



# 機能性シリコンナノ結晶のバイオ応用に関する研究

井上, 飛鳥

---

(Degree)

博士 (工学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Date of Publication)

2020-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7508号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007508>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(別紙様式 3)

## 論文内容の要旨

氏 名 井上 飛鳥

専 攻 電気電子工学専攻

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

### 機能性シリコンナノ結晶のバイオ応用に関する研究

指導教員 藤井 稔

(注) 2, 000 字～4, 000 字でまとめること。

半導体量子ドットはバイオフォトリクス分野において蛍光プローブとして用いられている有機色素等の蛍光体と比べて、狭い発光線幅、広い励起波長領域、高い抗光退色性等の優れた特性を有していることから、次世代の発光体としての研究が活発に行われている。中でも、サイズを数ナノメートル程度まで微小化したシリコン(Si)結晶であるSiナノ結晶は、他の化合物半導体量子ドット(CdX, X=Se, S...)に比べて高い生体・環境親和性を有することから注目を集めている。当研究室で開発した、ホウ素(B)とリン(P)を同時にドーピングして作製されたSiナノ結晶は、表面修飾なしで高い水分散性を有し、幅広いpH範囲において安定した発光を示すことがわかっている。このSiナノ結晶は、生体の透過率が高い生体の窓の波長領域(700-1200 nm)においてサイズにより制御可能な発光を示す。また、ヒト骨芽細胞への細胞毒性に関する評価からも、毒性が低い(<0.1 mg/mL)ことが分かっている。これらに代表される特徴によってBとPを同時にドーピングして作製されたSiナノ結晶コロイド溶液は、従来の蛍光材料にとって代わる新材料になり得ると考えられている。しかし、BとPを同時にドーピングしたSiナノ結晶を実用可能な蛍光体として応用するにあたり、幾つかの課題がある。一つ目は、表面修飾プロセスの欠如である。蛍光プローブとして使用する場合、生体分子との結合が必要不可欠であるが、そのためにはSiナノ結晶表面を生体分子との結合が可能な官能基(アミノ基、カルボキシル基等)で修飾する必要がある。本研究の目的の一つは、BとPを同時にドーピングしたSiナノ結晶の表面修飾プロセスを開発することである。他の課題として、Siナノ結晶は間接遷移型半導体であるバルクSiのエネルギーバンド構造を継承しているため、吸収断面積及び発光再結合レートが低いことが挙げられる。これを解決するために、金属ナノ構造に生じる表面プラズモン共鳴とSiナノ結晶をカップリングさせ、発光特性の改善を図った。Siナノ結晶と金属ナノ構造とのカップリングの他の応用として、銀コア/Siナノ結晶シェルを有するナノ粒子を作製し、その応用としてグラム陰性菌である大腸菌への抗菌作用を実証した。本研究の最後には、Siナノ結晶の蛍光プローブとしての優位性を実証するため、長寿命発光を利用し、生体の自家蛍光を抑制する時間分解バイオイメージングを実証した。

第一章では、ナノテクノロジーとバイオロジーの技術融合によって生まれたナノバイオテクノロジーに関して述べた後、Siナノ結晶を含む、半導体量子ドットの物性、並びにその応用例に関して記述した。また、金属ナノ構造と半導体量子ドットの複合により生じる新たな物性についても述べた。その後、本研究の目的、ならびに本論文の構成について述べた。

第二章では、Siナノ結晶の表面修飾プロセスについて述べた。Siナノ結晶の表面修飾には、試料表面に存在するSi-OHを利用するシランカップリングを用いた。生体分子との結合を念頭に、アミノ基及びチオール基での表面修飾を行った。表面修飾分子構造、及び表面修飾分子とSiナノ結晶の比率を制御し、水溶液分散性及び発光特性を評価することで、特性を損なわない表面修飾条件の最適化を行った。その結果、水溶液分散性

