

1 電子フォトンカウンティングを目的とした 光化学系 I たんぱく質複合体のナノ電極への固定化

東京大学 大学院理学系研究科 山野井慶徳

Immobilization of Photosystem I Protein Complex on Nano-Sized Electrode for One Electron Photon Counting

Yoshinori Yamanoi

School of Science, The University of Tokyo

本研究の目的は光化学系 I たんぱく質複合体 (PSI) を用いた光電変換効率の高い光センサの構築である。これまでの研究では、PSI に対して電極面積がはるかに大きく、PSI 1 個の電荷分離反応を検出することが困難であった。すなわち PSI が 100% に近い効率で光電変換を起こしても、それを電気信号に変換する過程で量子収率が低下してしまうため、PSI の性能を十分に生かすことが出来なかった。1 個の PSI が電荷分離反応を起こす様子を捉えることが出来れば、光センサの性能は大きく向上する。そこで「PSI- 金ナノ粒子複合体を微小電極上に固定化し、ナノ粒子の電圧変化の観測」、「PSI- 金ナノ粒子複合体をグラフェン FET 上に固定化したデバイスの伝導性観測」2 種類の手法を用いて、1 個の PSI が発する光応答信号の観測を試みた。

The purpose of this research is to construct an optical sensor with high photoelectric conversion efficiency using PSI. In our previous studies, the electrode areas were much larger than PSI, and it was difficult to detect the charge separation reaction of one PSI. That is, even if PSI causes photoelectric conversion with an efficiency close to 100%, the quantum yield decreases in the process of converting it into an electrical signal, so that the PSI performance cannot be fully utilized. If it is possible to observe a charge separation reaction with one PSI, the performance will be greatly improved. We attempted to observe the light response signal emitted by one PSI using following methods: "PSI-gold nanoparticle composite immobilized on a microelectrode and observation of voltage change of nanoparticles" and "PSI-gold nanoparticle composite immobilized on graphene FET, and observation of conductivity on the modified graphene".

1. はじめに

近年、半導体技術の発達により高感度・高解像度を持つ光電変換素子が開発されている。例えば CCD を代表とする撮像素子の中で最小のものは 1 素子あたり 1 μm 角のサイズに達している¹⁾。しかしこれらの半導体素子は電荷再結合を防ぐための冷却システムを必要とし、低消費電力化が課題である²⁾。一方で光合成タンパク質の光電変換量子収率は室温で 100% に近いことから、これらのタンパク質の特性を最大限に生かすことが出来れば、優れたイメージセンサの開発につながると期待される。

このことを踏まえ、本研究では Figure 1 の様な微小電極と光化学系 I (PSI) を用いた光センサを構築する。ナノメートルサイズの電極に PSI と金ナノ粒子の複合体をただ 1 つだけ固定化することで、単光子を 100% 近い効率で電気信号へと変換することが目的である。粒径の小さい金ナノ粒子は aF オーダーの小さな静電容量を持つため、PSI から金ナノ粒子への単電子移動が起きるとナノ粒子の電位が大きく変化する³⁾。このことを利用すると、単光子による電荷分離反応を大きな電圧変化として捉えることが可能である。まず微小電極の作製について述べ、次に金ナノ粒子の合成について報告する。最後に PSI - ナノ粒子複合体の構築過程である、「再構成」について記す。

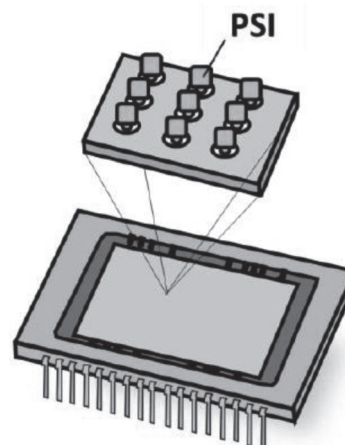


Fig. 1 Schematic illustration of an image sensor based on photosystem I (PSI) with a high photoelectric conversion efficiency.

