ粒子表面にプローブとなる抗原を修飾し，抗体をトラップした際に誘電率の変化を入射光に対する透過光或いは反射光で吸収スペクトルをモニタリング．

そこで2000年初期以降，金ナノ粒子で起きるLSPRをバイオセンサーに応用することが試みられてきた[12,13]. (1.4)式からわかるように，複素分極率の絶対値$|\alpha|$が極大値を取る周波数は，金ナノ粒子周囲の誘電率ε_mが変化すると変わる．分極率の絶対値$|\alpha|$が極大値をとるとき，金ナノ粒子に入射した光の電場振動と金ナノ粒子内の自由電子の集団振動が共鳴する(LSPR). よって，その周波数の光の吸収・散乱が大きくなるので，金ナノ粒子へ入射する光の反射率や透過率は劇的に減少する．これらは，金ナノ粒子の吸収スペクトルとして抽出され，LSPRが起こる周波数，或いは波長にLSPR吸収ピークとして現れる．LSPRを利用したバイオセンサーでは，金ナノ粒子の周囲の誘電率の変化に応じた，吸収ピーク波長および強度の変化を測定することで，分子間の相互作用の検出や定量を行う．感度はSPRセンサーと同程度でありながら，特別な光学系を必要とせず，入射光に対する反射光或いは透過光を外部の光検出器でモニタリングするだけでよい(図1.9(b)). 金ナノ粒子の表面に抗原を修飾することで，検出したい抗体が抗原にトラップされた時の誘電率の変化を吸収スペクトルのシフトとして計測する．究極的には，1個の金ナノ粒子をプローブとして用いセンシングできる．SPRセンサーでは，真空蒸着により金属薄膜を作製するため，作製する場所が制限されるが，金ナノ粒子は，化学合成技術及びその配置技術の発達により，多様な表面に形成することができるようになっている．このような利点から，局在表面プラズモン共鳴を利用したバイオセンサーでは，様々な応用・展開が期待できる．例えば，仮にLSIやSSD(Solid-State Device)を組み込んだ半導体チップ上に，金ナノ粒子のLSPRを利用したバイオセンサーを搭載することができれば，SoC(System-on-Chip)の概念において非常に革新的であると言える(図1.1).

1.3.3 プラズモンアンテナ

1.3.1項で述べたように，金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴は，金属ナノ粒子の増強電場を発生させて光を閉じ込める効果がある．近年，この表面プラズモンの光の閉じ込め効果を利用し，半導体光検出器の検出効率の改善が試みられている．2005年，T. Ishiら．によって，n-Si/n$^+$-Si界面の光検出部を中心とした同心円状に，周期的な凹凸を作りこんだ銀薄膜を形成し，表面プラズモンアンテナとして利用することで，光検出器の感度を向上させる研究報告[40]が成された．これを皮切りに，様々な金属ナノ構造をプラズモンアンテナとして組み込んだ光検出器が作製されている[42]. 最近では，図1.10(a)-(c)に示すような，金ナノロッドを透明電極に埋め込んだプラズモンアンテナショットキー光検出器が報告された[43]. このデバイスの興味深い特徴は，金ナノロッドをプラズモンアンテナとショットキー電極として利用していることにある．よって，照射された光により，金ナノロッドの局在表面プラズモン共鳴が発現することで，金ナノロッド内の電子正孔対が励起され[44,45], その励起キャリアがショットキー障壁を越えて光電流が流れる(図1.10(a)). 光電流は，局在表面プラズモン共鳴に起因するので，金ナノロッドのLSPR吸収スペクトルに酷似した波長

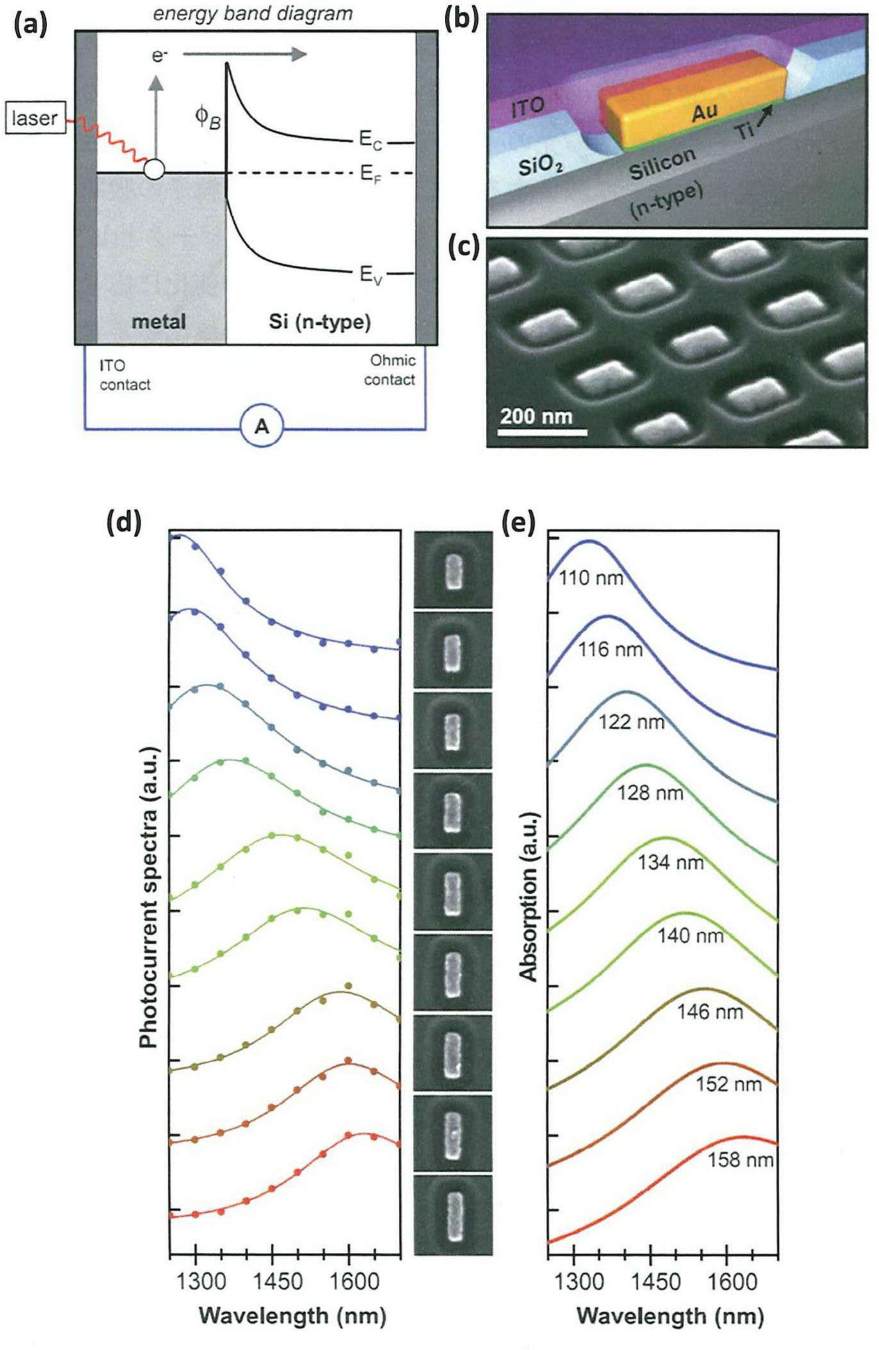

図 1.10　プラズモンアンテナを有するショットキー光検出器[42]. (a)Au/n$^+$-Si 界面でのショットキー障壁を越える励起キャリアが光電流となる．(b)デバイス模式図．(c)金ナノロッドプラズモンアンテナの SEM 像．(d)光電流の波長依存性．(e)LSPR 特性の金ナノロッドの形状依存性.

依存性を示す(図 1.10(d), (e)). よって，金ナノロッドのアスペクト比を制御し，LSPR 吸収波長を変調させることで，ショットキー光検出器の光電流の波長依存性もまた制御できる．

このように，金ナノ粒子を集積した光半導体デバイスは，新機能デバイスを生み出す可能性を秘めている．特に，この Au/n^{+}-Si ショットキー光検出器の概念は，バイオセンサー半導体チップ応用への期待が持てる．1.3.2 項で述べたように，金ナノ粒子の LSPR を利用したバイオセンサーは，入射光に対する透過光，或いは反射光を，外部の検出器を使ってモニタリングしている．そのため，バイオセンサー機構全体の縮小化には限界があり，さらに，半導体チップ上に集積することは不可能である．しかしながら，先述のショットキー光検出器のように，デバイス上に集積した金ナノ粒子(上記では金ナノロッド)の局在表面プラズモン共鳴の信号を光電流で検出し，さらに，金ナノ粒子をセンシング部として用いることが可能となれば，バイオセンシングシステムを有する半導体チップが実現できる．

1.4 本研究の目的

1.1 節で論じたように，ナノテクノロジーの時代である今日において，半導体デバイスは，これまでの LSI の高性能化とは別に，ナノスケール領域で発現する現象を利用し，新たな機能を付加した新機能半導体デバイスの実現に期待が寄せられている．中でも，金属ナノ粒子の量子効果や LSPR の応用が検討されている．しかしながら，多種多様な金属ナノ粒子を，均一な大きさで制御性良く半導体基板上に集積するには，従来のリソグラフィ技術では困難である．そのため，ナノ構造体から所望のデバイスを構築するボトムアップ型バイオ応用プロセスが注目されつつある．本研究では，トップダウン型半導体プロセスに，フェリチンタンパク質を利用したボトムアップ型バイオナノプロセスを融合させることで，新規光電子デバイスを作製することを最終的な目的とする．

図 1.11 に本論文の構成を示す．これまで，Ti を選択的に認識することができる Ti アプタマーを修飾した TBF による金属ナノ粒子の選択配置が達成されており，単電子トランジスタや量子ドットメモリ等が作製された．しかしながら，このようにデバイス作製に応用されているにもかかわらず，TBF の選択吸着機構についての詳細は未だ不明である．また従来技術では，フェリチンタンパク質内に内包可能な材料種や粒子サイズが限定されており，プラズモニック機能デバイスへの応用が困難である．つまり，フェリチンタンパク質を利用したバイオナノプロセスは，まだ発展途上にあり，新機能半導体デバイスの実現に向け，デバイス応用範囲の制限を取り払うことが求められている．そこで本研究では，まずフェリチンタンパク質を利用した金属ナノ粒子選択配置技術のさらなる発展に主眼をおく．第 2 章では，その足がかりとして，デバイス作製応用を念頭に置いて，TBF の Ti 選択吸着機構を解明することで，TBF による金属ナノ粒子選択配置技術における新たな手法の確立を目指した．また，第 3 章では，バイオナノプロセスをプラズモニック機能デバイス作製技術

まで拡張するため，遺伝子改変フェリチンタンパク質による金ナノ粒子選択配置技術の開発を行った．さらに，第 4 章では，金ナノ粒子の LSPR 特性を利用するにあたり，必要不可欠であるタンパク質除去処理法として，大気圧 He プラズマ処理を検討した．最後に，第 5 章において，高度化したバイオナノプロセスを利用し，金ナノ粒子を集積した新規光電子デバイスの提案と，その作製・評価を行った．第 6 章では本論文の総括を記した．

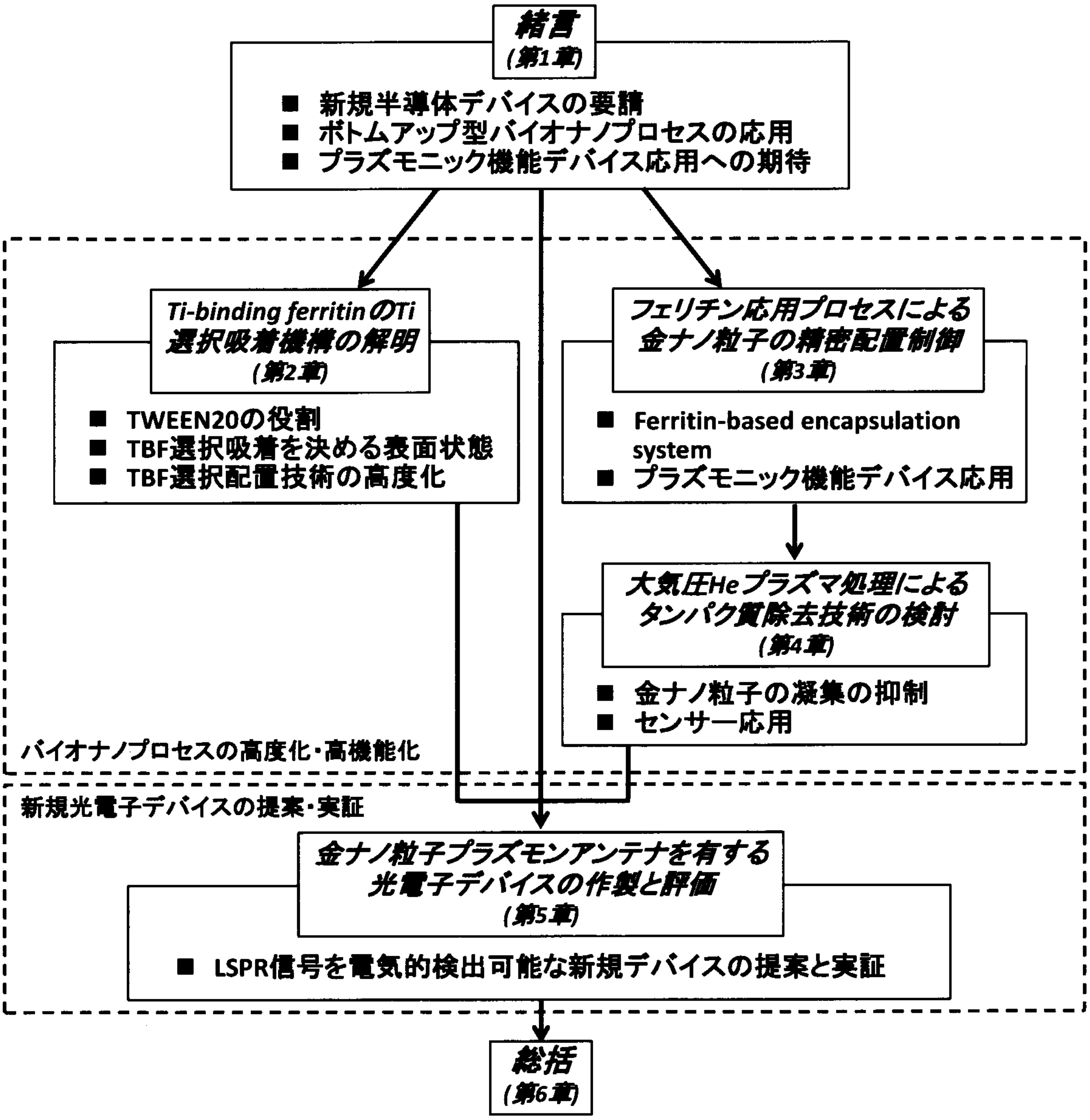

図 1.11　本論文の構成．バイオナノプロセスの高度化・高機能化に取り組み，その特性を生かした新規光電子デバイスの提案と動作実証を行う．

参考文献

[1] G. E. Moore, Electronics: **38** (1965) 114.

[2] The International Technology Roadmap for Semiconductors; see http://www.itrs.net/Links/2011ITRS/Home2011.htm for the latest updates (2011).

[3] B. Yu, L. Chang, S. Ahmed, H. Wang, S. Bell, C. Y. Yang, C. Tabery, C. Ho, Q. Xiang, T. J. King, J. Bokor, C. Hu, M. R. Lin, and D. Kyser: IEDM Tech. Dig., 2002, p.251.

[4] K. Mistry, C. Allen, C. Auth, B. Beattie, D. Bergstrom, M. Bost, M.Buehler, A. Cappelani, R. Chau, C. H. Choi, G. Ding, K. Fischer, T.Ghani, R. Grover, W. Han, D. Hanken, M. Hattendorf, J. He, J. Hicks, D. Huessner, D. Ingerley, P. Jain, R. James, Jong, S. Joshi, C. Kenyon, K. Kuhn, K. Lee, H. Liy, B. McIntyre, P. Moon, J. Neiynck, C. Parker, D.Parsons, L. Pipes, M. Prince, P. Ranade, T. Reynolds, J. Sandford, L.Schifren, J. Sebastian, J. Seiple, D. Simon, S.Sivakumar, P. Smith, C. Thomas, T. Troeger, P. Vanderyoon, S. Williams, and K. Zawadzi: Tech. Dig. Int. Electron Devices Meet. 2007, p. 247.

[5] S. Takagi, T. Irisawa, T. Tezuka, T. Numata, S. Nakaharai, N. Hirashita, Y. Moriyama, K. Usuda, E. Toyoda, S. Dissanayake, M. Shichijo, R. Nakane, S. Sugahara, M. Takenaka, and N. Sugiyama: IEEE Trans. Electron Devices, **55** (2008) 21.

[6] R. H. Dennard, F. H. Gaensslen, H. N. Yu, V. L. Rideout, E. Bassous, and A. R. LeBlanc: IEEE J. Solid-State Circuits **SC-9** (1974) 256.

[7] Q. Chen, and Z. Zhang: J. Appl. Phys. Lett. **73** (1998) 3156.

[8] X.X. Zhang, J. Tejata, J.M. Hernandez, and R.F. Ziolo, Nanostruct: Mater. **9** (1997) 301.

[9] A.L. Efros: Sov. Phys. Semicond. **16** (1982) 772.

[10] L.J. Brus: Phys. Chem. **90** (1986) 2555.

[11] S. Links, M.A. El-Sayed: J. Phys. Chem. B (1999) 8410.

[12] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sönnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kürzinger: Nano Lett. **3** (2003) 935.

[13] E. Hutter, and J. H. Fendler: Advanced Material **16** (2004) 1685.

[14] S. A. Maier, M. L. Brongersma, P. G. Kik, S. Meltzer, A. A. G. Requicha, and H. A. Atwater: Adv. Mater. **13** (2001) 1501.

[15] D. M. Schaadt, B. Feng, and E. T. Yu: Appl. Phys. Lett. **86** (2005) 063106.

[16] N. Sakai, Y. Fujiwara, Y. Takahashi, and T. Tatsuma: Chem. Phys. Chem. **10** (2009) 766.

[17] A. M. Kalsin, M. Fialkowski, M. Paszewski, S. K. Smoukov, K. J. M. Bishop, and B. A. Grzybowski: Science **312** (2006) 420–4.

[18] H. Chen, X. Kou, Z. Yang, W. Ni, and J. Wang: Langmuir **24** (2008) 5233.

[19] W. Gotschy, K. Vonmetz, A. Leitner, and F. R. Aussenegg: Appl. Phys. B **63** (1996) 381.

[20] V. G. Kravets, F. Schedin, R. Jalil, L. Britnell, K. S. Novoselov, and A. N. Grigorenko: J. Phys. Chem. C **116** (2012) 3882.

[21] F. C. Meldrum, B. R. Heywood and S. Mann: Science **257** (1992) 522.

[22] S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum and N. J. Reeves: Science **261** (1993) 1286.

[23] T. Douglas, D. P. E. Dickson, S. Betterridge, J. Charnock, C. D. Garner and S. Mann: Science **269** (1993) 54.

[24] T. Douglas and V. T. Stark: Inorg. Chem. **39** (2000) 1828.

[25] F. C. Meldrum, T. Douglas, S. Levi, P. Arosio and S. Mann: J. Inorg. Biochem **58** (1995) 59.

[26] K. Sano and K. Shiba: J. Am. Chem. Soc. **125** (2003) 14234.

[27] I. Yamashita, H. Kirimura, M. Okuda, K. Noshio, K. Sano, K. Shiba, T. Hayashi, M. Hara, and Y. Mishima: Small **2** (2006) 1148.

[28] N. Matsukawa, K. Nishio, K. Sano, K. Shiba, and I. Yamashita: Langmuir **25** (2009) 3327.

[29] T. Hayashi, K. Sano, K. Shiba, Y. Kumashiro, K. Iwahori, I. Yamashita, and M. Hara: Nano Lett. **6** (2006) 515.

[30] T. Hayashi, K. Sano, K. Shiba, K. Iwahori, I. Yamashita, and M. Hara: Langmuir **25** (2009) 10901.

[31] S. Kumagai, S. Yoshii, N. Matsukawa, K. Nishio, R. Tsukamoto and I. Yamashita: Appl. Phys. Lett. **94** (2009) 083103.

[32] K. Ohara, I. Yamashita, T. Yaegashi, M. Moniwa, M. Yoshimatru, and Y. Uraoka: Appl. Phys. Express **2** (2009) 095001

[33] K. Sano, S. Yoshii, I. Yamashita and K. Shiba: Nano Lett.**7** (2007) 3200.

[34] B. Zheng, I. Yamashita, M. Uenuma, K. Iwahori, M. Kobayashi, and Y. Uraoka: Nanotechnology **21** (2010) 045305.

[35] 塚田捷: 表面の電子励起 (丸善, 1996).

[36] N.A. Krall and A.W. Trivelpiece: Principles of PlasmaPhysics (McGraw-Hill Inc., 1973).

[37] S. Pillai, and M. A. Green: Sol. EnergyMater. Sol. Cells (2010), doi:10.1016/j.solmat.2010.02.046

[38] A. Fujiki, T. Uemura, N. Zettsu, M. Akai-Kasaya, A. Saito, and Y. Kuwahara: Appl. Phys. Lett. **96** (2010) 043307.

[39] J. Homola, S. S. Yee and G. Gauglitz: Sensors and Actuators B **54** (1999) 3.

[40] E. Kretschmann: Z. Phys. **241** (1971) 313.

[41] T. Ishi, J. Fujikata, K. Makita, T. Baba, and K. Ohashi: Jpn. J. Appl. Phys. **44** (2005) L364.

[42] L. Tang, S. E. Kocabas, S. Latif, A. K. Okyay, D. Sebastien, L. Gagnon, K. C. Saraswat and D. A. B. Miller: Nat. Photonics **2** (2008) 226.

[43] M. W. Knight, H. Sobhani, P. Nordlamder, and N. J. Halas: Science **332** (2011) 702.

[44] V. M. Shalaev, C. Douketis, J. T. Stuckless, and M. Moskovits: Phys. Rev. B **53** (1996) 11388.

[45] L. Lehmann, M. Merschdorf, W. Pfeiffer, A. Thon, S. Voll, and G. Gerber: Phys. Rev. Lett. **85** (2000) 2921.

第2章　Ti-binding ferritin の Ti 選択吸着機構の解明

2.1　緒言

金属ナノ粒子は，そのサイズが数十 nm スケールであることにより，バルク金属では起こり得ない新しい様々な機能を発現する．そのため，触媒，センサー，アクチベーターやナノエレクトロニクスなどの幅広い応用の可能性を秘めている魅力的な材料である．しかしながら，金属ナノ粒子を集積した新機能・高機能デバイスを作製するためには，デバイスを構築する領域のみに，均一な金属ナノ粒子を制御性良く集積する技術が必要不可欠である．この課題に対して，TBF(Ti-Binding Ferritin)は，金属ナノ粒子を特定の領域に選択的に運ぶことが可能なポーータープロテインの一つとして報告された[1,2]. フェリチンタンパク質は元来，内部に空洞を持つ球殻状に配列した 24 個のサブユニットから構成されており，外径と内径はそれぞれ 12nm，7nm である(1.2.1 参照)[3]．適切な溶液条件下でのバイオミネラリゼーション技術により，フェリチンタンパク質の空洞内部には鉄(Fe)，コバルト(Co)，ニッケル(Ni)などの様々な金属ナノ粒子を導入することができる[4-8]．図 1.5 と図 1.6 に示すように，TBF はサブユニットの N 末端に Ti アプタマーと呼ばれる 6 連鎖のペプチドを提示しており，それを介して Ti と Si 両方に親和性を持つ[9].

溶液中の環境では，Ti と Si の表面はそれぞれ，両性酸化物である TiO_2 と酸性酸化物である SiO_2 に覆われている．両表面に存在する-OH 基グループは，溶液中ではプロトン化或いは脱プロトン化する[10]. これまでの研究により, TBF は, Ti アプタマー中のアルギニン(Arg)

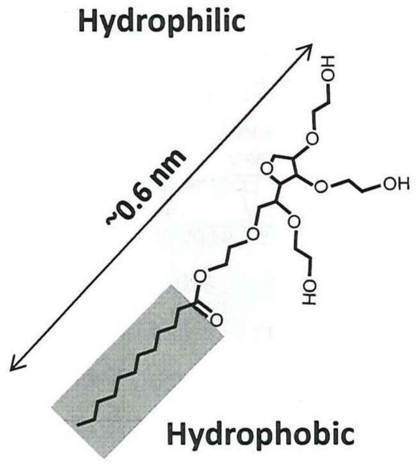

図 2.1　TWEEN20 の構造式.

のアミノ基-NH_3^+とアスパラギン酸(Asp)のカルボキシル基-COO^-が，Ti 酸化物表面の-O^-基と-OH_2^+基と静電相互作用することで，Ti と強く結合することが示されている[9,11]．また，-O^-基しか存在しない Si 酸化物表面では，Arg の-NH_3^+のみと静電相互作用し，TBF-Ti 間の結合力の半分であることも報告されている[11]．そのため，TBF 単体では Ti 選択吸着能を示さず，非イオン性界面活性剤の TWEEN20(図 2.1)が，TBF 溶液中に存在することで(>>0.06mM: 臨界ミセル濃度)，SiO_2 上に形成した Ti パターンへの TBF の選択吸着が起きると考えられている[1,2,12]．しかしながら，TBF が選択吸着能を発現する際に，TWEEN20 が果たしている役割の詳細は未だ不明である．また，その TWEEN20 が存在する溶液条件下で，TBF が Ti 表面のみに固定される要因についてもほとんどわかっていない．そこで本章では，それらを実験的に明らかにし，TBF による金属ナノ粒子選択配置技術のさらなる高度化を目指す．

2.2　非イオン性界面活性剤 TWEEN20 の役割

TBF の吸着挙動は，Ti アプタマーを含めた TBF と基板表面間の相互作用に支配されている．よって，TWEEN20 は，TBF の選択吸着の際，TBF の周囲或いは基板表面に何らかの影響を与えている可能性が高い．そこで，TBF の周囲や基板表面に予め TWEEN20 を配位し，吸着実験を行うことで，TBF の吸着挙動に対する TWEEN20 の役割の解明を目指す．

2.2.1　実験

TWEEN20 を周囲に配位した TBF の作製プロセスの模式図を図 2.2 に示す．終濃度 250μg/mL となるように調整した TBF 溶液(50mM Tris-HCl, pH8.0, 5% TWEEN20)を遠心分離にかけ，TBF をマイクロチューブ底へ沈殿させた．余剰な TWEEN20 を含む上澄み溶液を回収した後，再び Tris buffer 溶液(50mM Tris-HCl, pH8.0)で満たした．ゼータ電位測定，及び動的光散乱(Dynamic Light Scattering: DLS)測定により，TBF 周囲に存在する TWEEN20 の有無について調べた．

図 2.3 に本吸着実験で用いる基板の作製プロセスを示す．膜厚 60nm の熱酸化膜 SiO_2 付 Si 基板に対し，アセトン洗浄を 5 分間，続いて硫酸過水洗浄を 15 分間行った後，超純水でリンスした．RF スパッタ蒸着により，洗浄した基板上に 5nm 厚の Ti 膜を成膜した．その後，UV オゾン処理(110°C, 20 分)を実施し，Ti 膜表面の清浄化と酸化を行った．比較実験に用いる SiO_2 基板は，熱酸化膜付 Si 基板を上記と同様の手順で洗浄した後，UV オゾン処理(110°C, 20 分)を施すことで用意した．準備したこれらの基板は，TWEEN20 を周囲に配位した TBF を含む溶液に浸漬し，1 分間静置した後，Tris buffer 溶液で 3 回，超純水で 2 回洗浄した．窒素ガスブローにより基板を乾燥し，原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)を用いて基板表面を観察した．また，比較実験として，TWEEN20 を含まない TBF 溶液(20

μg/mL, 50 mM Tris-HCl, pH8.0)を用い，同様の吸着実験を行った.

一方，基板上の TWEEN20 が選択吸着に及ぼす作用について検討するため，図 2.3 に示す作製プロセスで Ti 基板と SiO_2 基板を準備し，濃度 0.5%の TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液中に 3 分間浸漬した．Tris buffer 溶液でリンス後，基板上の TWEEN20 の有無は，フーリエ変換赤外分光法(Fourier Transform Infrared Spectroscopy: FT-IR)により確認した.

TWEEN20 を含まない終濃度 20μg/mL の TBF 溶液(50mM Tris-HCl, pH8.0)中に，上記で用意した基板を 3 分間浸漬し，Tris buffer 溶液で 3 回，続いて超純水で 2 回洗浄した後，窒素ガスブローにより乾燥した．TBF の吸着状態は AFM で観察した.

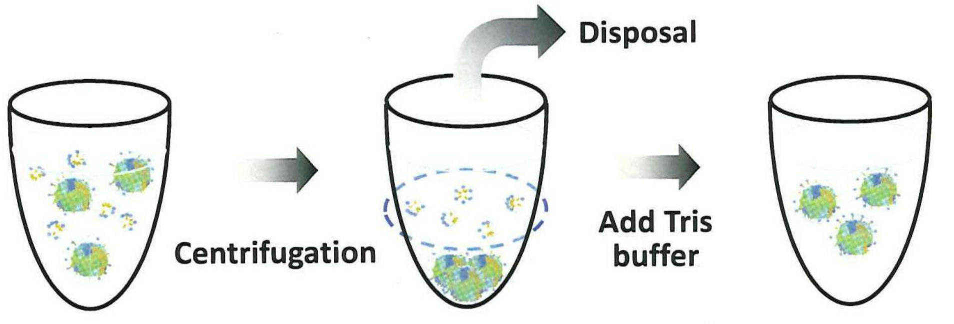

図 2.2　TWEEN20 で覆われた TBF の作製方法.