及び発光特性への影響を最小限に抑えた表面修飾プロセスの開発に成功した。

第三章では、Si ナノ結晶の吸収断面積増大による発光特性改善を目的とした金ナノ粒子との結合プロセスを開発し、作製した金ナノ粒子/Si ナノ結晶複合体の発光特性に関して述べた。金属ナノ構造に生じるプラズモン共鳴を用いる発光増強には、金属ナノ構造との距離が非常に重要なパラメーターとなることが既知であるため、本研究では構造の異なる3種類の金ナノ粒子/Si ナノ結晶複合体を形成し、発光特性評価を行った。複合体形成方法として、粒子間力に働く静電気力、金-チオール結合による化学結合、およびDNAハイブリダイゼーションを採用した。その結果、粒子間の静電気力により作製された複合体では、最大で1.4倍の発光増強が得られた。化学結合による複合体では、発光体と金属ナノ構造の距離が小さすぎるため、発光の消光がみられた。DNAはハイブリダイゼーションによる複合体では、粒子間の距離がDNAの鎖長(10 nm)で一意に固定化されたため、最大で4倍の発光増強が得られた。これらの結果は、Si ナノ結晶の光吸収断面積の増大による発光特性改善には、金属ナノ構造との結合が非常に有効であることを示している。

第四章では、Si ナノ結晶の吸収断面積及び発光再結合レートの同時増大による発光特性改善を目的とし、励起および発光波長領域に複数のプラズモン共鳴ピークを有する金属ナノ構造を開発、Si ナノ結晶の単層膜を金属ナノ構造上に配置し、その発光特性への影響に関して述べた。金属ナノ構造としては、ナノスフィアリソグラフィにより作製可能なAg Film Over Nanosphere (AgFON) 構造を採用した。Si ナノ結晶単層膜をAgFON構造上に形成するが、その距離をnmオーダーで高精度に制御する手法として、Layer by Layer法を用いた。作製したAgFON/Si ナノ結晶単層膜に関して、発光測定を行った結果、励起波長と発光波長がプラズモン共鳴波長と重なる場合、吸収断面積及び発光再結合レートの同時増強に起因する著しい発光増強が得られることが明らかになった。その結果、最大で約50倍の発光強度の増強を得ることに成功した。これらの結果は、Si ナノ結晶と金属ナノ構造を用いて、検出対象の有無により変化する距離を用いて変化する発光による、発光検出型バイオセンサーへの応用可能性を示唆している。

第五章では、Si ナノ結晶シェルを有する銀ナノ粒子を開発し、その抗菌剤としての応用可能性を示した。銀ナノ粒子は、抗菌作用を示すため、抗菌剤としての応用が期待されているが感光性を有するといった安定性の面での課題があった。その解決のため、Si ナノ結晶シェルで銀ナノ粒子表面を被覆し、安定性向上を図った。作製したナノ粒子に関して、溶液中及びフィルム形状での安定性及び抗菌力を、グラム陰性菌の代表例として大腸菌を用いて評価した。その結果、既存のクエン酸保護の銀ナノ粒子に比べてSi ナノ結晶シェルを有する銀ナノ粒子は高い安定性を示し、大きな抗菌作用を有することが明らかになった。また、フィルム状のナノ粒子の抗菌作用に関してナノ粒子が拡散することを仮定した自由拡散モデルを用いて解析した結果、フィルム状のナノ粒子の抗菌作用は、フィルムからナノ粒子が培地上に存在する水中を拡散することによるもの

であることがわかった。これらの結果は、共同研究として、カリフォルニア大学サンディエゴ校のMichael J. Sailor 教授のグループに滞在し、研究を行うことで得られた。