2. 実験方法

2.1 微小電極の作製

金微小電極の構造を Figure 2 に示す。真空蒸着とフォトリソグラフィによりシリコン基板上に金配線を作製し、表面に窒化ケイ素薄膜を CVD 法によって形成したものを、松本研究室より提供していただいた。電子線 (EB) リソグラフィにより基板中央に 9 つの細孔を作製し、原子間力顕微鏡 (AFM) および走査型電子顕微鏡 (SEM) で確認する工程を行った。細孔の作製は EB リソグラフィによる以下のプロセスで調製した。まず基板表面にレジスト膜を塗布し、電子線により細孔を描画した。次に亜硝酸イソアミルによって感光部分を溶解し、露出した窒化ケイ素を反応性イオンエッチングで取り除いた。最後に *N*-メチルピロリドンでレジスト膜を取り除いた。AFM 画像と SEM 画像から、 Si_3N_4 層に直径 40 nm 程度の大きさの穴が空いていることが確認された。また、電子線の照射量 (dose 量) を徐々に増やしながら穴の空き方を調べたところ、dose 量が 5.0 以上の時に 9 つ全ての細孔が形成されることが分かった。

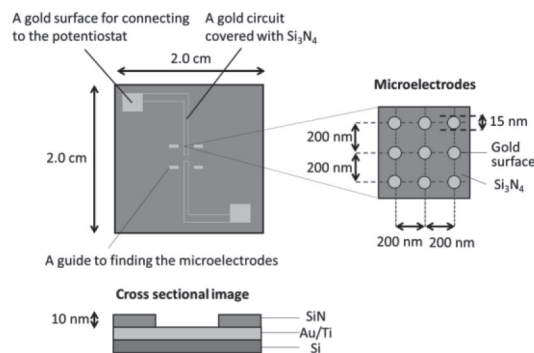


Fig. 2 Structure of the gold microelectrodes located in the center of the Si substrate.

2.2 分子ワイヤで表面修飾された金ナノ粒子の合成

表面をキノン分子で化学修飾した金ナノ粒子を文献に従って合成した⁴⁾。まず、VK1 を模倣した長鎖アルキルを持つ分子ワイヤ (NQC_{15}S)₂ (Figure 3) を合成し、黄色固体として得た。

次に金ナノ粒子の合成と分子ワイヤによる表面修飾を行った。第一工程では、Brust 法によってヘキサチオールで保護されたナノ粒子を合成した。第二工程では表面に両親媒性の配位子 ($\text{CH}_3(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{SH}$) を導入することで、ナノ粒子を両親媒性にした。第三工程では表面に分子ワイヤ (NQC_{15}S)₂ を導入し、ナノ粒子が PSI と結合出来るようにした。