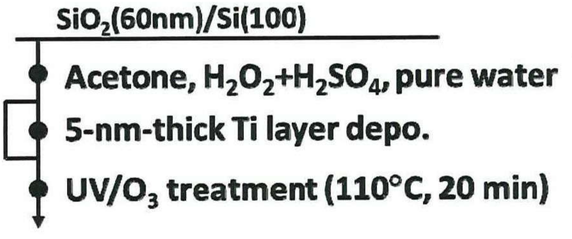

図 2.3　吸着実験に用いる基板の作製プロセス.

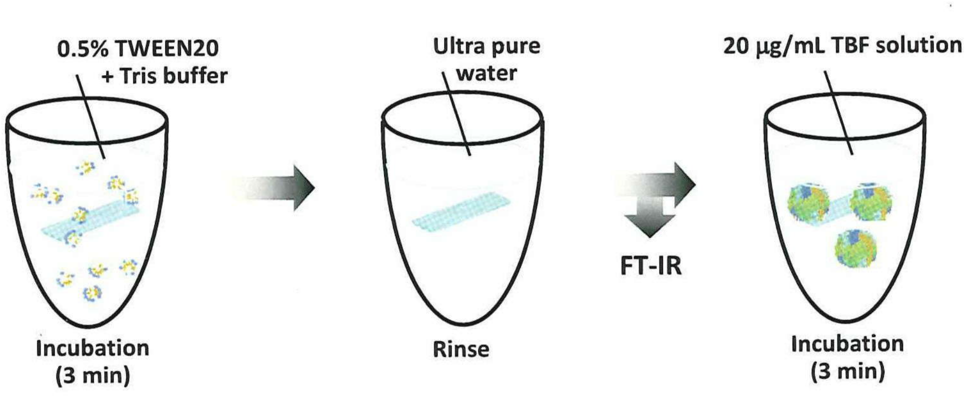

図 2.3　TWEEN20 で覆われた基板の作製方法及びそれを用いた TBF の吸着実験.

2.2.2 結果と考察

TBF のゼータ電位の変化から TBF 周囲の TWEEN20 の有無を調べるため, Tris buffer 溶液, 及び, 0.5%濃度の TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液中の TBF のゼータ電位測定を行った. その結果を表 2.1 に示す. Tris buffer 溶液中の TBF は, -7.4mV と負のゼータ電位を示した. 比較として, Ti アプタマーを持たないフェリチンタンパク質のゼータ電位を測定した結果, pH8.0 の Tris buffer 溶液中では-12.7mV であった. TBF の場合, フェリチンサブユニットの N 末端に Ti アプタマーが存在し, Ti アプタマー中のリシン(Lys)と Asp が, 正電荷を持つアミノ基-NH_3^+を持っている. そのため, TBF のゼータ電位は, フェリチンタンパク質のゼータ電位に比べ, 若干正側へシフトしたと考えられる. 一方, Tris buffer 溶液中に TWEEN20 が存在する場合, TBF のゼータ電位は, 1.5mV と中性に近い値を示した. この結果より, 非イオン性で, 親水性部に電荷を持たない界面活性剤の TWEEN20(図 2.1)が, TBF に作用していることが予想できる. ゼータ電位は, TBF 表面の局所的な静電ポテンシャルではなく, それらを総合した静電ポテンシャルの平均値である. よって, 0mV に近いゼータ電位は, TBF 表面に「電荷はほとんど存在していない」, 或いは, 「局所的な正電荷と負電荷は存在するが, 総量が等しいので, 電荷が存在しないように見えている」ことを意味している. しかしながら, フェリチンタンパク質は, 図 1.4(a)と(b)で示したように, 表面に正負の電荷分布を持っている. さらに, Tris buffer 溶液中の TBF のゼータ電位からも明らかなように, TBF 表面も電荷分布を持ち, 負電荷が正電荷に比べて多く提示されている. よって, TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液中の TBF 表面には, 「電荷はほとんど存在していない」ように観測されていることになる. これは, TBF 周囲に TWEEN20 が配位しているため, TBF 表面の電荷や Ti アプタマーの電荷による静電ポテンシャルが, ゼータ電位として観測されなかった結果であると考えることができる.

TBF が TWEEN20 に覆われている状態をより直接的に調べるため, DLS 測定を行った. DLS 測定で得られた粒径分布のピーク値を図 2.5 に示す. ここでは, TWEEN20 の存在の有無についてのみに言及するため, 粒径分布についての詳細は述べないことにした. TWEEN20 を含まない Tris buffer 溶液中の TBF の粒径は, 約 11nm であり, フェリチンタンパク質の外径と非常に近い値を示した. 完全に一致していないのは, DLS 測定の測定精度によるものである. 一方, TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液の TBF の粒径は約 15nm であった. これらの結果は, TBF が TWEEN20 に覆われていることを示している. よって, TWEEN20

表 2.1　Tris buffer 溶液と TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液に分散した TBF のゼータ電位.

TBF 50 mM Tris-HCl pH8	TBF +TWEEN20 Tris-HCl
-7.4 mV	1.5 mV

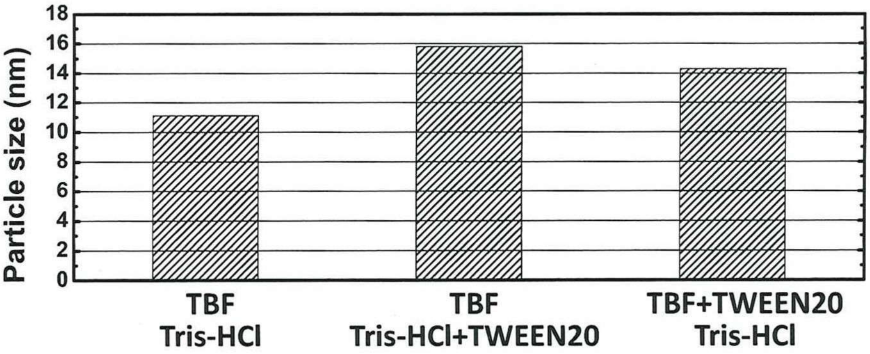

図2.5　DLS測定結果. Tris buffer溶液中, TWEEN20を含むTris buffer溶液, 及び遠心分離により回収したTWEEN20に覆われたTBFを分散させたTris buffer溶液の中でのTBFの粒子サイズを示す.

が十分存在する溶液中では, TBFは, 周囲にTWEEN20が配位した状態で存在していることがわかった. また, TBFの外径が12nmであることを考慮すると, TBF周囲に存在するTWEEN20の層は, 約1-2nmであることが明らかとなった. これは, 直線距離で約0.6nmのTWEEN20が二重層以上を形成し, TBFを覆っていることを示唆している. 一方, 遠心分離を用い, TWEEN20を含むTris buffer溶液中から回収した後, Tris buffer溶液中に分散させたTBFの粒径は約14nmであった. この値はTWEEN20を含むTris buffer溶液中のTBFの粒径と近い値であり, TBFは, TWEEN20に覆われた構造を維持していることがわかった. つまり, このTBF溶液を用いて基板上への吸着実験を行うことで, TBF周囲のTWEEN20が, Ti選択吸着挙動に及ぼす影響について調べることができる.

各条件で吸着実験を実施した後, SiO_2基板とTi基板の表面形状をAFMで観察した結果を図2.6に示す. TBFの周囲と基板表面の両方にTWEEN20が存在しない場合(図2.6(a)), TBFは, SiO_2基板とTi基板の両表面ともに吸着していた. これはTiアプタマーの作用によるものである. 一方, TBFの周囲のみにTWEEN20を配位した吸着実験(図3(d))では, SiO_2基板表面にTBFの存在は確認できなかったが, TBFはTi基板表面には高密度に吸着していた(図2.6(e), (f)). これらの結果より, TBFは, TBF周囲のTWEEN20の作用により, Ti基板表面のみに選択吸着していることがわかる. これは, 視点を変えると, TBF周囲を覆っているTWEEN20が, SiO_2基板表面へのTBFの吸着を阻害していると言える. DLS測定の結果より(図2.5), TBFは2層以上のTWEEN20層に覆われていることがわかっている. よって, このTWEEN20層が, TBFに付属するTiアプタマーのSiO_2表面への接近を抑制していると考えられる. そのため, Tiアプタマー中のArgの-NH_3^+基とSiO_2表面の-O^-基との間の静電相互作用が弱く, TBFがSiO_2表面に固定されなかったと予想できる.

基板表面のみにTWEEN20を配位した吸着実験(図2.6(g))の結果を図2.6(h), (i))に示す. TBF周囲のみにTWEEN20を配位した吸着実験と同様に, TBFはSiO_2基板表面に存在しな

かったが，Ti 基板表面には密に吸着していた(図 3(h), (i))．吸着実験前に，両基板表面の TWEEN20 の存在の有無について，FT-IR を用いて測定した結果を図 2.7 に示す．この吸収スペクトルは，TWEEN20 を含む Tris-buffer 溶液に浸漬した基板の吸収スペクトルから，浸漬前の基板の吸収スペクトルを引いた差スペクトルである．Ti 基板と SiO_2 基板の吸収スペクトルは両方とも，波数 1000-1200cm^{-1} の範囲に，C-O 結合に由来した吸収ピークが観測された．しかしながら，SiO_2 表面の吸収ピーク面積強度は，Ti 表面からの吸収ピーク面積強度と比べると，非常に大きかった．C-O 結合は，TWEEN20 に含まれるものと考えられ，吸収ピーク強度を比較することで，基板表面への TWEEN20 の吸着量を判断することができる．よって，この FT-IR の測定結果は，TWEEN20 が，Ti 基板表面と比較して，SiO_2 基板表面により多く配位していることを示している．この結果は，水晶振動子を用い，SiO_2 表面と Ti 表面で TWEEN20 の吸着量を in-situ で測定した結果と一致している[11]．Ti 基板表面と SiO_2 基板への TBF の吸着状態と，その両基板への TWEEN20 の吸着量を踏まえると，基板表面上の TWEEN20 の存在が，TBF の吸着を左右する重要な要因となっていることがわかった．SiO_2 表面の場合，多量の TWEEN20 により SiO_2 表面にブロック層が形成され，Ti アプタマーの結合サイトである-O^-基を覆うことで，TBF の SiO_2 基板表面への接近が阻害されていると考えられる．一方，TWEEN20 がほとんど存在しない Ti 基板表面の場合，TBF は，容易に表面に接近することができ，Ti アプタマーと Ti 基板表面の静電相互作用により固定されると思われる．

以上の結果を踏まえ，TWEEN20 が存在する TBF 溶液中で，TBF が Ti 表面のみに選択吸着する機構について議論する．TBF 表面と基板表面のどちらか一方に TWEEN20 を配位した吸着実験の結果より，SiO_2 上 Ti パターンへの TBF の選択吸着において，TBF と基板表面の間に TWEEN20 の層が存在することが重要であることが明らかとなった．TWEEN20 が溶液中に過剰に存在する条件の場合(>>0.06mM:臨界ミセル濃度)，TWEEN20 は TBF 表面と基板表面の両方とも被覆していると思われる．そのため，TWEEN20 の吸着阻害作用は大きい．よって，溶液中に TWEEN20 が存在する条件下で，TBF が SiO_2 表面に吸着を試みる場合，ブラウン運動により SiO_2 表面へ接近しても，TBF 周囲と基板表面の TWEEN20 層により，Ti アプタマーと SiO_2 表面の接触が抑制され，Ti アプタマーを介した SiO_2 表面への TBF の吸着は起こりにくいと考えられる(図 2.8(a))．また，例え Ti アプタマーと SiO_2 表面が接触し，Ti アプタマー中の Arg の-NH_3^+と SiO_2 表面の-O^-基との間で静電相互作用が働いたとしても，結合力が弱いため，熱振動による吸脱着が起こりやすく，さらに，TWEEN20 が再吸着を妨害するので，吸着を維持することができないと思われる．SiO_2 表面へ吸着した TBF の吸着耐性を調べるため，TBF が吸着した SiO_2 基板を，0.5%濃度の TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液を用いて洗浄した．その結果，SiO_2 表面の TBF はほぼ脱離していた．一方，Ti 表面の場合，TWEEN20 の存在量は少ないので，TBF は，周囲に TWEEN20 が配位した状態でも，Ti 表面に接近した際，Ti アプタマーを介して Ti 表面に吸着する確率が高くなる．また，Ti

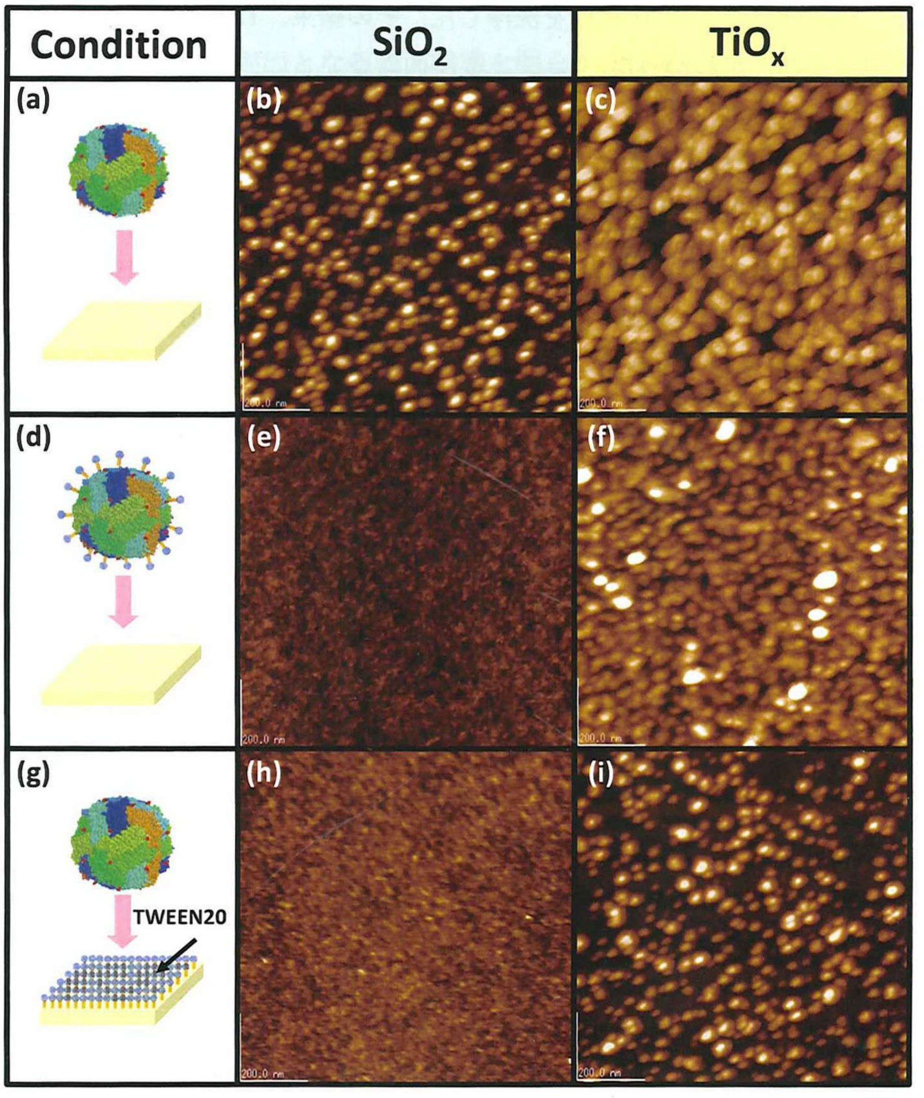

図 2.6　吸着実験の条件を表した模式図とその吸着実験により得られた AFM 像. (a)参照実験として, TWEEN20 で覆われていない TBF 及び基板を使用. (a)の吸着実験によって得られた(b)SiO_2 表面と(c)TiO_x 表面への TBF の吸着状態. (d)TWEEN20 で覆われた TBF の(e)SiO_2 表面と(f)TiO_x 表面への吸着状態. (g)TWEEN20 で覆われた(h)SiO_2 表面と(i)TiO_x 表面への TBF の吸着状態.

アプタマー中の Arg の-NH_3^+と Ti 表面の-O^-基との間の静電相互作用に加えて, Asp の-COO^-と Ti 表面の-OH_2^+の静電相互作用も吸着に寄与するので, TBF-Ti 間の吸着力は SiO_2 表面より強い[11]. よって, TBF は Ti 表面にある程度近づいた後は, 静電引力により Ti 表面に引き寄せられて吸着し, 表面に固定されると考えられる(図 2.8(b)). 一度固定された後の TBF-Ti

間の吸着力の強さを確認するため，SiO_2 基板への実験と同様に，TWEEN20 を含む Tris buffer 溶液を用い，TBF が吸着した Ti 基板を洗浄した．その結果，TBF は脱離せず，Ti 基板表面に固定され続けることがわかった．

以上より，TWEEN20 は，TBF の吸着挙動において，TBF の基板表面への接近を阻害する役割に加え，Ti アプタマーと基板表面の間での熱振動による吸脱着プロセス中に再吸着を抑制し，TBF-基板間の結合力を弱める働きを持っていることが明らかとなった．

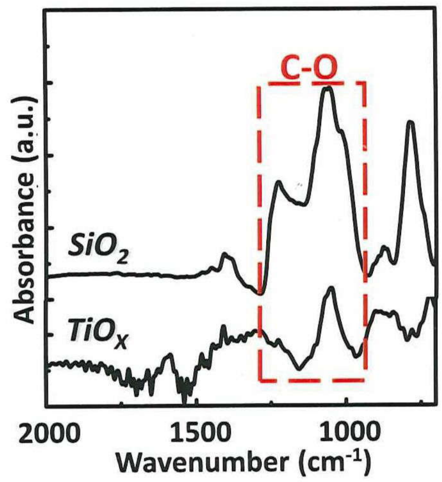

図 2.7　FT-IR 測定によって SiO_2 表面及び TiO_x 表面から得られたスペクトル．C-O 結合由来のピークは TWEEN20 の存在を示す．

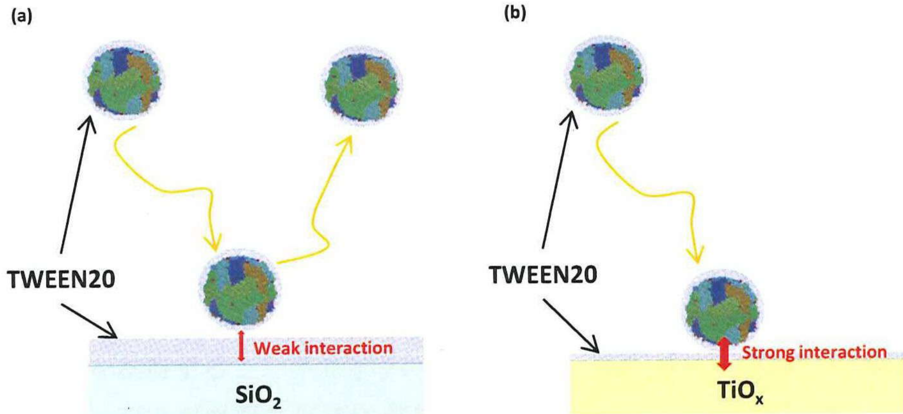

図 2.8　多量の TWEEN20 存在する溶液中での TBF の吸着挙動モデル．(a) TBF は，SiO_2 表面に存在する厚い TWEEN20 層により吸着を阻害される．(b)TiO_x 表面には，TWEEN20 はほとんど存在せず，TBF の吸着を阻害しない．

2.3　Ti 超薄膜の表面電荷状態による TBF の吸着挙動制御

TBF が Ti 表面に吸着する要因となる表面状態を明らかにするため，SiO_2 表面に 1 原子層以下の Ti 超薄膜を形成し，TBF の吸着挙動を観察した．

2.3.1　実験

60nm 膜厚の熱酸化膜 SiO_2 付 Si 基板を硫酸過水で 15 分間洗浄した．図 2.9(a)に示したように，1 原子層以下の Ti 超薄膜は，RF マグネトロンスパッタ法を用い，Ti ターゲットと SiO_2 基板の距離を変化させて成膜した．Ti 超薄膜の膜厚は，Ti 原子が SiO_2 層最表面のみに存在すると仮定し，SiO_2 基板の Ti 表面被覆率Θとして評価した(図 2.9(b))．Ti 表面被覆率は，X 線光電子分光法(X-ray Photoelectron Spectroscopy: XPS)により各基板の Ti 2p core-level スペクトルを測定し，得られたスペクトルの面積強度から次式を用いて算出した．

$$\Theta = \frac{\sigma_{Si2p} n_{SiO_2} \lambda_{SiO_2} I_{TiO_2}}{\sigma_{Ti2p} n_{TiO_2} \lambda_{TiO_2} I_{SiO_2}} \times \left\{ 1 - \exp\left(- \frac{d_{Ti,1ML}}{\lambda_{TiO_2} \sin\theta} \right) \right\}^{-1}$$

ここで，σ, n, λ, θ, $d_{Ti,1M}$はそれぞれ，光イオン化断面積，原子密度，非弾性散乱平均自由行程，光電子の取り出し角，Ti 原子 1 層の膜厚である．その結果，今回の実験で用いた試料の Ti 表面被覆率は 0.02 から 0.08 の範囲である事を確認した．TBF の Ti 超薄膜への吸着挙動と基板の表面状態の相関を議論するため，基板表面の形状と静電ポテンシャルをそれぞれ AFM とゼータ電位計により評価した．本実験では，Fe_2O_3 ナノ粒子を内包した TBF を含む溶液(濃度 20μg/mL，Tris buffer 溶液，0.5%TWEEN20，pH8.0)を用い，吸着実験を行った．準備した各基板を TBF 溶液に 1 分間浸漬した後，Tris buffer 溶液で 3 回，超純水で 2 回洗浄し，遠心分離により基板を乾燥した．UV オゾン処理により Fe_2O_3 ナノ粒子を覆う TBF タンパク質を除去した後，走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope: SEM)を用いて基板表面を観察した．得られた SEM 像内の Fe_2O_3 ナノ粒子の数から TBF 吸着密度を算出した．

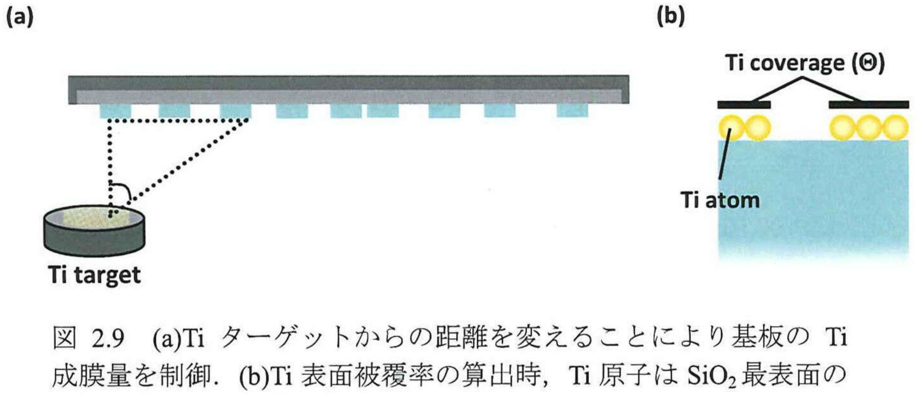

図 2.9　(a)Ti ターゲットからの距離を変えることにより基板の Ti 成膜量を制御．(b)Ti 表面被覆率の算出時，Ti 原子は SiO_2 最表面のみに存在すると仮定．

2.3.2　結果と考察

吸着実験後，異なる Ti 表面被覆率(Θ)の表面を観察した SEM 像を図 2.10 に示す．白点は Fe_2O_3 ナノ粒子であり，その場所が TBF 吸着サイトに相当すると考えられる．Ti 表面被覆率が最も低い SiO_2 表面(Θ=0.03)上には，Fe_2O_3 ナノ粒子は観察されなかった(2.10(a))．一方，Ti 表面被覆率が上昇するにつれて Fe_2O_3 ナノ粒子の数は増加した(図 2.10(b), (c))．Ti 表面被覆率に対し，Fe_2O_3 ナノ粒子の平均吸着密度をプロットしたグラフを図 2.11(a)に示す．グラフより，被覆率 0.03 から 0.05 の間に閾値が存在することがわかる．この結果は，TBF は，Ti 表面被覆率が小さく，Ti 原子がわずかに点在する酸性酸化物の SiO_2 表面であっても吸着することを意味している．さらに，Ti 表面被覆率 0.08 の SiO_2 表面と Ti 連続膜(Θ=1.00)では，被覆率が大きく異なるにもかかわらず，Fe_2O_3 ナノ粒子密度は同程度であった．つまり，Ti 表面被覆率 0.08 の条件においても，TBF は，Ti 連続膜に対する吸着機構と同じ作用により，表面に吸着している可能性がある．

図 2.11(b)は，Ti 表面被覆率に対し，Tris buffer 溶液(50 mM Tris HCl, pH8.0)中での Ti 超薄膜のゼータ電位をプロットしたグラフである．ゼータ電位は，表面の局所的な正電荷サイトと負電荷サイトの総量を平均した静電ポテンシャルを表している．SiO_2 表面，すなわち Θ=0.00 の場合，測定したゼータ電位は-57.1mV であった．これは，酸性酸化物である SiO_2 表面に$-O^-$基のみが存在していることを反映している．Ti 表面被覆率が増大するにつれて，ゼータ電位は単調に正側へシフトしていった．Ti 表面被覆率Θ=0.08 において，ゼータ電位は-26.1mV に達し，驚くべきことに，Θ=1.00 の Ti 連続膜のゼータ電位と同等の値になった．このゼータ電位の単調な正側へのシフトは，本来 TiO_2 は両性酸化物であるが，SiO_2 表面の Ti 原子サイトにおいて，正電荷が優先的に形成されていることを強く示唆している．

ここで，SiO_2 表面に存在する Ti 原子が，優先的に正電荷を形成する機構について考察する．Ti はイオン化傾向が強く，非常に酸化されやすい．よって，Ti 原子は SiO_2 表面に付着，あるいは大気暴露によって，すぐさま酸素と反応し，局所的に Ti 酸化物を形成すると思われる．通常，次の平衡式に示すように，水溶液中では，両性酸化物である Ti 酸化物表面は，溶液のプロトン濃度に応じ，Ti サイトと O サイトにおいて$-O^-$基と$-OH_2^+$基の両方を提示する[10].

$$\text{Ti-OH} \Leftrightarrow \text{Ti-O}^- + \text{H}^+ \tag{2.1}$$

$$\text{Ti-OH}^+ \Leftrightarrow \text{Ti-O-Ti} + \text{H}^+ \tag{2.2}$$

$$\text{Ti-OH}_2^+ \Leftrightarrow \text{Ti-OH} + \text{H}^+ \tag{2.3}$$

上に示した平衡式の(2.1)と(2.3)より，次式の平衡式が導き出せる．

$$\text{Ti-OH}_2^+ \Leftrightarrow \text{Ti-O}^- + 2\text{H}^+ \tag{2.4}$$

また，酸性酸化物の SiO_2 表面の場合は，次に示す平衡式に従い，負電荷の-O^-基が存在する．

$$\text{Si-OH} \quad \Leftrightarrow \quad \text{Si-O}^- + \text{H}^+ \qquad (2.5)$$

本実験で用いた溶液は pH8.0 と中性であるので，H^+は溶液中に過剰に存在していない．よって，(2.5)式より，SiO_2 表面に存在する Ti 原子の周囲には，Si-O^-基が多数存在することが考えられる．よって，この Si-O^-基が，Ti 原子が従う平衡式(2.4)式において，Ti-O^-と見なされることで，Ti-OH_2^+が形成される方に平衡が進む可能性が高くなり，Ti 原子は優先的に正電荷を提示すると思われる．

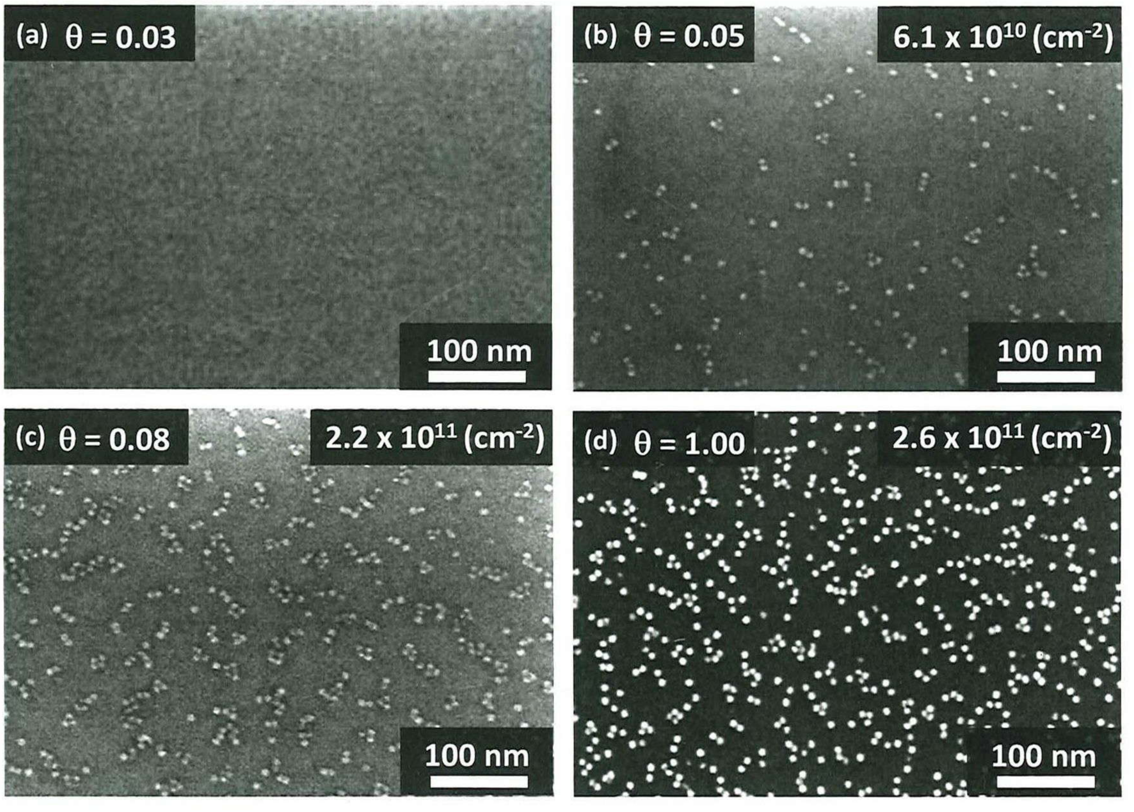

図 2.10　Ti 表面被覆率(Θ)が(a)0.03，(b)0.05，(c)0.08，(d)1.00 である Ti 超薄膜上の Fe_2O_3 ナノ粒子の様子を観察した SEM 像．ただし，Θ=1.00 は 3nm 膜厚の Ti 連続膜． SEM 観察は，Fe_2O_3 ナノ粒子周囲のタンパク質を UV オゾン処理により除去した後に実施．白色点は個々の Fe_2O_3 ナノ粒子であり，TBF の吸着サイトを示す．

