

## 金ナノ粒子を用いるセンサーの開発

長岡 勉\*

### 1. はじめに

最近金属ナノ粒子の応用に関する研究が盛んになっている[1]。金のナノ粒子に関する最初の科学研究はファラデーが最初であるとされている[2]。従って金属のナノ粒子に関する基礎的な研究にはかなりの歴史があることになるが、実用的な研究が盛んになってきたのは1990年以降のことである。本稿ではナノ粒子を用いた著者らの試み、特に金ナノ粒子を利用する表面配列技術およびその配列の化学センサーへの応用について述べる。

金属ナノ粒子に関する学術論文および特許の件数は2000年頃を境に急激な増加傾向にあり、分析化学に限ってもほぼ同時期から新しい手法の報告が増えている。この中でも、金ナノ粒子は高い発色性、低い毒性などの特徴を有するので、これを利用した応用技術の報告がバイオ分析を中心に増えている。ナノ粒子、特に金微粒子は視認性が高く、例えば40nm粒子の場合モル吸光係数は約 $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ と報告されている。フルオレッセインの吸光係数が約 $9.2 \times 10^4$  (エタノール中483nm)であるので、単純比較では実に20,000倍の増感となる。また金属ナノ粒子はイオウと親和性が高く、従ってチオール等を足場として表面修飾を容易に行うことができる。すなわち、チオールに分子認識機能を有する分子を結合しておけば、分子認識と検出を同時に備えたセンサー粒子を容易に作製することができる。この特徴を生かして、様々な機

能を有するセンサーの開発が行われている。

ナノ粒子の他の特徴として凝集による変色があげられる。ナノ粒子は溶液中では一般に電荷を持っており、金ナノ粒子の場合には負に帯電していることが多い。この負電荷により金コロイドは溶液中で安定に分散しているが、表面状態の化学的变化により凝集が生ずることがある。この凝集が起ると、金ナノ粒子は赤から青へと目視できるほどの色調変化を起こす。最近、DNAのハイブリッド化に伴う凝集を目視で確認できる手法が報告され、このような研究をきっかけとして金ナノ粒子を用いる分析法が特に注目されるようになった[3]。ナノ粒子の持つ特異性は、分光学にも応用されている。表面増強ラマン分光法は金属基板上に吸着した物質の観測に利用されてきたが、最近金属ナノ粒子上でも測定できることが分かり、1分子計測法としての展開も可能となっている。また、表面プラズモン共鳴への応用も盛んに研究が行われている。分光学以外でも、ナノ粒子結合によるセンサー膜の質量増大は水晶振動子マイクロバランスの感度増幅にも応用できる。

この様にナノ粒子の持つ性質を巧みに利用し、高度な分析手法としての展開が1990年代半ばからバイオ分析を中心に報告されている。分光学的な研究の他にもナノ粒子の電気的性質を利用する研究も盛んになっている。その一例として、本稿では2次元ナノ粒子集合膜のセンサーへの応用を解説する。この膜では導電性の測定

---

\*大阪府立大学産学官連携機構先端科学イノベーションセンター 教授

第208回京都化学者クラブ例会 (平成19年10月6日) 講演

のみでDNAなどの検出が可能となり、蛍光検出操作が不要になる。

## 2. 研究の始まり

著者らは以前導電性ポリマーのコロイドに関する分析化学的研究を行っていたが、その延長として金コロイドの利用に関する研究を始めた。これは2003年頃であったと記憶しているが、特に明確な目的もないまま学生に金コロイドとチオールとの相互作用についての検討を依頼した。そこで彼はビーカーに金コロイドとチオールをいれ、スターラで攪拌していた。しかし、見かけ上、何の変化も溶液には起こらず「実験は失敗です。」と直接的な言葉で報告に来た。「ただ、スターラが金色になりました。」と付け加えてくれたので、実験室へ行ってみると確かにテフロンスターラバーが金ピカになっていた。そのとき、これはプラスチックの金属メッキに使用できると直感した。

私はそれまで20年近く分析化学の研究を行っており、メッキには何の興味もなかったし、そのような技術がさして学問的に重要であるとも思っていなかった。ただし、プラスチックへのメッキは無電解手法に基づく多段階かつ環境負荷の高い方法であることは知っていたので、こ