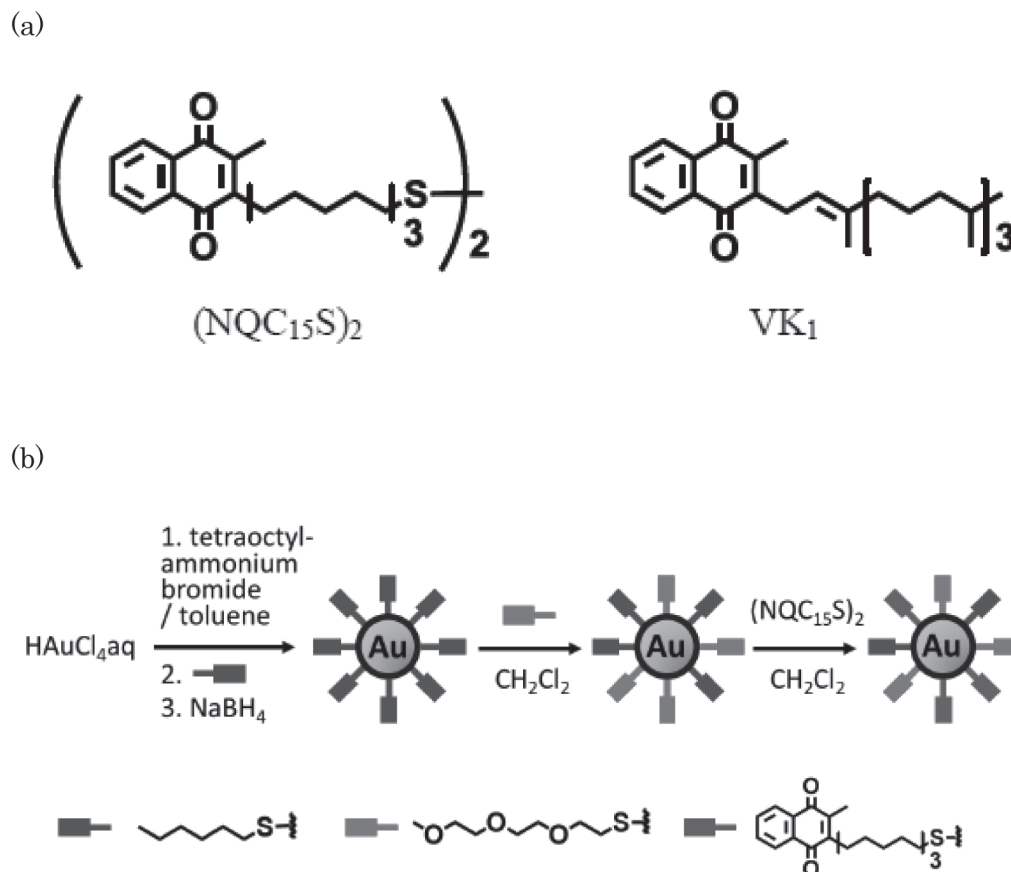


Fig. 3 (a) Chemical structures of (NQC₁₅S)₂ and VK₁. (b) Synthetic method of gold nanoparticles modified with molecular wires.

合成した金ナノ粒子を透過型電子顕微鏡(TEM)によって観察し、粒径分布を調べたところ平均粒径は 2.2 ± 0.5 nm であった。また、金ナノ粒子の ¹H NMR を測定し、分子ワイヤ数の定量を行った。¹H NMR スペクトルから、分子ワイヤ(NQC₁₅S) と両親媒性配位(CH₃(OCH₂CH₂)₃S) の比は 5% 程度と見積もることができた。

3. PSIの再構成

合成した金ナノ粒子と PSI を結合させる過程を「再構成」と呼ぶ。文献をもとに、PSI の再構成を行った⁴⁾。まず、耐熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* から単離した PSI を凍結乾燥した後 50% 水飽和エーテルで処理し、VK₁ を除去した(VK₁-free PSI)。最後に分子ワイヤで表面修飾した金ナノ粒子と VK₁-free PSI を混合することで、再構成を行った(再構成 PSI)。VK₁ 抽出と再構成は 700nm の吸収変化を測定することによって確認した。実際に再構成した PSI の割合は 20% 以上であると推測される。

4. 金ナノ電極への固定化

続いて再構成 PSI を微小電極上に固定化し、電気化学測定によって単電子移動を捉える実験を行った。P700 測定のスIGNALが得られない原因として、1. PSI とナノ粒子の非特異的吸着、2. 界面活性剤による PSI の活性低下、3. 金ナノ粒子の散乱効果の3点が挙げられる。今後これらを改善するための実験を行う方針である。

5. グラフェンFETへの金ナノ粒子とPSIの固定化

本研究に派生した実験として微小サイズのグラフェン FET 電極に PSI を固定化し、少数フォトンの検出を並行して行った。グラフェン FET 電極の構造を Figure 4 に示す。グラフェンは金で作製されたソース・ドレイン電極を架橋しており、金電極はシリコン基板の端まで伸びている。端の部分をポテンシオスタットの端子と接続することで、グラフェンの導電性測定が可能である。また1つのシリコン基板上に56セットの電極が作製されているため、導電性特性の良いグラフェンを選んで測定を行うことが出来る。

上節と同様の手法で電極上のグラフェンに金ナノ粒子を固定化し表面を 11-メルカプトウンデカン酸で修飾した後、Figure 4 で示したようなシリコンゴムプールを電極に取り付けた。