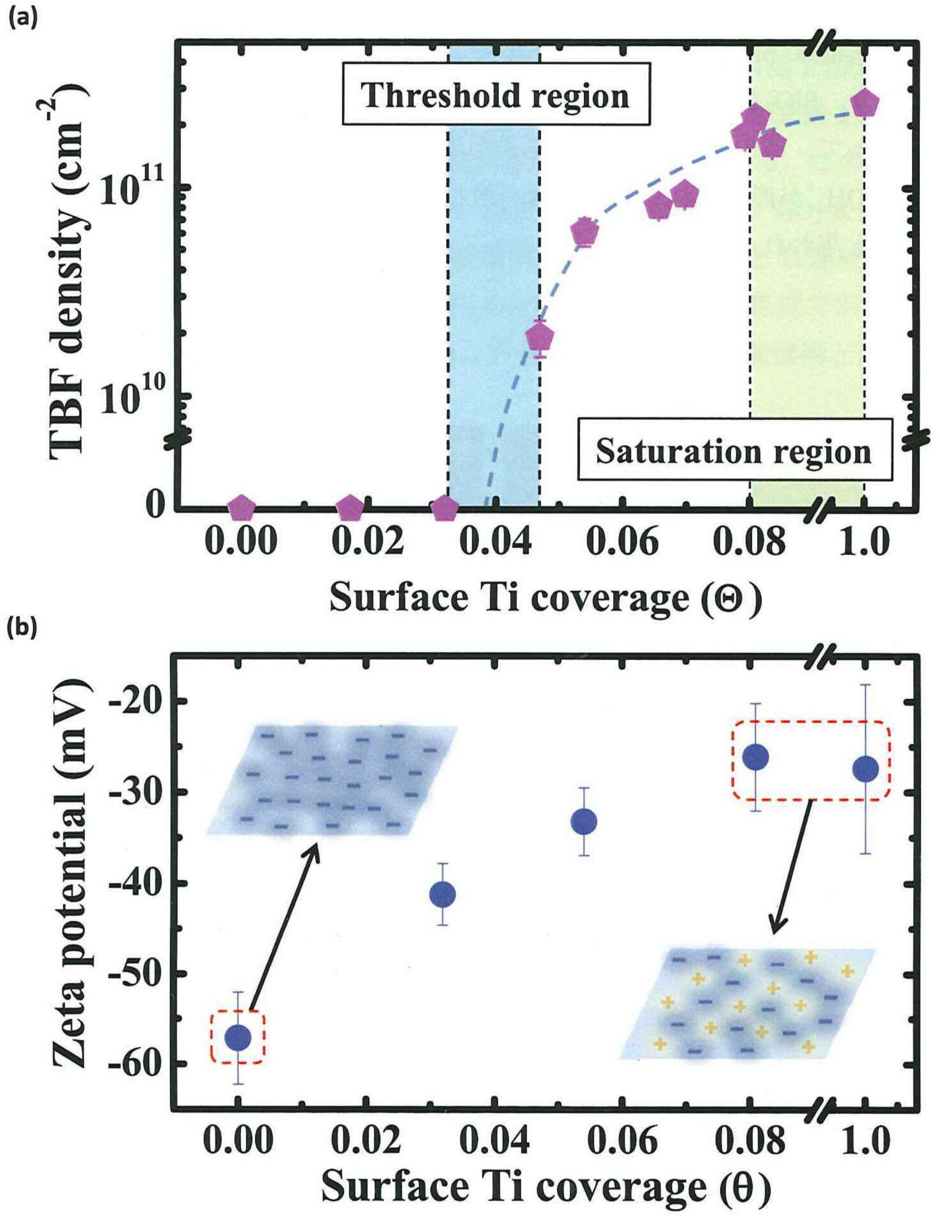

図 2.11　各 Ti 表面被覆率の SiO_2 表面上の(a)Fe_2O_3 ナノ粒子の平均吸着密度と(b)pH8.0 に調整した 50mM Tris-HCl 溶液中でのゼータ電位．被覆率 0 と 1.00 は，熱酸化 SiO_2 表面と Ti 連続膜表面をそれぞれ意味する．

以上より，SiO_2表面のTi原子起因の正電荷サイトが，TBFの吸着を促進する役割を果たしていることが明らかとなった．しかしながら，TBF吸着の有無を決定するTi表面被覆率の閾値は，被覆率0.03から0.05の間に存在している．また，ゼータ電位の変化より，Ti表面被覆率0.03のSiO_2表面のTi原子は，正電荷を提示しているのは明らかであるが，TBFの吸着は起こっていない．この事実は，TBFは，ある一定量のTi原子起因の正電荷が存在することで，SiO_2表面に吸着することを意味している．よって，TBFの吸着挙動を決めるTi表面被覆率の閾値についての理解を深めることを目的に，Ti超薄膜の表面をAFMで観察し，1原子層以下でSiO_2表面に存在するTi原子の凝集体の有無を調べた．もし，Ti原子が凝集体を形成している場合は，これまでの佐野らや林らの報告[9,11]にもあるように，TBFとTi連続膜との同様の吸着メカニズムが働いていることになり，新たな実験的事実は得られない．Tiを成膜していないSiO_2表面とTi表面被覆率0.08のSiO_2表面をAFMで観察した結果を図2.12示す．図2.12(b)に示すように，Ti超薄膜表面には，Ti原子の凝集体は観察されなかった．また，表面粗さを示すrms (Root Mean Square) 値は0.15nmであり，図2.12(a)に示すSiO_2表面のrms値0.17nmと非常に近い値を示した．以上の結果より，1原子層以下のSiO_2表面のTi原子は，凝集せず，点在していることが明らかとなった．この理由として，Tiは非常に酸化しやすく，SiO_2表面に到達したTi原子は，SiO_2のO原子とすぐに結合するため，室温では基板表面を拡散しにくいことが考えられる．そこで，Ti原子は，SiO_2表面上に一様に点在し，Ti原子が六方最密構造で周期的に配列していると仮定した(図2.13)．その結果，Ti表面被覆率0.03，0.05，0.08は，それぞれTi原子間距離1.58nm，1.22nm，0.97nmに相当し，その程度の周期で正電荷サイトが点在していることが示唆された．TBFは各サブユニットのN末端にTiアプタマーを提示しているので，24本のTiアプタマーを持つ．

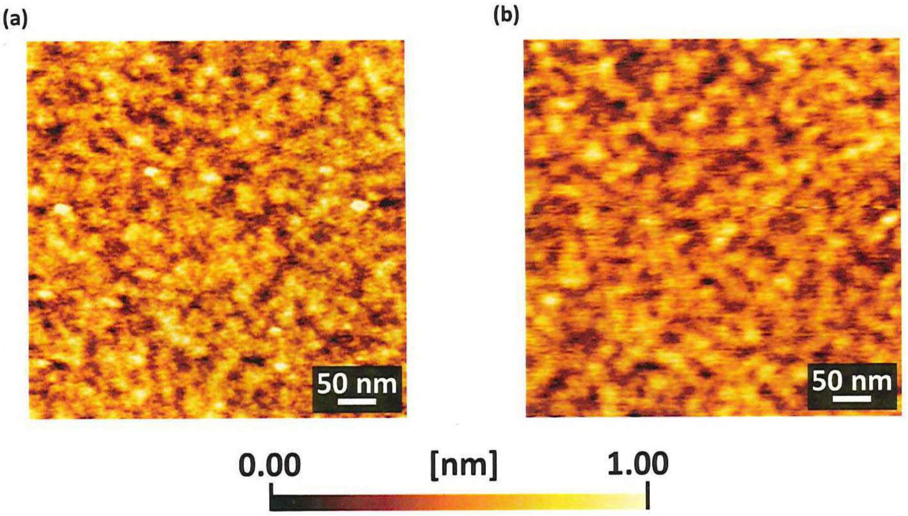

図2.12　(a)熱酸化SiO_2表面(被覆率0)と(b)Ti表面被覆率0.08のSiO_2表面のAFM像．走査範囲は500nm×500nm．それぞれのrms値は0.17nmと0.15nmであった．

よって，TBF の外径 12nm を考慮すると，SiO_2 表面に存在する電荷の分布距離が，Ti アプタマーと接触可能な結合サイトの数を決めていると考えられる．したがって， Ti 原子起因の正電荷が， 1nm より短い間隔で SiO_2 表面に分布することにより、TBF が複数の Ti アプタマーを介し，SiO_2 表面上に固定されている吸着モデルを提案することができる(図 2.14). 加えて，各吸着点では，熱振動によって吸脱着を繰り返していると思われる．また，Ti 連続膜表面と Ti 表面被覆率 0.08 の SiO_2 表面のゼータ電位が等しいことを考慮すると，Ti 原子が 1nm 以下の間隔で点在する SiO_2 表面の静電ポテンシャル分布は，Ti 連続膜の静電ポテンシャル分布と似ていることが予想される．Ti 連続膜表面への TWEEN20 の吸着量が少ないことから(図 2.7), Ti 原子間距離 1nm 以下の SiO_2 表面への TWEEN20 の吸着量も同様に少なく，TWEEN20 の吸着阻害作用も弱いと予想することができる．

以上より，SiO_2 表面の Ti 原子間距離が，Ti 連続膜の表面と同等の環境を SiO_2 表面に作り出す決定的な要因になっており，それが TBF の選択吸着挙動に影響していると結論付けることができる．よって，正電荷の分布を鍵とする基板表面の電荷分布状態が，TBF の選択吸着機構において最も重要であることがわかった．

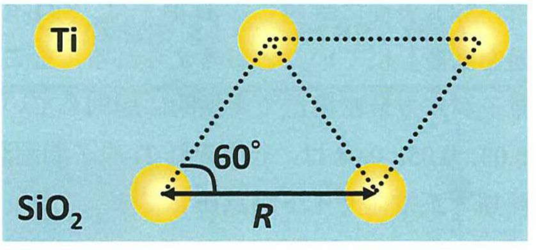

図 2.13　Ti 原子が SiO_2 表面に均等に分布していると仮定した場合の Ti 原子の幾何学的配置.

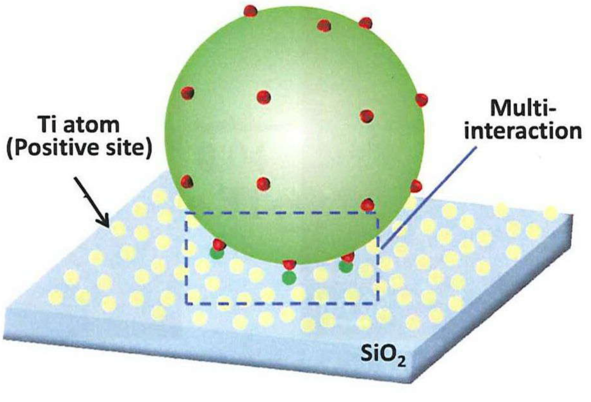

図 2.14　Ti 原子間距離が 1nm 以下の SiO_2 表面への TBF の多点吸着モデル．複数の Ti アプタマーを介して，TBF は表面に固定されている．Ti アプタマーの吸着に作用している Ti 原子を緑点で表す．

2.4 SiO_2膜の欠陥を利用したTBFによる金属ナノ粒子選択配置

現在，金属ナノ粒子の選択配置技術を利用した新デバイスの研究が進められている．しかし，その作製工程では，熱酸化SiO_2膜に加えて堆積SiO_2膜を用いる場合や，種々の後プロセスに伴い基板の表面状態が変化し，TBF の吸着挙動が変化する可能性がある．また，デバイスの種類によっては，選択吸着の際に用いる金属パターンが汚染の源になる懸念もある．前節より，TBF は，酸性酸化物のSiO_2表面であっても，Ti 原子起因の正電荷が点在することで吸着することが明らかとなった．この知見より，SiO_2 自身に正電荷分布を形成することができれば，TBF は，Ti 被覆の場合と同様にSiO_2表面に吸着することが予想される．よって，前項で議論した我々の吸着モデルの妥当性を調べるとともに，TBF を軸としたボトムアップ型ナノバイオプロセスによる，金属ナノ粒子選択配置技術の高度化を図るため，電荷分布としてSiO_2膜中の電気的欠陥の利用を試みた．P. M. Lenahan らは、図 2.15 に示すように，イオン照射などによってSiO_2膜中に生じた Si ダングリングボンドが，酸素空孔サイトにホールを捕獲し、正の電荷を有した Si ダングリングボンドになると報告している [13-15]．そこで，Si ダングリングボンドに起因する正電荷を意図的に形成することにより，選択吸着挙動の制御を試みた．

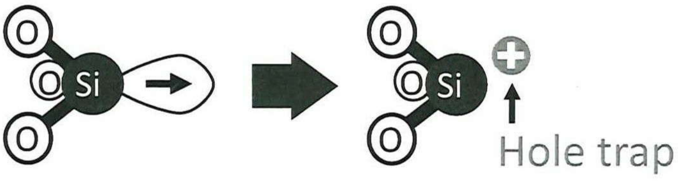

図 2.15　SiO_2中の Si ダングリングボンドがホールをトラップすることで正電荷を帯びる様子を表した模式図.

2.4.1 実験

Si ダングリングボンドを多数含む欠陥SiO_2層は，200W での高出力 RF スパッタ法を用い，SiO_2基板上に成膜した．SiO_2膜中の欠陥の回復・生成はそれぞれ，N_2雰囲気下で加熱処理(350°C，10 分)した後，UV 照射(110°C，20 分)を施すことで行った．比較参照として，スパッタ成膜をしていない熱酸化SiO_2基板も用意した．各基板表面の電荷状態を評価するため，ゼータ電位測定を行った．本実験では，Fe_2O_3 ナノ粒子を内包した TBF を含む溶液(濃度 20μg/mL，Tris buffer 溶液，0.5%TWEEN20，pH8.0)を用い，各基板への TBF の吸着実験を行った．準備した各基板を TBF 溶液に 1 分間浸漬した後，Tris buffer 溶液で 3 回，超純水で 2 回洗浄し，遠心分離により基板を乾燥した．UV オゾン処理によりFe_2O_3ナノ粒子を覆う TBF

タンパク質を除去した後, SEM を用いて各基板表面を観察した. 得られた SEM 像内の Fe_2O_3 ナノ粒子の数から TBF 吸着密度を算出した.

2.4.2　結果と考察

図 2.16(a)は, 欠陥を持たない(良質な)熱酸化膜 SiO_2 表面を観察した SEM 像であり, TBF の吸着は確認できなかった. これは, TBF 溶液中に TWEEN20 が存在するため, TBF の吸着力が抑制されたからである. 一方, TWEEN20 存在下にもかかわらず, スパッタ SiO_2 膜表面には Fe_2O_3 ナノ粒子の存在が確認でき(図 2.16(b)), その吸着密度は $4.2\times10^{10}cm^{-2}$ と見積もられた. これは, 熱酸化 SiO_2 膜に比べ, スパッタ SiO_2 膜は膜質が悪く, 膜中に多数の電気的欠陥が存在しているためと思われる. しかしながら, スパッタ SiO_2 膜に N_2 加熱処理を施すことで, スパッタ SiO_2 膜表面の Fe_2O_3 ナノ粒子の数は, 劇的に減少した(図 2.16(c)). また, N_2 加熱処理後, さらに UV オゾン処理(波長: 185-546nm)を行ったスパッタ SiO_2 膜の場合, Fe_2O_3 ナノ粒子の数は再び増大した(図 2.16(d)). よって, N_2 加熱処理は, スパッタ SiO_2 膜中の電気的欠陥の回復(膜質の改善)を促し, 逆に, UV オゾン処理は, SiO_2 膜中に電気的欠陥を生成(膜質の劣化)していると思われる. これらの結果より, スパッタ SiO_2 の膜質, すなわち, 膜中の電気的欠陥の有無が, TBF の吸着挙動に影響を与えていることが予想される.

スパッタ SiO_2 の膜質の変化と SiO_2 膜中の電気的欠陥の相関を調べるため, ゼータ電位測定を行った. その結果を図 2.16(e)に示す. スパッタ SiO_2 表面のゼータ電位は, 熱酸化膜 SiO_2 表面のゼータ電位と比較して, 大きく正側へシフトしていた. これはスパッタ SiO_2 膜中に, 正に帯電した電気的欠陥が存在していることを示している. すなわち, SiO_2 膜中のダングリングボンドが, 酸素空孔サイトにホールを捕獲していることを示唆している. この結果より, スパッタ SiO_2 膜に存在する電気欠陥起因の正電荷が, TBF の吸着を促していることが明らかとなった. 一方, N_2 加熱処理により, スパッタ SiO_2 膜のゼータ電位は, 負側へシフトした. しかし, さらに UV オゾン処理を行った場合, ゼータ電位は変化しなかった. 以上の結果より, Fe_2O_3 ナノ粒子数密度とゼータ電位との間の関係に, わずかながら矛盾点は残っているが, 意図的な SiO_2 膜中への電気的欠陥の生成・回復により, TBF の吸着挙動を制御できることが明らかとなった. この実験的事実は, 正電荷サイトが酸性酸化物の SiO_2 表面上に短い周期で分布することで, TBF は, 複数の Ti アプタマーを介して表面に固定されるという吸着モデルと良く一致しており(図 2.14), 本研究で提案した TBF 吸着機構の妥当性を示しているといえる,

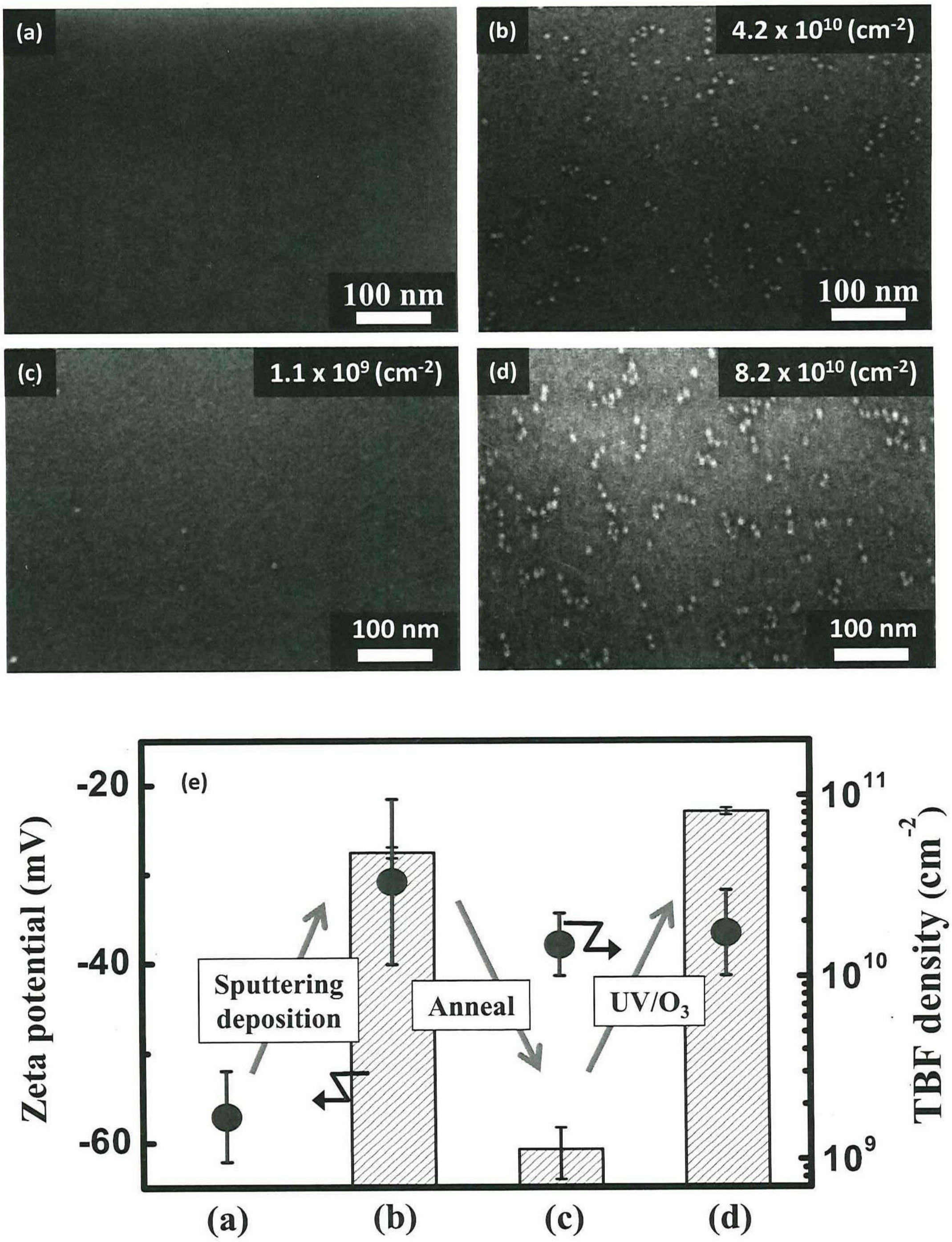

図2.16　Fe_2O_3ナノ粒子内蔵TBFの種々のSiO_2表面に対する吸着挙動を観察したSEM像. (a)熱酸化膜SiO_2, (b)スパッタSiO_2, そして, そのスパッタSiO_2に(c)加熱処理を加えたSiO_2, さらに続いて(d)UVオゾン処理を施したSiO_2. (e)各SiO_2表面のFe_2O_3ナノ粒子の平均吸着密度とゼータ電位.

2.5　結言

本章では、TBF を利用したバイオナノプロセスによる，金属ナノ粒子選択配置技術の高度化・高機能化を目指し，TBF の吸着メカニズムの解明に実験的に取り組んだ．まず，TBF の周囲や基板表面に界面活性剤の TWEEN20 を配位し，吸着実験を行うことで，TBF の吸着挙動に対する TWEEN20 の役割の解明を目指した．その結果、TWEEN20 は，TBF と基板の両表面を覆うことにより、TBF の基板表面への接近や Ti アプタマーの吸着力を阻害していることが明らかになった．続いて，Ti 表面被覆率の異なる SiO_2 表面を作製し，SiO_2 表面の電荷分布を制御することで，TBF の吸着挙動を制御することに成功した．また，この実験結果より，Ti 原子起因の正電荷サイトが，約 1nm 以下の距離で SiO_2 表面上に分布することで，TBF の複数の Ti アプタマーと安定な結合を形成し，TBF が表面に固定される吸着モデルを提案した．さらに，得られた知見より，金属を用いず，SiO_2 膜中の電気的欠陥起因の正電荷の生成・回復により，TBF の吸着挙動を制御できる可能性を示し，それを実証した．この成果は，従来の TBF による金属ナノ粒子選択配置技術を，金属パターンの制限から解放した新たな手法を示すものである．そして，金属ナノ粒子を集積した新機能半導体デバイス作製に向け，金属汚染の可能性を払しょくすることができる重要な技術である．

参考文献

[1] I. Yamashita, H. Kirimura, M. Okuda, K. Noshio, K. Sano, K. Shiba, T. Hayashi, M. Hara, and Y. Mishima: Small **2** (2006) 1148.

[2] N. Matsukawa, K. Nishio, K. Sano, K. Shiba, and I. Yamashita: Langmuir **25** (2009) 3327.

[3] M. A. Carrondo: EMBO J. **22** (2003) 1959.

[4] F. C. Meldrum, B. R. Heywood and S. Mann: Science **257** (1992) 522.

[5] S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum and N. J. Reeves: Science **261** (1993) 1286.

[6] T. Douglas, D. P. E. Dickson, S. Betterridge, J. Charnock, C. D. Garner and S. Mann: Science **269** (1993) 54.

[7] T. Douglas and V. T. Stark: Inorg. Chem. **39** (2000) 1828.

[8] F. C. Meldrum, T. Douglas, S. Levi, P. Arosio and S. Mann: J. Inorg. Biochem **58** (1995) 59.

[9] K. Sano and K. Shiba: J. Am. Chem. Soc. **125** (2003) 14234.

[10] F. H. Jones: Surf. Sci. Rep. **42** (2001) 75.

[11] T. Hayashi, K. Sano, K. Shiba, Y. Kumashiro, K. Iwahori, I. Yamashita, and M. Hara: Nano Lett. **6** (2006) 515.

[12] K. Sano, K. Ajima, K. Iwahori, M. Yudasaka, S. Iijima, I. Yamashita, and K. Shiba: Small **1** (2005) 826.

[13] P. M. Lenahan, J. P. Campbell, A. Y. Kang, S. T. Liu and R. A. Weimer: IEEE Trans. Nucl. Sci. **8** (2001) 6.

[14] P. M. Lenahan and P. V. Dressendorfer: IEEE Trans. Nucl. Sci. **30** (1983) 4602.

[15] H. Miki, M. Noguchi, K. Yokozawa, B. Kim, K. Asada and T. Sugano: IEEE Trans. Electron.

Devices **35** (1988) 2245.

[16] L. Lipkin, R. Rowan, A. Reismann and C. K. Williams: J. Electrochem. Soc. **138** (1991) 2050.

第 3 章　フェリチンタンパク質応用プロセスによる金ナノ粒子の精密配置制御

3.1　緒言

ナノスケールの金属粒子は，従来のバルク材料では，実現困難で魅力的な機能を発現し，新機能デバイス応用に向けた優れた性質を持っている．その中でも，金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)は，プラズモニック機能デバイスへの応用可能な物理現象として非常に注目されている．例えば，バイオセンサー[1-4]，光検出器[2,5-7]，発光素子(Light-Emitting Device: LED)[8-10]などが挙げられる．加えて，光回路と電子回路，そしてその他機能素子を Si プラットフォームの中へ集積したモノリシック Si チップは，金属ナノ構造の LSPR を利用し，その能力を飛躍的に向上させることが期待されている．特に，不活性で生体環境への耐性が高い金ナノ粒子は，プラズモニック機能デバイスに広く使われている．金ナノ構造のサイズと形状は，プラズモニック特性を決める上で非常に重要であり，その特性を利用したセンサーデバイスでは，高感度センシングが実現されている．そして，このようなプラズモニック機能デバイスを作製するためには，金ナノ構造同士の接触や近接による予期しない LSPR の発生を抑制し，設計した金ナノ構造の LSPR 特性の劣化を防ぐ必要がある．そのため，デバイスを設計する領域に，近接する粒子同士の接触を回避しつつ，高密度な金ナノ粒子配列を効率的に形成する手法が求められている．従来の電子線リソグラフィを用いたリフトオフプロセスは，金ナノ構造を作製する直接的なトップダウン型の手法であるが[3,11,12]，大量生産には適していない．一方，近年の，液中でのナノ粒子合成法の著しい進歩により，大きさや形状を制御した金ナノ粒子を生産することが可能になってきている[13,14]．溶液で化学合成された金ナノ粒子は，クーロン相互作用[15,16]や DNA 修飾[17-19]を利用することにより，基板表面への選択配置ができる．しかしながら，これらの手法では，高密度且つ近接する粒子同士が接触していない金ナノ粒子配列を形成し，良好なプラズモニック特性を得るには，いくつか課題が残っている．

第 2 章で示したように，均一な金属ナノ構造を任意の位置に集積する手法として，TBF を利用したバイオナノプロセスは非常に有用である．しかしながら，従来技術では，フェリチンタンパク質内に内包可能な材料種や粒子サイズが限定されており，フェリチンタンパク質のバイオミネラリゼーション能では，空洞内部に金ナノ粒子を形成することはできない．そこで最近，TFG と名付けられた遺伝子改変フェリチンタンパク質を利用する金ナノ粒子内包技術の Ferritin-based encapsulation system が提案された[20]．TFG は，馬の秘蔵由来の L-フェリチンタンパク質のアミノ酸配列のうち 9-175 のアミノ酸配列から構成され，C

末端に Au アプタマーを，N 末端に Ti アプタマーが修飾されている(図 3.1(a))．フェリチンタンパク質は，酸性の溶液条件(pH < 2)下でサブユニットダイマーに分解し(図 3.1(b))，中性(pH7~8)条件に戻すと 24 量体の構造を再構築する特徴を持つ[21]．これまで，Ferritin-based encapsulation system では，この分解・再構成のプロセスを経て，TFG の空洞内部に，その空洞サイズにほぼ等しい直径 5nm の金ナノ粒子を導入することに成功している(図 3.1(c), (d))[20]．この時，TFG サブユニットダイマーは，Au アプタマーを介して金ナノ粒子表面に配位し，Ti アプタマーを溶液側に提示している．よって，金ナノ粒子は，TFG 殻で覆われていることで，基板上の Ti パターンへ選択配置できる．しかしながら，直径 5nm の金ナノ粒子は，可視域で良好なプラズモニック特性を得るためには十分な大きさではなく，未だ粒子サイズの制限に囚われている．そこで本章では，TFG 空洞内部の体積の約 8 倍もある直径 15nm の金ナノ粒子に対し，Ferritin-based encapsulation system を適用し，プラズモニック機能デバイス作製に応用可能な金ナノ粒子選択配置技術を検討した．

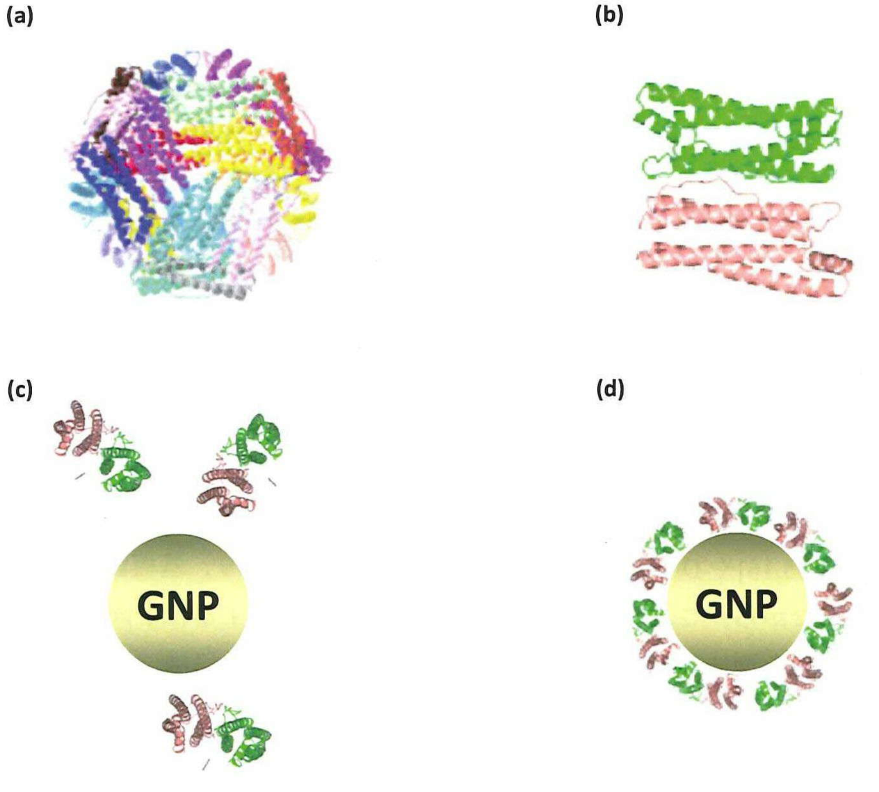

図 3.1　Ferritin-based encapsulation system のプロセス概要. (a)遺伝子改変フェリチンタンパク質 TFG のリボン図. (b)酸性の溶液条件(pH < 2)下でサブユニットダイマーに分解. (c)TFG サブユニットダイマーと金ナノ粒子(Gold nanoparticle: GNP)が共存する状態で，中性(pH7~8)条件に戻すと，(d)金ナノ粒子を覆いながら 24 量体 TFG の構造を再構築する.

