

# 表面増強ラマン分光法による生化学物質計測に向けたナノ微粒子の特性評価

Biosensing with Surface Enhanced Raman Spectroscopy

南口 勝\* 河村 達朗\*  
Masaru Minamiguchi Tatsuro Kawamura

健康状態を正確かつ迅速に診断する医療機器の開発を目的とし、金属ナノ構造によってラマン散乱光強度を増強する表面増強ラマン分光法（Surface Enhanced Raman Spectroscopy : SERS）を用いた生化学物質計測技術の開発を進めている。本稿では、金属ナノ構造によるラマン散乱光強度の増強度（Enhancement Factor : EF）を算出する方法について、具体例を用いて説明する。

With the aim of developing a medical device to diagnose health conditions accurately, we have developed the technology of biochemical substance measurement with Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) by a metal nanostructure. In this paper, we explain a method for estimation of the Enhancement Factor (EF) for Raman scattering light intensity by metal nanostructure and describe this method using specific examples.

## 1. SERSによる生化学物質計測技術の概要

ラマン分光法は、特定の分子を検出・定量できるため、生体中の生化学物質計測による生活習慣病の予防・治療のための診断機器への応用が期待されている[1]。しかしながら、体液中のグルコースなどの生化学物質の濃度は、10 m mol/L以下と非常に低いため、ラマン散乱光強度は、微弱で、検出は困難である。そこで、金属ナノ構造を利用してラマン散乱光強度を増強するSERSが注目されている。

SERSでは、用いる金属ナノ構造の材料、形状、サイズ、配列により、ラマン散乱光強度のEFが大きく変わる。したがって、生体中の生化学物質計測を実現するためには、EFの大きな金属ナノ構造を用いる必要がある。本解説では、ナノ微粒子を試作して、SERSによるラマン散乱光強度のEFを評価し、生化学物質計測への応用可能性について述べる。

## 2. ラマン散乱光強度のEFの算出法

ラマン散乱光強度のEFは、(1)式に示すように、金属ナノ構造によって増強されたラマン散乱光強度 $I_{SERS}$ と、金属ナノ構造がなく、増強がないラマン散乱光強度 $I_{Non-SERS}$ の比を、計測に関与する分子数 $N_{SERS}$ 、 $N_{Non-SERS}$ を用いて規格化することにより算出できる。

$$EF = \frac{I_{SERS} / N_{SERS}}{I_{Non-SERS} / N_{Non-SERS}} \dots \dots \dots (1)$$

$I_{SERS}$  : 増強されたラマン散乱光強度

$I_{Non-SERS}$  : 増強のないラマン散乱光強度

$N_{SERS}$  :  $I_{SERS}$ 計測に関与する分子数

$N_{Non-SERS}$  :  $I_{Non-SERS}$ 計測に関与する分子数

$I_{SERS}$ は、金属ナノ構造に物質を吸着することにより検出できる。しかしながら、 $I_{Non-SERS}$ は、非常に微弱で、検出は困難である。

よって、 $I_{Non-SERS}$ の検出は、ガラスセルに計測物質の高濃度溶液を入れ、ラマン散乱スペクトルの計測を行うことにより実現できる。

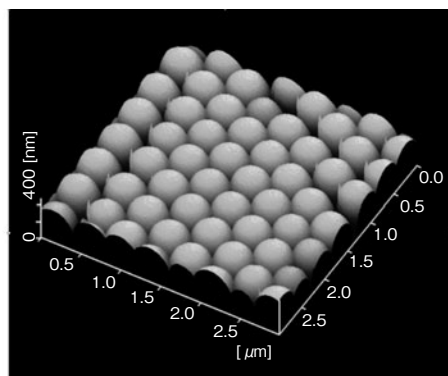
また、 $N_{SERS}$ は、金属と結合するチオール基 (-SH) をもつチオール分子を用いることにより算出できる。チオール分子は、金属に結合する際に、チオール分子同士の分子間力により密に集合するため、特定の間隔で金属表面に吸着し、単分子層を形成する。よって、金属の表面積から、吸着した分子数を見積もることができるので、 $N_{SERS}$ を算出することができる。 $N_{Non-SERS}$ は、レーザーのビーム径、ガラスセル長から計測領域の体積を求め、計測物質の濃度を用いることにより算出できる。

## 3. 金ナノ微粒子におけるEFの評価

SERSによる生化学物質の計測事例として、金属ナノ微粒子配列基板を用いたグルコースの計測が報告されている[2]。この金属ナノ微粒子配列基板では、基板上に配列したポリスチレン球に金属を蒸着することにより、ポリスチレン球が金属に覆われた金属ナノ構造を実現し