ゴムプール内に溶液を滴下し基板上でアミド縮合反応を行うことで、グラフェン表面に PSI を固定化した。

6. 光照射実験

AuNP と PSI を固定化したグラフェンの I - V 特性を、励起光照射下で測定した。まず、シリコンゴムプールを電解質で満たし、金電極の末端をポテンシオスタットと接続した。次に、グラフェンにゲート電圧をかけるために Ag/AgCl 参照電極を溶液に接触させた。最後に、上から励起光を照射したときのソース・ドレイン電流を測定した。このとき、ゲート電圧をかけることでグラフェンのフェルミエネルギーを変化させ、ドレイン電流が極小値を取る時のゲート電圧値 (Charge neutrality point, CNP) を記録した。グラフェンにキャリア注入が起きると、それを打ち消すだけのゲート電圧が必要になるため、極小値の位置が変化する。AuNP と PSI を固定化したグラフェンの I - V 特性を、励起光照射下で測定した。まず、シリコンゴムプールを電解質で満たし、金電極の末端をポテンシオスタットと接続した。次に、グラフェンにゲート電圧をかけるために Ag/AgCl 参照電極を溶液に接触させた。最後に、上から励起光を照射したときのソース・ドレイン電流を測定した。このとき、ゲート電圧をかけることでグラフェンのフェルミエネルギーを変化させ、ドレイン電流が極小値をとるときのゲート電圧値 (Charge neutrality point, CNP) を記録した。グラフェンにキャリア注入が起きると、それを打ち消すだけのゲート電圧が必要になるため、極小値の位置が変化する。

ゲート電圧を 0 V から 200 mV の間で掃引したときのソース・ドレイン電流 (I_{sd}) 変化と、CNP 付近での拡大図をそれぞれ Figure 5 (a), (b) に示す。ゲート電圧を正方向および負方向に掃引したとき、異なる地点で I_{sd} が極小を示したため、これらを順に CNP1, CNP2 と

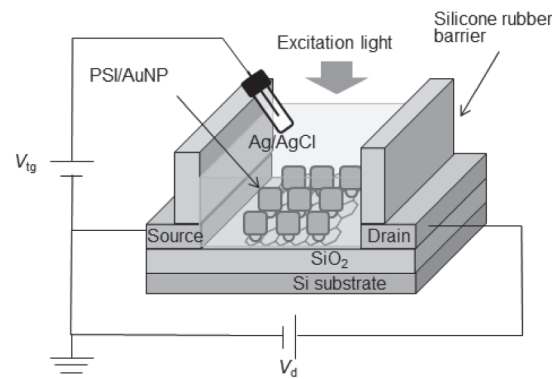


Fig. 4 Schematic representation of PSI-graphene FET optical sensor. PSI is attached on a solution-gated graphene FET through gold nanoparticles. A bias potential (V_{sd}) is applied across the source (S) and drain (D) electrodes, and the source-drain current (I_{sd}) is monitored. A gate potential (V_{tg}) is applied to the electrolyte through an Ag/AgCl reference electrode.

した。

光照射の条件は以下の通りである。強度 20% での励起光の強さは約 $780\mu\text{W}$ である。

1: 光照射前、2: 680 nm 励起光 (強度 20%)、3: 440 nm 励起光 (強度 20%)、4: 440 nm 励起光 (強度 40%)、5: 励起光 OFF