3.2 実験

3.2.1 TFG の分解・再構成

TFG を含む溶液 1mL と glycine-HCl(200 mM, pH 2.0)水溶液 1mL を混合し，20 分間静置した．サイズ排除クロマトグラフィにより，TFG の構造を評価し，TFG サブユニットダイマーに分解されていることを確認した．TFG/glycine-HCl を含む溶液に，2mL の glycine-NaOH 水溶液(pH 10.5)を加え，pH を 2.0 から 8.0 まで上昇させた．直後，直径約 20nm 前後の金ナノ粒子を含む溶液(濃度 2.9 nM)を 6mL 加えた．金ナノ粒子は Frens 法[22]で作製し，金ナノ粒子の濃度は，合成に用いた金の総量，金の密度，合成した金ナノ粒子の平均サイズから見積もった．TFG の分解・再構成のプロセスは，TFG サブユニットダイマー濃度が，金ナノ粒子の濃度よりはるかに大きい条件下で行った．混合溶液は，一晩静置した後，次に述べる二つの手順を経て精製した．(1)50mM の Tris-HCl 溶液と 150mM の NaCl 溶液を用いてゲル濾過し，余剰の金ナノ粒子を取り除いた．(2)遠心分離(16000rpm, 40 分)にかけることで発生した上澄み溶液をさらに遠心分離にかけるという工程を 3 回繰り返した．精製した溶液の濃度は，50mM Tris-HCl 水溶液と 150mM NaCl 水溶液を加えることで調整した．金ナノ粒子周囲の TFG の有無を調べるため，透過型電子顕微鏡(Transmittance Electron Microscope: TEM)を用い，構造を観察した．また，プラズモニック特性を評価するため，作製した溶液の透過率測定を行い，UV-vis スペクトルを計測した．

3.2.2 基板作製及び吸着実験

3nm 膜厚の熱酸化 SiO_2 膜付 Si 基板とガラス基板を初期基板として使用した．フォトリソグラフィ，或いは電子線リソグラフィを用いたリフトオフプロセスにより，1-2nm 膜厚の Ti ラインパターン(幅:440 μm, 160 μm)と直径 20nm の Ti アイランドパターンを熱酸化膜 Si 基板上，及びガラス基板上に形成した．Ti アイランドパターンの間隔は 400nm となるようにした．作製した各 Ti パターンの模式図を図 3.2 に示す．本実験では，3.2.1 項で作製した溶液の他に，比較参照用として，金ナノ粒子水溶液を用い，吸着実験を実施した．Ti パターンを作製した基板は，吸着実験直前に，UV オゾン処理により表面を清浄化した．溶液を基板上に滴下し，10 分間室温で静置した後，基板を純水で洗浄し，N_2 ガスで乾燥した．吸着状態を評価するため，走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope: SEM)，光学顕微鏡，及び原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)を用い，吸着実験後の各基板の表面を観察した．基板に配置した金ナノ粒子の UV-vis スペクトルは，基板の透過率測定により計測した．

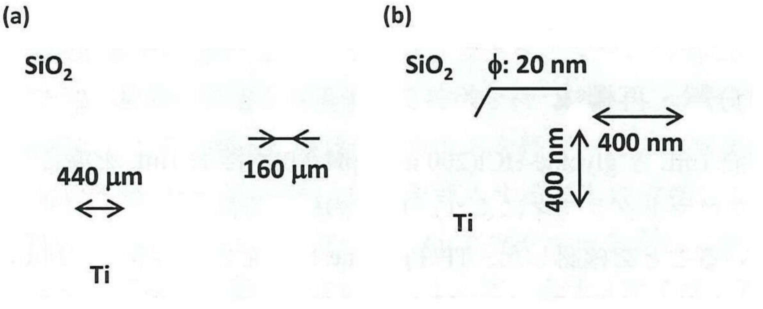

図 3.2　(a)光リソグラフィを用いて作製した Ti ラインパターン模式図．(b)電子線リソグラフィを用いて作製した Ti アイランドパターン模式図．

3.3　結果と考察

3.3.1　TFG サブユニットダイマーの金ナノ粒子表面への配位

可視域でプラズモニック特性を得るためには，少なくとも直径 10nm 以上の貴金属ナノ粒子が要求される．本実験では，Frens 法[22]を用いて金ナノ粒子を合成し，TEM でサイズを評価した結果，粒径は 15-20nm であった．TFG 分解・再構成プロセス後，これらの金ナノ粒子を TEM 観察した結果を図 3.3 に示す．黒のコントラスト部分で視認できる点は金ナノ粒子であり，その周囲に白い TFG 殻の存在が確認できた．TFG 殻の厚さは約 2-3nm であり，24 量体の TFG 殻の厚さにほぼ一致していた．よって，TFG サブユニットダイマーは，Au アプタマーを介して金ナノ粒子表面に沿う形で配位していると予想される．また，直径 15-20nm の金ナノ粒子のコアが，それぞれ中心に位置していた．これは TFG サブユニットダイマーが，金ナノ粒子表面全体を完全に覆っていることを示している．

また，同様の実験で，球状ではない金ナノ粒子を観察した TEM 像を図 3.4 に示す．図 3.3 の場合と同じく，三角形状の金ナノ粒子(図 3.4(a), (b))や米粒状の金ナノ粒子(図 3.4(c))の周囲にも，TFG 殻由来の白色の層が観察された．この結果より，TFG サブユニットダイマーは，金ナノ粒子の局面をなぞるように配位できなくても，Au アプタマーを介して強く固定されることがわかった．よって，Ferritin-based encapsulation system により，TFG サブユニットダイマーで金ナノ粒子を覆う手法は，粒子の形状や大きさに依存せずに適用できることがわかった．以降，TFG で覆われた金ナノ粒子を TFG-GNP と称する．

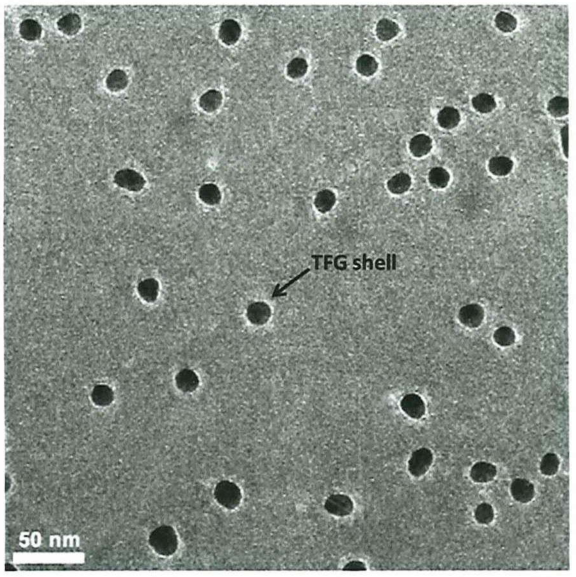

図3.3　TFGサブユニットダイマーで覆われた金ナノ粒子のTEM像．
黒色の粒子と白色の薄膜はそれぞれ金ナノ粒子とTFG殻である．

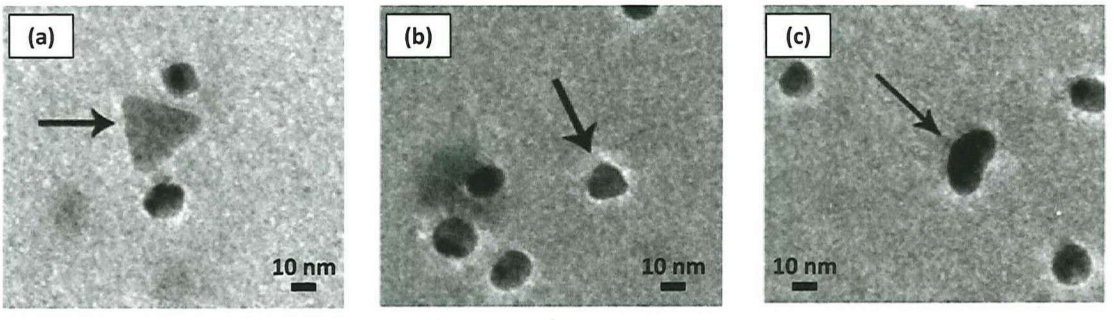

図3.4　球状ではない金ナノ粒子がTFGサブユニットダイマーで被覆されている様子を観察したTEM像．(a)(b)三角形状．(c)米粒状．

3.3.2　Auアプタマーの作用

TFGサブユニットダイマーが直径15-20nmの金ナノ粒子を覆っている理由は，Auアプタマーの作用であることを調べるため，TFGとは異なる2種類の遺伝子改変フェリチンタンパク質を用い，金ナノ粒子周囲へのサブユニットダイマーの配置を試みた．一つは，アプタマーを一つも持たないフェリチンタンパク質(Fer8)，もう一つはAuアプタマーのみをC末端に持つフェリチンタンパク質(FG)である．Fer8及びFGの分解・再構成後に金ナノ粒子をTEM観察した結果を図3.5に示す．FGは，TFGと同様，金ナノ粒子周囲に配位し，白いFG殻を形成していた．一方，Fer8の場合，金ナノ粒子周囲に白い殻は確認できなかった．

これらの結果より，FG と TFG のサブユニットダイマーは，Fer8 に比べ，高い金ナノ粒子への結合特性を持っていることがわかった．Fer8 と FG，TFG の違いは，C 末端の Au アプタマーの有無である．よって，TFG と FG のサブユニットダイマーは，Au アプタマーを介して金ナノ粒子表面に配位していると言える．

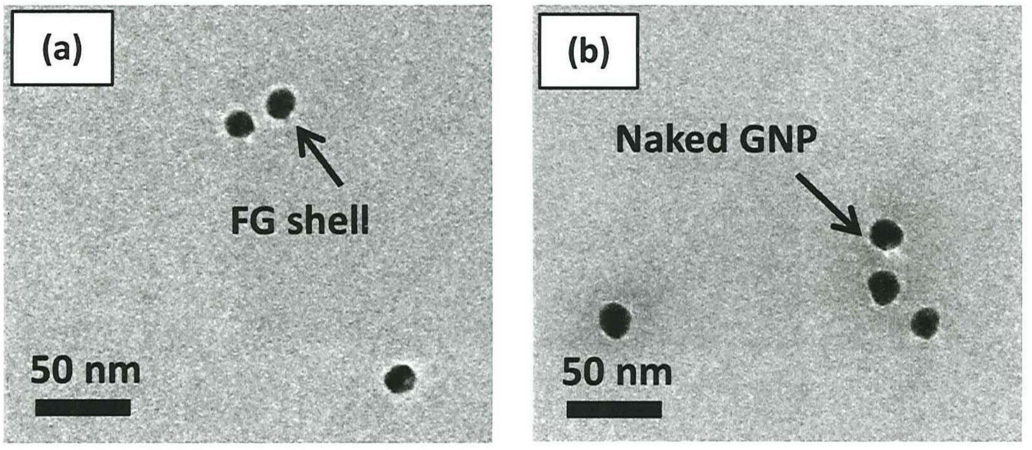

図 3.5　TFG とは異なる遺伝子改変フェリチンタンパク質で金ナノ粒子の被覆を試み，TEM 観察を行った結果．(a)C 末端のみに Au アプタマーを修飾した FG．(b)N 末端，C 末端共にアプタマーを持たない Fer8．

3.3.3　TFG-GNP のプラズモニック特性

TFG-GNP のプラズモニック特性を評価するため，TFG の分解・再構成前後での金ナノ粒子の Uv-vis スペクトルを測定した．図 3.6 にその結果を示す．TFG で覆われておらず，単体で溶液に分散している金ナノ粒子の UV-vis スペクトルから，波長 520nm を中心に鋭い LSPR 吸収ピークが観測された．一方，TFG-GNP の UV-vis スペクトルも，同様に急峻な LSPR 吸収ピークを示したが，吸収ピーク波長は，裸の金ナノ粒子と比較して長波長側にわずかにシフトしていた．この吸収ピーク波長のシフトは，金ナノ粒子周囲に誘電体が存在していることを意味しており，金ナノ粒子表面に TFG サブユニットダイマーが配位していることに起因している．すなわち，これらの結果は，TFG サブユニットダイマーは，金ナノ粒子の優れたプラズモニック特性を劣化させることなく，直径 15-20nm の金ナノ粒子周囲を覆っていることを示唆している．3.3.1 項で示したように，TFG サブユニットダイマーは，金ナノ粒子の大きさや形状に関係なく，その周囲を覆うことができる．すなわち，形状やサイズを制御することで，プラズモニック特性を設計した金ナノ粒子を，そのプラズモニック特性を維持したまま，TFG サブユニットダイマーで覆うことが可能である．よって，TFG を用いた Ferritin-based encapsulation system は，プラズモニック機能デバイス作製において非常に有用であることが分かった．

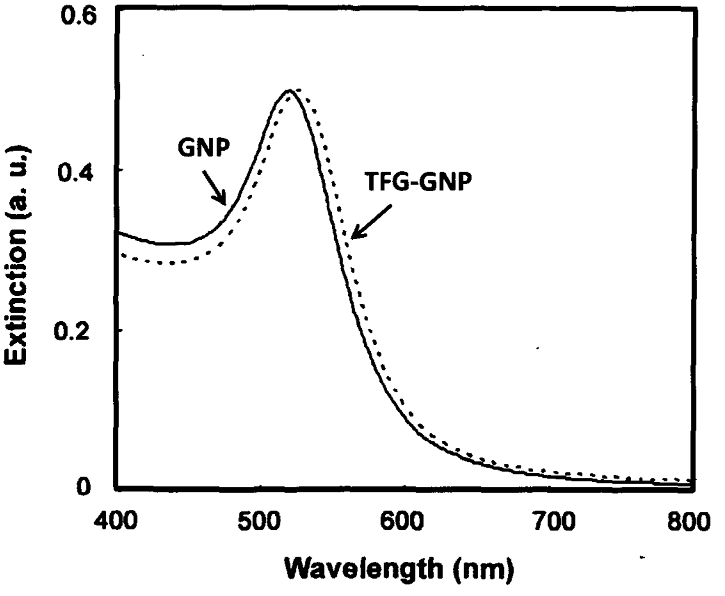

図 3.6　TFG 分解･再構成前後での金ナノ粒子の UV-vis スペクトル.

3.3.4　TFG-GNP の選択吸着能

3.3.2 項より，TFG サブユニットダイマーは，C 末端にある Au アプタマーを介して金ナノ粒子に結合していることを確認した．よって，Ti アプタマーは，C 末端の逆側に位置する N 末端に修飾されているので，溶液側に向かって提示されていると予想できる．Ti アプタマーは Ti と Si に親和性を持つ．さらに，2 章で述べたように，タンパク質の可溶化に一般的に用いられる非イオン性界面活性剤の TWEEN20 が，Ti アプタマーの Si への吸着力を弱め，Si(SiO_2)基板上の Ti パターンへの Ti アプタマーの選択吸着を可能にする[23]．そこで，TFG-GNP の選択吸着能を評価するため，2nm 膜厚の Ti パターンを形成した熱酸化膜付 Si 基板を用い，種々の TFG-GNP 溶液条件で吸着実験を行った．吸着実験には，0.5%濃度の TWEEN20 を含む TFG-GNP 溶液(50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl)と含まない TFG-GNP 溶液を用いた．また，比較実験として，TFG で覆われていない金ナノ粒子を含む水溶液を用い，同様に吸着実験を実施した．

吸着実験後，SEM を用い Ti パターンの端付近を観察した結果を図 3.7(a)-(c)に示す．TFG で覆われていない金ナノ粒子は，SiO_2 と Ti パターン表面共にその存在を確認できなかった(図 3.7(a))．一方，TWEEN20 を含まない溶液条件の場合，TFG-GNP は，白いコントラストで確認でき，SiO_2 表面と Ti パターン表面の両方に吸着していた(図 3.7(b))．これは，TFG サブユニットダイマーの Ti アプタマーが，吸着に寄与していることを示している．また，濃度 0.5%の TWEEN20 を含む TFG-GNP 溶液では，TFG-GNP は，SiO_2 表面には存在を確認で

きなかったが，Ti ラインパターン表面には吸着していた(図 3.7(c))．また，興味深いことに，TFG-GNPが，Tiパターンのエッジ端に沿うようにSiO_2表面上に存在していた．この結果は，TFG-GNP がかなり小さい面積で Ti 表面と接触しているにもかかわらず，Ti アプタマーが，強い結合力により，直径約 20nm の TFG-GNP を固定していることを示している．以上より，TFG-GNP は，Ti アプタマーの作用により，溶液中に TWEEN20 が存在する条件の下，Ti パターンへ選択吸着できることがわかった．

TFG-GNP の選択吸着能を利用した吸着位置の精密な制御の可能性を見極めるために，400nm 間隔で直径 20nm の Ti アイランドパターンを作製した SiO_2 基板を用い，吸着実験を行った．その結果を図 3.7(d)に示す．これより，TFG-GNP は，個々の Ti アイランドパターン上に一つずつ吸着していることがわかる．つまり，二つ目の TFG-GNP は，立体障害の効果で吸着が阻害されることで，Ti アイランドパターン表面への単一の TFG-GNP の吸着が実現できた．この結果より，TFG-GNP は，nm スケールの正確性で選択配置可能であることがわかった．

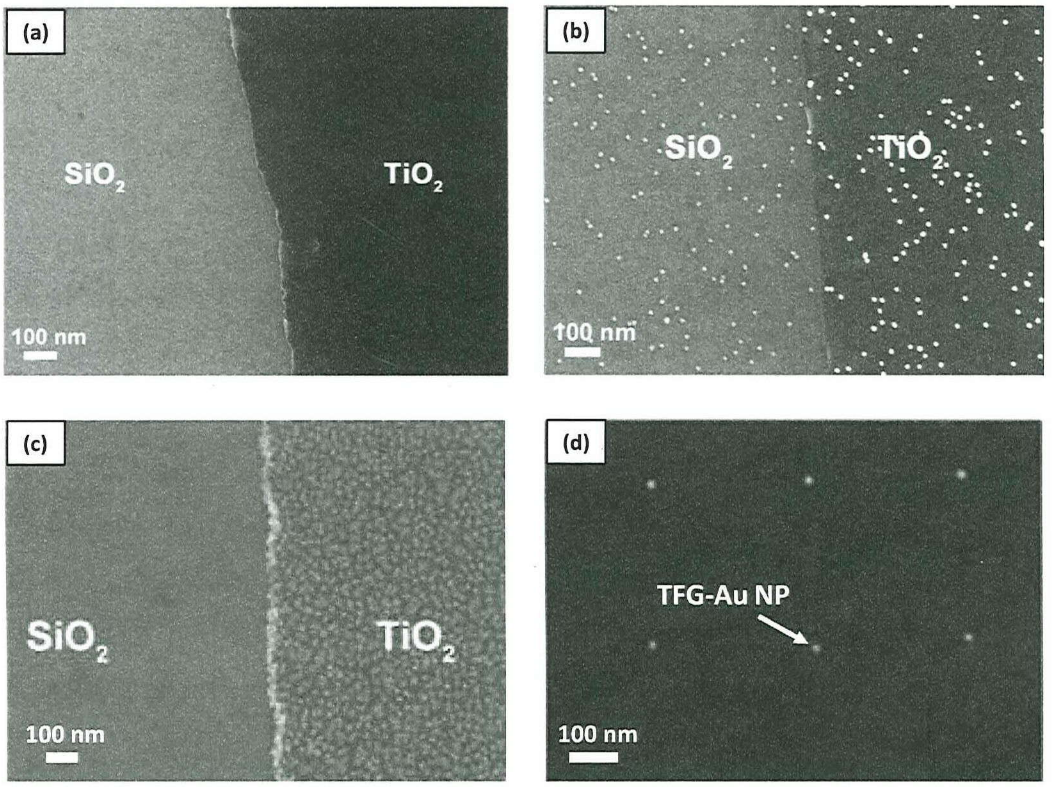

図 3.7　種々の TFG-GNP 溶液を用いた選択吸着実験後の SiO_2 表面上 Ti パターンのエッジ付近を観察した SEM 像. (a)TFG で覆われていない金ナノ粒子水溶液. (b)TWEEN20 を含まない TFG-GNP 溶液. (c)TWEEN20 を含む TFG-GNP 溶液. (d)は Ti アイランドパターン上への TFG-GNP 選択吸着.

3.3.5 基板に形成したTFG-GNP層のプラズモニック特性評価

固体基板上への単層かつ独立した金ナノ粒子配列の作製は，バイオセンサーやバイオチップ，表面増強ラマン散乱(Surface Enhanced Raman Scattering: SERS)用コロイド粒子基板，有機発光素子(Organic Light Emitting Device: OLED)での表面プラズモン増強蛍光など，LSPRに関連したプラズモニック機能デバイス応用に不可欠である．なぜなら，プラズモニック特性は形状・サイズ依存性を持つので，近接する金ナノ粒子同士の接触は，形状やサイズを制御した金ナノ粒子の，本来のプラズモニック特性を損なう可能性があるからである．3.3.4 項で示したように，TFG-GNP は正確な配置制御が可能であるが，周囲に TFG 殻が存在するため，金ナノ粒子同士の凝集を抑制した高密度配置が期待できる．これは特に，LSPRを利用したプラズモニック機能デバイスを集積するため，金ナノ粒子層を作製する場合に重要である．そこで，基板上に選択配置したTFG-GNP層のプラズモニック特性を評価した．

フォトマスクを用いたリソグラフィにより，1nm 膜厚の Ti パターンを作製したガラス基板の光学顕微鏡像を図 3.8(a)の挿入図に示す．吸着実験前の Ti ラインパターンと比較して，吸着実験後の Ti ラインパターンは，金ナノ粒子由来の薄赤色を示していた(図 3.8(a))．これは TFG-GNP が Ti ラインパターン表面に吸着していることを示唆している．AFM を用い，この Ti ラインパターンの表面形状を観察した結果を図 3.8(b)に示す．これより，TFG-GNP層は高密度で均一に吸着していることがわかった．AFM 像より，TFG-GNP 層の密度を算出した結果，約 10^{11}cm^{-2} に達していた．また，AFM 像の断面プロファイル分析より，最大の高低差は 25nm であることがわかった．この値は，金ナノ粒子の直径約 15-20nm とその周囲

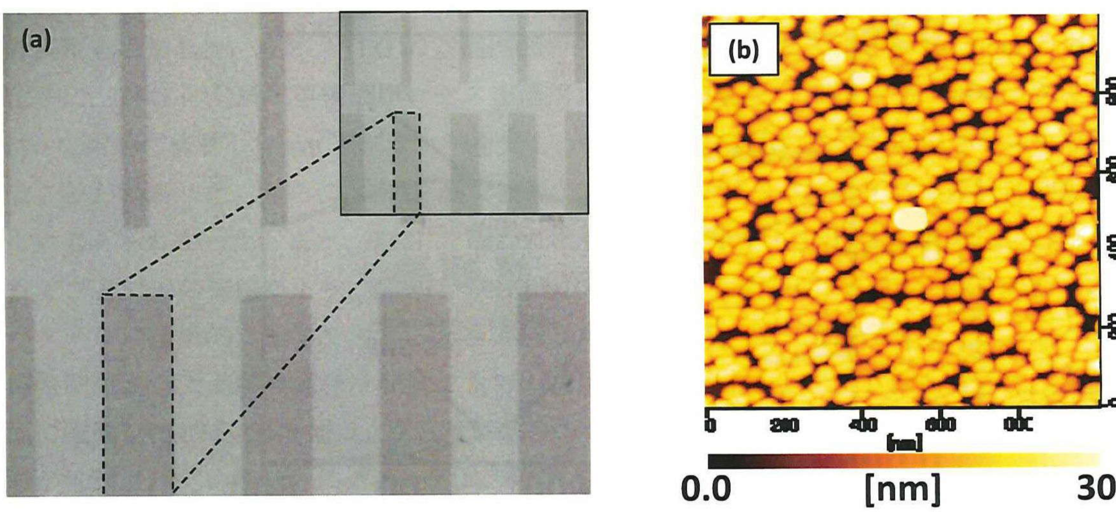

図 3.8 (a)ガラス基板上に形成した Ti ラインパターン(幅:440 μm, 160 μm)への TFG-GNP の選択配置．挿入図は TFG-GNP 吸着前の Ti ラインパターン．(b)Ti ラインパターン上 TFG-GNP 層の AFM 観察結果．

の TFG 殻の厚さ 5nm(2.5nm×2)の合計と一致しており，TFG-GNP 層が単層であることを確認した．

Uv-vis スペクトルは，この TFG-GNP 層を配置したガラス基板の透過率測定により計測した．その結果を図 3.9 に示す．比較参照として，TFG で覆われていない金ナノ粒子を配置した試料から得た測定結果も図 3.9 に示す．TFG で覆われていない金ナノ粒子層からは，金バルクのプラズモニック特性と似た，非常に広がった吸収スペクトルが観察された．この金ナノ粒子層を配置した基板表面を AFM により観察した結果を図 3.10 に示す．これより，金ナノ粒子は凝集体を形成していることがわかる．よって，近くに存在する金ナノ粒子同士が凝集したため，直径 15-20nm の金ナノ粒子とは別のモードの LSPR が複数起き，吸収ピークが広がったと考えられる．一方，基板上で単層を形成している TFG-GNP 層の吸収スペクトルでは，波長 540nm 付近に急峻な LSPR 吸収ピークが存在していた．このプラズモニック特性は，溶液中に分散する金ナノ粒子の Uv-vis スペクトルと良く一致している(図 3.6)．一般的に，近接する一組の貴金属ナノ粒子に由来するカップリングプラズモン強度は，粒子の半径 R(R^6)と粒子間距離 R_P ($1/R_P^6$) の両方に依存する[24]．よって，これらの結果は，金ナノ粒子を覆う TFG サブユニットダイマーが，近接する金ナノ粒子同士の接触を抑制することで，金ナノ粒子同士はプラズモニック的に独立していることを示している．つまり，TFG を用いた Ferritin-based encapsulation system は，大面積の基板表面上に高密度に金ナノ粒子を選択配置し，かつ個々のプラズモニック特性を維持できることが明らかとなった．

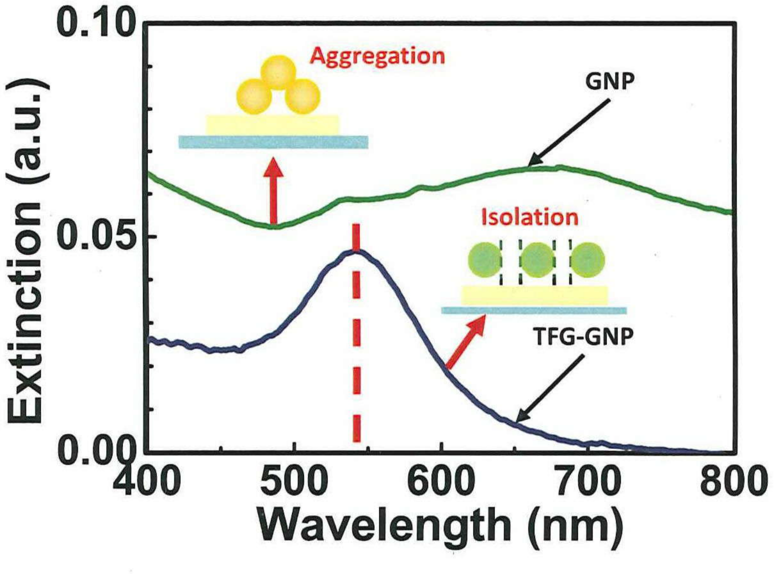

図 3.9　Ti パターン上に配置した(a)TFG-GNP 層と(b)TFG で覆われていない金ナノ粒子の凝集層の UV-vis スペクトル．

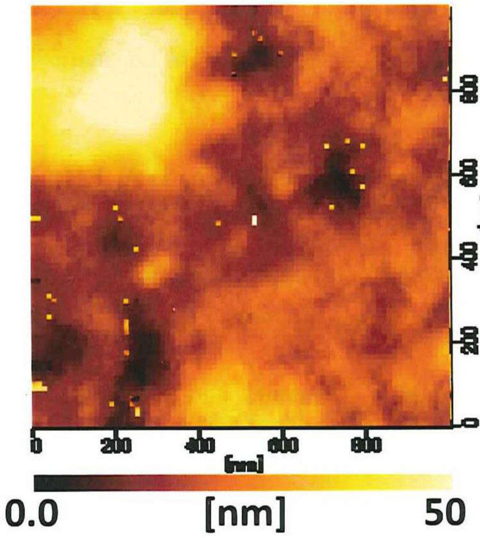

図 3.10 TFG で覆われていない金ナノ粒子を吸着させた基板表面の AFM 観察結果.

