

表面増強分光における本格研究

金属ナノ粒子を利用した 表面増強ラマン散乱と生体分子への応用

表面増強ラマン散乱 (SERS)

数十 nm サイズの金属ナノ粒子の表面に吸着した分子のラマン散乱強度が何桁も増強する現象が30年ほど前にイギリスで発見されました。この現象は表面増強ラマン散乱 (SERS) と呼ばれ、ここ10年の間に飛躍的に解明されました。進展の理由の一つは SERS でタンパク質1分子の計測が可能になったことです^[1]。もう一つの理由は、ナノテクノロジーの進歩で金属ナノ粒子のサイズや形状の制御が容易になったことです。SERS は健康工学研究センターで推進している「生体機能解析に基づく健康維持のための予知診断技術・デバイス研究開発」を担う有力候補であると考えています。SERS 発現の理論では、分子の光学応答増強の起源は金属ナノ粒子の自由電子の集団振動 (プラズマ共鳴) にあります。

金属ナノ粒子の2量体について詳しく説明します。2個の粒子の接合部に入り込めるタンパク質分子は1個程度です。金属ナノ粒子に光を当てるとその粒子のプラズマ共鳴が始まり、この共鳴で粒子接点付近の光強度は粒子がないときと比べて最大で 10^7 倍ほどに増強され、分子の励起効率も約 10^7 倍向上します。次に、励起された分子

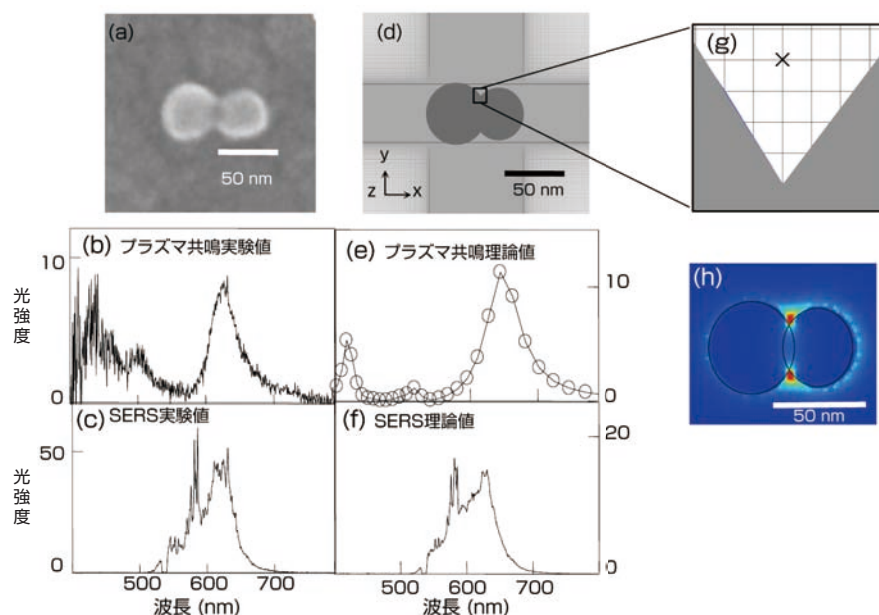


図1 (a) 銀ナノ粒子2量体の電子顕微鏡像、(b) 実験で得られたプラズマ共鳴スペクトル、(c) 励起波長532 nmでの実験で得たSERSスペクトル、(d) 理論計算で用いた銀ナノ粒子2量体構造、(e) 計算されたプラズマ共鳴スペクトル、(f) 計算された励起波長532 nmでのSERSスペクトル、(g) ×印は分子吸着位置、(h) 理論的に計算されたSERS画像

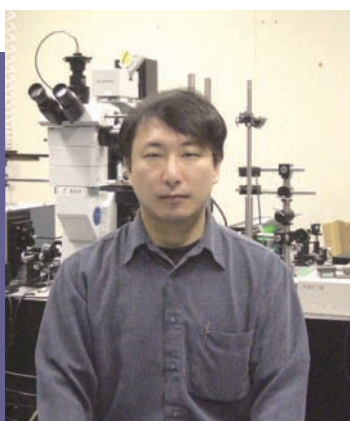
は、再度プラズマ共鳴を引き起こし粒子から光を放射します。この放射へのプラズマ共鳴の介在によって放射効率が同じく約 10^7 倍向上します。この励起と放射の増強によって1分子SERS光検出に必要な 10^{14} ($10^7 \times 10^7$) 倍に及ぶ光強度の増強が予想できます。

SERS 発現理論の実証

SERSの発見とその理論の構築にも関わらず、30年以上SERS分光の有力

な実用例はありませんでした。その原因は二つ挙げられます。一つ目は理論を実験で実証できていないこと、二つ目はほかの方法ではできない決定的な応用の不在です。一つ目については、Nie^[1]が1997年にSERS分光を単一の金属ナノ粒子で可能としたことが転機となりました。これは金属ナノ粒子の形状、プラズマ共鳴発光、SERSスペクトルが1対1の対応で測定でき、理論の定量的実証ができるようになったからです。

私たちは金属ナノ粒子に接している1分子のSERSスペクトルを電磁場解析法によって理論的に予測しました。電子顕微鏡と光学顕微鏡で銀ナノ粒子の形状を観察し、またプラズマ共鳴発光スペクトルの測定を行いました。粒子の形状から理論的にSERSスペクトルの予測を行い、実際に観測されたSERSスペクトルと合致することを確認しました。2量体の粒子接合部位付近に吸着した分子についても理論の予測と実験