のナノ粒子メッキが実現すれば今までのメッキの概念を根本から変える画期的な手法になると考えた。近年、金属メッキは電子材料への用途拡大が進み、微細配線や部品の接続といった分野で現代の産業を支えるもっとも重要な基幹技術の一つとなっている。この部分をナノ粒子によるコーティング技術に変えることができれば、社会的な影響はかなり大きい。

## 3. 金ナノ粒子を用いる表面金属化技術

我々の開発したナノ粒子コーティング技術をここで簡単に紹介する[4]。まず直径50nm程度の金コロイド分散液を定法に従い合成する。このコロイドとアルカンチオール、それに試料プラスチックの細片をビーカーに入れて攪拌する。攪拌を続けているとプラスチックの表面が金色に変化するので、これを取り出し水洗して終了する。このように本方法は既存の無電解メッキ法に比べて極めて簡単にプラスチック表面の金属化を達成することができる。表面金属化のメカニズムであるが、現在のところ以下のように考えている(図1)。(1)金ナノ粒子をチオールとともに攪拌するとナノ粒子表面にチオールのイオウ末端は化学吸着する。(2)一方、チオールの他端は疎水的でありプラスチック表面に結

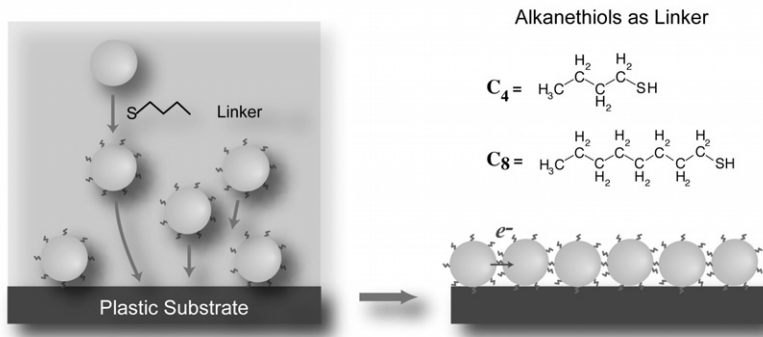


図1 金属ナノ粒子を用いるプラスチック表面金属化のモデル

合する。実際、ポリスチレンを用いたとき、アルカンチオールによる表面のエッチングが観測された。このような2つの過程が同時に進行することにより金ナノ粒子がプラスチック表面に結合するものと考えられる。ポリスチレン基板への金ナノ粒子の吸着の様子を図2に示す。このように本技術では従来のめっき技術と異なり、ナノ粒子がプラスチック表面に密に並んでいる様子が分かる。

この方法で興味深いことはリンカーとして用いたアルカンチオールの分子長により金被膜の電気抵抗が変化することである。C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>SHのように長いアルカンチオールを用いたときには被膜はほとんど電気を通さなかったが、C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>SHの様に短いチオールの場合には金属金と同程度の導電性を示した(図3)。これは金属粒子が基板上で孤立した形で存在しており、粒子の間隔が表面を保護しているチオール層の長さ依存していることを示している。したがって、長いチオールの場合、粒子間隔が広くて電子移動に対する障害が大きいことを示している。この