3.4 結言

本章では，フェリチンタンパク質の内包可能な金属ナノ粒子の種類とサイズの制限を突破し，プラズモニック機能デバイスへの応用を可能にするため，遺伝子改変フェリチンタンパク質の TFG を利用した金ナノ粒子内包技術(Ferritin-based encapsulation system)の有用性の実証を目指した．まず，TFG の空洞内部の体積より約 8 倍大きい直径 15-20nm の金ナノ粒子に，TFG の分解・再構成プロセスを適用した．その結果，TFG サブユニットダイマーは，C 末端に修飾した Au アプタマーを介し，金ナノ粒子表面に沿う形で粒子全体を被覆することがわかった．さらに，TFG 殻で被覆できる金ナノ粒子は，サイズや形状に制限されないこともわかった．また，TFG で覆われた金ナノ粒子(TFG-GNP)は，N 末端に修飾した Ti アプタマーの作用により，溶液に TWEEN20 が存在する条件において，SiO_2 表面上の Ti パターンに選択的に配置できることを確認した．そして，この選択配置は，ナノレベルの精密配置から大面積の高密度配置にまでも適用可能であることを示した．さらに，基板表面に配置した TFG-GNP 層は，高密度でありながら，TFG 殻によって個々の金ナノ粒子の接触が抑制されていることにより，金ナノ粒子本来の LSPR 特性を示すことを実証した．以上の成果は，クーロン作用や DNA 修飾などを利用した従来の金ナノ粒子配置技術では困難であった課題を克服したものである．よって，TFG を用いた Ferritin-based encapsulation system による金ナノ粒子選択配置技術は，プラズモニック機能デバイス作製に応用可能であり，さらに，従来技術より優れていることを実証したと言える．

参考文献

[1] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sonnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kurzinger: Nano Lett. **3** (2003) 935.

[2] E. Hutter and J. H. Fendler: Adv. Mater. **16** (2004) 1685.

[3] T. Endo, K. Kerman, N. Nagatani, Y. Takamura, and E. Tamiya: Anal. Chem. **77** (2005) 6976.

[4] E. Hutter and M. P. Pileni: J. Phys. Chem B **107** (2003) 6497.

[5] H. R. Stuart and D. G. Hall: Appl. Phys. Lett. **69** (1996) 2327.

[6] H. R. Stuart and D. G. Hall: Appl. Phys. Lett. **73** (1998) 3815.

[7] S. Pillai, K. R. Catchpole, T. Trupke, and M. A. Green: J. Appl. Phys. **101** (2007) 093105.

[8] K. Okamoto, I. Niki, A. Shvartser, Y. Narukawa, T. Mukai, and A. Scherer: Nature Mater. **3** (2004) 601.

[9] S. Pillai, K. R. Catchpole, T. Trupke, G. Zhang, J. Zhao, and M. A. Green: Appl. Phys. Lett. **88** (2006) 161102.

[10] J. H. Sung, B. S. Kim, C. H. Choi, M. W. Lee, S. G. Lee, S. G. Park, E. H. Lee, and O. B. Hoan: Microelectron. Eng. **86** (2009) 1120.

[11] W. Gotschy, K. Vonmetz, A. Leitner, and F. R. Aussenegg: Appl. Phys. B **63** (1996) 381.

[12] V. G. Kravets, F. Schedin, R. Jalil, L. Britnell, K. S. Novoselov, and A. N. Grigorenko: J. Phys. Chem. C **116** (2012) 3882.

[13] A. M. Kalsin, M. Fialkowski, M. Paszewski, S. K. Smoukov, K. J. M. Bishop, and B. A. Grzybowski: Science **312** (2006) 420–4.

[14] H. Chen, X. Kou, Z. Yang, W. Ni, and J. Wang: Langmuir **24** (2008) 5233.

[15] F. Auer, M. Scotti, A. Ulman, R. Jordan, J. Garno, and G. Y. Liu: Langmuir **16** (2000) 7554.

[16] C. F.Chen, S. D. Tzeng, M. H. Lin, and S.Gwo: Langmuir **22** (2006) 7819.

[17] J. D. Le, Y. Pinto, N. C. Seeman, K. M. forsyth, T. A. Taton, and R. A. Kiehl: Nano Lett. **4** (2004) 2.

[18] J. Sharma, R. Chhabra, Y. Liu, Y. Ke, and H. Yan: Angew. Chem. **45** (2006) 730.

[19] S. W. Chung, D. S. Ginger, M. W. Morales, Z. Zhang, V. Chandrasekhar, M. A. Ratner, and C. A. Mirkin, Small **1** (2005) 64.

[20] B. Zheng, I. Yamashita, M. Uenuma, K. Iwahori, M. Kobayashi, and Y. Uraoka: Nanotechnology **21** (2010) 045305.

[21] K. Yoshizawa, Y. Mihsima, S. M. Park, J. G. Heddle, J. R. H. Tame, K. Iwahori, M. Kobyashi, and I. Yamshita: J. Biochem. **142** (2007) 707.

[22] G. Frens: Nat. Phys. Sci. **241** (1973) 20.

[23] I. Yamashita, H. Kirimura, M. Okuda, K. Noshio, K. Sano, K. Shiba, T. Hayashi, M. Hara, and Y. Mishima: Small **2** (2006) 1148.

[24] U.V.M. Kreibig: Optical Properties of Metal Clusters, Springer, Berlin (1995).

第4章 大気圧Heプラズマ処理によるタンパク質除去技術の検討

4.1 緒言

前章で，遺伝子改変フェリチンタンパク質 TFG を利用した Ferritin-based encapsulation system は，プラズモニック機能デバイス作製のための金ナノ粒子選択配置技術として優れていることを示した．TFG サブユニットダイマーで覆われた金ナノ粒子(TFG-GNP)は，基板上に形成した Ti パターンの大きさに従い，大面積での一様な配列形成から nm レベルでの精密配置を可能にする(図 4.1(a))．さらに，周囲の TFG 殻が金ナノ粒子同士の凝集を抑制し，プラズモンカップリングを起こさないよう，粒子同士が十分に離れた距離間を維持する．その結果，可視域での UV-vis スペクトルから，強度の強い単一の局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)吸収ピークを得ることができる．しかしながら，金ナノ粒子を利用したバイオセンサー[1-3]や光半導体デバイス[4-7]などでは，金ナノ粒子周囲の環境(物性定数)の変化を検出のため，何も被覆されていない裸の金ナノ粒子層が用いられている．また，この時，金ナノ粒子層は，高密度でかつ個々が独立していることが求められている．よって，LSPR 特性をプラズモニック機能デバイスに利用するにあたり，高密度に TFG-GNP を並べ，個々の金ナノ粒子の独立性を維持しつつ粒子周囲の TFG

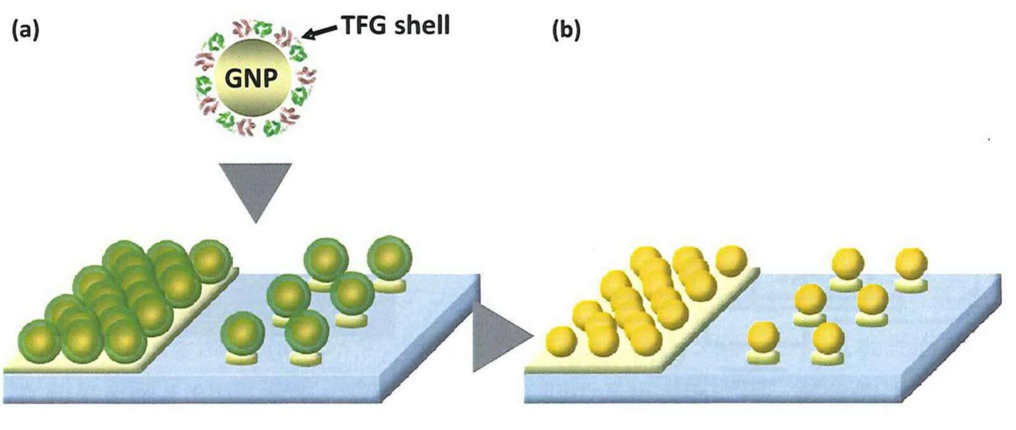

図 4.1 (a)TFG を利用した Ferritin-based encapsulation system による，大面積からナノスケールまでの金ナノ粒子の選択配置．(b)金ナノ粒子配置後に粒子周囲の TFG 殻を除去．

殻を除去することが，必要となる(図 4.1(b))．これまで，フェリチンタンパク質を利用した金属ナノ粒子配置の研究では，UV オゾン処理が，基板表面洗浄とタンパク質除去のために用いられてきた[8]．UV オゾン処理では，昇温下で数十分間，オゾンガスと紫外線に基板表面を晒す．UV オゾン処理により，タンパク質は効果的に除去できることは示されているが，プラズモニック機能デバイス作製への有効性は不明である．そこで本章では，UV オゾン処理の影響を調べると共に，大気圧 He プラズマを用いる方法を新たに提案し，金ナノ粒子周囲のタンパク質除去に対する有用性について，UV オゾン処理法との比較検討を行った．

4.2　実験

4.2.1　大気圧 He プラズマ処理装置の概要

本研究で使用する大気圧 He プラズマ処理装置の概略図を図 4.2(a)に示す．装置は，Al_2O_3 薄膜で覆われた直径 5mm の棒状銅電極と稼動式のステージから構成されている[9]．反応炉を 10Pa 以下まで排気した後，純 He ガスを大気圧まで封入し，電極と試料表面の間に RF(Radio Frequency)電圧を印加することで大気圧 He プラズマを発生させる．電極とステージ表面の距離は 2.5mm である．タンパク質除去は，ステージ上に基板を置き，電圧を印加しながらステージを任意の速度で走査することで行う(図 4.2(b))．よって，タンパク質除去の条件は RF 電力と基板の走査速度で決まる

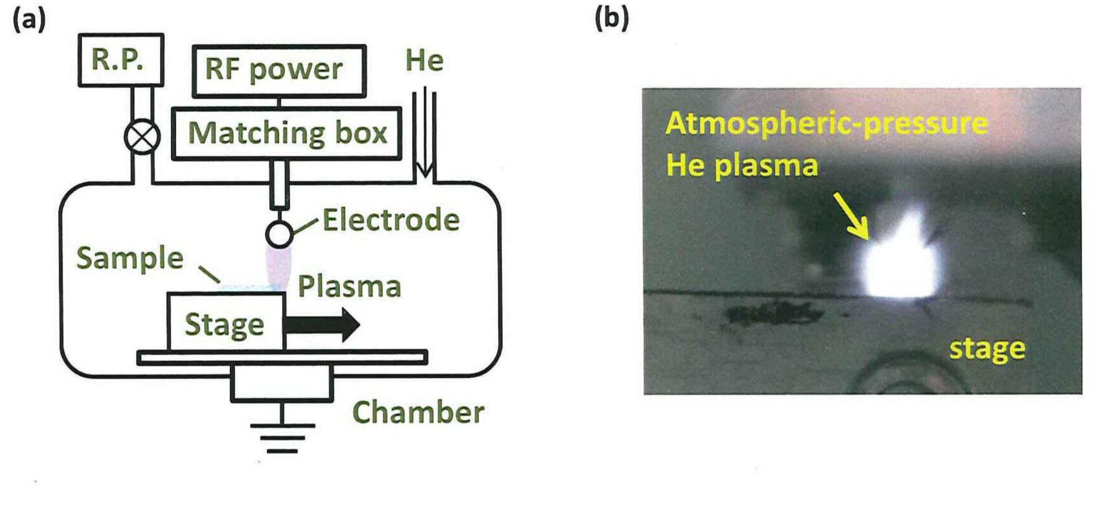

図 4.2　(a)大気圧 He プラズマ処理装置の概略図．電極と試料の間に電圧を印加することでプラズマを発生させる．試料ステージは任意の速度で走査可能．(b)大気圧 He プラズマ処理の様子．

4.2.2 試料の作製と評価

ガラス基板と 60nm 膜厚の熱酸化膜付 Si 基板を初期基板として用いた．基板を硫酸過水溶液で 15 分間洗浄した後，マスクを用いた RF スパッタ蒸着により，3nm 膜厚の Ti 薄膜を成膜した．続いて，UV オゾン処理(110°C, 20 分)により基板表面の洗浄を行った．TFG-GNP 溶液(50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0,5% TWEEN20, pH8.0)を基板表面に滴下し，大気圧下で基板を乾燥した後，超純水で洗浄し窒素ガスで再び乾燥した．TFG-GNP 溶液の滴下からガスブローまでの一連の吸着プロセスを 5 回繰り返した．金ナノ粒子を覆う TFG 殻を除去するため，表 4.1 に示す条件の下，UV オゾン処理と大気圧 He プラズマ処理をそれぞれ行った．タンパク質除去処理前後での金ナノ粒子層の表面形状は，原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)と走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope: SEM)を用いて評価した．金ナノ粒子周囲の TFG 殻の有無は，X 線光電子分光法(X-ray Photoelectron Spectroscopy: XPS)を用い，窒素残存量から評価した．さらに，基板上の金ナノ粒子のプラズモニック特性は，透過率測定を用い，UV-vis スペクトルを計測した．

表 4.1 UV オゾン処理と大気圧 He プラズマ処理の条件.

UV/Ozone	Atmospheric-pressure He plasma
Time: 1, 2 hour Temperature: RT, 110, 200°C	Scan speed: 0.5, 1.0 mm/sec RF Power: 6, 15, 30 W

4.3 結果と考察

4.3.1 高密度 TFG-GNP 層の形成

TFG-GNP 溶液の滴下から窒素ガスブローまでの一連の吸着プロセスを行い，基板表面を AFM 観察した結果を図 4.3(a)に示す．また，吸着プロセスを 5 回行った基板表面を AFM で観察した結果を図 4.3(b)に示す．吸着プロセス 1 回の基板表面には，部分的に TFG-GNP が吸着していない領域があった．一方，吸着プロセスを 5 回繰り返した基板表面の TFG-GNP 層は，粒子同士の隙間は減少し，吸着密度が増加した．AFM 像より，TFG-GNP 密度を計算した結果，吸着プロセスが 1 回の場合，TFG-GNP 密度は $1.1\times10^{11}cm^{-2}$ であったのに対し，吸着プロセスを 5 回行った TFG-GNP 密度は，約 2 倍の $2.0\times10^{11}cm^{-2}$ と見積もられた．吸着プロセス 5 回の TFG-GNP 密度は，直径 15nm の金ナノ粒子が六方最密で充填された状態を

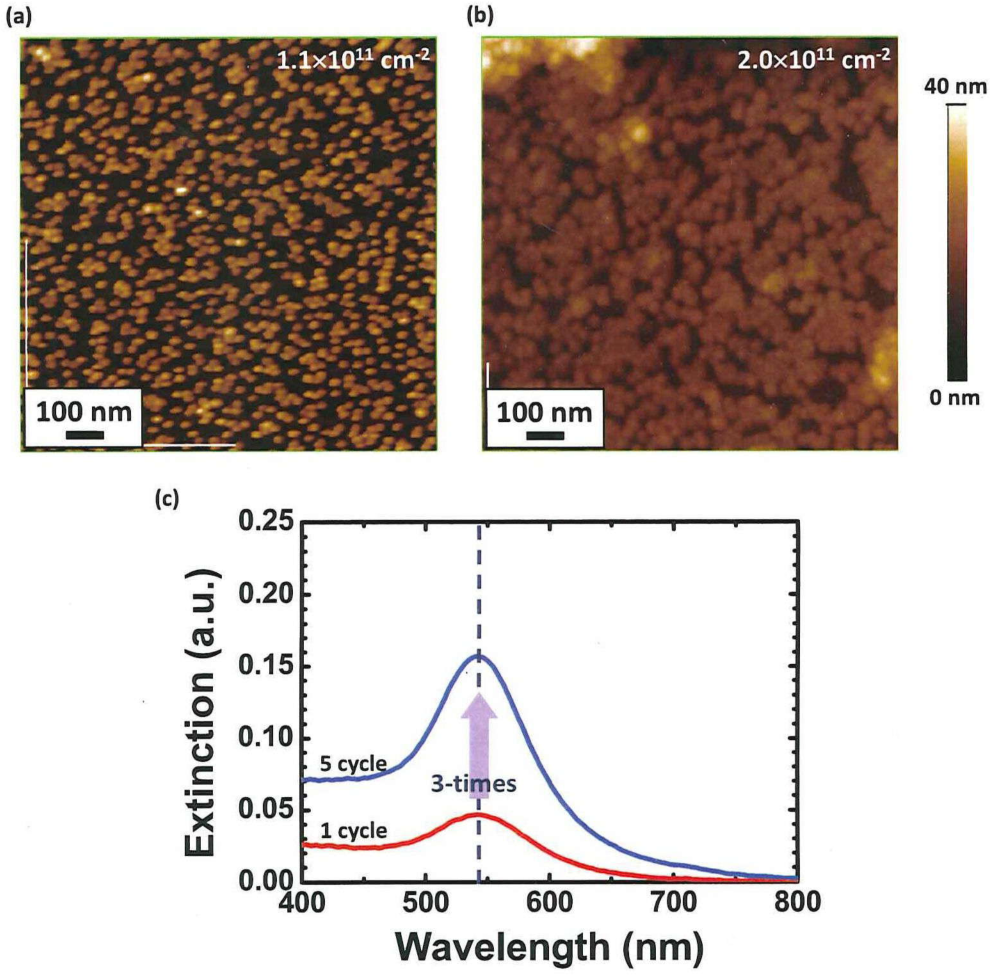

図 4.3　(a)吸着プロセスを 1 回，及び(b)5 回行った基板の表面の AFM 観察結果．(c)各基板から得られた UV-vis スペクトル．

100%とした場合，約 70%の領域を埋めていることに相当している．さらに，TFG-GNP 層の断面プロファイル解析より，粒子高さ約 20-25nm であることがわかり，金ナノ粒子の直径(15-20 nm)と TFG 殻の膜厚(2.5 nm × 2)の合計とほぼ一致していた．これは TFG-GNP 層が単層であることを示唆している．

続いて，これらの基板の UV-vis スペクトルを透過率測定より評価した結果を図 4.3(c)に示す．1 回の吸着プロセスで形成した TFG-GNP 層(低密度)と，5 回繰り返して形成した TFG-GNP 層(高密度)は，共に波長 540nm 付近に明瞭な LSPR 吸収ピークを示した．一方，高密度 TFG-GNP 層の LSPR 吸収ピーク強度は，低密度 TFG-GNP 層のピーク強度に比べ，約 3 倍に増大していた．これらの結果は，TFG-GNP 層が隙間なく高密度に配列していても，TFG 殻が金ナノ粒子同士の接触を回避し，プラズモニック特性が保たれていることを示している．よって，Ferritin-based encapsulation system では，吸着プロセスを繰り返す単純な方

法を用いることで，プラズモニック特性に優れた，高密度かつ単層の TFG-GNP 層を形成することが可能であることがわかった．これは，プラズモニック機能デバイス作製に向けた高密度金ナノ粒子層の形成における，TFG を用いた Ferritin-based encapsulation system の有用性を示している．そこで次の課題は，個々の金ナノ粒子の独立を維持したまま，外部の TFG 殻を効果的に除去する手法の確立である．

4.3.2 タンパク質除去処理後の金ナノ粒子の形状評価

タンパク質除去処理後の金ナノ粒子の形状状態を調べるため，SEM を用い，Ti パターン表面上の金ナノ粒子を観察した．その結果を図 4.4 に示す．明るいコントラストの部分が，金ナノ粒子である．UV オゾン処理後の金ナノ粒子は，近くの金ナノ粒子同士と凝集していた(図 4.4(a))．一方，大気圧 He プラズマ処理を施した金ナノ粒子は，粒子同士が近接しているにもかかわらず，個々の粒子は一定の距離で独立していた．UV オゾン処理中に金ナノ粒子が凝集する機構については完全には理解されていないが，UV 照射と加熱によって，金ナノ粒子の表面マイグレーションが引き起こされていると思われる．一方，実験結果から判断すると，大気圧 He プラズマ処理は短い処理時間のため，金ナノ粒子の表面マイグレーションを抑制したと考えられる．

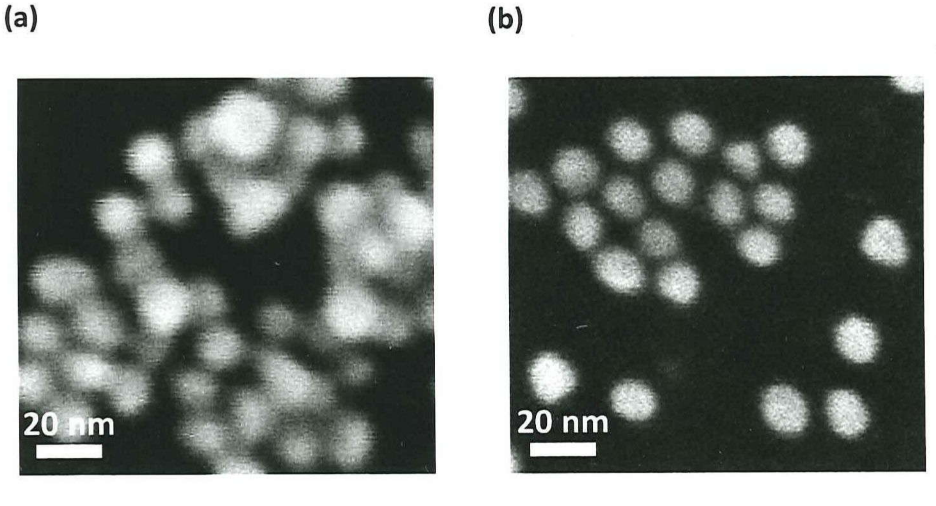

図 4.4　(a)UV オゾン処理と(b)大気圧 He プラズマ処理後，金ナノ粒子を観察した SEM 像．UV オゾン処理は金ナノ粒子の表面マイグレーションを引き起こし，近接する粒子同士が凝集した．一方，大気圧 He プラズマ処理は金ナノ粒子の表面マイグレーションを抑制した．

4.3.3　タンパク質除去効率の評価

タンパク質除去の効率を調べるため，タンパク質除去処理前後の TFG-GNP 層の XPS 測定を行った．タンパク質除去処理前後の N 1s core-level スペクトルを図 4.5 に示す．タンパク質除去処理を行っていない金ナノ粒子層からは，TFG 殻を構成するアミノ酸由来の窒素の信号が，結合エネルギー400eV 付近に検出された．しかし，UV オゾン処理後，窒素の信号は消失しており，TFG 殻は金ナノ粒子周囲に存在しないことがわかった．UV オゾン処理では，タンパク質は，UV 照射とオゾンガスの激しい酸化作用により，NO_x や CO_x に分解され，脱離していくので，タンパク質の除去効率が高いと思われる(図 4.6(a))．一方，大気圧 He プラズマ処理の場合，わずかな窒素の信号が残存していた．この結果は，短時間の処理により，金ナノ粒子周囲の大部分の TFG 殻は除去されているが，わずかなタンパク質残留物が存在していることを示唆している．大気圧 He プラズマ処理では，大気圧プラズマ中の高エネルギーHe ラジカルが，タンパク質除去に主に作用していると思われる(図 4.6(b))．
大気圧 He プラズマ処理後，金ナノ粒子層を AFM で観察した結果を図 4.7(a)に示す．AFM 像より，金ナノ粒子の密度は約 $10^{11}cm^{-2}$ であり，大気圧 He プラズマ処理前後での金ナノ粒子密度に大きな変化はなかった．図 4.7(a)中の赤点線に沿った断面プロファイルを図 4.7(b)に示す．最大の粒子高さは約 15nm であり，この値は本実験で用いている金ナノ粒子の粒径に一致していた．この結果は，金ナノ粒子周囲には，タンパク質残留物は存在していないことを示している．よって，より詳細な検討が必要ではあるものの，励起状態にある He ラ

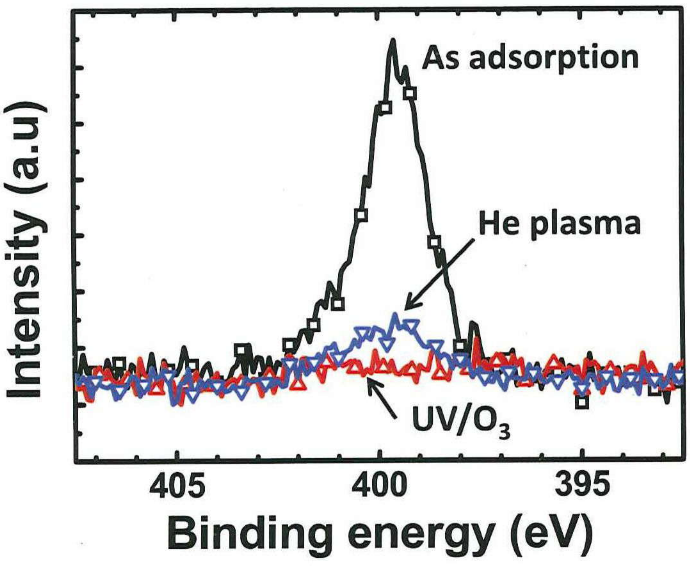

図 4.5　各タンパク質処理前後の TFG-GNP 層から得られた N1s core-level スペクトル．タンパク質除去処理前(As adsorption)が最も強度が強い．UV オゾン処理により，そのピークは消失したが，大気圧 He プラズマ処理後では，わずかなピークが観測された．

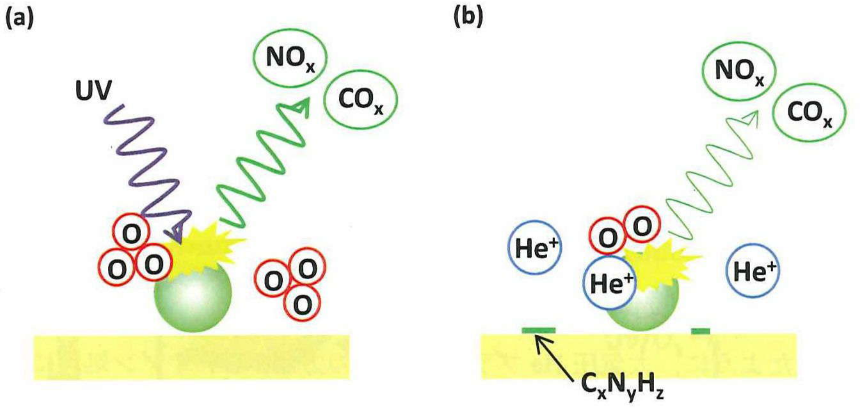

図 4.6　(a)UV オゾン処理，及び(b)大気圧 He プラズマ処理によるタンパク質除去機構のモデル図．UV オゾン処理では，タンパク質は，UV とオゾンガスにより酸化され，CO_x と NO_x として脱離．大気圧 He プラズマ処理の場合，高い内部エネルギーを持つ He ラジカルがタンパク質を分解するが，基板表面に残留物がわずかに存在．