440 nm の励起光を照射した際 (2 → 3 の過程)、CNP が正方向へシフトした。他の操作

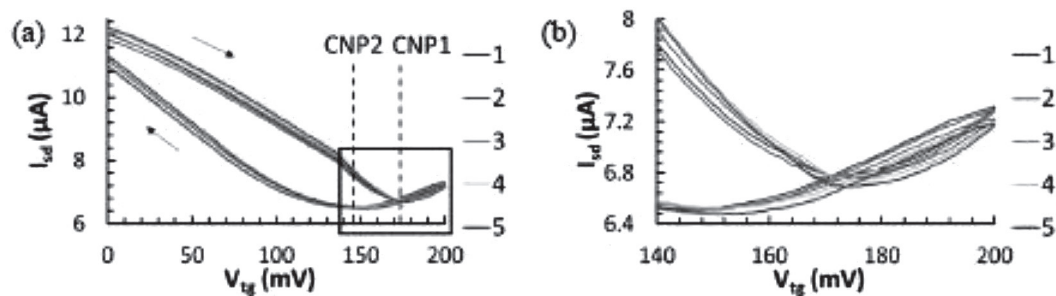


Fig. 5 (a) Source-drain current against gate voltage under different wavelength and intensity of excitation light. (b) Magnified image of (a) focusing the area specified by the rectangle.

では CNP の値に有意差は見られなかった。

7. CNPシフトについての考察

正方向へのゲート電圧のシフトは、グラフェンが p ドープされたことを意味する。CNP に達するまでに大きな正のゲート電圧をかける必要があるということは、グラフェンのフェルミエネルギーが低下していることを示すからである。p ドープが起こる機構として、以下のようなプロセスが考えられる。

1. 光照射により PSI から金ナノ粒子への電子移動が起きる。
2. 金ナノ粒子に負電荷が蓄えられ、グラフェンの正電荷を誘起する。
3. ホール数の増加によりグラフェンの CNP が正方向へシフトする。

すなわち、金ナノ粒子に電子がチャージされることで局所的な電場が生じ、グラフェン中にホールを誘起することで CNP が正にシフトする (Figure 6)。このように局所的な電場によって CNP が変化する機構は、グラフェンを用いた生体分子センサにおいて提唱されている⁵⁾。帯電したタンパク質がグラフェンに吸着することで、グラフェン付近の電界が変化し、導電性や CNP が変動する。青色光を照射したときに CNP がシフトしたのは、PSI が赤色よりも青色をよく吸収するためであると考えられる。機構について明確な説明を行うためには、複数の測定を行い再現性の良い結果を得る必要があり、今後 PSI の被覆量を増やす予定である。

8. 謝辞

本研究は日本板硝子材料工学助成会の研究助成を受けて行ったものである。同助成会に

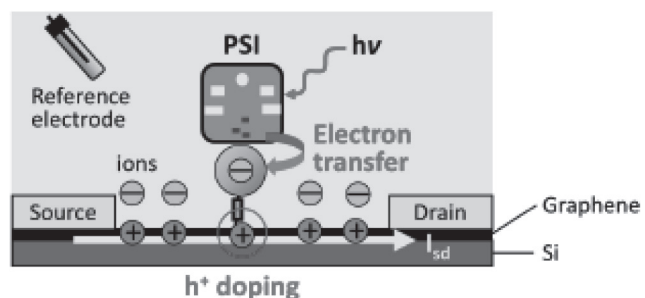


Fig. 6 A possible mechanism of p-doping of graphene induced by the electron transfer from PSI to AuNPs.

心より感謝します。

9. 参考文献

- 1) 文部科学省 科学技術振興調整費 ニュース 第 242 号 (2004) . http://www.mext.go.jp/a_menu/kagaku/chousei/news/1357730.htm
- 2) Hadfield, R. H. *Nat. Photon.* **2009**, *3*, 696.
- 3) Chen, S.; Pei, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10607.
- 4) Terasaki, N.; Yamamoto, N.; Tamada, K.; Hattori, M.; Hiraga, T.; Tohri, A.; Sato, I.; Iwai, M.; Iwai, M.; Taguchi, S.; Enami, I.; Inoue, Y.; Yamanoi, Y.; Yonezawa, T.; Mizuno, K.; Murata, M.; Nishihara, H.; Yoneyama, S.; Minakata, M.; Ohmori, T.; Sakai, M.; Fujii, M. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* **2007**, *1767*, 653.
- 5) Kim, J. E.; No, Y. H.; Kim, J. N.; Shin, Y. S.; Kang, W. T.; Kim, Y. R.; Kim, K. N.; Kim, Y. H., Yu, Q. *J. Appl. Phys. Lett.* **2017**, *110*, 203702.