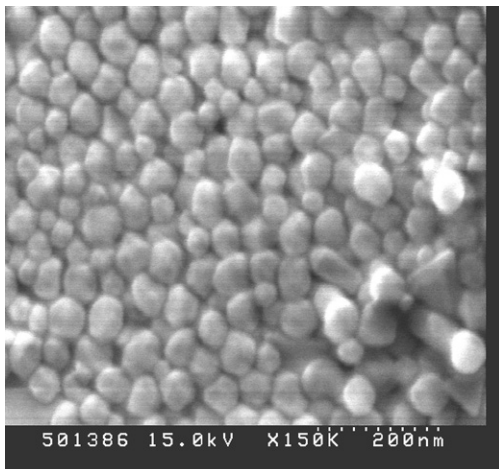


図2 ポリスチレン基板上に固定した金ナノ粒子のSEM像：リンカー、ブタンチオール；粒子系 $46 \pm 25\text{nm}$ 。

ようなポテンシャル障壁の場合、抵抗率の対数は分子鎖長に比例することが知られている。

#### 4. ナノ粒子配列を利用するDNAセンサーの開発

このように金属被膜の導電性が粒子間の障壁によることが示されたので、逆にこの障壁が何らかの化学的理由で変化するならば、センサーとしての応用が期待できる。ここで私はまた分析化学に戻ってきたことになる。粒子間障壁を変化させるとは化学的にはレセプターを粒子間に配置するという事に一致する。問題はこの考えを実現するためのレセプターとして何が一番効果的であるかということであったが、その当時DNAの分析が華やかな頃であったし、また、分子導電性ということからもDNAは導電性を示す分子であるとの観測が光化学の研究を中心として多く提出されていた。実際にはDNAの導電性は、小さな電位差の場合、他アルカン分子などと大差ないことが走査型顕微鏡などのデータから示されたが、いずれにしてもDNAは多少とも分子導電性を有し、また、1本鎖

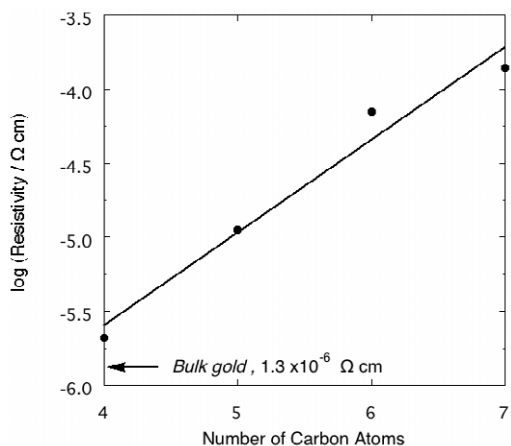


図3 ポリスチレン上に作製した金ナノ粒子膜の抵抗に及ぼすリンカーの分子長の効果

DNAよりも2本鎖DNAの方がより電気を通し易いことは容易に予想できた。

そこで今度はデカンジチオールをリンカーとして、ガラス基板上に金ナノ粒子の2次元配列を作製した。実験ではガラス基板上に作製された白金楕形電極（おおよそ2 mm 角）を用い、これを図4に示すような手順で配列を作製した。まず楕形電極基板をデカンジチオール溶液に浸漬しチオールを白金上に修飾する(b)。次に電極を直径80nm程度の金コロイド分散液に浸し、白金上のチオールを足場として金ナノ粒子を電極に取り付ける(c)。この電極をもう一度デカンジチオールチオール中に浸漬しナノ粒子をチオールで修飾する(d)。その後さらにコロイド分散液に浸漬してナノ粒子層をガラス基板上にも配列させていく(e-g)。このチオールとコロ

イド分散液浸漬のサイクルを繰り返して導電性のある配列膜が得られるまで繰り返す。このようにして作製した膜はおおよそ数百Ωの抵抗を示した。この電気抵抗が存在するということはナノ粒子が孤立して存在しているということの証拠であり、我々はこの孤立した金ナノ粒子をナノギャップ電極と呼んでいる。

このようにして作製したナノギャップ電極上にレセプターである1本鎖DNAを修飾する(図5)。このDNAレセプターはプローブと呼ばれるが、これは一端をチオール化したDNAで、金ナノ粒子上に修飾される。ここで用いたプローブDNAは12塩基長であるので、ナノギャップ上に横たわるに不足無い長さである。ここでセンサーの作製は終了である。このセンサーを用いてDNAの配列に関する分析を電気伝導度

