

背面照射系プラズモニックチップを用いた高感度蛍光検出 —Ag 薄膜及び SiO₂ 薄膜の膜厚の検討—

Sensitive Fluorescence Detection with a Plasmonic Chip under the Back-Side Irradiation - Study for Ag and SiO₂ Film Thicknesses -

○中山 拓哉^{1,2}、金高 健二¹、田和 圭子^{1,2} (1. 産総研、2. 関学理工)

○Takuya Nakayama^{1,2}, Kenji Kintaka¹, Keiko Tawa^{1,2} (1.AIST, 2.Kwansei Gakuin Univ.)

E-mail: tawa-keiko@aist.go.jp

[諸言] 我々の研究室ではこれまでプラズモニックチップ(=周期構造を持つ基板を金属薄膜でコーティングしたチップ)を用いた格子結合型表面プラズモン励起増強蛍光(GC-SPF)法をイムノセンサーに応用し、高感度なマーカー検出を行ってきた⁽¹⁾。正面照射系での蛍光増強度を最大にする膜構造として、Ag 膜厚は 150nm 以上、表面粗さ Ra は 4nm 以下、格子凸部のスローブ斜度は 17.5°、SiO₂ 膜厚 30-40nm と報告し⁽²⁾、背面照射系での膜構造として Ag 膜厚 60nm がよいと報告した⁽³⁾(Fig.1)。本研究では、背面照射系での最適な SiO₂ 膜厚を求めるために、Ag 膜厚と SiO₂ 膜厚を変化させたチップを作製し、ビオチン-アビジン検出の較正曲線を作って検出感度を比較した。

[実験] ピッチ 500nm の一次元周期構造を光ナノインプリント法により作製し、これに rf スパッタ法で Ag と SiO₂ を成膜して、プラズモニックチップとした。SiO₂ 膜厚の検討では Ag 膜厚を 60nm とし、SiO₂ 膜厚は 12 ~ 116nm で各種作製した。作製したチップ表面を (3-Aminopropyl)triethoxysilane (APTES)でアミノ化し、NHS-PEG-Biotin を修飾した。これらのチップで反射光強度測定を行い、共鳴角を決定した。その後 Cy5 で蛍光標識された Streptavidin (Cy5-SA)を 10nM に濃度調製し、プラズモニックチップ上に貼り付けたカバーガラスとの隙間に注入し、リン酸緩衝溶液(PBS)で洗浄した。He-Ne レーザー光の入射角を共鳴角で固定した場合と共鳴角外の角度で固定した場合で、それぞれ検出角を走査して蛍光強度を計測した。検出感度の検討においては 3 種類のチップ (Ag 膜厚 39nm/SiO₂ 膜厚 23nm、Ag 膜厚 59nm/SiO₂ 膜厚 23nm、Ag 膜厚 57nm/SiO₂ 膜厚 46nm) でマーカー濃度に対する較正曲線を作成した。

[結果・考察] Fig.1 が示す通り、Ag 膜厚 40~60nm の間で大きな蛍光強度が得られたので Fig.2 に示すように Ag 膜厚 39nm と 59nm のチップ(SiO₂ 膜厚 23nm)における Cy5-SA 濃度に対する較正曲線を比べた。高感度検出及び蛍光退色を抑制することから Ag 膜厚 60nm がより良いことがわかった。次に、SiO₂ 膜厚を変化させたときの蛍光強度の結果を Fig.3 に示す。SiO₂ 膜厚が 46nm のとき、最大の蛍光強度が得られた。そこで Ag 膜厚 57nm /SiO₂ 膜厚 46nm のチップを作製して較正曲線を作成し、Ag 膜厚 59nm / SiO₂ 膜厚 23nm の結果と比べた。当日は背面照射系で高感度マーカー検出に最適な SiO₂ 膜厚に関して詳細に議論する。

[謝辞] 光硬化性樹脂をご提供下さった東洋合成工業株式会社に感謝します。

[References]

- (1) K.Tawa, T.Hattori, M.Umetsu, I.Kumagai, *Analytical Chemistry* **83** (2011) 5944.
- (2) 中山, 金高, 田和, 第 74 回応用物理学会秋季学術講演会, (2013) 12-160.
- (3) 中山, 金高, 田和, 第 75 回応用物理学会秋季学術講演会, (2014)12-488.

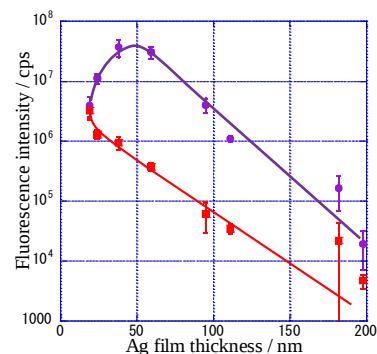


Fig1. The plots of the fluorescence peak values against the Ag-film thickness. Purple and red plots correspond to the fluorescence intensities excited at resonance angle and off-resonance angle, respectively.

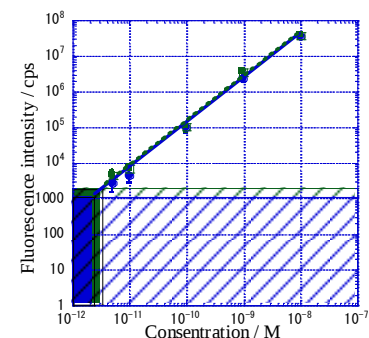


Fig2. Calibration curves for Cy5-SA. Blue solid line and green broken line correspond to Ag59nm and Ag39nm, respectively.

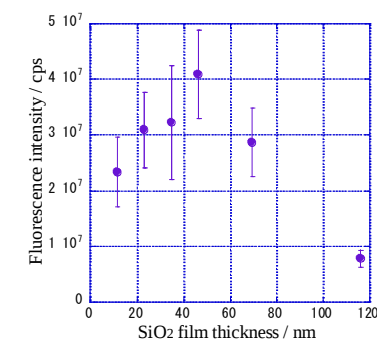


Fig3. The plots of the fluorescence peak values against the SiO₂-film thickness.