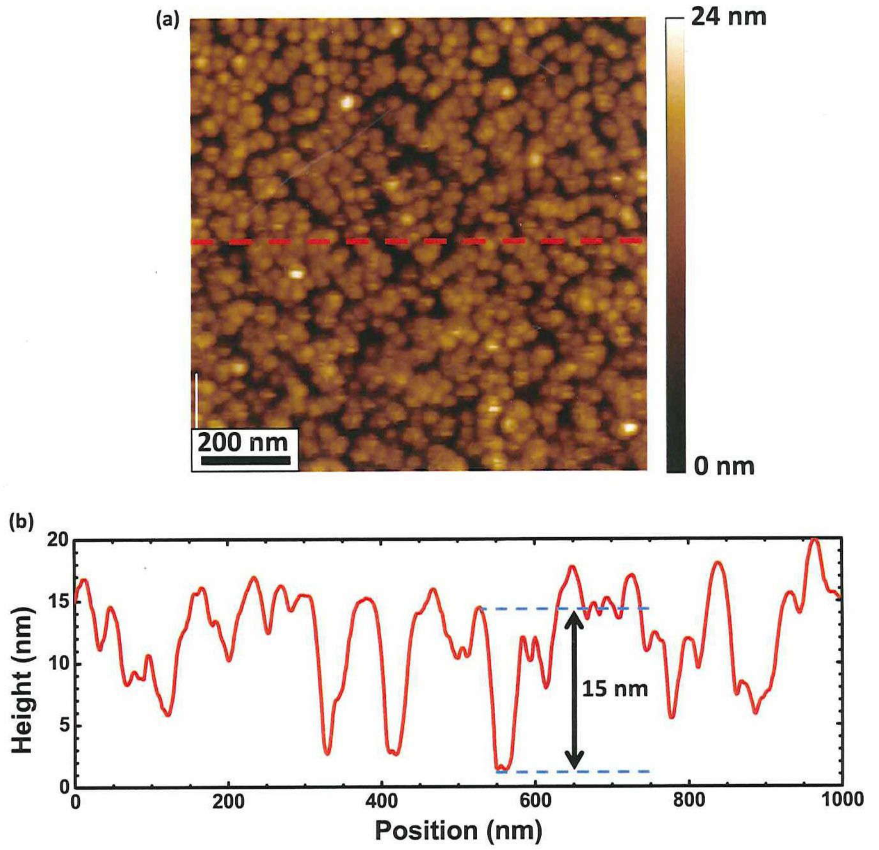

図 4.7　(a)大気圧 He プラズマ処理後，AFM を用いて観察した金ナノ粒子層の表面形状像．(b)AFM 像内の赤点線の断面プロファイル分析．粒子高さは約 15nm であった．

ジカルからのエネルギーにより，タンパク質を構成するアミノ酸の結合が破壊された結果，He 雰囲気下でもタンパク質除去が実現できたと考えられる．しかしながら，意図的に酸素ガス等の導入を行っていないので，酸化による反応生成物の脱離が期待できない．よって，図 4.5 に示す大気圧 He プラズマ処理後の微弱な N1s スペクトルは，基板上に残るわずかなタンパク質の残留物によるものと予想できる(図 4.6(b))．

4.3.4　プラズモニック特性の評価

4.3.2 項で示したように，大気圧 He プラズマ処理の方が，UV オゾン処理に比べ，表面マイグレーションによる金ナノ粒子の凝集を抑制できる．一方，タンパク質除去処理の効率については，UV オゾン処理の方が優位である．しかしながら，プラズモニック機能デバイス作製に向け，肝心であるのは，タンパク質除去処理後の金ナノ粒子層のプラズモニック特性である．そこで，タンパク質除去処理方法の違いによる，ガラス基板上に並べた TFG-GNP 層のプラズモニック特性の変化を評価するため，除去処理前後の Uv-vis スペクトルを測定した結果を図 4.8 に示す．それぞれのスペクトルは，タンパク質除去処理前に得られた，波長 540nm 付近の LSPR 吸収ピーク強度で規格化した．図 4.4(a)の SEM 像から予想されたように，UV オゾン処理を行った試料の LSPR 吸収ピークは，処理前の TFG-GNP 層の吸収ピークと比較すると，格段に広がり，新たな LSPR 吸収ピークが波長 670nm 付近に出現した．また，UV オゾン処理では，処理時間の短縮や低温加熱など穏やかな処理条件の下でタンパク質を除去した場合でも，プラズモンピークの広がりは避けられないことを確認した．一方，大気圧 He プラズマ処理によりタンパク質を除去した金ナノ粒子層は，急峻な LSPR 吸収ピークの形状を維持していた．しかしながら，タンパク質除去処理前の吸収ピークと比較すると，ピーク位置は短波長側へわずかにシフトし，ピーク強度は減少していた．これらは，金ナノ粒子周囲の誘電体であるタンパク質の分極振動の有無に起因している．通常，プラズモニック粒子の周囲に誘電体がある場合，粒子内の自由電子の集団振動が引き起こす電場振動が，周囲の誘電体の分極振動を誘起する．そのため，誘電体が無い場合に比べ，自由電子の集団振動の振動数は減少する．またその際，誘電体の分極振動を励起する分，光吸収が増大する．

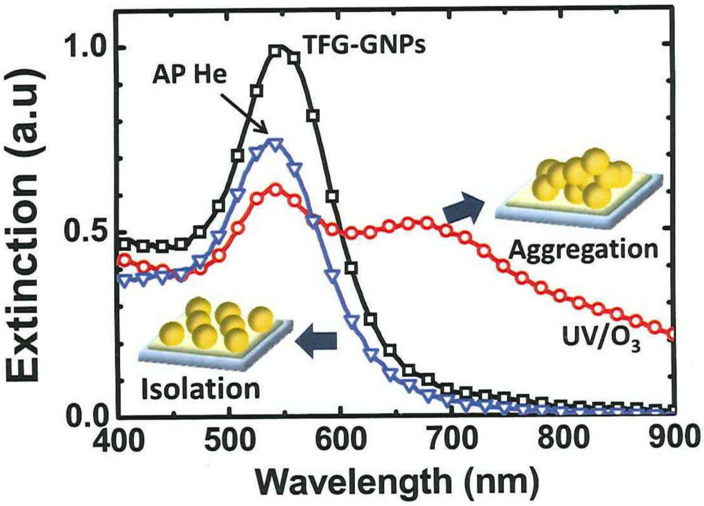

図 4.8　UV オゾン処理と大気圧 He プラズマ処理によるタンパク質除去処理後の金ナノ粒子から得られた UV-vis スペクトル.

4.3.5　大気圧 He プラズマ処理条件の最適化

前項までの結果より，大気圧 He プラズマを用いたタンパク質除去法は，金ナノ粒子の凝集を抑制でき，良好なプラズモニック特性を維持することが明らかとなった．しかしながら，タンパク質除去の効率においては，わずかに窒素残留物が検出され，完全なタンパク質除去には至っていない．そこで，タンパク質除去効率を改善すべく，大気圧 He プラズマの RF 電力と基板の走査速度を変え，金ナノ粒子周囲のタンパク質除去を行った．タンパク質除去の効率は XPS 測定より評価した．

RF 電力を 15W と固定し，走査速度を変えて大気圧 He プラズマ処理を行った後の N1s core-level スペクトルを図 4.9(a)に示す．各条件で除去処理を行った全ての金ナノ粒子層から，同程度の窒素の信号が得られた．この結果より，走査速度は，タンパク質除去の効率に影響を与えないことがわかった．タンパク質の除去は，基板表面が，大気圧 He プラズマに晒された瞬間に瞬時に行われているためと考えられる．続いて，走査速度を 0.5mm/sec に固定し，RF 電力を 10-30W と変え，大気圧 He プラズマ処理でタンパク質除去を行った．除去処理後の N1s core-level スペクトルを図 4.9(b)に示す．窒素の信号は，RF 電力 10W の処理条件が最も強く，タンパク質の残量が多いことがわかった．一方，RF 電力 15W と 30W の条件では， 窒素の信号は，RF 電力 10W の処理条件と比較し，約 5 分の 1 になっていた．しかしながら，RF 電力 15W と 30W の処理条件の間には，窒素の信号強度の違いは見られなかった．これらの結果より，大気圧 He プラズマ処理のタンパク質除去効率は，電極と基板間へ投入する RF 電力が低い場合，減少することが明らかとなった．供給電力が不十分であると，プラズマ中の He ラジカルの濃度が低下し，タンパク質を分解する作用が弱くなるため

と考えられる．また，RF 電力を上げたとしても，タンパク質除去効率は，一定の除去効率で飽和してしまうこともわかった．

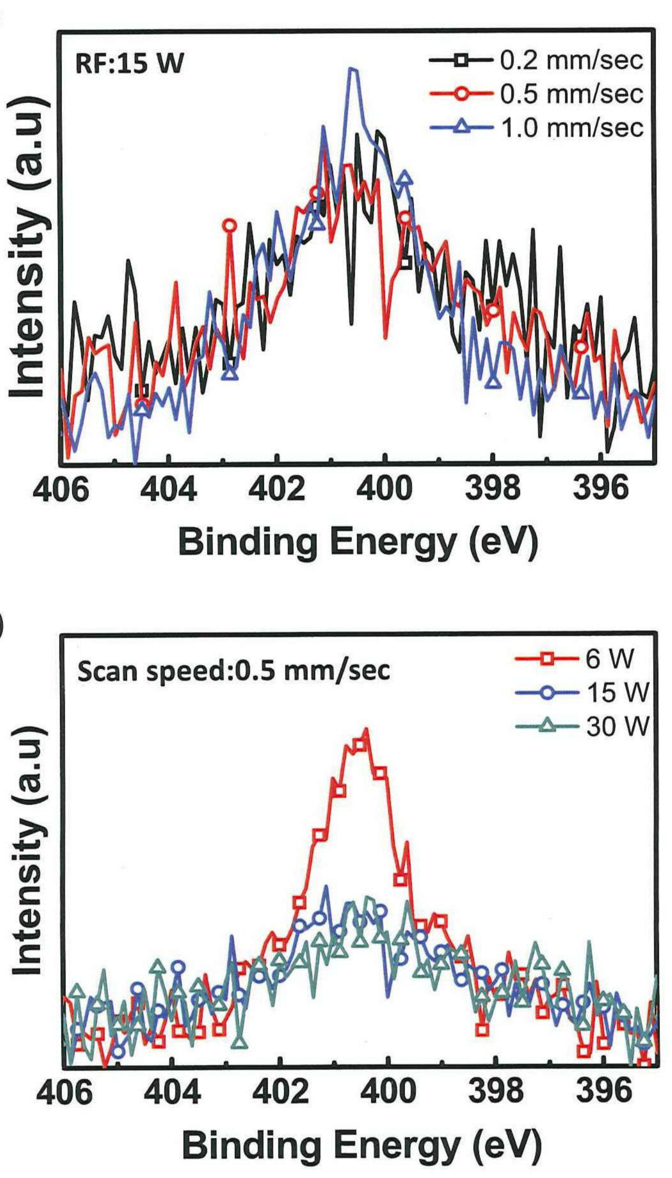

図 4.9　種々の条件で大気圧 He プラズマ処理を施した金ナノ粒子の N1s core-level スペクトル．(a)RF 電力を 15W に固定．(b)走査速度を 0.5mm/sec に固定．

また，RF 電力 15W と 30W の条件の下，大気圧 He プラズマ処理を行った TFG-GNP 層の UV-vis スペクトルを図 4.10 に示す．RF 電力 15W の処理条件の LSPR 吸収ピークは，処理前の急峻な形状を維持していた．一方，RF 電力 30W での大気圧 He プラズマ処理後，LSPR 吸収ピークは広がっていた．この結果より，電極-基板間への RF 電力の供給が過多になると，タンパク質の除去効率は改善されず，プラズモニック特性の劣化を招いてしまうことが明らかとなった．RF 電力が大きい場合，プラズマ中に高いエネルギーを持つ He ラジカルが過剰に存在し，それが金ナノ粒子の表面マイグレーションに寄与していると考えられる．さらに，昇温の効果を無視できない．よって，大気圧 He プラズマ処理によるタンパク質除去の効率を改善するためには，RF 電力を上げるのではなく，意図的に酸素ガスを混入し，He ラジカルのアシストによってタンパク質の酸化を促すなどの方法が有効であろう．

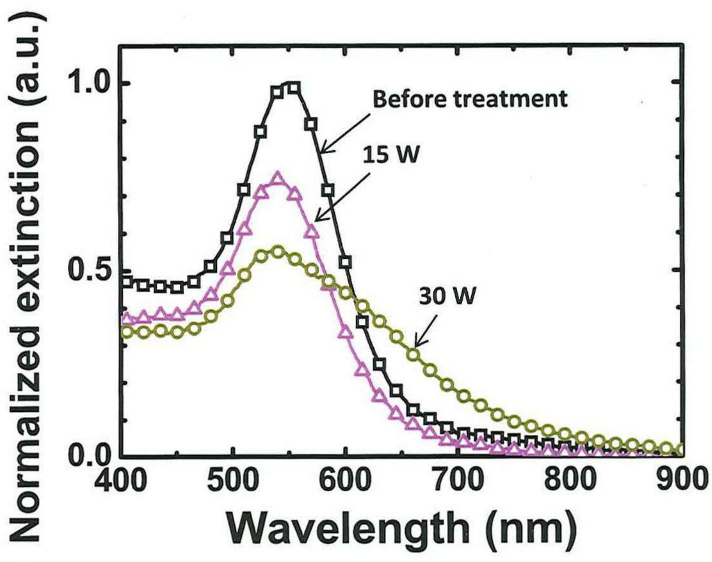

図 4.10　走査速度 0.5mm/sec，RF 電力 15W，30W の条件の下，大気圧 He プラズマ処理を行った金ナノ粒子層の UV-vis スペクトル．RF 電力 30W の場合，LSPR 吸収ピークは広がった．

4.3.6　センシング感度

最後に，大気圧 He プラズマ処理により，TFG 殻を除去した金ナノ粒子層のセンシングデバイスへの応用を検討するため，処理後の金ナノ粒子層の LSPR 感度を評価した．UV-vis スペクトルは，大気圧 He プラズマ処理を行った試料を屈折率の異なる溶媒に浸漬し，透過率測定を行うことで測定した．その結果を図 4.11 に示す．溶媒には，水(n=1.33)，エタノール(1.36)，エチレングリコール(1.43)，トルエン(1.49)を使用し，比較参照として大気(1.00)

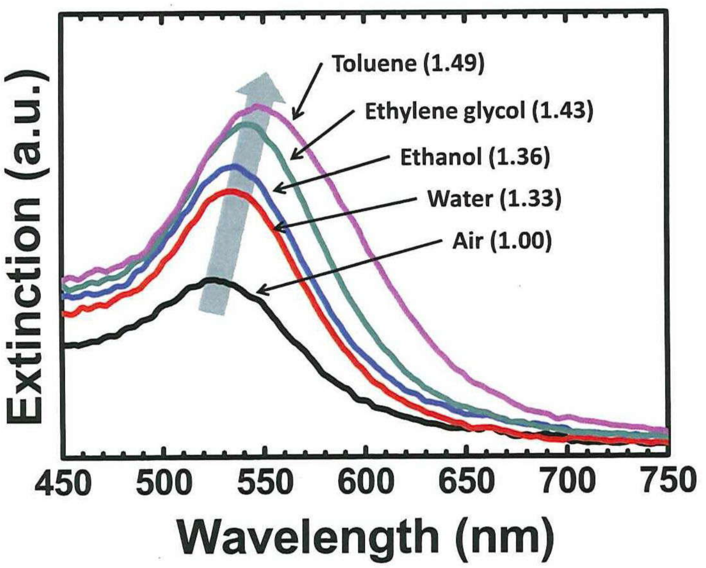

図 4.11　大気圧 He プラズマ処理によりタンパク質を除去した金ナノ粒子層の各種溶媒中での LSPR 吸収スペクトルの変化．溶媒の屈折率が上昇するにつれ，吸収ピーク波長は長波長側へシフトした．

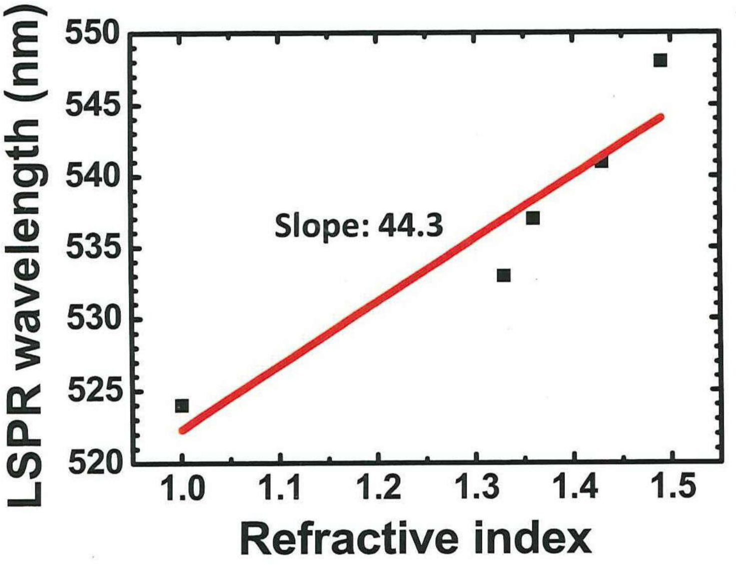

図 4.12　各種溶媒中での LSPR ピーク波長を溶媒の屈折率に対しプロットした結果．赤線は直線近似した線形直線．

中で測定した．溶媒の屈折率が上昇するにつれ，金ナノ粒子層の LSPR 吸収のピーク強度は徐々に増加し，ピーク位置は長波長側へシフトした．図 4.12 に示すように，溶媒の屈折率と吸収ピーク波長の間には，線形依存性が見られ，単位屈折率あたりの波長シフト (Refractive Index Unit: RIU)は 44nm/RIU であった．この RIU 値は，直径 15-20nm の球状金ナノ粒子の理論及び実測値と良く一致している[10]．RIU 値は，金ナノ粒子の大きさや形状によって変化するので，化学合成による金ナノ粒子の形状制御を行うことで，RIU 値を高め，センシング感度を改善することが可能である．これらの結果より，大気圧 He プラズマ処理は，プラズモニック機能デバイスへの応用に向け，高密度に配列した金ナノ粒子周囲のタンパク質の除去処理法として非常に有用であると言える．

4.4 結言

本章ではまず，TFG を利用した Ferritin-based encapsulation system による金ナノ粒子選択配置技術を用い，TFG-GNP 層の高密度化を目指した．その結果，TFG-GNP 溶液を用い，吸着プロセスを繰り返すことで，簡便に高密度 TFG-GNP 層を形成できることを示した．続いて，プラズモニック機能デバイス応用に向け，タンパク質除去処理法として，大気圧 He プラズマ処理を検討した．そして，その有用性を実証するため，従来のタンパク質除去に用いられてきた UV オゾン処理法との比較検討を行った．その結果，UV オゾン処理法では，基板表面の金ナノ粒子は，高エネルギーの UV 照射や高温に晒されることにより，表面マイグレーションを起こし，凝集してしまうことがわかった．一方，大気圧 He プラズマ処理を用いることで，金ナノ粒子の凝集を抑制することに成功した．また，大気圧 He プラズマ処理後の金ナノ粒子層からは，タンパク質除去処理前と変わらず，非常に急峻な LSPR 吸収ピークを得ることができた．さらに，プラズモニック特性は，金ナノ粒子周囲の溶媒の屈折率依存性を示し，LSPR 感度は 44.4nm/RIU であり，本実験で用いた直径 15-20nm の金ナノ粒子から得られる値として妥当であった．今後，金ナノ粒子の形状を化学合成により制御し，Ferritin-based encapsulation system で金ナノ粒子の配置を行うことにより，より大きな RIU 値を得ることが可能である．以上，これまでの得られた結果を総合すると，大気圧 He プラズマ処理による金ナノ粒子周囲のタンパク質除去法は，センシングデバイスを筆頭としたプラズモニック機能デバイス作製において，非常に有用であると結論づけることができる．

参考文献

[1] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sonnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kurzinger: Nano Lett. **3** (2003) 935.

[2] E. Hutter and J. H. Fendler: Adv. Mater. **16** (2004) 1685.

[3] T. Endo, K. Kerman, N. Nagatani, Y. Takamura, and E. Tamiya: Anal. Chem. **77** (2005) 6976.

[4] D. M. Schaadt, B. Feng, and E. T. Yu: Appl. Phys. Lett. **86** (225) 063106..

[5] S. H. Lim, W. Mar, P. Matheu, D. Derkacs, and E. T Yu: J. Appl. Phys. **101** (2007) 104309.

[6] S. H. Lim, D. Derkacs, and E. T. Yul: J. Appl. Phys. **105** (2009) 073101.

[7] H. A. Atwater, and A. Polman: Nature Mater. **9** (2010) 205.

[8] T. Hikono, T. Matsumura, A. Miura, Y. Uraoka, T. Fuyuki, M. Takeguchi, S. Yoshii, and I. Yamashita: Appl. Phys. Lett. **88** (2006) 023108.

[9] N. Zettsu, H. Itoh, and K. Yamamura: Surf. Coat. Technol. **202** (2008) 5284.

[10] H. Chen, X. Kou, Z. Yang, W. Ni, and J. Wang: Langmuir **24** (2008) 5233.

第 5 章　金ナノ粒子プラズモンアンテナを有する光電子デバイスの作製と評価

5.1　緒言

表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPR)や局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)は，現在，高感度バイオセンサーに応用されている[1-3]. しかしながら，検出機構は，入射光に対する反射光や透過光を外部の光検出器でモニタリングする複雑な系を必要とする(1.3.2 項参照). そのため，現在の医療現場から要請されているバイオセンサーの小型化には，一定の装置的限界がある．また一方で，SPR や LSPR は，導波路[4,5]や光検出器[5-8]のような，種々の光回路素子の性能を劇的に向上させる強力なツールとしても非常に注目されている．そのような状況下で近年，新たなコンセプトを有する光検出器が報告された．それは，1.3.3 項で述べた Au/n$^+$-Si ショットキー光検出器であり，周期的に並べた均一な金ナノロッドが透明電極内に埋め込まれた構造を有している[9]. 金ナノロッドは，プラズモンアンテナとして機能しつつ，ショットキー電極の役割も果たす．そのため，ショットキー光検出器を流れる光電流は，波長依存性を持ち，LSPR 吸収ピーク波長の光で最も光電流が励起される．このように，金ナノ粒子の特徴を生かした新規光電子デバイスについて，研究開発が盛んになってきている．

前章までにおいて，フェリチンタンパク質を利用したバイオナノプロセスの高度化・高機能化を達成した．中でも，Ferritin-based encapsulation system による金ナノ粒子選択配置技術は，光検出器や太陽電池のような光電子半導体デバイスの高機能化に有用であると考えられる．そこで本章では，バイオナノプロセスと半導体プロセスを組み合わせ，新規機能電子デバイスを作製するという目標の下，金ナノ粒子を利用した新規光電子デバイスの作製を目指す．提案するデバイスの概念を図 5.1 に示す．金ナノ粒子をプラズモンアンテナとして利用することにより，その下のチャネルを流れる電流を変調させ，LSPR の信号を電気的に抽出する．将来的に，このデバイスの概念は，プラズモンアンテナをバイオセンシング部としても機能させ，半導体バイオセンサーチップの実現に向けて応用できることを期待している．

5.2　Nb-doped TiO_2 チャネルと電極材料の最適化

デバイス作製の要素技術確立に向けて，提案しているデバイス構造に最適なチャネルと電極材料の選択に取り組んだ．提案する光電子デバイスでは，チャネル上の領域に金ナノ

粒子層を配置し，LSPR が引き起こす粒子周囲の増強電場等により，電極間を流れるチャネル電流を変調することを期待している．直径 15-20nm の金ナノ粒子の LSPR 吸収ピークが，波長 540nm 付近に存在することを考慮すると，可視光領域の光を吸収しない透明チャネル材料が適していると考えられる．なぜなら，チャネル層が可視光域の光を吸収し，キャリア励起による光電流が流れると，金ナノ粒子の LSPR 効果によるチャネル電流の変調成分の検出が困難になる可能性があるからである．そこで，チャネル材料の候補として考えられる材料が TiO_2 である．TiO_2 のバンドギャップは，約 3.2eV と大きく，可視光に対して透明である．しかしながら，通常 TiO_2 は絶縁体であるため，電流を流す必要があるチャネル材料として用いることは難しい．ところが近年，TiO_2 に Nb をドーピングすることで，TiO_2 の導電性を向上することが報告された[10]．Ti は 4 価であるため，5 価の Nb をドーピングすることで，Nb はドナーとして働き，電子が Ti の 3d 軌道から構成される伝導帯に注入される．よって，Nb がドープされた TiO_2(Nb-doped TiO_2: Nb-TiO_2)は，可視光に対して透明な性質を維持したまま，n 型の半導体或いは透明電極になる[11]．そこで本研究では，透明導電酸化物である Nb-TiO_2 をチャネル材料として検討した．高い導電性の Nb-TiO_2 膜を得るためには，アモルファスから結晶化する手段が有効かつ簡便である．スパッタ蒸着でガラス基板上に成膜した Nb-TiO_2 のアモルファス薄膜は，1×10^5Pa の水素雰囲気中で 600°C，1 時間加熱を行うことにより，多結晶化する．そしてさらに，結晶化に伴い，Nb が Ti サイトに置換することで活性化し，Nb-TiO_2 薄膜の抵抗率は，10^5-$10^6\Omega\cdot$cm から $10^{-4}\Omega\cdot$cm 程度にまで低下することが報告されている[12]．また，この Nb-TiO_2 薄膜のキャリア濃度は温度依存性を示さず，縮退半導体としての特徴を現す．この結果より，Nb ドープに伴って生じる不純物バンドが，Ti3d 準位より構成される伝導バンドの底と重なっていることが示唆されている．また，このアニール後の試料は，可視光領域の透過率は 60~80%と高い透明性を示す．

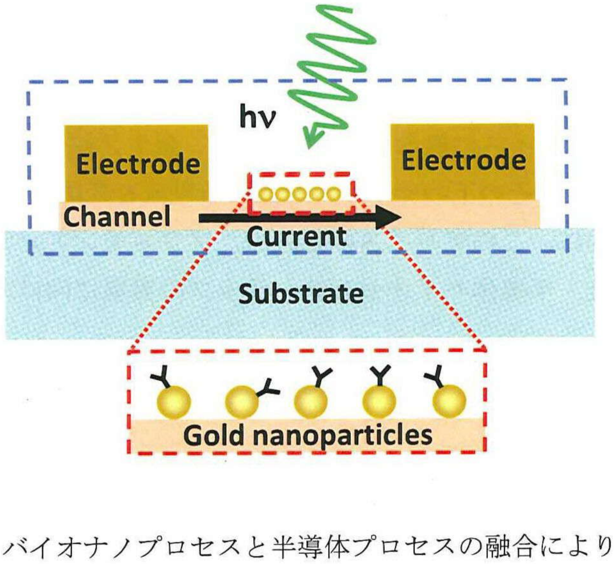

図 5.1　バイオナノプロセスと半導体プロセスの融合により作製する新規光電子デバイスの模式図．金ナノ粒子をプラズモンアンテナ兼センシング部として利用する．

また，電極材料としては，仕事関数が大きく異なる金(Au: 5.1 eV)とアルミニウム(Al: 4.3 eV)の二つを検討する．これらの電極材料を用い，光の検出において，Nb-TiO_2 とそれぞれの電極が形成するバンドアライメントの影響を調べる．

5.2.1 実験

図 5.2 に試料作製プロセスを示す．15mm×15mm 角に切り出した石英基板を硫酸過水で 15 分間洗浄した後，5mm×5mm の角型の穴が空いたマスクを用い，スパッタ蒸着により膜厚 10nm の Nb-TiO_2 膜パターンを成膜した．スパッタ蒸着直後の Nb-TiO_2 膜はアモルファスである．よって，Nb-TiO_2 膜の結晶化及び Nb ドーパントの活性化を行うため，フォーミングガス(Forming Gas: FG)雰囲気(N_2:H_2=97:3)下で 1 時間，基板を加熱した．加熱温度は 300°C, 400°C，600°C を検討した．その後，マスクを使った蒸着により，Nb-TiO_2 層上に直径 100μm の Al 電極と Au 電極を成膜した．Al 電極と Au 電極の膜厚はそれぞれ 50nm と 100nm とした．作製したデバイスの電流-電圧(I-V)特性は，暗室下或いは白色光照射下で測定した．

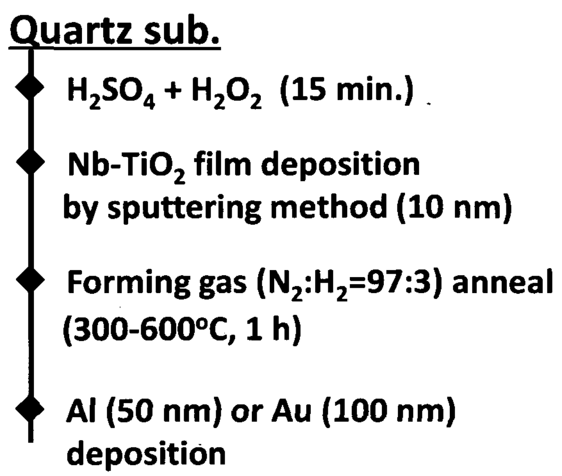

図 5.2 試料作製フロー図.