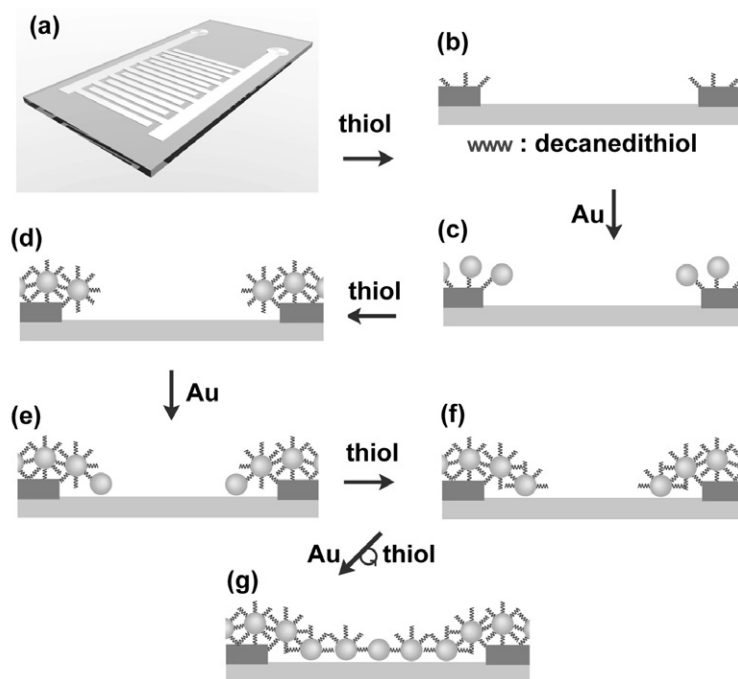


図4 金ナノ粒子配列の作製手順：(a)楕形電極の模式図（白金電極間は約5 μm）、(b)–(g)電極のデカンジチオール溶液と金ナノ粒子分散液への交互浸漬による配列作製手順

から知ることができた。まず作製したDNAナノギャップ電極に適切なブランク溶液（バッファ）を添加してベース抵抗を測定する。測定は市販の汎用デジタルマルチメーターで十分である。ベースラインの安定が確認された後、試料の12塩基DNAをセンサー上に滴下する。この時の変化の様子を図5に示す[5]。図からわかるように試料DNAの滴下直後に抵抗の低下が起こり、1分以内に抵抗は安定した。そこで配列の異なるDNA試料について検討を行ったところ、プローブ塩基に対してミスマッチの存在するDNAでは抵抗の変化は小さくなった。特にこのセンサーでは一塩基のミスマッチに対する応答が顕著に現れた。このような1塩基特異的な応答は遺伝子診断などの用途に有用である。

この方法の定量下限は25pmol量のDNAであったが、その後さらに微小な副粒子を併用することで5fmol程度にまで向上し、蛍光法などと比較しても遜色のない技術になった[6]。今後DNA以外の分子への適用を進め、より汎

用的なセンサー技術に成長させることを目標としている。

## 文 献

- [1] 長岡勉, 椎木弘, 床波志保: 分析化学, **56**, 201 (2007).
- [2] M. Faraday: *Philos. Trans. R. Soc., London*, **147**, 145 (1857).
- [3] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff: *Nature*, **382** (1966).
- [4] H. Shiigi, Y. Yamamoto, H. Yakabe, S. Tokonami, T. Nagaoka: *Chem. Commun.*, 1038 (2003).
- [5] H. Shiigi, S. Tokonami, H. Yakabe, T. Nagaoka: *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 3280 (2005).
- [6] 床波志保, 西出幸晃, 椎木弘, 長岡勉: 分析化学, **55**, 919 (2006).

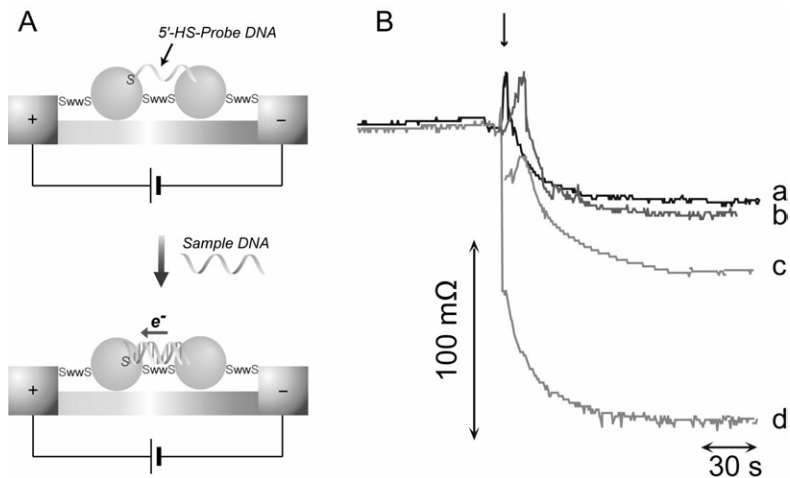


図5 金ナノ粒子配列によるDNAの分析：(A)分析手順，(B)配列の抵抗変化（矢印の時点でDNA試料を添加） プローブDNAに対するミスマッチ塩基数；(a)11, (b)4, (c)1, (d)0