

プラズモニックチップを用いた蛍光顕微鏡イメージングにおける プラズモンモードと蛍光増強の関係

Relationship between Plasmon Mode and Fluorescence Enhancement in the Fluorescence Microscopic Imaging with a Plasmonic Chip

関西学院大理工¹, [○](M1) 千田 雛子¹, 田和 圭子¹

Kwansei Univ.¹, [○]Hinako Chida¹, Keiko Tawa¹

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

我々のグループでは、波長サイズの周期構造を持つ金属薄膜で覆われたプラズモニックチップ上に生成される格子結合型表面プラズモン励起増強蛍光(GC-SPF)を用いて細胞の増強蛍光イメージングを行ってきた¹⁾。しかしながら、顕微鏡下で得られた蛍光像の増強蛍光をプラズモンモードに帰属していなかったため、本研究ではまず、プラズモニックチップの反射スペクトルで示された共鳴波長を理論から導かれるプラズモンモードに帰属した。そして、数種類の励起波長を用いてプラズモンモードの有無による蛍光物質の蛍光増強度を比較し、それらの励起増強効果と発光増強効果について報告する。

蛍光像は、ハロゲンランプと EM-CCD カメラ(Luca-r, Andor)、イメージとスペクトルの切替が可能な分光器を搭載した正立落射顕微鏡によって撮影され、2x 対物レンズ (NA0.06)を用いた。励起フィルターに波長 425-445 nm(CFP)、460-480 nm(GFP)、510-560 nm(Cy3)を用い、分光器を用いた蛍光スペクトルの測定と、670-710 nm(Cy5)発光フィルターを用いた蛍光像の測定を行った。蛍光物質は、FluoSpheresTM, carboxylate-modified microspheres, yellow-green fluorescent [YG] ($\phi = 20$ nm)などを使用した。プラズモニックチップはピッチ 480 nm の一次元周期構造 (1D)パターンのレプリカをナノインプリント法によって作製し、rf スパッター法により膜厚 40 nm の Ag と 20 nm の SiO₂ を成膜した。プラズモニックチップ表面は (3-Aminopropyl) triethoxysilane で修飾した。

YG 蛍光像での格子構造のない金属面と比べた蛍光増強は、CFP, Cy3 励起の場合、どちらも 3.5 倍、GFP 励起では 4 倍となった (Fig.1 (a)-(c))。反射スペクトル測定では、波長 460 nm でプラズモニック樹脂界面(裏面)のプラズモンモードが生成されることが示されたが、この励起増強効果のため、GFP 励起では他の励起波長と比べて蛍光増強度が大きいと考えられた。また Fig.1(d)の蛍光増強度スペクトルでは、Cy5 発光フィルターの波長領域に水界面 (表面) のプラズモンモードによる発光増強効果が見られた。当日は蛍光物質に依存した蛍光増強度の違いについても報告する。

[謝辞]光硬化性樹脂をご提供頂いた東洋合成工業に深く感謝いたします。

1)K. Tawa, et al., ACS Appl. Mater. Interfaces, 8, 29893 (2016).

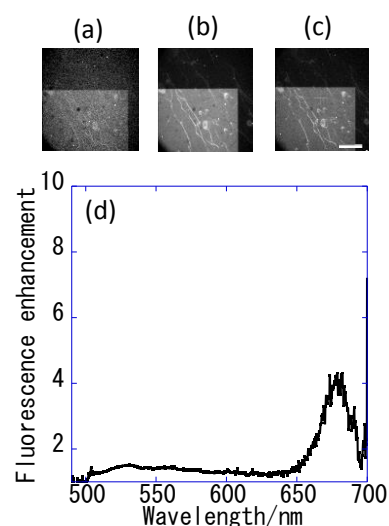


Fig.1 Enhanced fluorescence images for (a)CFP, (b)GFP and (c)Cy3 excitation filters, and (d) a fluorescence enhancement spectra of YG measured under the epi-fluorescence micro-spectroscopic system with CFP excitation filter. Bar corresponds to 100 μ m.