第六章では、Si ナノ結晶を実際にバイオイメージングにおける発光体として利用し、その有用性を証明した。Si ナノ結晶は、生体の自家蛍光の発光寿命に比べて非常に長い発光寿命を示すため、励起時間と発光の検出時間に遅延を設ける時間分解発光イメージングにより、イメージングのS/N比向上が実現できると考えられる。本研究では、Si ナノ結晶として、ポーラスSi ナノ粒子、ホウ素とリンを同時にドーピングして作製したSi ナノ結晶、及び表面を有機分子で表面修飾し水分散性を付与したSi ナノ結晶を用いた。実験の結果、これらのSi ナノ結晶は異なる構造、水分散性の起源及び発光特性を示すことが分かった。また、全てにおいて時間分解発光イメージング、及び従来のイメージングと比べてS/N比の向上が実現できることが分かった。これらの結果は、ホウ素とリンを同時にドーピングしたSi ナノ結晶を含め、Si ナノ結晶はその構造やドーピングの有無、発光の起源に依らず、時間分解発光イメージングにおける発光体として非常に有用であることが明らかになった。これらの結果は、共同研究として、カリフォルニア大学サンディエゴ校のMichael J. Sailor 教授のグループに滞在し、研究を行うことで得られた。

最後に、第七章で本研究のまとめを述べた。

氏名	井上 飛鳥		
論文 題目	機能性シリコンナノ結晶のバイオ応用に関する研究		
審査 委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	藤井 稔
	副 査	教授	荻野 千秋
	副 査	教授	北村 雅季
	副 査		
			印
要 旨			
<p>直径数ナノメートル程度の半導体結晶である半導体ナノ結晶は、バイオフォトニクス分野の蛍光プローブとして用いられている有機色素や蛍光タンパク質に比べて、狭い発光線幅、広い励起波長領域、高い抗光退色性等の優れた特性を有していることから、次世代の蛍光体として活発に研究が行われている。中でも、シリコンナノ結晶は、従来のカドミウムカルコゲナイドをベースとする化合物半導体ナノ結晶に比べて高い生体・環境親和性を有することから注目を集めている。本研究は、候補者が所属する研究室で開発したホウ素とリンを同時にドーピングした水分散性シリコンナノ結晶のバイオフォトニクス応用を実現するための基盤的な技術を開発するとともに、その応用分野の開拓を行うことを目的としている。</p> <p>本学位論文は七章から構成されており、第一章では、ナノテクノロジーとバイオロジーの融合により生まれたナノバイオテクノロジーの概要について述べた後、半導体ナノ結晶の基礎物性及び応用例について記述している。また、金属ナノ構造の表面プラズモン共鳴を用いた半導体ナノ結晶の発光増強に関して基礎的事項について概説している。</p> <p>第二章は、シリコンナノ結晶のバイオ応用に不可欠な表面修飾プロセスに関する研究成果をまとめている。シリコンナノ結晶を蛍光プローブとして使用する場合、それを生体分子の特定の部位にのみ選択的に結合させる必要がある。そのために、シリコンナノ結晶表面を、生体分子との結合が可能な官能基(アミノ基、チオール基、カルボキシル基等)で修飾するプロセスの開発を行った。表面修飾には、シリコンナノ結晶表面にヒドロキシル基が存在することを利用して、シランカップリング剤により行った。一般に、シリコンナノ結晶の発光特性は表面操作に非常に敏感であり、表面の化学反応により発光特性が大きく変化することが知られている。また、表面操作がナノ結晶の溶液分散性を劣化させる可能性もある。本研究では、適切なシランカップリング剤の選択と反応プロセスの最適化により、発光特性及び水分散性をほとんど損なわず、様々な官能基をシリコンナノ結晶表面に付加する技術の開発に成功した。</p> <p>第三章は、金属ナノ粒子とシリコンナノ結晶の複合ナノ粒子の形成に関する研究成果をまとめている。シリコンナノ結晶は、間接遷移型半導体であるバルクシリコン結晶のエネルギバンド構造を継承しているため、可視～近赤外領域における光吸収断面積が小さい。そのため、シリコンナノ結晶蛍光体を効率的に励起するためには紫外～青色の光を用いる必要がある。しかしながら、バイオフォトニクス分野では、自家蛍光の問題があり紫外～青色の励起光が好ましくない場合が多い。本研究では、金のナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴による増強電場中にシリコンナノ結晶を配置することにより、実効的な吸収断面積を増大させることを試みた。本研究では、構造の異なる3種類の金ナノ粒子</p>			

