

DNA エピゲノム解析に向けた 1 分子表面増強ラマン分光技術

研究代表者

菅野 公二 神戸大学大学院工学研究科 准教授



1. 研究の背景と達成目標

エピゲノム解析における塩基配列決定やメチル化識別は、生命現象の理解および医療診断への応用にとって重要な役割を果たす。従来の蛍光検出を用いる手法や電氣的識別法を用いたDNAシーケンシング技術の問題であった信頼性の低さの問題を解決する必要がある。そこで本研究では、分子同定能力が高く、単一分子分析が可能な表面増強ラマン分光 (SERS: Surface-enhanced Raman spectroscopy) を基盤とした新しい DNA シーケンシング技術を構築する(図 1)。研究代表者の有するナノ粒子配列技術を応用した金ナノ粒子二量体構造を用いて SERS による DNA シーケンシングの実現可能性を検証するとともに、そのための基盤技術を構築することを目的とする。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・短時間での 1 分子検出を可能とするため、より高いラマン散乱光増強度(電磁界増強場度)が可能な金ナノ粒子二量体構造を実現した。金ナノ粒子二量体アレイを用いて4種類の DNA 塩基モノマー(アデニン, グアニン, シトシン, チミン)を極低濃度 (10^{-11} M) においても識別可能であることを明らかにした。
- ・単独の金ナノ粒子二量体(図 2)を用いて 4 種類塩基が含まれる 8 塩基 DNA オリゴマー分散溶液から塩基およびデオキシリボース, リン酸のラマンピークを確認した。このことから, 1分子感度のラマン検出・識別が可能であることを明らかにした。また, 1分子空間分解での検出・識別の可能性を示した。
- ・従来実現できなかった単独 DNA 断片の検出および構成要素の同定が可能であることを実証した。

3. 研究成果

単独金ナノ粒子二量体を用いた DNA オリゴマーの SERS 分析結果について報告する。シリコン基板上に形成したナノレンチへ金ナノ粒子コロイド溶液の界面張力により直径 100 nm の金ナノ粒子を配列し金ナノ粒子二量体を形成した(図 2)。AGCTAGCT の配列を有する 8 鎖長 DNA オリゴマー分散液(濃度 $10 \mu\text{M}$)を基板上に滴下し, SERS 計測を行った。

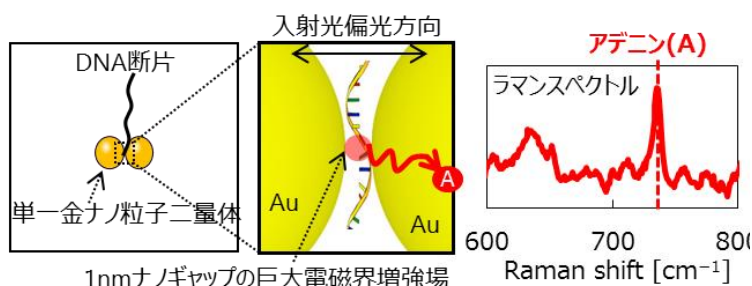


図 1 金ナノ粒子二量体を用いた表面増強ラマン分光 (SERS) による DNA 断片の検出および構成要素同定

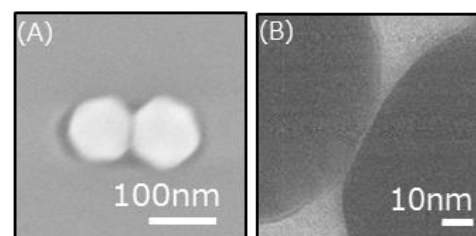


図 2 作製した金ナノ粒子二量体の電子顕微鏡写真 (粒子直径 100 nm)

SERS 計測により得られたラマンスペクトルを図 3 に示す。アデニンやグアニン、骨格部分に由来するラマンピークが観測させ、高速高感度に DNA オリゴマーの構成分子を検出・同定することに成功した(図 3)。ラマン散乱光を増強するナノギャップが 1 nm 程度であること、およびラマンピーク強度の時間変化から、単独の金ナノ粒子二量体により 1 つの DNA オリゴマーを検出できており、1 分子感度・1 分子分解能での分子同定が可能であると考えられる。

