

センサーデバイスの機能化による 表面増強ラマン散乱の実用性の向上

表面増強ラマン散乱 (SERS) は、金、銀、銅などの金属表面に吸着した化学種から散乱されたラマン散乱強度が増強される現象を利用した測定方法である。金属物質を基板上に修飾させた場合よりも、金属ナノ粒子を修飾させた場合の方が高い強度が得られる。金属ナノ粒子の表面に化学種が結合することで、表面プラズモン共鳴による光電場の増強によって生じると考えられている。その一方で、金属ナノ粒子を化学修飾することで目的物質への選択性、光退色への耐性を向上させることもできる。そのため、SERSは優れた分析技術として注目されている。特に近年のナノテクノロジーの進歩により金属ナノ粒子の粒径の制御が容易になったことで、SERSは飛躍的に進歩した。本稿では、医療、食品・水質管理などに応用が進んでいる SERS¹⁾による微量成分のセンサーについて紹介する。

Segalらは²⁾、人に対して影響が大きな農薬であるアラクロルを微量に検出できるサブ μm スケールの光学センサーを開発した。このセンサーデバイスは、ガラス基板を銀の薄膜で覆い、集束イオンビームを用いて三角形の空洞を規則的に配置したものである。SERSの強度増強が確認されるのは、空洞間の平坦な領域に限定される。そのため、共振モードは空洞間の距離によって決まる。メタノールに溶解したアラクロルを基板上に滴下し、乾燥後測定を行っている。今回の報告では、ラマンレーザー波長 514 nm と共鳴するように空洞間距離を調整している。この手法により従来の SERS によるアラクロル検出限界値 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ から $4 \times 10^{-10} \text{ M}$ に向上させ (およそ 10 倍の感度向上)、検出 (ある基準濃度以上の有無) を可能にした。空洞の間隔距離を調整することで化学種の SERS 検出感度を向上できることは非常に有用に感じる。

SERS センサーは、検出感度も向上してきているが、再利用可能な SERS センサーも開発されている³⁾。一例として、カテコールの酸化触媒であるチロシナーゼを検出する SERS センサーは、センサーデバイスにカテコールをあらかじめ吸着させておき SERS で測定した後、カテコールが酸化されたベンゾキノンを経電化学的に再びカテコールに戻すことによって繰り返し使用できる機構である。今後も SERS の技術応用は進み、検出能および利便性の高いセンサーとして発展が期待される。

- 1) M. Laura, G. Das, F. Mecarini, F. Gentile, A. Pujia, L. Bava, R. Talerico, P. Candeloro, C. Liberale, F. De Angelis, E. Di: *Microelectron. Eng.*, , **86**, 1085 (2009).
- 2) E. Segal, E. Haleva, A. Salomon: *ACS Appl. Nano Mater.*, **2**, 1285 (2019).
- 3) L. Wang, Z. Gan, D. Guo, H. Xia, F. T. Patrice, M. E. Hafez, D. Li: *Anal. Chem.*, **91**, 6507 (2019).

[福島大学大学院共生システム理工学研究科 中川太一]

光熱効果を利用した新たな 単分子吸光イメージング

分子を視たいという欲求はいつの時代の化学者をも虜にしてきた。最近では、超解像蛍光顕微鏡を用いれば骨形成初期過程をナノレベルで観察できたり¹⁾、原子間力顕微鏡を用いれば多環芳香族炭化水素であるケクレンの原子位置や結合長まで可視化できたりするなど²⁾、時代の変遷とともにイメージング技術は目覚ましく発展を遂げている。その中で吸光を利用した顕微鏡としては、非蛍光性分子を高感度に検出できる熱レンズ顕微鏡が有名である³⁾⁴⁾。本稿では窒化ケイ素ナノ薄膜を利用した新たな単分子吸光イメージングについて紹介する⁵⁾。

S. Schmidらは、引張応力 (30 MPa) を印可した窒化ケイ素ナノ薄膜 (厚さ 50 nm) と、レーザードップラー振動計 (波長 633 nm, 光強度 35.4 kW/cm^2)、対物レンズ (50 倍, N.A.=0.55) そしてロックインアンプから成る実験装置を作成した⁵⁾。このナノ薄膜上に、検体として金ナノ粒子 (直径 10~200 nm) を物理吸着させ、高真空状態 (10^{-4} mbar) で薄膜の各位置における共振周波数の変位を、レーザードップラー振動計を用いて測定した。その結果、薄膜上に吸着した金ナノ単粒子像や、各粒子の吸光断面積を実験的に得ることができた。さらに、有機分子 (Atto 633) の単分子吸光イメージングにも成功した。これらは振動計のレーザー光を吸収した検体の無輻射失活により、検体周辺の温度が上昇し、温度上昇に伴う共振周波数変化を高精度に計測することで実現している。

今回は蛍光顕微鏡との比較のために蛍光性分子 Atto 633 を用いているが、この原理に従えば非蛍光性分子の単分子イメージングも実現できるだろう。そのほかに、本手法の特徴として以下が挙げられる: (1) 装置の各コンポーネントは市販品として入手可能, (2) 低開口数かつ長作動距離の対物レンズで単分子イメージングが可能, (3) $160 \mu\text{m}^2$ の大面積を掃引可能。一方で、 10^{-4} mbar の高真空状態で実験しなければいけないことや、窒化ケイ素ナノ薄膜の周波数応答を高めるために薄膜を事前に酸素プラズマ処理しなければいけないこと、レーザー光が 633 nm に制限されていることなど、まだ改善の余地がうかがえる。今後、これらを解決し昇華することで、新たな単分子イメージングの一翼を担えるものと期待で

