

内部標準を有する SERS プローブを利用した高精度核酸定量法の開発

(京工繊院工芸) ○太田 良・福島 雄基・荒木 悠汰・和久 友則・小堀 哲生

Development of ratiometric SERS assays for reliable quantification of nucleic acids using SERS probes with internal standard. (*Graduate School of Science and Technology, Kyoto Institute of Technology*) ○Ryo Ota, Yuki Fukushima, Yuta Araki, Tomonori Waku, Akio Kobori

Recently, surface-enhanced Raman scattering (SERS)-based assay for the detection of nucleic acids has been expected as a new detection method that replaces quantitative PCR. SERS, in which Raman scattering of molecules adsorbed on gold nanostructure surfaces is amplified by localized surface plasmon resonance 10^8 – 10^{10} -fold, allows for single-molecule detection. However, there has been little study of SERS-based assay for accurately quantifying target nucleic acids because SERS intensities are poor reproducibility. Herein, we report that a novel ratiometric SERS assay for reliable and facile quantification of target DNAs using two types of SERS probes with bioorthogonal Raman reporters.

Keywords : Surface-enhanced Raman scattering, Gold nanostar, Bioorthogonal Raman reporter, Nucleic acid-based quantification method

表面増強ラマン散乱 (SERS) は金属表面上に吸着した分子のラマン散乱光を 10^8 – 10^{10} 倍に増強することが可能である。近年では、SERS を利用した核酸検出法は qPCR に代わる新たな検出法として期待されている。しかし、SERS はシグナルの再現性が乏しいため、定量分析にはほとんど応用されていない。そこで、我々は SERS シグナルの再現性向上を目指し、内部標準によってシグナル強度を補正可能な 2 種類の SERS プローブ (SERS プローブ 1, SERS プローブ 2) を開発した^[1]。SERS プローブ 1, 2 には、生体分子のシグナルが観測されないサイレント領域にシグナルを有する 2 種類の生体直交型ラマンレポーター (PEP: ●, EP (内部標準): ●) を導入した。また、SERS プローブ 1, 2 に導入する核酸は標的核酸を介して核酸三元系を形成するように設計した。さらに、この核酸三元系を固相上に集積させるために、SERS プローブ 2 はシリカビーズ上に固定化した。

SERS プローブ 1, 2 を用いて核酸検出を行ったところ、PEP のシグナル強度は標的核酸の濃度に依存して増加した。また、EP で PEP のシグナルを補正することで、決定係数 R^2 が 0.83 から 0.98 に向上した。さらに、本定量法を用いることで、標的核酸の自動検出にも成功した。

[1]. R. Ota, *et al.*, *Chem. Lett.*, **2020**, Advanced online publication. doi:10.1246/cl.200798.

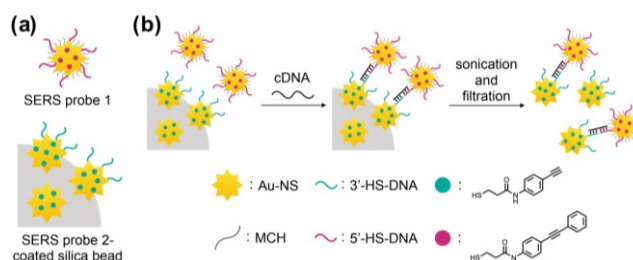


Figure 1. (a) SERS probe 1 and SERS probe 2-coated silica beads for ratiometric SERS assays. (b) Procedures for detecting target DNA using SERS probe 1 and SERS probe 2-coated silica beads.