\* バイオ技術開発室

Bioscience Technology Development Office



第1図 金ナノ微粒子配列基板の原子間力顕微鏡像

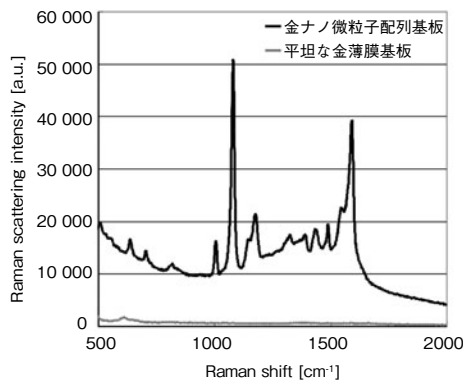
Fig. 1 Atomic force microscope image of Au nano-sphere structure substrate

ている。本報告では、化学的に安定である金を用いた金ナノ微粒子配列基板を試作し、EFの算出を行った。

金ナノ微粒子配列基板は、石英ガラス基板上に、粒径400 nmのポリスチレン球を配列し、150 nmの金を蒸着することにより作製した[3]。第1図に示すように、ポリスチレン球が金に覆われることによる金ナノ構造が形成されていることがわかる。

作製した金ナノ微粒子配列基板に、チオール分子である4-アミノチオフェノールを吸着させ、波長785 nm、パワー14 mWのレーザー光を照射し、積算時間10秒で計測したラマン散乱スペクトルを、第2図に示す。金ナノ構造が形成されていない平坦な基板として、石英ガラス基板上に、150 nmの金薄膜を蒸着した平坦な金薄膜基板を用意し、4-アミノチオールを吸着させた場合のラマン散乱スペクトルも示す。

4-アミノチオフェノールを吸着させた平坦な金薄膜基板では、ピークが検出されなかったのに対し、4-アミノチオフェノールを吸着させた金ナノ微粒子配列基板では、複数のピークが検出された。検出したピークに対して解析を行うことにより、検出したピークは、4-アミノ



第2図 ラマン散乱スペクトルの比較

Fig. 2 Comparison of Raman scattering spectra

チオフェノール固有のピークであり、SERSによる大きな増強が得られていることがわかった。

EFの算出は、1080  $\text{cm}^{-1}$ 付近のピークに注目し、金ナノ微粒子配列基板上の4-アミノチオフェノールのラマン散乱スペクトルから、 $I_{SERS}$ を求めた。また、 $I_{Non-SERS}$ は、平坦な金薄膜基板を4-アミノチオフェノールのエタノール溶液に浸漬することによりラマン散乱スペクトルを得て、算出した。これらの値と計算した $N_{SERS}$ 、 $N_{Non-SERS}$ を(1)式に代入し、EFを算出した結果、金ナノ微粒子配列基板のEFは $3.8 \times 10^6$ であった。

金ナノ微粒子配列基板におけるグルコースの計測事例では、パワー8.4 mWのレーザー光を照射し、増強されたグルコースのラマン散乱光を計測するために、液体窒素でセンサを冷却する必要がある高感度光センサを使用している。このような高感度光センサは、液体窒素の使用、取り扱いの難しさから、家庭での使用には適さない。しかしながら、このような高感度光センサを用いる必要があるのは、金ナノ微粒子配列基板では、EFが小さく、ラマン散乱光強度が微弱なことが要因であると考えられる。

#### 4. 動向と展望

高感度で特定の分子の検出・定量を行うことができるSERSは、生体中の生化学物質を計測することによる生活習慣病の予防・治療のための診断機器への応用が期待できる。

特に、近年、生活習慣病の予防・治療に向けた生化学物質の計測を、家庭でも手軽に行いたいという要求が高まりつつあり、診断機器の高感度化だけでなく、計測の迅速化、小型化が強く求められている。そのためには、ラマン散乱光強度の大きな増強、すなわち、EFの向上が必要である。今後は、EFの算出法を活用し、EFの大きな金属ナノ構造の開発を進めていく予定である。

#### 参考文献

- [1] 尾崎幸洋 他, “ラマン分光法,” (株) アイピーシー, 1998, pp.216-232.
- [2] O. Lyandres et al., “Real-time glucose sensing by surface-enhanced Raman spectroscopy in bovine plasma facilitated by a mixed decanethiol/mercaptohexanol partition layer,” *Anal. Chem.*, vol.77, pp.6134-6139, 2005.
- [3] K. E. Shafer-Peltier et al., “Toward a glucose biosensor based on surface-enhanced Raman scattering,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol.125, pp.588-593, 2003.