きる。

- 1) T. Iwayama, T. Okada, T. Ueda, K. Tomita, S. Matsumoto, M. Takedachi, S. Wakisaka, T. Noda, T. Ogura, T. Okano, P. Fratzl, T. Ogura, S. Murakami : *Sci. Adv.*, **5**, eaax0672 (2019).
- 2) I. Pozo, Z. Majzik, N. Pavliček, M. Melle-Franco, E. Guitián, D. Peña, L. Gross, D. Pérez : *J. Am. Chem. Soc.*, in press (2019), DOI : 10.1021/jacs.9b07926
- 3) T. H. H. Le, K. Mawatari, H. Shimizu, T. Kitamori : *Analyst*, **139**, 2721 (2014).
- 4) J. He, N. Wang, H. Tsurui, M. Kato, M. Iida, T. Kobayashi : *Sci. Rep.*, **6**, 30209 (2016).
- 5) M. Chien, M. Brameshuber, B. K. Rossboth, G. J. Schütz, S. Schmid : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 11150 (2018).

[大阪市立大学大学院理学研究科 東海林竜也]

● PCR によるがん由来 DNA 検出への ドロップレットの応用

がんの診断法として血中に存在する微量の循環腫瘍 DNA (ctDNA) の分析が有望であるが、検出が難しく高感度化が求められている。希釈した DNA を微小区間に分散し PCR 増幅を行う digital droplet PCR (ddPCR) を用いることで従来の定量 PCR よりも高感度での ctDNA 検出が可能となった¹⁾。さらに検出感度を向上させるために、ddPCR による検出前に高い正確

性を有する酵素を用いた PCR で前増幅を行う手法が考案されるなど²⁾ 研究が進んでいるが、テンプレート DNA による増幅効率の差等 (PCR バイアス) の原因により限界がある。

この問題に対処した前増幅法として Multiplex Enrichment using Droplet Pre-Amplification (MED-Amp) が考案された³⁾。DNA 分子をそれぞれドロップレットに分けて前増幅を行い、野生型 (WT) と変異型 (MT) DNA を分離して増幅することで PCR バイアスが緩和された (図 1)。その結果、MED-Amp 法により前増幅した後に ddPCR で検出することで、転移性膵管腺癌患者の血漿から ctDNA を 86 % 検出する等 (従来の前増幅 → ddPCR では 35 ~ 65 %), 検出感度の向上に成功したため、診断の早期化や精度の改善へ繋がることが期待される。

- 1) Hindson. C. M, Chevillet. J. R, Briggs. H. A, Gallichotte. E. N, Ruf. I. K, Hindson. B. J, Vessella. R. L, Tewari. M : *Nat. Methods*, **10**, 1003 (2013).
- 2) Jackson. J. B, Choi. D. S, Luketich. J. D, Pennathur. A, Stahlberg. A, Godfrey. T. E : *J. Mol. Diagn.*, **18**, 235 (2016).
- 3) Pratt. E. D, Cowan. R. W, Manning. S. L, Qiao. E, Cameron. H, Schradle. K, Simeone. D. M, Zhen. D. B : *Anal. Chem.*, **91**, 7516 (2019).

[東京大学大学院薬学系研究科 高野 勝]

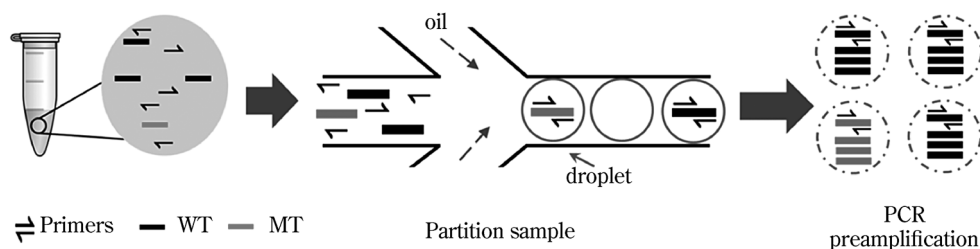


図 1 MED-Amp 法の原理図

新刊紹介

理科年表 2020

(ポケット版)

国立天文台 編

令和初となる理科年表が刊行された。本書は、暦、天文、気象をはじめ、物理／化学、地学、生物、環境といった科学全般の情報を網羅したデータブックであり、国立天文台が編集を行っている。例年新しく刊行される版には、科学分野におけるニュースがトピックスとして追加されている。2020年版で

は、新元号に関連する「時には昔の話を」、「令和元年・令和2年の祝日と休日について」のほか、「史上初、ブラックホールシャドウの撮影に成功」やマイクロプラスチックを扱った「プラスチックごみと環境」などが早速掲載されている。分析化学と最もよく関連するところでは、「SI 基本 4 単位の定義改定」やメンデレーエフ周期律発見 150 周年にあわせて「時代とともに変わる元素周期表」が取り上げられている。本書は年表やデータとして活用できるだけでなく、図や解説も充実しているので科学の知識を広げる最良の一冊といえる。ポケット版は、実験室や屋外へ気軽に持ち運べるサイズと重量なのも大変ありがたい。

(ISBN 978-4-621-30425-9・A6判・1,192 ページ・1,400 円+税・
2019 年刊・丸善出版)
(机上版 : A5 判, 2,800 円+税)