

# 薄膜干渉基板を用いたラマン分光免疫アッセイのための基礎研究

## Basic Research for Raman Spectroscopic Immunoassay

### Using an Optical Interference Mirror Slide

○安田 充<sup>1</sup>、秋元 卓央<sup>2</sup>、尾崎 幸洋<sup>1</sup> (1. 関西学院大院理工、2. 東京工科大応用生物)

○Mitsuru Yasuda<sup>1</sup>, Takuo Akimoto<sup>2</sup>, Yukihiro Ozaki<sup>1</sup>

(1.Kwansei Gakuin Univ., 2.Tokyo Univ. of Tech.)

E-mail: m.yasuda@kwansei.ac.jp

#### 1. 諸言

ガラス基板上に Ag 膜、その上に Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 薄膜を形成した薄膜干渉基板では、一般的なガラス基板に比べ、蛍光分子 Rhodamine B からの蛍光強度が 100 倍以上増強する [1]。高度の増強は主に Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 層内での励起光と蛍光両方の光学干渉に基づく [2]。この高い蛍光増強効果を利用することで、蛍光標識タンパク質の検出における蛍光強度を 50 倍以上増強できる [3]。しかし、この手法では標的分子に蛍光分子を標識する必要があったため、我々はラマン分光法に着目した。

ラマン散乱のメカニズムは、蛍光発光のそれとよく似ており、蛍光法と同程度の増強がラマン分光で得られると予想される。また、蛍光法では得られないスペクトルという分子情報の獲得がラマン分光法の特徴であり、ラベルフリーで分子間相互作用検出の詳細な解析が期待できる。

そこで本研究では、薄膜干渉基板を用いたラマン分光法に基づく高感度免疫アッセイの基盤を確立するための基礎研究を目的とした。

#### 2. 実験

スパッタリング装置を用いて、ガラス基板上に 500 nm の Ag、その上に Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> を形成した薄膜干渉基板を作製した。この基板での蛍光増強は光学干渉により、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚の増加とともに周期的に変化するため [2]、ラマン散乱強度も膜厚に応じて変化すると予想される。最大ラマン散乱強度を得るために、最適な Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚を光学干渉理論により算出した。

得られた結果を基に、その膜厚をもつ薄膜干渉基板を作製し、薄膜干渉基板と一般的なガラス基板上にタンパク質をスポットした。乾燥後、514 nm のレーザーを用いてラマンスペクトルを測定し、薄膜干渉基板とガラス基板でのラマン散乱強度を比較した。

#### 3. 結果と考察

514 nm の励起光が光学干渉により強め合う Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚は約 79 nm であった。一方、ラマン分光におけるピークは主にシフト量 0–1,800 cm<sup>-1</sup> に含まれるため、最大ラマンシフト量を 1,800 cm<sup>-1</sup> と仮定したとき、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚は約 87 nm まで変化する。したがって、シフト量 0–1,800 cm<sup>-1</sup> での最適な Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚は 79–87 nm であることがわかった。

この結果に基づき、約 80 nm の Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 膜厚をもつ薄膜干渉基板を作製した。つぎに、薄膜干渉基板とガラス基板でのタンパク質のラマンスペクトルを測定し、ラマン散乱強度の増強度を評価した。このプロセスを介して、ラマン分光法に基づく高感度免疫アッセイのための基盤を確立した。詳細については当日、報告する。

[1] T. Akimoto, M. Yasuda, and I. Karube, *Appl. Opt.* 47, pp3789–3794 (2008).

[2] T. Akimoto and M. Yasuda, *Appl. Opt.* 49, pp80–85 (2010).

[3] M. Yasuda and T. Akimoto, *Anal. Sci.* 28, pp947–952 (2012).