氏名	井上 飛鳥
<p>/シリコンナノ結晶複合体を開発した。もっともシンプルな方法である金ナノ粒子とシリコンナノ結晶を静電引力で結合させるプロセスにより作製した複合ナノ粒子において、緑色領域で約1.4倍の励起(吸収)増強を実現した。また、より再現性が高い複合ナノ粒子形成方法として、チオール基で表面修飾したシリコンナノ結晶と金ナノ粒子を金-チオール結合による結合させる技術を開発した。さらに、金ナノ粒子とシリコンナノ結晶間の距離をナノメートル以下の精度で制御する技術として、DNAはハイブリダイゼーションによる複合ナノ粒子形成技術を開発した。電子顕微鏡観察により、金ナノ粒子とシリコンナノ結晶間の距離がDNAの鎖長により規定されていることを確認した。</p> <p>第四章は、シリコンナノ結晶の発光検出型バイオセンサーへの応用を目的に、可視領域に表面プラズモン共鳴を有する金属ナノ構造上にシリコンナノ結晶を配置し、その発光特性を詳細に調べた結果をまとめている。金属ナノ構造として、複数の表面プラズモン共鳴を持つことが知られているAg Film Over Nanosphere (AgFON)構造を採用した。シリコンナノ結晶の発光特性は、金属ナノ構造からの距離に非常に敏感であるため、ナノメートル精度で距離を制御するために、金属ナノ構造上にLayer by Layer法によりポリマー層を形成した。発光特性評価の結果、金属ナノ構造の形状とシリコンナノ結晶までの距離を制御することにより、シリコンナノ結晶の励起波長と発光波長を表面プラズモン共鳴波長にチューニングすることが可能であり、励起(吸収)効率と発光再結合レートを同時に増強することが可能であることが明らかになった。特定の条件下では、約50倍の発光強度の増強が得られた。本研究の成果を用いる事により、シリコンナノ結晶発光検出型バイオセンサーの感度向上が期待できる。</p> <p>第五章は、シリコンナノ結晶と金属ナノ粒子からなる複合ナノ粒子の応用例として、銀ナノ粒子とシリコンナノ結晶の複合ナノ粒子の抗菌特性について研究を行った結果をまとめている。銀ナノ粒子は、古くから抗菌作用を有することが知られているが、感光性を有する等の安定性の面での課題がある。そこで、候補者が所属する研究室において開発した銀ナノ粒子表面をシリコンナノ結晶シェルで被覆した複合ナノ粒子について、溶液中及びフィルム形状での安定性及び抗菌力を、グラム陰性菌の代表例として大腸菌を用いて評価した。その結果、シリコンナノ結晶シェルを有する銀ナノ粒子は、従来のクエン酸保護銀ナノ粒子に比べて高い安定性を示し、溶液中のみならずフィルム形状でも大きい抗菌作用を有することが明らかになった。</p> <p>第六章は、自家蛍光と蛍光体の発光の高いコントラストが期待できるTime-gated imaging法におけるシリコンナノ結晶の有用性を検証した結果をまとめている。間接遷移型半導体であるシリコンナノ結晶は、発光寿命が数十マイクロ秒であり、これは生体分子の自家蛍光(&lt;10ナノ秒)に比べて非常に長い。励起と発光の検出に遅延を設けるTime-gated imaging法により非常に高いコントラストを実現できる可能性がある。本研究では、3種類の方法で作製したシリコンナノ結晶についてTime-gated imaging法による蛍光イメージの評価を行い、いずれの場合も高コントラストのイメージを得ることに成功した。</p> <p>第七章は、本研究で得られた成果のまとめと研究の展望について述べている。</p> <p>以上の様に、本研究は近年進歩が著しい環境親和型半導体材料であるシリコンナノ結晶に関して、バイオフォトニクス応用を念頭に置いた表面修飾技術の開発、金属ナノ構造との複合体の形成による発光特性の向上、抗菌作用等の応用展開の可能性の検証等、多方面から研究を行っており、価値ある集積となっている。提出された論文は工学研究科学学位論文評価基準を満たしており、学位申請者の井上飛鳥は、博士(工学)の学位を得る資格があると認める。</p>	