

ナノ構造を用いたバイオ分析

1 はじめに

ナノ粒子をはじめナノ構造は、バルク状態とは異なる特性を示すことから、近年では分析化学、特にバイオ分析において有用なツールとして広く用いられるようになって¹⁾。

バイオ分析においてナノ構造が有用なツールとして広く用いられている理由には、ナノ構造より観察される特性だけでなく、ナノ構造自体のサイズも大きくかわっている。バイオ分析に用いられるナノ構造のサイズは、数 nm から数百 nm であり、単一のナノ構造で数分子～数十分子が表面に固定化されることとなる。理論上、ナノ構造より観察される特性は、単一のナノ構造においても観察可能であることから、一分子レベルでの分子間相互作用が検出可能であり、既存技術よりも優れた検出限界を有するバイオ分析法の開発が期待できる。

本稿では、ナノ構造より観察される種々の特性のなかでも「光学特性」に着目し、貴金属（導体）・半導体・誘電体（絶縁体）と異なる材料から成るナノ構造より観察される光学特性とそれを用いたバイオ分析応用事例について述べる。

2 ナノ構造より観察される光学特性

2.1 貴金属ナノ構造

Au, Ag, Pt 等貴金属より構成されるナノ構造では、局在表面プラズモン共鳴 (localized surface plasmon resonance, LSPR) に起因する特異的な光学特性を観察することができる²⁾。これは、金属光沢とは異なり、サイズ・材料固有の色彩が目視で観察できるものである。例えば Au がナノメートルサイズにまで微小化すると、ワインレッドの色彩を呈する。LSPR は、媒質中の貴金属ナノ粒子をモデルとして考えると貴金属中の電子の振動のしやすさ、すなわち分極率で考えることができる。半径 r の球状貴金属ナノ粒子の分極率 α は、

$$\alpha = 4\pi r^3 \frac{\epsilon_m - \epsilon_a}{\epsilon_m + 2\epsilon_a} \dots\dots\dots (1)$$

と表すことができる。ここで ϵ_m は貴金属ナノ粒子の誘電率、 ϵ_a は周辺媒質の誘電率である。LSPR は、式 (1) の分母が最小の時に生じる。これは、特定波長の光に対して吸収を示すこととなる。

また、LSPR を用いたバイオ分析を行う際には、貴金属ナノ粒子表面へプローブ DNA や抗体等認識素子を固

定化した後、DNA ハイブリダイゼーションや抗原抗体反応等の特異的な生化学反応によって誘起される ϵ_a の変化を LSPR 光学特性変化として検出することができる。

2.2 半導体ナノ構造

シリコン等半導体より構成されるナノ構造は、半導体中電子の de Broglie 波長 (ボーア半径) より粒径が小さくなり、量子サイズ効果 (量子閉じ込め効果) によってバンド構造が変化し、ナノ構造のサイズに応じて異なる蛍光色を観察することができる。半導体材料を用いたナノ粒子は量子ドット (quantum dots, QDs) と呼ばれている³⁾。QDs の特徴は、蛍光波長をサイズによって制御することが可能な点にある。これにより、バイオ分析を行う際に単一の励起光によって多色の蛍光が観察されることからイメージング試薬としての応用が可能である。

2.3 誘電体ナノ構造

ポリスチレン等ポリマーをはじめとする誘電体より構成されるナノ構造は、着色ナノ粒子としてイムノクロマトグラフィー⁴⁾、ラテックス凝集法⁵⁾等バイオ分析に広く用いられている。

一方で、誘電体ナノ構造を結晶様に周期的に配列させると、周期や材料自体の物性 (誘電率) に依存して特定波長の光を Bragg 回折し、光の透過・伝搬を許さないバンドギャップ (photonic band gap, PBG) を形成する。PBG に対応する波長は、反射スペクトルとして観察することができる。このような光学特性を示す素子をフォトリック結晶 (photonic crystal, PhC) と呼ぶ⁶⁾。

PhC の Bragg 回折条件は、

$$m\lambda = 2nd \sin \theta \dots\dots\dots (2)$$

ここで m は反射次数、 d は間隔、 θ は入射角、 n は PhC の屈折率である。ここで観察される回折波長 λ は、可視領域では構造色として観察することができる。

PhC を用いたバイオ分析では、PhC 周囲で種々の生化学反応が進行することによって式 (2) 中の間隔 d あるいは屈折率 n が変化する。これを反射ピーク波長変化として観察することにより、pH 試験紙のような簡便なバイオ分析が可能となる。

3 ナノ構造を用いたバイオ分析の実施例

3.1 貴金属ナノ構造

貴金属ナノ構造を用いたバイオ分析は、前述した式

(1) に基づくナノ構造周辺誘電率の変化を検出に利用する分析法が広く研究されている。種々の生化学反応によって誘起される周辺誘電率変化に対して、LSPRは鋭敏な光学特性の変化を示して観察することが可能であることから、高感度なバイオ分析法の開発が期待されている⁷⁾。

