

審査の結果の要旨

氏名 アレハンドロ エルネスト ポルテラ オタノ

本論文の目的は、単一細胞に関する細胞基板相互作用のナノスケールの検出を対象とする蛍光非標識のバイオセンシング方法として、プラズモン双極子ナノアンテナから成るアレイ素子を設計・作製し、細胞センサの可能性を実証するものである。生命の最小単位である細胞の機能、分化誘導、また薬理効果を判断するうえで、生体-固体界面である細胞-細胞外基質との相互作用を、分子スケールで理解することは極めて興味深い事である。双極子機能を有するナノアンテナは、局在表面プラズモン現象により、近接場光領域の固体極表面近傍の情報を、非近接場（遠視野）条件で検出可能な手段である。本研究において、細胞と基板との間の相互作用（これは細胞の基礎的研究の分野における最新の研究対象）を明にするために双極子ナノアンテナによる信号増強およびナノスケール位置制御アレイ化技術による高空間分解能実現を実証している。新規開発したプラズモンバイオセンサと、既存の評価技術である表面増強ラマン分光（SERS）法、蛍光修飾共焦点顕微鏡等との統合・比較をすることで、いくつかの補完的な重要な結果が得られている。

本論文の構成は次の通りである。

第1章では、序論として本研究に関する全般的な一般的な定義および用語、研究分野の背景、ならびにプラズモン研究分野の最先端技術について簡単に紹介している。

第2章では、プラズモン現象を支える物理学に焦点を当て、先ず、伝搬特性、次に局所化された表面のプラズモン共鳴励起およびその主要な特性を支持する金属の光学的な性質を記している。

第3章では、本研究中で用いられた実験手法について、LSPR および本研究に沿って用いられたラマン法に基づく単一ナノ構造分光法を実行するためのシミュレーション方法ならびに光学的設定計画の説明を示している。

第4章は、双極子血漿ナノアンテナに焦点を当てる。光学的な反応の調整を可能にする構造パラメータのシミュレーションの結果が示される。本研究中に習得されたナノ製造手順の詳細な議論が要約されている。これに続いて、ナノ製造されたアンテナおよびSEMによるそれらの形態学的な変種の系統的な研究がなされ、アンテナのいくつかとそれらの高さ側面図について取得された正確なAFM画像によって補完される。ナノ製造された構造の光学的特徴付けおよび

検出性能が示される。結果が論じられる。シミュレーション・ツールによる実際のおよび理論的なアプローチを比較することで、現実のナノアンテナの現実の同調性の性質の新しい習性を発見している。バイオセンサとしての性能については、第4章の最後の節において記載している。

第5章では、プラズモンナノアンテナの細胞-細胞外相互作用評価について議論している。まずナノアンテナの生物結合および細胞を補足する能力を確認するための初期実験として以下の実験が実施された。膜組織で過剰発現させられた有望なバイオマーカーHSP70に基づく単一の循環腫瘍細胞 (CTC) の存在を検出するためにこれら一連のナノ構造の使用を評価している。次に、付着細胞を用いて膜透過性タンパク質のナノスケールの局所化された相互作用、およびcRGDペプチドを通じて細胞外の細胞基質 (ECM) を模倣する生物結合された底質を研究するためのプラズモンナノアンテナの能力を評価している。基板における細胞の結合部位のマッピングが得られ、新しい方法の概念の証拠として、この相互作用の動的モニタリングを実現しているが、この局所的な変化の起源についてより詳細な計測解析のために、他の蛍光標識付きの評価手法(免疫蛍光顕微鏡検査法、超改造顕微鏡法 (STORM)) を利用して補完的実験を行っている。最後に、双極子ナノアンテナ上で励起された場により感知された量で膜透過性のタンパク質の存在を実証するため(局所的化学種、結合状態を評価するため)にナノアンテナ隙間効果による表面増強ラマン分光法も併用している。

第6章では全体のまとめと今後の展望として、本研究成果が非修飾での細胞センサへ実現を提案するものであり、酸化物ナノワイヤ形状制御という静的足場構造制御に留まらず電気・磁気場、光場などの動的制御と細胞分化の関係解析への応用可能である事、さらにはエレクトロフォトンクス領域への応用を目指して電気特性・発光特性との融合技術の基礎となる事を示している。

以上要するに、本研究では半導体微細加工技術を駆使して10~100nmスケールのナノ電極アンテナアレイを形成し、その局在表面プラズモン現象により、蛍光分子非修飾で優れた空間分解能を有する高感度細胞センサを作製して、細胞と細胞が接着する固体極表面との相互作用を可視化すると共に、生きた細胞-細胞外基板との接着状態の逐次イメージングを実現した。これらのナノバイオフォトンクス、バイオエンジニアリング研究分野における貢献は少なくない。よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。