4. 今後の展開

これまで DNA シーケンシングに期待されてきたが感度不足により断念されてきた SERS 技術であるが、本研究で構築した技術によりラマン分光の特徴を生かした信頼性の高い DNA シーケンシングが期待される。さらに、本研究の高感度 1 分子計測技術の応用が期待される。

5. 発表実績

【学術論文】

- [1] K. Sugano, Nanotemplate-guided self-assembly of gold nanoparticles and its application to plasmonic bio/chemical sensing, *International Journal of Automation Technology*, Vol. 12, No. 1, pp.79-86 (2018)
- [2] K. Sugano, K. Ikegami, Y. Isono, Characterization method of relative Raman enhancement for surface enhanced Raman spectroscopy using gold nanoparticle dimer array, *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 56, No. 6S1, 06GK03 (5p) (2017)
- [3] K. Sugano, K. Aiba, K. Ikegami, Y. Isono, Single-molecule surface-enhanced Raman spectroscopy of 4,4'-bipyridine on a prefabricated substrate with directionally arrayed gold nanoparticle dimers, *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 56, No. 6S1, 06GK01 (5p) (2017)
- [4] T. Takeshita, K. Suekuni, K. Aiba, K. Sugano, Y. Isono, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Analysis Device with Gold Nanoparticle Arranged Nanochannel, *Electronics and Communications in Japan*, Vol. 100, No. 4, pp. 33-41 (2017)
- [5] 饗庭清仁, 池上晃平, 山崎真之亮, 菅野公二, 磯野吉正, 金ナノ粒子二量体配列を用いたアデニン分子の高感度表面増強ラマン分光検出, *電気学会論文誌 E 部門誌*, Vol. 136, No. 6, pp.256-260 (2016)

【招待講演】

- [1] K. Sugano, Plasmonic Nanostructure based on Self-Assembled Gold Nanoparticles for Highly Sensitive Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, *The 11th Annual IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (IEEE-NEMS2016)*, 2016.
- [2] K. Sugano, Single Molecule SERS with Directionally Arrayed Gold Nanoparticle Dimers on Substrate, *Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-state Science 2016 (PRiME2016)*, 2016.

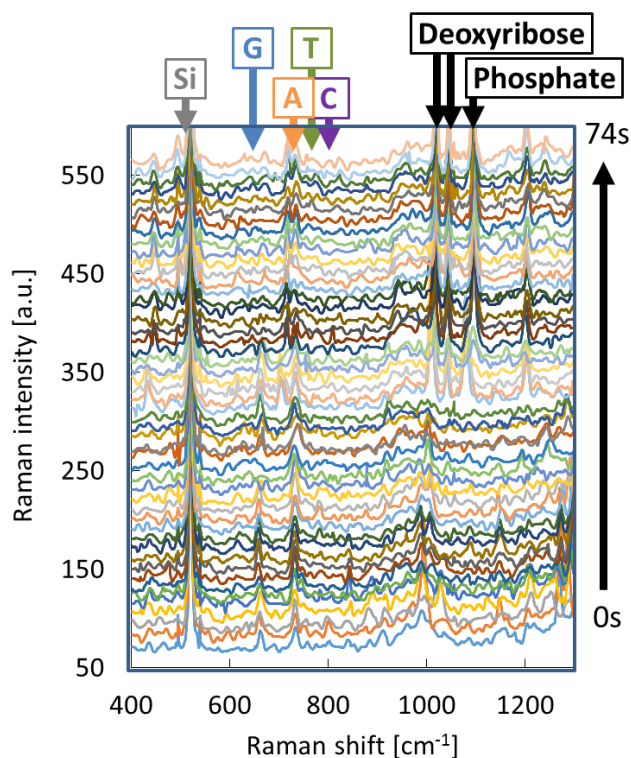


図 3 金ナノ粒子二量体 SERS 計測 (積算時間 0.5 秒, 計測間隔 1 秒, 計測回数 50 回) により得られたラマンスペクトル。