加えてLSPRを用いたバイオ分析例として広く研究されているのが、表面増強ラマン散乱 (surface enhanced Raman scattering, SERS) である。ラマン散乱を用いた分析法は、分子振動に起因する光の非弾性散乱を測定する手法である。しかしラマン散乱の強度は、レイリー散乱と比べて著しく弱い。SERSは、金属ナノ構造体近傍に存在する分子からは、LSPRによる強い電場の局在により強い散乱強度が得られ、非常に少数の分子からもラマン散乱を観察することも可能となる⁸⁾。

また貴金属ナノ構造は、LSPRに起因する特異的な色彩からイムノクロマトグラフィーを用いた抗原検査の色材としても使用されている⁹⁾。

3・2 半導体ナノ構造

半導体ナノ構造より観察される蛍光特性は、従来の有機蛍光色素と比べて退色するまでの時間が長いという特徴を有する。この特徴からQDsをはじめとする半導体ナノ構造を用いたバイオ分析には、観察される蛍光を利用した *in vitro* あるいは *in vivo* でのバイオイメージングが広く研究されている¹⁰⁾。加えて抗体やプローブDNAを標識することにより抗原やターゲットDNAと特異的な相互作用および濃度に起因する蛍光強度変化量を観察するバイオ分析法も研究されている¹¹⁾。

しかし半導体ナノ構造には、有毒なCdが含まれているものも多いため、生体への毒性が少ない半導体材料を用いてナノ構造を作製する研究も精力的に進められている。

3・3 誘電体ナノ構造

PhC等誘電体ナノ構造を用いたバイオ分析には、貴金属ナノ構造を用いたバイオ分析と同様に、①種々の生化学反応によって誘起される周辺誘電率変化を反射ピーク波長シフトとして観察する方法¹²⁾、②PhCを刺激応答性高分子内へ包含させ、刺激応答性高分子の膨潤・収縮に伴う間隔変化を反射ピーク波長シフトとして観察する方法¹³⁾、が主に研究されている。①では、ナノ構造周囲に認識素子を固定化することにより、特異的に検出・定量することが可能であり、抗体や酵素等使用可能な認識素子の幅が広い。一方で②では、酵素等刺激応答性高分子を膨潤・収縮を誘起することが可能な認識素子を使用する必要がある。

また、PhC作製技術についても研究が進められている。PhC作製には、ナノ粒子を三次元かつ周期的に集積さ

せる必要があるが、再現よく高い周期性を有するPhCを大面積作製するのに技術を要するという課題があった。一方で前述した課題を解決するためにナノ構造を転写する技術であるナノインプリントリソグラフィーを用いてPhCを作製する方法が提案されている。この作製手法は、二次元の周期構造を作製し、PhCとするものであるが、高感度なバイオ分析デバイスを開発することに成功している¹⁴⁾。

4 おわりに

ナノ構造より観察される光学特性は、サイズや材料に応じてさまざまである。ナノ構造を用いてバイオ分析を実現するには、①測定対象、②必要とする感度・定量範囲、③ *in vitro* あるいは *in vivo*、等必要とする性能に応じて適したナノ構造を選定することで、良好な分析結果を得ることができる。

文 献

- 1) S. G. Penn, L. He, M. J. Natan : *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**, 609 (2003).
- 2) 加沢エリト : 東京都立産業技術研究センター研究報告, **6**, 14 (2011).
- 3) E. Petryayeva, W. R. Algar, I. L. Medintz : *Appl. Spectrosc.*, **67**, 215 (2013).
- 4) A. Sakurai, K. Takayama, N. Nomura, N. Yamamoto, Y. Sakoda, Y. Kobayashi, H. Kida, F. Shibasaki : *J. Virol. Methods*, **209**, 62 (2014).
- 5) 坪田宣之 : 医用電子と生体工学, **22**, 10 (1984).
- 6) A. Richel, N. P. Johanson, D. W. McComb : *Appl. Phys. Lett.*, **76**, 1816 (2000).
- 7) K. M. Mayer, J. H. Hafner : *Chem. Rev.*, **111**, 3828 (2011).
- 8) R. Pilot, R. Signorini, C. Durante, L. Orian, M. Bhamidipati, L. Fabris : *Biosensors*, **9**, 57 (2019).
- 9) K. Okamoto : *J. Vac. Soc. Jpn.*, **51**, 727 (2008).
- 10) W. R. Algar, K. Susumu, J. B. Delehanty, I. L. Medintz : *Anal. Chem.*, **83**, 8826 (2011).
- 11) W. R. Algar, A. J. Tavares, T. J. Krull : *Anal. Chim. Acta*, **673**, 1 (2010).
- 12) H. Inan, M. Poyraz, F. Inci, M. A. Lifson, M. Baday, B. T. Cunningham, U. Demirci : *Chem. Soc. Rev.*, **46**, 366 (2017).
- 13) M. Sc. C. Fenzl, T. Hirsch, O. S. Wolfbeis : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**, 3318 (2014).
- 14) T. Endo, S. Ozawa, N. Okuda, Y. Yanagida, S. Tanaka, T. Hatsuzawa : *Sens. Actuators B Chem.*, **148**, 269 (2010).

[大阪公立大学大学院工学研究科 遠藤 達郎]