

顕微鏡の照射角制御によって最適化されたプラズモニックチップ上のナノ粒子の蛍光増強度

Improvement of the fluorescence enhancement factor on the plasmonic chip by the control of the illumination angle at aperture stop of a microscope

関西学院大¹, 産総研² 泉 章太¹, 當麻 真奈¹, 細川 千絵², [○] 田和 圭子^{1,2}

Graduate school of Science and Technology, Kwansei Gakuin Univ.¹, Biomedical Research Institute, AIST²,

Shota Izumi¹, Mana Toma¹, Chie Hosokawa², [○]Keiko Tawa^{1,2}

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

これまで我々のグループでは、金属薄膜表面の周期構造 (=プラズモニックチップ) 上に生成する格子結合型表面プラズモン励起増強蛍光 (GC-SPF) を用いた高感度なバイオセンシングや細胞の蛍光イメージングに取り組んできた。前回の春季学術講演会では、Bull's Eye 構造 (Fig.1) と呼ばれる同心円状周期構造のプラズモニックチップを用い、蛍光標識ナノ粒子を蛍光顕微鏡で観察した結果を報告した。顕微鏡下の Bull's Eye 構造では、対物レンズによる照明において、多様な入射角を含む照射光を効率的に利用することができ、Bull's Eye 構造の有効性を示すことができた。本研究では、開口絞りにピンホールを導入し照射角の制御を行うことで、プラズモニックチップ上におかれたナノ粒子の蛍光増強度の向上を検討した。

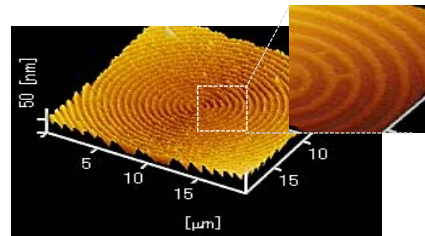


Fig.1 AFM image of a Bull's eye-plasmonic chip and its enlarged view.

3種の異なるピッチ (400 nm, 480 nm, 600 nm) をもつ Bull's Eye 構造をナノインプリント法によりカバーガラス上に調製した。rf スパッター法を用いてこれらに金属薄膜を Ti, Ag, Ti, SiO₂ の順に成膜した。Ag の膜厚は 100~150 nm であった。表面を(3-Aminopropyl) triethoxysilane で処理し、蛍光標識ナノ粒子の正立落射蛍光顕微鏡観察を行った。試料のナノ粒子は、直径 200 nm と 20 nm の2種類のポリスチレン (PS) ビーズで、両方とも表面は-COOH で修飾され、最大励起波長 λ_m は 660 nm であった。蛍光観察は光源にハロゲンランプと水銀ランプ、検出器に EM-CCD カメラが装備された正立蛍光顕微鏡を用いた。対物レンズは 10 倍 (NA= 0.30 : 照射角= 0~17°) と 100 倍 (NA= 0.95 : 照射角= 0~71°) を使用し、瞳径を変える 5 種類のピンホール ($\phi = 0 - 0.5$ mm, 0 - 1.0 mm, 0.5 - 1.5 mm, 1.0 - 2.0 mm, 1.5 - 2.5 mm) を開口絞りに挿入して蛍光像を観察した。

プラズモニックチップ上に、直径 200 nm の PS ビーズを 5×10^{13} microspheres / mL の濃度でチャージし、単一ナノ粒子が観察できる密度で PS ビーズを固定化した。各ピンホールを挿入し、100 倍の対物レンズで単一ナノ粒子を観察した。蛍光増強度を比較した結果、0 - 1.0 mm のピンホールの場合に、最も大きな蛍光増強度が得られた (Fig.2)。

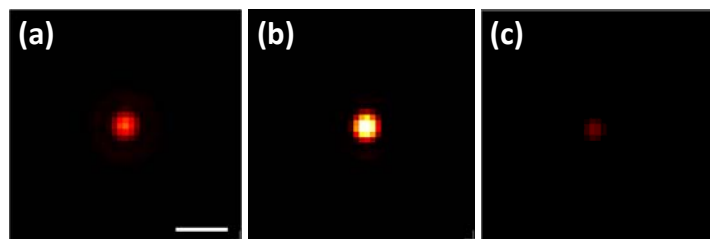


Fig.2 Fluorescence images of the single PS bead (a) without a pinhole, with a pinhole of (b) $\phi = 0-1.0$ mm, and (c) $\phi = 1.5-2.5$ mm. Bar corresponds to 15 μ m.

[謝辞] 光硬化性樹脂をご提供いただいた東洋合成工業に感謝いたします。本研究は JSPS 科研費 JP16H02092 の助成を受けたものです。