

振動分光法を用いたグルコース結合型銀ナノ粒子のキャラクタリゼーション
 (鹿児島大院理工) ○花田 涼, 新留 康郎, 藏脇 淳一

Spectroscopic Characterization of Glucose Binding Silver Nanoparticles
 by Using Vibrational Spectroscopy

(Kagoshima Univ.) ○Ryo Hanada, Yasuro Niidome, Junichi Kurawaki

【序】

銀ナノ粒子(AgNP)は、そのサイズや形状ならびに表面構造に依存した特有の分光特性を持つ。さらに、表面プラズモン由来の吸収バンドを紫外～近赤外域に示すことや、顕著な電場増強現象を示すことから高感度バイオセンサーや分光分析手法の開発・応用へ期待が持たれている。一方で、生体内における細胞やタンパク質と糖鎖との相互作用は一般的には弱いとされている。そこで、AgNP をキャリアーとし、AgNP の光学特性を利用することで標的分子の高感度な分析への応用を考案した。タンパク質や球状ウイルスは糖鎖認識部位を複数持っており、多価結合を利用して AuNP を用いた検出が可能である。本研究では、グルコース結合型 AgNP を創製し、ターゲットタンパク質を検出する手法を開発し、振動分光法により詳細に調べた結果について報告する。

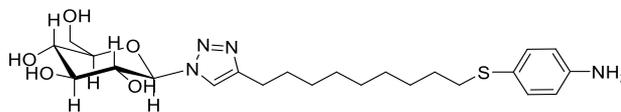


Fig.1 *p*-アルキルスルファニルアニリン誘導体(C9-Glc)

【実験】

1. グルコース結合型銀ナノ粒子の新奇合成法の開発

Fig. 1 に示すような末端にグルコースを有する *p*-アルキルスルファニルアニリン誘導体(C9-Glc)を独自に合成し、還元性安定化剤として用いて AgNP を創製した。調製した銀コロイド溶液のキャラクタリゼーションを吸光度測定、SEM、TEM、DLS、EDX、電子回折、XPS、FT-IR 吸収分光法により行い、AgNP の分光特性や表面状態、AgNP と C9-Glc の分子間相互作用に関する知見を得ている。

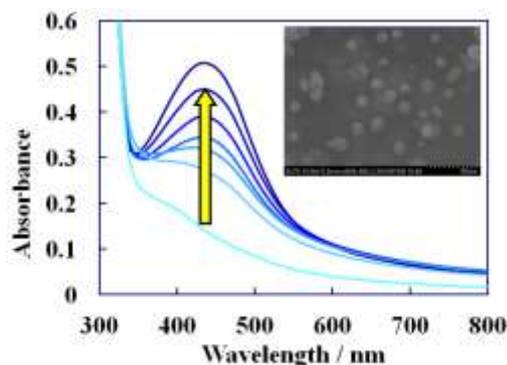


Fig.2 AgNP の吸収スペクトル SEM 像

2. C9-Glc 結合型 AgNP を用いたモデル物質の検出

バイオセンサーへの応用性を評価する目的で、モデルタンパク質としてコンカナバリン A (Con A) を用いた。Con A にはグルコースと特異的に結合する性質があり、調製した AgNP に Con A を添加すると単分散状態から凝集状態へと変化し、この変化を吸収スペクトルならびに SEM により観察することで Con A を検出することが可能となる。SEM 像と吸収スペクトルを測定することにより、Con A の検出限界を求めた。さらには、蛍光色素のローダミン 6G とラマン測定による SERS 効果を応用した Con A の検出も行い、本研究で創製した AgNP の応用性について評価を行った。

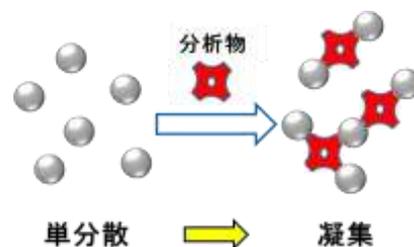


Fig.3 AgNP の凝集体形成の概念図

【結果と考察】

1. グルコース結合型銀ナノ粒子の新奇合成法の開発

吸収スペクトルの測定結果は、437 nm 付近に AgNP のプラズモンバンド由来の吸収バンドの存在を示し、SEM 像と DLS ならびに電子回折の結果から、単分散状態で平均粒径が 20.7 ± 0.5 nm の AgNP が多結晶で存在することが確認できた。これらの結果から、C9-Glc を用いた AgNP の一段階合成に成功した。加えて、FT-IR スペクトルのメチレン由来のピーク波数シフトから、AgNP 表面の C9-Glc のメチレン鎖はすべて trans コンホメーションで存在し、創製した AgNP は solid-like な表面状態をもつことが分かった。この結果から、修飾分子の吸着密度が高く、ミセル型の会合体を形成しながら Ag^+ を還元しつつ AgNP が形成されていることが考えられる。高密度の修飾分子は凝集を阻害し、AgNP の機能性の保持に有効であるといえる。

2. C9-Glc 結合型 AgNP を用いたモデル物質の検出

Con A の添加に伴い 437 nm の吸光度が減少するのみならず長波長シフトが観測された。SEM 像からも AgNP の凝集が確認できた。また、AgNP 溶液本来の色は黄褐色であるが、Con A の添加に伴い溶液の色が消失していくのが見られた。現在、極めて低濃度である 50 pM の Con A を十分な感度で検出することに成功している。

一方、ラマン測定の結果から、ローダミン 6G の発光が AgNP 存在下では消光されるが、Con A 添加後では発光が増強されていることが観察できた。この結果はローダミン 6G が AgNP に吸着すると蛍光消光が起こるが、Con A 存在下では AgNP が凝集状態をとるため粒子間のローダミン 6G の蛍光が増強されていると考えられる。この結果は Con A と AgNP が相互作用していることを示唆している。

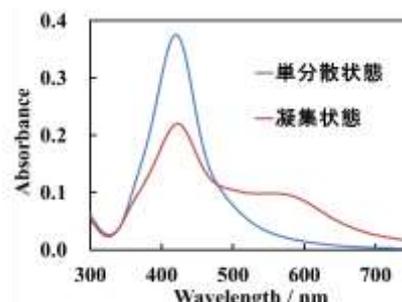


Fig.4 Con A 添加後、凝集した AgNP の吸収スペクトルの変化