

蛍光顕微鏡による Bull's eye 型プラズモニックチップ上の ナノ粒子の蛍光増強度評価

Evaluation of Fluorescence Enhancement of Nanoparticles on the Bull's Eye-type Plasmonic Chip by Fluorescence Microscopy

関西学院大理工¹ °神田 舞衣¹, 藤本 絵里¹, 田和 圭子¹

Kwansei Gakuin Univ.¹, °Mai Kanda¹, Eri Fujimoto¹, Keiko Tawa¹

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

プラズモニックチップは波長サイズの周期構造を持つ金属薄膜で被覆された基板であり、格子結合型表面プラズモン共鳴で形成される増強電場によって、チップ上の蛍光分子の蛍光像はガラス基板上より明るくなる。同心円で構成され、その中心を通る断面が周期構造となる Bull's eye 構造 (Fig.1) のプラズモニックチップでは、顕微鏡下において対物レンズからの全方位角成分をもつ照明光が、効率よくプラズモンと結合し増強電場を形成することができる。当研究室では、この Bull's eye 型プラズモニックチップ上で高感度な細胞やナノ粒子の蛍光像が得られることを示してきた^{1), 2)}。本研究では、落射と透過の2つの光学系を用いて、プラズモニックチップ上の蛍光単一ナノ粒子を蛍光顕微鏡で観察し、Bull's eye 構造の位置に依存した蛍光強度を評価した。

カバーガラス上に光ナノインプリント法を用いてピッチ 480nm で、 $\phi 20 \mu\text{m}$ の Bull's eye パターンが $5 \mu\text{m}$ 間隔で配列したレプリカを調製した。それを RF スパッタ法を用いて膜厚 60nm の Ag と 20nm の SiO₂ で被覆し、プラズモニックチップとした。このチップ表面をアミノ化した後、蛍光ナノ粒子 (dark red, $\phi=200\text{nm}$, Ex/Em=660/680nm, Thermo Fisher Scientific) を固定して、水界面で落射光学系と透過光学系による蛍光顕微鏡観察を行った。検出器に EMCCD カメラ、光源にハロゲンランプ、Cy5 フィルターと 100 倍対物レンズを搭載した正立顕微鏡を用いた。透過光学系ではコンデンサー上に 632.8nm の干渉フィルターをセットした。観察した蛍光ナノ粒子の輝点を Bull's eye パターンの中心からの距離ごとに蛍光強度を評価した。

落射光学系では一つの Bull's eye 構造パターン内のどの位置でも粒子の蛍光強度は変わらなかった。一方、透過光学系では Bull's eye 構造の中心に近いほど蛍光増強が見られた。パターン中心ではフラットな金属面上に固定された粒子と比べて 8 倍の増強度が示された (Fig.2)。また、およそ 1mm 角にわたる Bull's eye パターンのアレイの中で、中央部で観察されるパターン内のナノ粒子の蛍光強度が 4 隅のパターン内と比べて大きくなることも分かった。これはパターン間をプラズモン伝搬が起こり、電場増強するためと考えられる。

References 1) K. Tawa, S. Izumi, C. Sasakawa, C. Hosokawa, M. Toma, *Opt. Express*, **25** 10622 (2017).

2) S. Izumi, N. Hayashi, S. Yamamura, M. Toma, and K. Tawa, *Sensors*, **17**, 2942 (2017).



Fig.1. AFM image of a Bull's eye pattern.

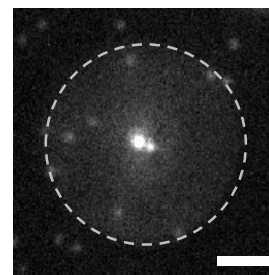


Fig.2. Fluorescence image of nanoparticles in the Bull's eye pattern with fluorescence microscope under transmitted light illumination. The circle drawn by white broken line shows a pattern edge. Scale bar corresponds to $50 \mu\text{m}$.