5.2.2 結果と考察

種々の温度にて Nb-TiO_2 膜を加熱し，Al 電極(膜厚: 50nm)を形成した試料の暗室下での I-V 特性を図 5.3 に示す．加熱温度が 300°C の試料の電流値は，検出限界以下となっており，高い絶縁特性を示した．一方，400°C と 600°C で加熱処理をした試料からは，安定した電流が検出され，それぞれ半導体的性質と伝導体的性質を示した．この加熱温度による Nb-TiO_2 膜の電気伝導度の変化は，Nb 不純物の活性化率に起因している．暗室の条件下での電流，すなわち，暗電流は，光電流検出のバックグラウンドノイズとなるので，低い暗電流値を

示す加熱条件の方が，プラズモンアンテナによる電流の変調を抽出するのに適している．よって本研究では，半導体的性質を示す Nb-TiO_2 膜を得るため，活性化アニール条件を 400°C, 1 時間とした．

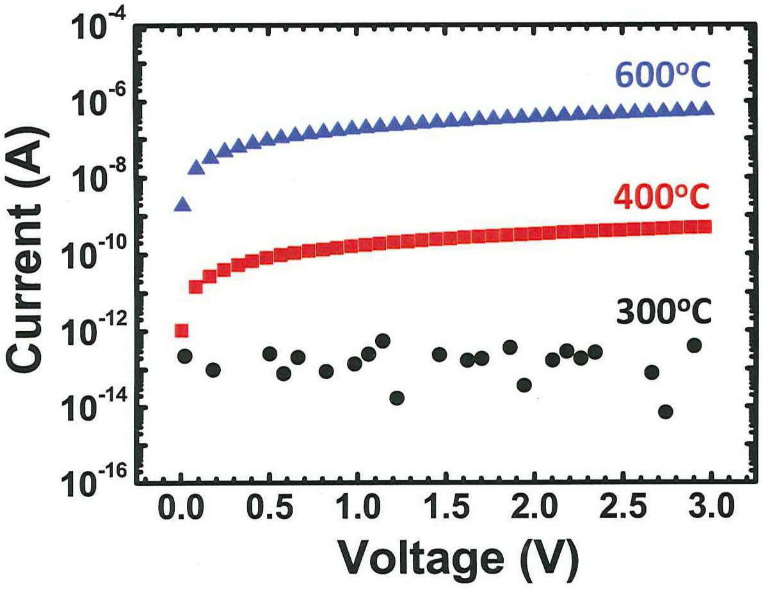

図 5.3　様々な FG アニール温度で作製した Nb-TiO_2 膜上に Al 電極 (膜厚:50nm)を形成した試料の I-V 特性．加熱温度 300°C の試料は絶縁体的な特性を示す一方，加熱温度 400°C，600°C の試料からは安定した電流が得られ，それぞれ半導体的特性と伝導体的特性を示した．

暗室下と白色光照射下で測定した，Al 電極或いは Au 電極を形成した試料の I-V 特性を図 5.4(a)に示す．Al 電極を持つ試料は高い暗電流値を示し，白色光の照射による電流の増大率はわずかであった．一方，Au 電極の試料の場合，暗電流はノイズレベルであったが，電流値は白色光照射によって劇的に増大し，その増大率は約 100 倍に達していた．これらの結果は，Al/Nb-TiO_2 界面と Au/Nb-TiO_2 界面で形成されるバンドアライメントの違いによって説明することができる．半導体的性質を持つ Nb-TiO_2 膜のフェルミレベルが，伝導帯の底から 0.2eV 下に位置すると仮定すると，Al/Nb-TiO_2 界面と Au/Nb-TiO_2 界面ではオーミック接合(図 5.4(b))とショットキー接合(図 5.4(c))がそれぞれ形成される．その結果，Al/Nb-TiO_2 界面を流れる電流はオーミック電流が多数を占め，白色光による光電流の増大率は低くなる．一方，Au/Nb-TiO_2 界面に存在する高いショットキー障壁は，暗電流を効果的に抑制する．しかし，白色光によって励起されたホットキャリアは，ショットキー障壁を越えて Nb-TiO_2

チャネル層に注入され，Al/Nb-TiO_2界面に比べてはるかに大きい電流増大率が得られる．これらの結果より，Nb-TiO_2チャネル層の光電流の変化量を大きくするためには，Al 電極よりも Au 電極の方が適していると結論付けることができる．

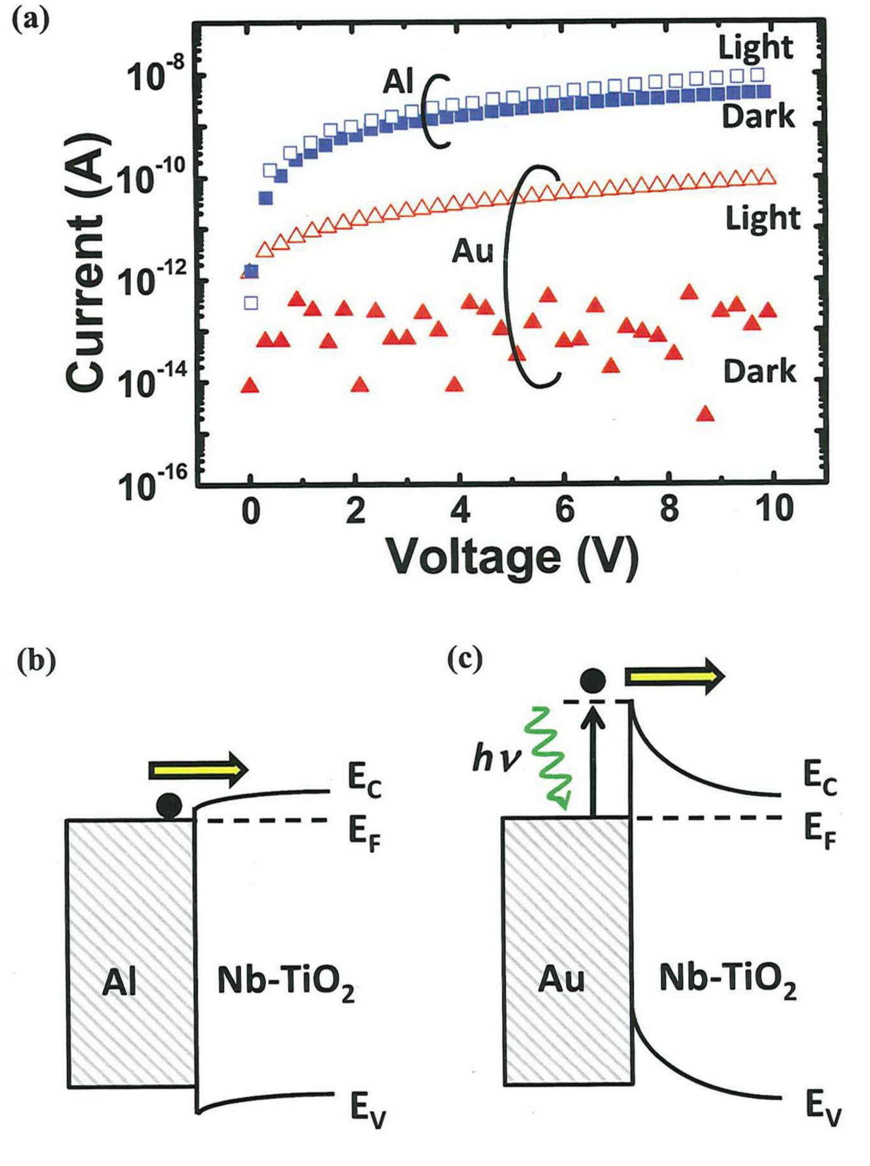

図 5.4　Nb-TiO_2膜(FG, 400°C, 1 時間)の上に Al 電極或いは Au 電極を形成した試料の暗室下と白色光照射下で測定した I-V 特性. (b)Al/Nb-TiO_2 界面と(c)Au/Nb-TIO_2 界面でのバンドアライメント. Al/Nb-TiO_2界面では，オーミック接合が形成され電流が良く流れるが，Au/Nb-TiO_2界面はショットキー障壁を持ち，光励起によるホットキャリアが存在しないと電流は流れない．

5.3　新規光電子デバイスの作製と評価

5.3.1　実験

5.2 節より，提案する新規光電子デバイスを作製するにあたり，チャネル層と電極材料には，それぞれ半導体的性質の Nb-TiO_2 膜と深い仕事関数を持つ Au が適していることがわかった．そこで，図 5.2 に示すプロセスに従い，FG 雰囲気下，400°C，1 時間の条件で Nb-TiO_2 膜(膜厚:10nm)を加熱し，その上に Au 電極(膜厚:100nm)を形成してデバイスを作製した．チャネル長と金電極のサイズはそれぞれ 500μm と 500μm×500μm 角である．作製したデバイスに対し，Ferritin-based encapsulation system を用い，Nb-TiO_2 チャネル上に TFG-GNP を配置した．TFG-GNP 配置後のチャネル表面を原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscope: AFM)で観察した結果を図 5.5 に示す．TFG-GNP 層の密度は $4.4\times10^{10}cm^{-2}$ と高密度であることがわかった．

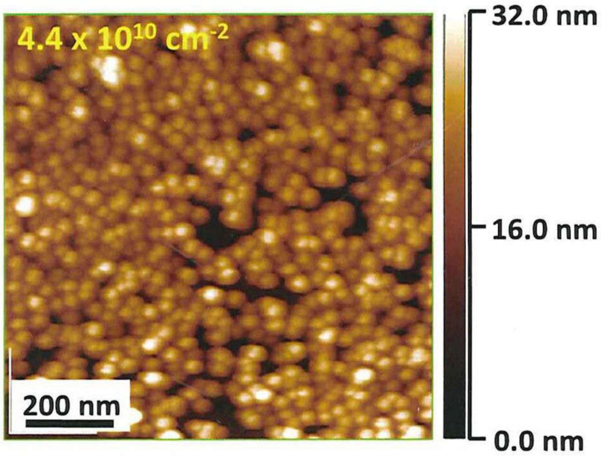

図 5.5　Ferritin-based encapsulation system により Nb-TiO_2 膜上の Au 電極間に配置した TFG-GNP 層．密度は $4.4\times10^{10}cm^{-2}$．

光による電流増大率の波長依存性を評価するため，TFG-GNP を集積した試料に対し，波長 400-800nm の範囲で単色光を照射しながら I-V 特性を測定した．測定のセットアップと単色光を取り出す光学系を図 5.6 に示す．単色光は，ハロゲンランプの白色光を分光器に入れた後，バンドルファイバを通すことで，フォーカスレンズから出射する．照射角度は試料の表面から 30° とし，電圧は-20V から 20V へ走査した．光電流増大率は，得られた各波長の光電流を暗電流とそれぞれの単色光強度で規格化することで算出した．

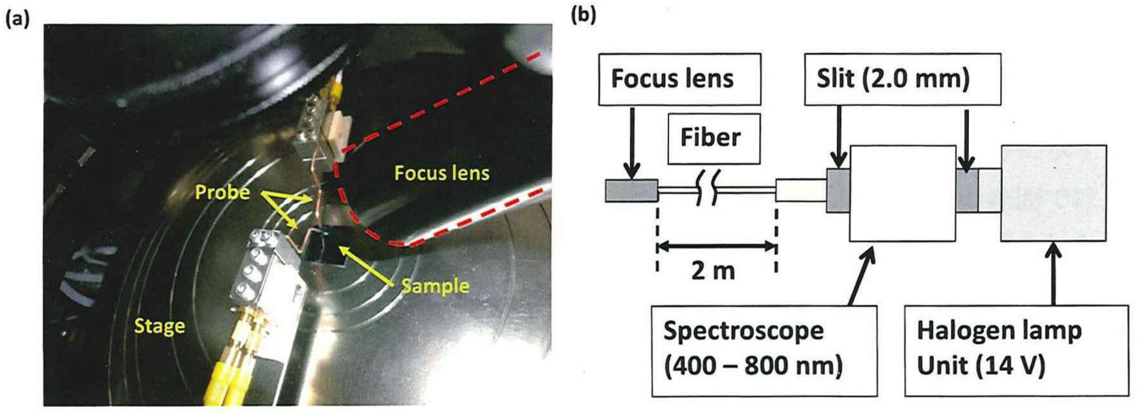

図 5.6　(a)単色光照射下での I-V 特性を評価する実験セットアップ.
(b)単色光を取り出すための光学系模式図.

5.3.2　結果と考察

TFG-GNP を配置した試料から得られた，印加電圧 15V 時の光電流増大率の波長依存性を図 5.7 に示す．比較参照として，TFG-GNP を配置していない試料の各単色光に対する光電流増大率もプロットしている．TFG-GNP を配置した試料から，波長 620nm 付近に急峻な電流増大率ピークが観測された．一方，TFG-GNP を持たない試料の光電流増大率は，波長 640nm 付近になだらかなピークを有していた．それぞれのピーク強度を比較した結果，光電流増大率は，TFG-GNP の存在により，約 8 倍上昇していることがわかった．これらの結果は，金ナノ粒子の効果により，Au/Nb-TiO_2 界面でのショットキー障壁を超えるホットキャリアの数が増大していることを表している．つまり，チャネルを流れる電流をモニタリングすることにより，金ナノ粒子由来の LSPR の信号を電気的に検出していることを意味している．しかしながら，本実験で用いた直径 15-20nm の金ナノ粒子の LSPR 吸収波長は，約 540nm であり，光電流増大率ピーク位置の波長 620-640nm と完全には一致していない．将来，本研究で提案・実証したデバイス概念を用い，バイオセンサー半導体チップを実現するためには，本デバイスでの LSPR の検出機構を理解し，この LSPR ピーク波長と増大率ピーク波長のミスマッチを改善していく必要がある．

そこでまず，波長 620-640nm 付近の光電流増大率ピークの起源について考察する．波長 620-640nm 付近の光電流増大率ピークは，TFG-GNP 層がチャネル領域に存在していない試料からも観測された．よって，増大率ピークの出現は Au 電極に起因している可能性が高いと思われる．そこで，Au 電極/Nb-TiO_2 膜/石英基板の積層構造に注目すると，図 5.8 に示すように，SPR が発生し得るクレッチマン配置[13]になっていることがわかる．光電流測定時の単色光の入射角度は，試料の表面から 30° であるので，試料表面から入射した単色光は，石英基板の背面で反射し，Nb-TiO_2 膜側から Au/Nb-TiO_2 界面へ入射することができる．よ

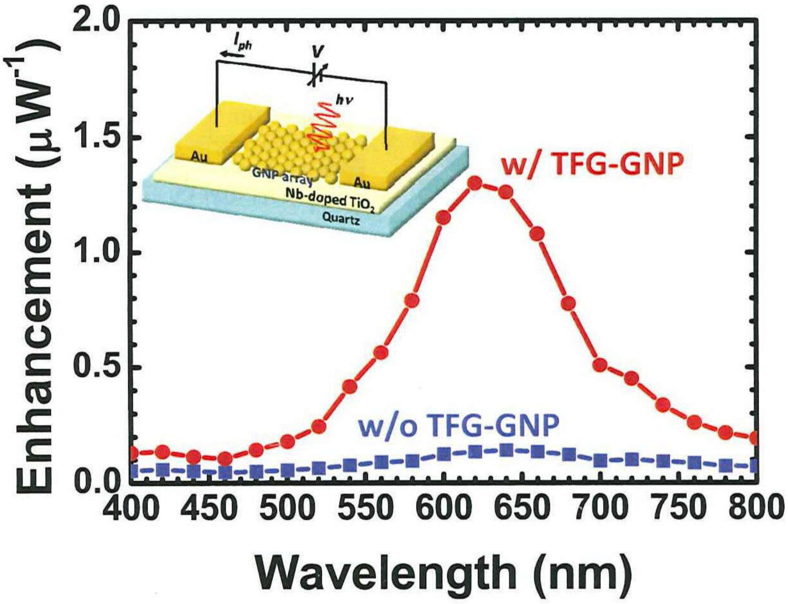

図 5.7　印加電圧 15V 時の単色光に対する光電流増大率．挿入図は作製したデバイスと測定セットアップの模式図を表す．光電流増大率は，測定した光電流を暗電流と各単色光の強度で規格化した値．波長 620nm 付近の増大率ピークは，金ナノ粒子により約 8 倍高められた．

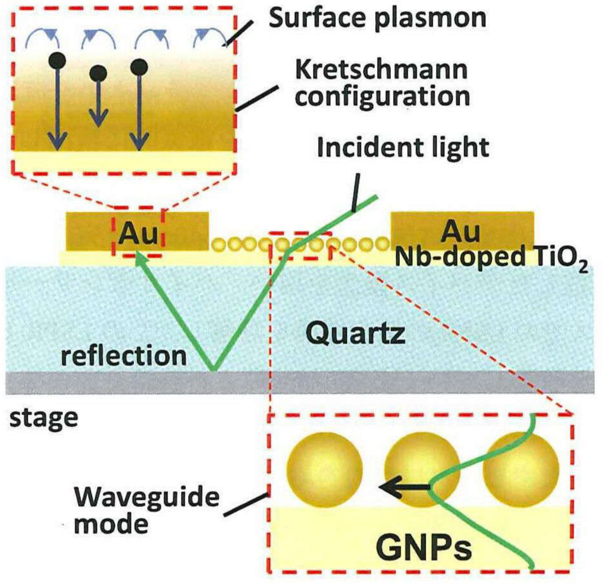

図 5.8　波長 620nm 付近の光電流増大率ピークの起源と金ナノ粒子による増大効果の機構について考察した模式図．

って，この時，全反射条件を満たしていれば，Au/Nb-TiO_2 界面からしみ出したエバネッセント波により，Au 電極の表面に SPR が励起される可能性がある．そこで，Au/Nb-TiO_2 界面に入射する単色光の全反射条件を調べるため，スネルの法則を用い，試料表面から 30° の角度で試料表面に入射した単色光の Au 層内での屈折角を計算した．その結果を図5.9に示す．Au と TiO_2 の屈折率の波長依存性は，参考文献[14]を参照した．波長 400-500nm の範囲では，屈折角は 90° 以下であった．一方，波長 500-800nm の範囲では，屈折角は計算で得られなかった．これは，入射光が入射界面で全反射していることを意味している．すなわち，波長 500-800nm の範囲の単色光は，全反射条件を満たしていることがわかった．

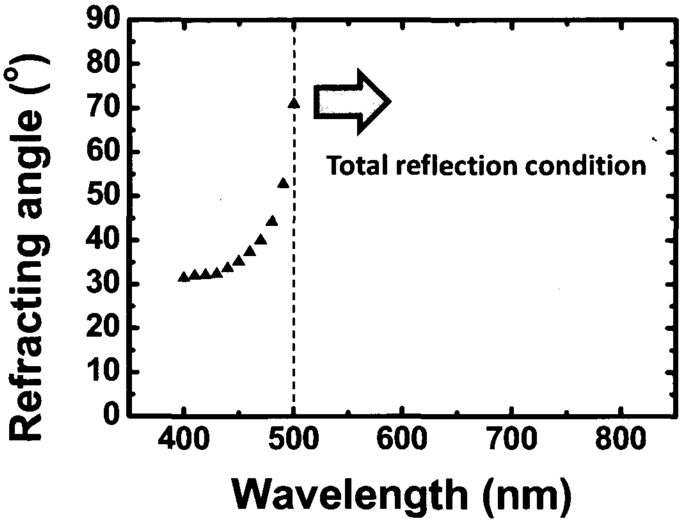

図 5.9　試料表面から 30° 傾いて入射した光が，石英基板背面で反射し，Au 電極へ入射する際の屈折角．屈折角が 90° を越えているのは，入射した光が全反射していることを意味している．

次に，計算ソフト COMSOL Multiphysics の RF module を使い，電磁場伝搬についてのマクスウェル方程式を有限要素法で解くことで，Au/Nb-TiO_2 界面へ入射する光の反射率を計算した．計算モデルを図 5.10(a)に示す．積層構造は，Au(50nm)/TiO_2(10nm)/SiO_2(∞)とし，波長 620nm の光を SiO_2 層から TiO_2 層へ、角度θを変化させて入射させた．SiO_2，TiO_2，Au の屈折率は参考文献[14]を参照した．入射角θで入射した光の反射率をプロットしたグラフを図 5.10(b)に示す．入射角 47° に反射率が最も小さくなる dip が存在した．これは，この角度で入射した波長 620nm の単色光によって，Au 層表面に SPR が励起していることを示している．一方，スネルの法則を用い，空気層(屈折率 1.00)から石英基板(屈折率 1.46)へ入射する光の屈折角を求めた結果を図 5.10(c)に示す．実際の測定では，波長 620nm の光は，試料表面から 30° の角度で入射しているので，石英基板(SiO_2)から Nb-TiO_2 層へは 36.5° の角度で入射していることがわかった．また，空気層から石英基板へ入射する光の屈折角は，47°

に達しないことがわかった．しかしながら，計算モデルは理想の状態を想定しているので，実際の測定系では考慮していない効果も存在する．よって，SPR の計算結果は，波長 620nm 付近の光電流増大率ピークの起源を示す完全なものではないが，Au 電極の SPR の効果の存在を示唆するには十分な結果である．よって，これまでの考察を踏まえると，波長 620-640nm 付近の光電流増大率ピークは，Au/Nb-TiO_2 界面に入射した単色光により，Au 電極表面に誘起された SPR に起因している可能性が高いことがわかった．Au 電極表面の SPR により励起された多数のホットキャリアが，Au/Nb-TiO_2 界面のショットキー障壁を越えて Nb-TiO_2 層へ拡散することで，大きな光電流が発生していると考えられる．

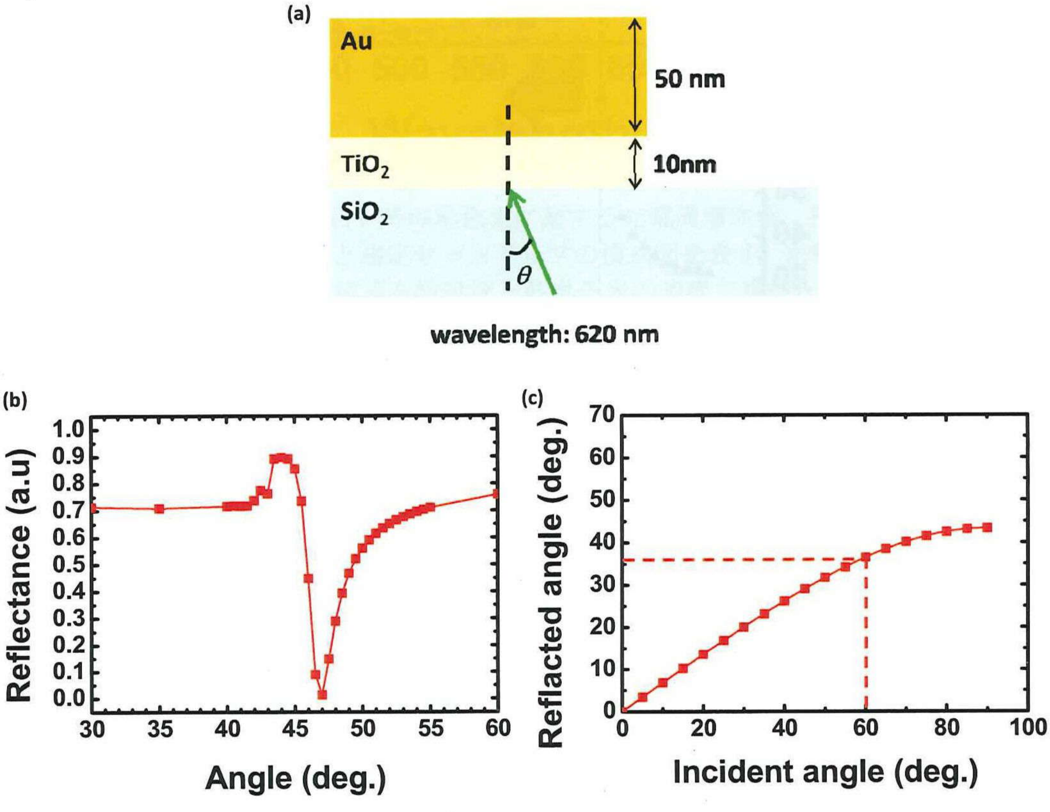

図 5.10　(a)計算モデル．波長 620nm の単色光を SiO_2 層から TiO_2 層へ角度を変えて入射．(b)入射角に対する反射率．(c)空気から石英基板へ入射した光(波長 620nm)の屈折角．

続いて，金ナノ粒子による光電流増大率ピークの増大効果について考える．直径 15-20nm の金ナノ粒子の LSPR 吸収スペクトルでは，吸収ピークのすそが波長 620nm 付近にもかかっている(図 3.7)．そのため，金ナノ粒子の LSPR の光散乱効果や光閉じ込め効果が光電流に影響を与えていると予想される．例えば，図 5.8 に示すように，金ナノ粒子の LSPR によ

り，チャネル表面付近に光が閉じ込められた結果，Au/Nb-TiO_2 界面へ入射する光が増え，光電流増大に寄与したと考えられる．或いは，チャネル表面に存在する金ナノ粒子が，散乱体として機能し，Nb-TiO_2 膜から大気へ入射する光を再び Nb-TiO_2 膜内へ反射することで，Au/Nb-TiO_2 界面への光の入射が増大したとも考えられる．

5.4 LSPR 検出機構の解明とデバイス構造の最適化

本節では，5.3 節で議論した，Au 電極へ背面から入射する光の効果について実験的に検証を行い，デバイス構造の最適化を目指す．

5.4.1 実験

図 5.2 に示す作製プロセスに従い，試料を作製した．Nb-TiO_2 膜(膜厚:10nm)は，FG 雰囲気下で 400°C，1 時間の加熱処理を行った．また，電極は，マスクを用い，Au を 10-50nm の膜厚で成膜した後，さらに別のマスクを用い，その Au 電極上に 120nm 膜厚の Al を成膜した．Au 電極と Al 層のサイズは，それぞれ 500μm×700μm と 100μm×100μm とした．作製した試料の模式図を図 5.11(a)に示す．Al 膜は，測定時のプローブを落とすためのパッドとして用いた．TFG-GNP のチャネル上への配置は，Ferritin-based encapsulation system により行った．

測定のセットアップの模式図を図 5.11(b)に示す．光による電流増大率の波長依存性を評価するため，波長 400-800nm の範囲で単色光を照射しながら I-V 特性を測定した．照射角度は試料の表面から 30° 或いは 90° とし，電圧は-20V から 20V へと走査した．光電流増大率は，得られた各波長の光電流を暗電流とそれぞれの単色光強度で規格化することで算出した．

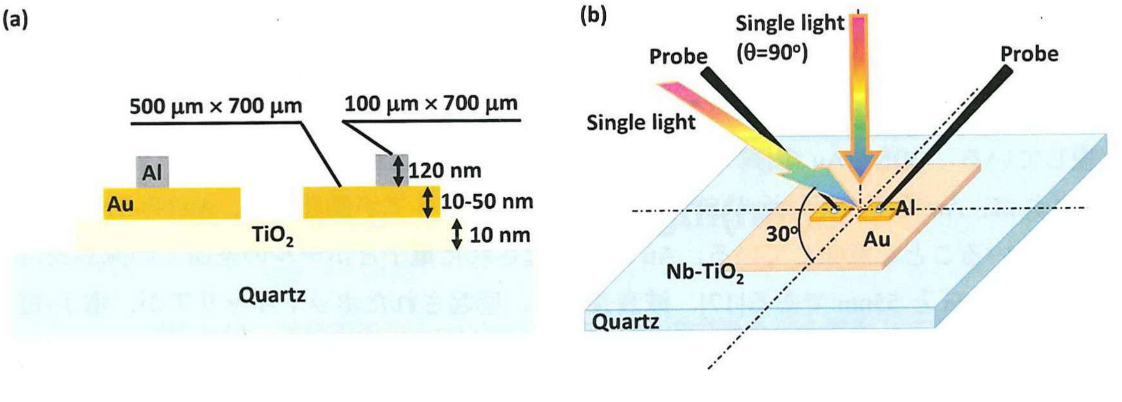

図 5.11 (a)作製した試料の模式図. (b)光電流測定セットアップの模式図.