2002年大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻修士後期課程修了後、SERS分光法を定量的な超高感度生体分子分析法へ発展させるため、その発現機構の研究を行ってきました。現在は、SERSの増強度を最大化するように制御した金属ナノ粒子を作成し、その表面に生体分子を吸着させ、そしてSERSを発現させ1分子解析を行うという一連のプロセスの最適化研究に取り組んでいます。

伊藤 民武 (いとう たみたけ)

tamitake-ito@aist.go.jp

健康工学研究センター

生体ナノ計測チーム (四国センター)

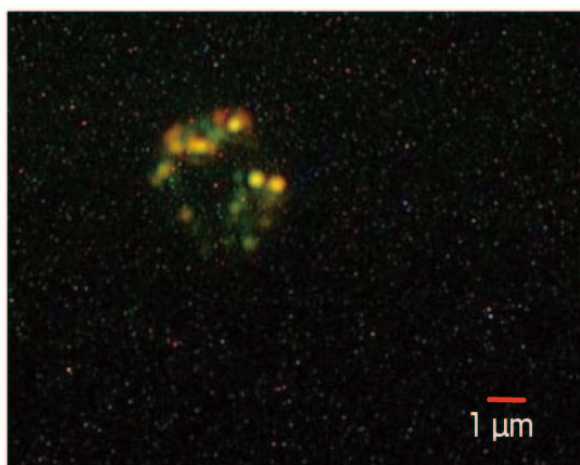


図2 銀ナノ粒子が吸着した酵母細胞の SERS 光画像

はよく合致しました (図1)。この理論が SERS 発現を最適化する設計指針としても役立つことを示しています。

ほかの方法ではできない決定的な応用を求めて

SERS 分光でなければできない決定的な応用を見つけるには、可能性のある系を網羅的に探索することが必要です。私たちの成果として (1) 細胞表面タンパク質の1分子その場 (*in situ*) SERS 検出^[2]と (2) ヘモグロビン A1c (HbA1c) の超高感度 SERS 識別^[3]を以下に紹介します。

(1) 細胞表面のタンパク質分子は細胞内外の物質輸送、外環境の認識などの機能を担っており、生命活動の解明や創薬などの健康産業においても重要です。私たちは生きている酵母細胞表面に銀ナノ粒子 (サイズ40 nm) を吸着させタンパク質分子を数秒程度で迅速に SERS 測定する方法を開発しました^[2]。図2は細胞表面の SERS 像です。現在、SERS を示すタンパク質がどのようなタンパク質か、その特定を行っています。

(2) HbA1c はヘモグロビン (Hb) とブドウ糖が結合したものの一種ですが、糖尿病の指標分子であり、その簡便な

測定法は血糖値の迅速な制御へ応用できます。私たちは Hb と HbA1c の SERS スペクトルを比較し HbA1c 分子に特有の SERS バンドが $770\text{--}830\text{ cm}^{-1}$ に現れることを発見しました (図3)。そして、このバンドで HbA1c 分子を簡便かつ高感度に識別することに成功しました。このバンドは Hb 分子にブドウ糖が吸着する過程で現れることも実証しました^[2]。現在、血液中にある HbA1c 分子を数秒程度で SERS 測定する方法への応用を計画しています。

この研究が将来社会にもたらす効果

SERS は非発光性分子の単一分子ス

ペクトルの測定が可能です。蛍光分子を付加するなどの前処理なしに超高感度分析を行うことができます。例えば、細胞表面分子や細胞放出分子の SERS 検出が期待されます。神経細胞からの放出物質の SERS 測定は神経疾患の診断に応用できます。また、蛍光タグの代わりに SERS 活性を有する金属ナノ粒子 (SERS タグと呼ばれている) を用いた抗原抗体反応測定も期待されます。SERS タグでは蛍光タグで問題となるエネルギー移動が起こらないため、数種類の抗原抗体反応を一度に観測できます。SERS 発現を最適化した金属ナノ粒子配列基板を開発し、健康擾乱分子を高感度に検出する手法も期待されます。これらの応用例は実用化されれば産業界にも大きく拡がり、世界標準となる可能性があります。

参考文献

- [1] S. Nie, S. Emory: *Science* 275, 1102 (1997).
- [2] 伊藤 民武: *産総研 TODAY*, 8 (7), 12 (2008).
- [3] M. S. Kiran, T. Itoh *et al.*: *Anal. Chem.* 82 (4), 1342-1348 (2010).

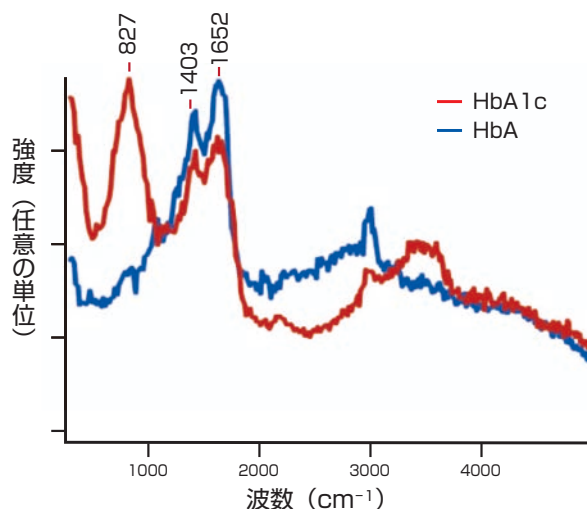


図3 Hb と HbA1c の SERS スペクトル