5.4.2　結果と考察

入射光の石英基板背面での反射を抑えるため，単色光の照射角度を試料表面から 90°(垂直)とし，光電流増大率を測定した．試料には，Au 電極膜厚が 10-50nm の試料を用い，波長 400-700nm の範囲で単色光を照射した．その結果を図 5.12(a)に示す．光電流増大率は，増大率ピークを持たず，波長 500nm から 700nm の範囲では，波長が短くなるにつれわずかな傾きで単調に増大していった．この波長 500-700nm の範囲の波長と光電流増大率の関係は，次に示す Fowler の式[15,16]で記述される関係に一致していた．

$$I = c\frac{(h\nu - \phi)^n}{h\nu} \tag{5.1}$$

ここで，h，Φ，νはそれぞれ，プランク定数，ショットキー障壁高さ，光振動数である．また，c は任意の定数であり，n は通常 2.0 である．この式は、金属部に光を照射することでショットキーダイオードに流れる光電流と，入射光のエネルギーの関係を表している．(5.1)式を用いたフィッティングのパラメータを表 5.1 に示す．定数 c は任意の値なので，フィッティングの値を調整するために代入されている．一方，Au 電極膜厚 10nm のショットキー障壁高さは 0.6eV であり，Au 電極膜厚 30nm と 50nm の試料と比較して，低い値となった．これは，Au のバンド構造が，膜厚 10nm の薄膜では量子効果の影響により，バルクと異なっているためと思われる．また，波長 500nm より短い波長範囲では，傾きが急になり，増大傾向が変わっていた．これは，波長 500nm 以下では，Au 電極表面に励起されたホットキャリアの他に，Nb-TiO_2 膜自身の光吸収によるホットキャリアの生成が，寄与していると思われる．波長 500nm の光のエネルギー(~2.5eV)は，TiO_2 バンドギャップの約 3.2eV より小さい．しかし，不純物としてドーピングされている Nb が，TiO_2 のキャリア励起に影響を与えていると予想される．以上の結果より，単色光の照射角度が 90° の場合には，典型的な Au/Nb-TiO_2 ショットキー光検出器の特性を示すことが分かった．

一方，試料表面から 30° の角度で単色光を当て，測定した光電流増大率の波長依存性を図 5.12(b)に示す．光電流増大率ピークが，Au 電極膜厚 10，30，50nm の全試料において，波長 620nm 付近に観察された．よって，図 5.12(a)に示す照射角度 90° の実験結果と比較することで，単色光の照射角度 30° の効果を確認することができた．これは，光電流増大率ピークにおいて，石英基板の背面で反射し，Au/Nb-TiO_2 界面に入射する光が重要であることを示唆している．また，Au 電極の膜厚が薄くなるにつれ，光電流増大率のピーク値は上昇した．これは，Au 電極表面付近の SPR 効果でホットキャリアが励起され，Au/Nb-TiO_2 界面へ拡散していることを意味している．Au 内で励起された電子とホールの室温での減衰長は，それぞれ 74nm と 55nm である[17]．減衰長とは，励起されたホットキャリアが，電子-電子散乱や電子-フォノン散乱等によりエネルギーを失っていく中で，最終的に基底状態に戻るまでに物質内を走行する距離のことである．そのため，Au 電極膜厚が薄い条件では，より多くのホットキャリアが，完全に失活する前に Au/Nb-TiO_2 界面に到達し，大きな光電流が流れたと思われる[18]．一方，Au 電極の膜厚が厚くなると，弾性散乱により，ホットキャ

リアが Au/Nb-TiO_2 界面に到達する前にエネルギーを失うため，ショットキー障壁を越えられず，光電流が流れないと考えられる．よって，これらの実験的事実より，光電流増大率ピークの起源は，Au/Nb-TiO_2 界面に背面から入射した光によって，Au 電極表面に励起された SPR である可能性が一層高まったと言える．

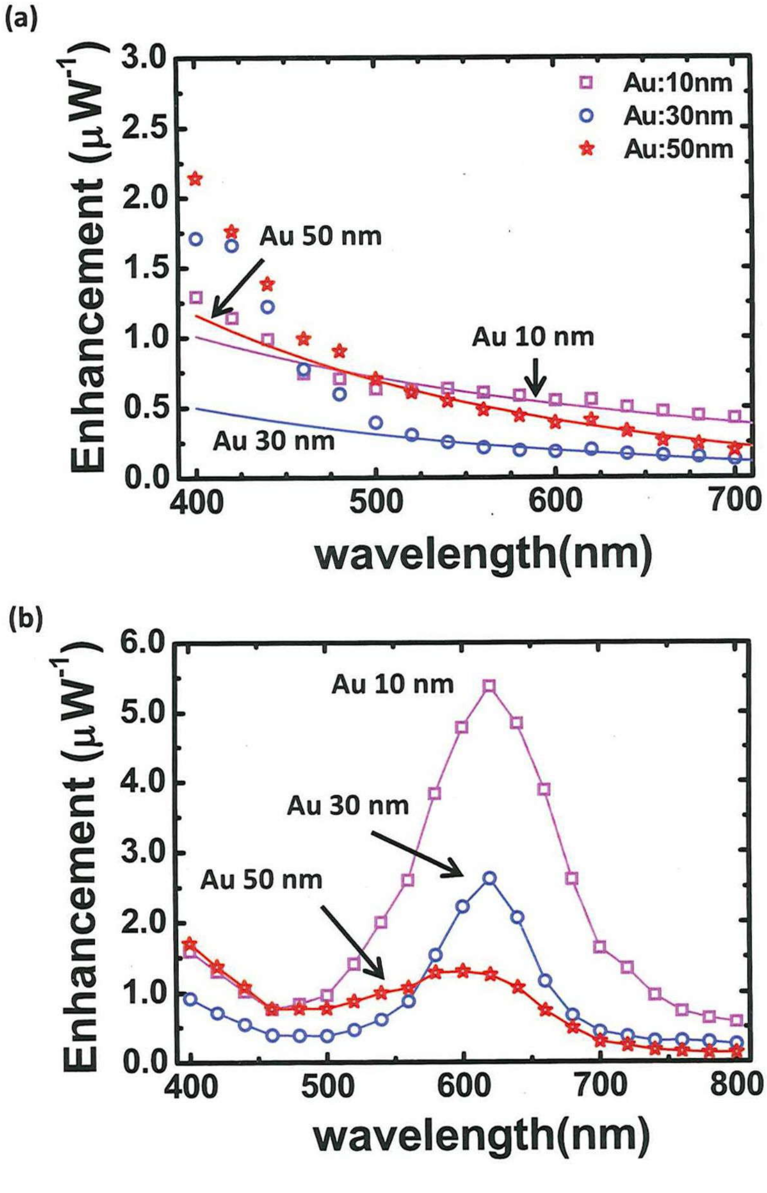

図 5.12　試料表面から(a)90° と(b)30° の角度で単色光を照射して得られた光電流増大率(印加電圧 15V)．90° 入射の場合，光電流増大率は Fowler の式[15,16]に従い，波長が短くなるにつれて増大した．30° 入射の単色光による光電流増大率は，Au 電極膜厚が薄い程上昇した．

表 5.1　(5.1)式に示す Fowler の式のパラメータ．フィッティング結果は図 5.12(a)に示す．

Au thickness	10 nm	30 nm	50 nm
c	0.5	0.35	0.9
ϕ	0.6	1.0	1.1

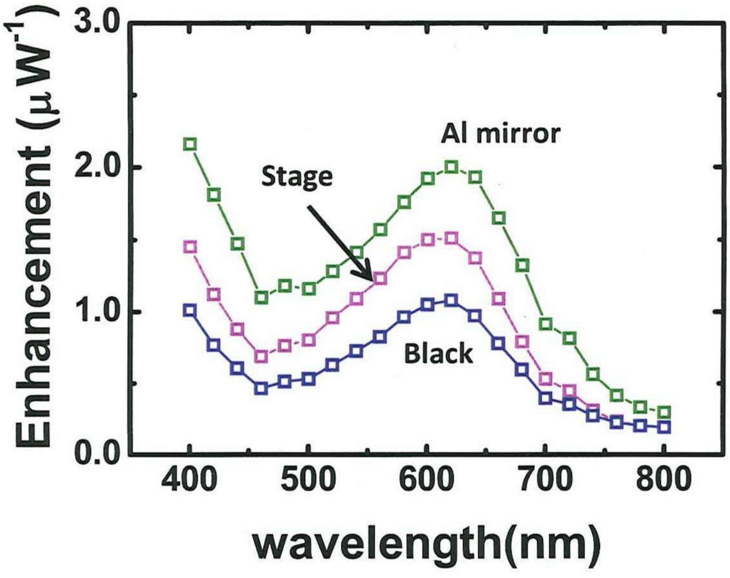

図 5.13　Au 電極膜厚が 10nm の試料に対し，石英基板の下に Al 反射ミラー，或いは黒いシートを設置して測定した光電流増大率．単色光は試料表面から 30° 傾けて入射し，印加電圧 15V での光電流から算出．

Au 電極に背面から入射する光の影響について，より直接的に調べるため，Au 電極膜厚 10nm の試料の下方に Al 反射ミラーや黒いシートを設置し，単色光に対する光電流増大率を測定した．単色光の照射角度は試料の表面から 30° とした．Al 反射ミラーは，試料表面から入射する光の反射効率を上げるために，そして，黒いシートは，光の反射を抑制するために設置した．測定結果を図 5.13 に示す．また，比較参照として，何も石英基板の下に設置していない条件(これまで測定を行ってきた条件)で測定した結果も示す．光電流増大率ピークは，どの測定条件においても，波長 620nm 付近に観察された．しかしながら，Al 反射ミラー設置の測定条件の増大率ピーク値は，何も設置していない条件に比べ，強度は約 1.3 倍になっていた．一方，黒いシートを設置した条件では，光電流増大率のピーク強度は，約 3 分の 2 に減少していた．これは，石英基板の背面で反射された光の強度によって，光電流増大率のピーク値が増減していることを意味している．よって，これらの結果より，

石英基板の背面で反射する光は，光電流増大率に非常に大きな影響を与えていることが明らかとなった．以上，これらの実験的事実より，光電流増大率ピークは，Au/Nb-TiO_2 界面に背面から入射した光により，Au 電極表面に励起された SPR に由来している結論できる．

ここまでの結果より，Au 電極膜厚が 10nm のデバイスは，金ナノ粒子がチャネル上に存在していないにもかかわらず，急峻な光電流増大率ピークを示すことがわかった．よって，このデバイスに対し，金ナノ粒子の効果を作用させれば，さらなる増大率ピークの増大が期待できる．よって，Ferritin-based encapsulation system により，TFG-GNP を配置し，光電流増大率を測定した．TFG-GNP 吸着前後の光電流増大率を図 5.14 に示す．TFG-GNP 吸着前でも明瞭であった光電流増大率ピークは，TFG-GNP の存在により，約 3 倍増大していた．金ナノ粒子の LSPR の効果による増大率は，図 5.7 の増大率よりは少なかったが，TFG-GNP 吸着後の光電流増大率のピーク値同士を比較すると，膜厚 10nm の Au 電極の試料の方が，約 3 倍大きかった．よって，この結果は，Au 電極の構造を最適化することで，金ナノ粒子由来の LSPR 信号を電気的に検出する能力を改善したことを示している．今後，金ナノ粒子の形状・サイズの設計や Au 電極構造のさらなる最適化をすることで，金ナノ粒子の LSPR 波長と Au 電極の SPR 波長を一致させることができれば，信号強度(光電流増大率)の飛躍的な増大が期待される．

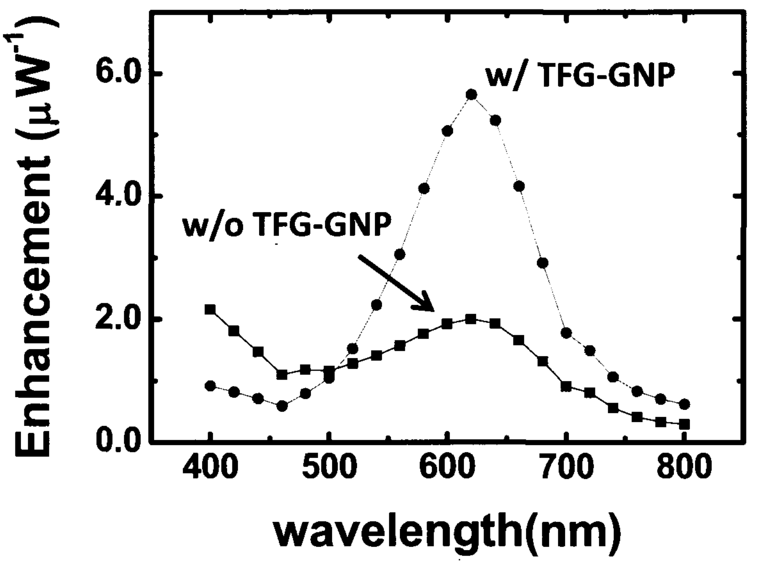

図 5.14 TFG-GNP 配置前後での，Au 電極膜厚が 10nm の試料の光電流増大率．金ナノ粒子の効果により，光電流増大率ピークは約 3 倍増大した．

5.5 結言

本章では，TFG を利用した Ferritin-based encapsulation system を用い，金ナノ粒子をプラズモンアンテナとして集積した新規光電子デバイスの提案・作製とその実証を目的とした．まず，デバイス作製の足がかりとして，.最適なチャネル材料と電極材料を検討した．その結果，チャネル材料としては，可視域で透明な半導体的 Nb-TiO_2 膜が最適であることを示した．また，Nb-TiO_2 とショットキー障壁を形成する Au が，光電流を検出するのに適していることを明らかにした．そして，これらの材料で作製したデバイスに対し，Ferritin-based encapsulation system により金ナノ粒子を集積した新規光電子デバイスを作製した．作製したデバイスからは，金ナノ粒子の LSPR に起因する信号を電気的に検出することに成功した．また，計算と実験的手法の両方を用い，LSPR の検出機構の解明を目指した．その結果，Au 電極の SPR と金ナノ粒子の LSPR が互いに作用しあっていることを見出した．そして，金ナノ粒子の形状・サイズや Au 電極の構造を設計・最適化することで，金ナノ粒子の LSPR 波長と Au 電極の SPR 波長を一致させることができれば，信号強度(光電流増大率)の飛躍的な増大が期待できることを示した．

参考文献

[1] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sönnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl, and K. Kürzinger: Nano Lett. **3** (2003) 935.

[2] E. Hutter and J. H. Fendler: Advanced Material **16** (2004) 1685.

[3] E. Hutter and M. P. Pileni: J. Phys. Chem B **107** (2003) 25.

[4] S. A. Maier, M. L. Brongersma, P. G. Kik, S. Meltzer, A. A. G. Requicha, and H. A. Atwater: Adv. Mater. **13** (2001) 1501.

[5] A. L. Falk, F. H. L. Koppens, C. L. Yu, K. Kang, N. D. L. Snapp, A. V. Akimov, M. D. Lukin, and H. Park: Nat. Phys. **5** (2009) 475.

[6] H. R. Stuart, and D. G. Hall: Appl. Phys. Lett. **69** (1996) 2327.

[7] T. Ishi, J. Fujikata, K. Makita, T. Baba, and K. Ohashi: Jpn. J. Appl. Phys. **44** (2005) L364.

[8] L. Tang, S. E. Kocabas, S. Latif, A. K. Okyay, D. Sebastien, L. Gagnon, K. C. Saraswat and D. A. B. Miller: Nat. Photonics **2** (2008) 226.

[9] M. W. Knight, H. Sobhani, P. Nordlamder, and N. J. Halas: Science **332** (2011) 702.

[10] Y. Furubayashi, Y. Hitosugi, Y. Yamamoto, K. Inaba, G. Kinoda, Y. Hirose, T. Shimada and T, Hasegawa: Appl. Phys. Lett. **86** (2005) 252101.

[11] T. Hitosugi, A. Ueda, S. Nakao, N. Yamada and Y. Furubayashi: Appl. Phys. Lett. **90** (2007) 212106.

[12] N. Yamada, T. Hitosugi, N. Hoang, Y. Furubayashi, Y. Hirose, T. Shimada and T. Hasegawa: Jpn. J. Appl. Phys. **46** (2007) 5275.

[13] E. Kretschmann: Z. Phys. **241** (1971) 313.

[14] E. D. Palik: Handbook of Optical Constants of Solids (Academic Press, San Diego, CA, 1998),

vol. 3.

[15] R. H. Fowler: Phys. Rev. **38** (1931) 45.

[16] S. M. Sze, and K. K. Ng: Physics of Semiconductor Devices (Wiley, Hoboken, NJ, ed. 3, 2007).

[17] R. N. Stuart, and F. Wooten: Phys. Rev. Lett. **10** (1963) 7.

[18] A. Akbari, and P. Berini: Appl. Phys. Lett. **95** (2009) 021104.

第6章　総括

現在，MOSFET(Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor)に代表される半導体デバイスでは，微細化による性能向上に物理的限界が近づきつつある．そのため，半導体デバイスには，MOSFET の高性能化への要請とは別に，ナノスケールの領域のみで発現する現象を利用し，新たな機能を付加した新機能半導体デバイスの実現に期待が寄せられている．本研究では，この現状を打破するべく，ボトムアップ型バイオナノプロセスとトップダウン型半導体プロセスの融合を試み，新規光電子デバイスの作製を目指した．

第 2 章では、Ti アプタマー修飾フェリチンタンパク質(Ti-Binding Ferritin: TBF)を利用したバイオナノプロセスによる，金属ナノ粒子選択配置技術の高度化・高機能化を目指し，TBF の吸着メカニズムの解明に実験的に取り組んだ．まず，TBF の周囲や基板表面に TWEEN20 を配位し，吸着実験を行うことで，TBF の吸着挙動に対する TWEEN20 の役割の解明を目指した．その結果、TWEEN20 は，TBF と基板の両表面を覆うことにより、TBF の基板表面への接近や Ti アプタマーの吸着力を阻害していることが明らかになった．続いて，Ti 表面被覆率の異なる SiO_2 表面を作製し，SiO_2 表面の電荷分布を制御することで，TBF の吸着挙動を制御することに成功した．また，この実験結果より，Ti 原子起因の正電荷サイトが，約 1nm 以下の距離で SiO_2 表面上に分布することで，TBF の複数の Ti アプタマーと安定な結合を形成し，TBF が表面に固定される吸着モデルを提案した．さらに，得られた知見より，金属を用いず，SiO_2 膜中の電気的欠陥起因の正電荷の生成・回復により，TBF の吸着挙動を制御できる可能性を示し，それを実証した．

第 3 章では，フェリチンタンパク質の内包可能な金属ナノ粒子の種類とサイズの制限を突破し，プラズモニック機能デバイスへの応用を可能にするため，遺伝子改変フェリチンタンパク質の TFG を利用した金ナノ粒子内包技術(Ferritin-based encapsulation system)の有用性の実証を目指した．まず，TFG の空洞内部の体積より約 8 倍大きい直径 15-20nm の金ナノ粒子に，TFG の分解・再構成プロセスを適用した．その結果，TFG サブユニットダイマーは，C 末端に修飾した Au アプタマーを介し，金ナノ粒子表面に沿う形で粒子全体を被覆することがわかった．さらに，TFG 殻で被覆できる金ナノ粒子は，サイズや形状に制限されないこともわかった．また，TFG で覆われた金ナノ粒子(TFG-GNP)は，N 末端に修飾した Ti アプタマーの作用により，溶液に TWEEN20 が存在する条件において， SiO_2 表面上の Ti パターンに選択的に配置できることを確認した．そして，この選択配置は，ナノレベルの精密配置から大面積の高密度配置にまでも適用可能であることを示した．さらに，基板表面に配置した TFG-GNP 層は，高密度でありながら，TFG 殻によって個々の金ナノ粒子の接触が抑制されていることにより，金ナノ粒子本来の LSPR 特性を示すことを実証した．

第 4 章ではまず，TFG を利用した Ferritin-based encapsulation system による金ナノ粒子選

択配置技術を用い，TFG-GNP層の高密度化を目指した．その結果，TFG-GNP溶液を用い，吸着プロセスを繰り返すことで，簡便に高密度TFG-GNP層を形成できることを示した．続いて，プラズモニック機能デバイス応用に向け，タンパク質除去処理法として，大気圧Heプラズマ処理を検討した．そして，その有用性を実証するため，従来のタンパク質除去に用いられてきたUVオゾン処理法との比較検討を行った．その結果，UVオゾン処理法では，基板表面の金ナノ粒子は，高エネルギーのUV照射や高温に晒されることにより，表面マイグレーションを起こし，凝集してしまうことがわかった．一方，大気圧Heプラズマ処理を用いることで，金ナノ粒子の凝集を抑制することに成功した．また，大気圧Heプラズマ処理後の金ナノ粒子層からは，タンパク質除去処理前と変わらず，非常に急峻なLSPR吸収ピークを得ることができた．さらに，プラズモニック特性は，金ナノ粒子周囲の溶媒の屈折率依存性を示し，LSPR感度は44.4nm/RIUであり，本実験で用いた直径15-20nmの金ナノ粒子から得られる値として妥当であった．今後，金ナノ粒子の形状を化学合成により制御し，Ferritin-based encapsulation systemで金ナノ粒子の配置を行うことにより，より大きなRIU値を得ることが可能である．

第5章では，第3-4章を通して確立した，TFGによるFerritin-based encapsulation systemを用い，金ナノ粒子をプラズモンアンテナとして集積した新規光電子デバイスの提案・作製とその実証を目的とした．まず，デバイス作製の足がかりとして，最適なチャネル材料と電極材料を検討した．その結果，チャネル材料としては，可視域で透明な半導体的Nb-doped TiO_2(Nb-TiO_2)膜が最適であることを示した．また，Nb-TiO_2とショットキー障壁を形成するAuが，光電流を検出するのに適していることを明らかにした．そして，これらの材料で作製したデバイスに対し，Ferritin-based encapsulation systemにより金ナノ粒子を集積した新規光電子デバイスを作製した．作製したデバイスからは，金ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance: LSPR)に起因する信号を電気的に検出することに成功した．また，計算的手法と実験的手法の両方を用い，LSPRの検出機構の解明を目指した．その結果，Au電極の表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPR)と金ナノ粒子のLSPRが互いに作用しあっていることを見出した．そして，金ナノ粒子の形状・サイズやAu電極の構造を設計・最適化することで，金ナノ粒子のLSPR波長とAu電極のSPR波長を一致させることができれば，信号強度(光電流増大率)の飛躍的な増大が期待できることを示した．

以上，本研究では，ボトムアップ型バイオナノプロセスとトップダウン型半導体プロセスの融合により，新規半導体デバイスを作製するという最終目標を達成し，融合領域での研究指針の一つを示すことができた．また，提案した新規光電子デバイスでは，まだまだ解決すべき課題は多いが，金ナノ粒子をプラズモンアンテナ兼バイオセンシング部として利用するという可能性を示すことができた．将来，本研究の成果や得られた知見が，LSIやバイオセンサーを半導体チップ上に集積した超小型バイオセンサーチップの実用化に導き，人々の暮らしの助けと半導体産業のさらなる発展の礎となることを期待する．

謝辞

本研究を遂行するにあたり，その機会を与えていただき，懇切なるご指導，ご鞭撻を賜りました大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 渡部平司教授に深甚なる謝意を表します．また，本論文をまとめるにあたり，有益なご指導を賜りました大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 伊東一良教授，兼松泰男教授に心より謝意を表します．

本研究の日々の遂行ならびに本論文をまとめるにあたり，研究会などにおいて有益なご助言，ご討論を頂きました大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 志村考功准教授，細井卓治助教に心より厚く御礼申し上げます．また，生体超分子の吸着挙動について議論するにあたり，貴重な御時間の中ご指導頂きました大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 福田めぐみ特任助教(現 東京農工大学 研究員)に深く感謝いたします．また，プラズモニクスに関する深い知識をご教授頂いた大阪大学大学院工学研究科 精密科学・応用物理学専攻 是津信行助教(現 名古屋大学准教授)，並びに，電磁場解析で多大なご協力を頂いた大阪大学大学院工学研究科 精密科学・応用物理学専攻 中野元博准教授，押鐘寧助教に感謝いたします．また，タンパク質溶液の提供に始まり，数々の議論を重ね，共同で研究を推進して頂いた奈良先端科学技術大学大学院 鄭彬特任助教，浦岡行治教授，山下一郎教授に御礼を申し上げます．さらに事務的な面でご支援を頂いた須賀真理子秘書，安達恵利子秘書に感謝いたします．

本研究期間中，独立行政法人 日本学術振興会 特別研究員（DC1）として経済的な援助を受け，研究に集中することができました．ここに感謝いたします．

数々の助言を頂いた渡部研究室の諸先輩方に感謝いたします．特に，研究を遂行するにあたり，実験補助員として多大なご協力を頂いた孕石晶子氏，そして，同じ研究グループとして苦楽を共にした福西友里恵氏，蒲健太郎氏に深く感謝いたします．その他渡部研究室の皆様と貴重な時間を共有できたことを心より感謝いたします．

最後に，本研究の遂行にあたっては，家族と友人の終始変わらぬ暖かい励ましがあったことを記し，ここに感謝の意を表します．

以上

平成 25 年 3 月
大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻
橋元　達也

研究業績

(1) 査読付き学術論文

◆本研究に関する主たる原著論文◆

[1] T. Hashimoto, K. Gamo, M. Fukuta, B. Zheng, N. Zettsu, I. Yamashita, Y. Uraoka, and H. Watanabe, “Control of selective adsorption behavior of Ti-binding ferritin on a SiO_2 substrate by atomic scale modulation of local surface charges”, Applied Physics Letters, **99** (2011) pp. 263701-1-263701-4.

[2] B. Zheng, N. Zettsu, M. Fukuta, M. Uenuma, T. Hashimoto, K. Gamo, Y. Uraoka, I. Yamashita, and H. Watanabe, “Versatile protein-based bifunctional nano-systems (encapsulation and directed assembly): Selective nanoscale positioning of gold nanoparticle-viral protein hybrids”, Chemical Physics Letters, **506** (2011) pp. 76-80.

[3] T. Hashimoto, N. Zettsu, B. Zheng, M. Fukuta, I. Yamashita, Y. Uraoka, and H. Watanabe, “Practical protein removal using atmospheric-pressure helium plasma for densely packed gold nanoparticle arrays assembled by ferritin-based encapsulation/transport system”, Applied Physics Letters, **101** (2012) pp. 073702-1-073702-5.

[4] T. Hashimoto, Y. Fukunishi, B. Zheng, Y. Uraoka, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, “Electrical detection of surface plasmon resonance phenomena by a photoelectronic device integrated with gold nanoparticle plasmon antenna”, Applied Physics Letters (in press).

◆その他の研究論文◆

[1] T. Hashimoto, C. Yoshimoto, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, “Fabrication of Local Ge-on-Insulator Structures by Lateral Liquid-Phase Epitaxy: Effect of Controlling Interface Energy between Ge and Insulators on Lateral Epitaxial Growth”, Applied Physics Express, **2** (2009) pp. 066502-1-066502-3.

(2) 国際会議における発表

◆口頭発表・査読あり◆

[1] T. Hashimoto, N. Zettsu, B. Zheng, M. Fukuta, K. Gamo, I. Yamashita, Y. Uraoka, and H. Watanabe, "Ferritin protein-base versatile encapsulation/transport system for selective nanoscale positioning targeted plasmonic Au nanoparticles", Program and Exhibit Guide of 2010 MRS fall meeting, pp. 138.

[2] T. Hashimoto, B. Zheng, M. Fukuta, N. Zettsu, K. Gamo, Y. Fukunishi, I. Yamashita, Y. Uraoka, and H. Watanabe, "Plasmonic propert of high-density gold nanoparticle monolayer arranged using ferritin-base encapsulation/transport system", Extended Abstract of Fourth International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2011, pp.64-65.

[3] T. Hashimoto, Y. Fukunishi, B. Zheng, Y. Uraoka, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Fabrication and Evaluation of Photoelectronic Devices Integrated with Gold Nanoparticle Plasmon Antenna", Extended Abstract of Fifth International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2012, pp.23-33.

◆ポスター発表・査読あり◆

[1] T. Hashimoto, C. Yoshimoto, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Fabrication of Local Ge-on-Insulator Structures using Liquid Phase Lateral Epitaxy", International Meeting for Future of Electronic Device, Kansai, 2008, SA-4.

[2] T. Hashimoto, C. Yoshimoto, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Lateral Liquid-Phase Epitaxy of Single-Crystal Germanium Wires on La_2O_3 Dielectrics", Extended Abstracts of First International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2009, pp. 150-151.

[3] T. Hashimoto, K. Gamo, M. Fukuta, N. Zettsu, N. Okamoto, I. Yamashita, Y. Uraoka, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Selective adsorption of Ti-binding ferritin on thin Ti film with various oxidation treatments", Extended Abstracts of Second International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2009, pp. 86-87.

[4] T. Hashimoto, C. Yoshimoto, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Fabrication of Single-Crystal Local Germanium-on Insulator Structures by Lateral Liquid-Phase Epitaxy", Program and Exhibit Guide of 2009 MRS fall meeting, pp. 256.

[5] T. Hashimoto, K. Gamo, M. Fukuta, N. Zettsu, N. Okamoto, I. Yamashita, Y. Uraoka, T. Hosoi, T. Shimura, and H. Watanabe, "Selective Transportation of Gold Nanoparticles Encapsulated with

TFG Subunit Dimers and Their Plasmonic Characteristics", Extended Abstracts of Third International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2010, pp. 118-119.

[6] T. Hashimoto, N. Zettsu, B. Zheng, M. Fukuta, K. Gamo, I. Yamashita, Y. Uraoka, and H. Watanabe, "Selective assembly of close-packed gold nanoparticle arrays on substrate by ferritin-base encapsulation system and their plasmonic properties", Abstracts of The 5th International Conference on Surface Plasmon Photonics, 2011, TuP-76.

(3) 国内学会・シンポジウム等における発表

◆口頭発表・査読あり◆

[1] 橋元達也, 吉本千秋, 細井卓治, 志村考功, 渡部平司, "液相選択横方向エピタキシャル成長による Local GOI 構造の作製", 2008 年秋季 第69回応用物理学会学術講演会予稿集 No.2, pp.744, 3p-CH-3.

[2] 橋元達也, 吉本千秋, 細井卓治, 志村考功, 渡部平司, "局所横方向エピタキシャル成長による絶縁膜上 Ge ワイヤの作製", ゲートスタック研究会 —材料・プロセス・評価の物理— (第 14 回研究会) 予稿集, 2009, pp. 97-100.

[3] 橋元達也, 吉本千秋, 細井卓治, 志村考功, 渡部平司, "液相横方向エピタキシャル成長による GOI 構造の作製 -絶縁膜材料及びサイズ依存性評価-", 2009 年春季 第 56 回応用物理学関係連合講演会予稿集 No.2, pp.870, 30a-T-11.

[4] 橋元達也, 鄭彬, 福田めぐみ, 蒲健太郎, 是津信行, 山下一郎, 浦岡行治, 渡部平司, "フェリチンタンパク質を用いた基板上への金ナノ粒子の選択配置とそのプラズモニック特性", 2010 年秋季 第 71 回応用物理学会学術講演会予稿集, 15p-E-8.

[5] 橋元達也, 鄭彬, 福田めぐみ, 蒲健太郎, 是津信行, 山下一郎, 浦岡行治, 渡部平司, "フェリチンタンパク質によるプラズモニックデバイス作製プロセスにおける大気圧 He プラズマ応用タンパク質除去技術の検討", 2011 年秋季 第 72 回応用物理学会学術講演会予稿集, 1p-V-11.

[7] 橋元達也, 福西友里恵, 鄭彬, 浦岡行治, 細井卓治, 志村考功, 渡部平司, "金ナノ粒子プラズモンアンテナを利用した光電子デバイスの提案とその実証", 2012 年秋季 第 73 回応用物理学会学術講演会予稿集, 12p-H4-15.

◆ポスター発表・査読あり◆

[1] 橋元達也, 鄭彬, 福田めぐみ, 蒲健太郎, 是津信行, 山下一郎, 浦岡行治, 渡部平司, "フェリチンタンパク質を用いた基板上への金ナノ粒子高密度選択配置とプラズモニック特性",

2010 年 第 30 回表面科学学術講演会予稿集, 4P-060S, pp. 145.

[2] 橋元達也, 鄭彬, 福田めぐみ, 蒲健太郎, 是津信行, 山下一郎, 浦岡行治, 渡部平司, “プラズモニックデバイス作製に向けたフェリチンタンパク質援用金ナノ粒子高密度選択配置技術の開発”, 2011 年春季 第 58 回応用物理学関係連合講演会予稿集, 25a-BV-16.

受賞

[1] 「第 25 回応用物理学会講演奨励賞」
2009 年秋季 第 69 回応用物理学会学術講演会.

[2] 若手研究者奨励賞「安田賞」
ゲートスタック研究会 ―材料・プロセス・評価の物理― (第 14 回研究会).

[3] “Best Poster Award”
Fifth International Symposium on Atomically Controlled Fabrication Technology, 2012.