

令和元年6月19日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17757

研究課題名(和文) 表面プラズモン共鳴による高感度キラル光学測定法の開発と極微キラル試料分析への展開

研究課題名(英文) Development of highly sensitive chiroptical measurements with surface plasmon resonances for analysis of trace amount of chiral molecules

研究代表者

西山 嘉男(Nishiyama, Yoshio)

金沢大学・物質化学系・助教

研究者番号：40617487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：極微キラル試料を分光分析するための方法として、表面プラズモン共鳴を利用したキラル光学測定法の開発を行った。研究開始前より着手していた、金薄膜蒸着プリズムを基盤とする表面プラズモンエリプソメトリーを非線形光学検出方式にすることで、キラル分子の検出感度を向上させることができた。また、バルクのキラル分子溶液を対象とする円二色性測定を、偏光子と波長板のみを用いた簡易な装置構成で実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

円二色性測定は、タンパク質やアミノ酸だけでなく、薬剤など多くのキラルな分子を分析する方法として用いられてきたが、装置が高額であることや微小試料には適用が困難であることが課題であった。本研究計画で、円二色性測定をより簡易に実現したことや、マイクロメートルスケールの微小キラル試料を計測できる測定法を開発したことは、今後、これらの測定法が生化学など多くの研究分野における分析法として活用できると期待される。

研究成果の概要(英文)：I developed chiroptical measurement assisted by surface plasmon resonance to analyze microscopic chiral samples spectroscopically. The detection sensitivity of chiral molecules is improved by introducing nonlinear optical detection mode into surface plasmon ellipsometry. I also achieved novel circular dichroism spectrometer for bulk solutions chiral molecules, that has simple configuration consisting two linear polarizer and a quarter wave plate.

研究分野：分析化学

キーワード：表面プラズモン キラル分光分析 円二色性測定

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

金や銀といった貴金属の薄膜やナノ粒子は自由電子の集団振動であるプラズモンがナノスケールの空間に閉じ込められることによって、特異な光学特性を示す。それ故、高感度分析法を始めとする多くの分野での応用が検討・実現されてきた。特に、(i) プラズモン共鳴波長が周囲の屈折率に応じて変化する、(ii) ナノ粒子近傍に増強された光電場を生じて表面増強効果をもたらす、という二つの性質を利用した分子センシングや生体分子間相互作用検出は、分析化学において広く適用されている。

さらに、近年、金属ナノ粒子は円二色性(CD)などのキラルな光学物性においても特異な性質を示すことが報告され、急速に注目を集めている。CDは旋光性と並んで、キラルな分子特有の性質であるため、生命科学の分野では汎用な分析法となっている。しかし、分子のCDは極めて小さいことが課題であり、極微量の試料の計測は極めて困難であった。これに対して、貴金属ナノ構造で生じるプラズモン共鳴を利用することで、キラル分子を高感度に検出できる報告が挙げられ、極微試料などこれまでは実現が困難だったキラル試料の分析に向けての適用が期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、金属薄膜で生じる表面プラズモン共鳴を利用した高感度キラル光学測定法を開発する。特に、二次的非線形光学効果を利用することで、キラルな分子の検出感度を大幅に向上させ、極微なキラル分子の試料を計測できる性能を実現する。さらに、適用試料を糖やアミノ酸といった標準的な試料からタンパク質に展開することで、生体関連分子の分析法としての有効性を実証する。

3. 研究の方法

研究開始時に構築していた表面プラズモン共鳴エリプソメトリーを、高感度化のため非線形光学検出方式へ拡張する。具体的には、金属薄膜基板への照射光としてパルスレーザー(1064 nm, 5 ns)を用い、第二高調波発生(SHG, 532 nm)を検出する。この際、基板上にキラル溶液が存在すると、表面プラズモン励起に最適な偏光がP偏光からわずかに変化する。そのため、入射角を変えて、検出するSHG強度が最大となる偏光を計測することで試料の有するキラリティ(円二色性、旋光度)を計測することが可能となる(図1)。特に、溶液内のキラルな性質が支配的に寄与するSHGの特徴を利用することで、反射光を検出する通常表面プラズモン共鳴エリプソメトリーでは課題であった検出感度(キラルな純溶媒のみが計測可能)を大幅に向上させる。

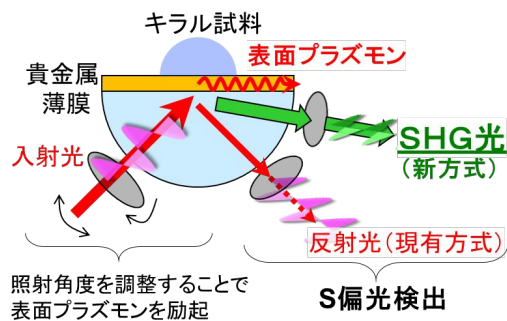


図1. 第二高調波発生(SHG)検出に基づいた表面プラズモンエリプソメトリー。

4. 研究成果

(1) 開発したSHG検出方式での表面プラズモンエリプソメトリーを、試料として1% D-グルコース、またはL-グルコース水溶液を金基板上に配置した中で行った。その結果、互いに逆方向の偏光回転が明瞭に観測されたとともに、薄膜モデルから計算される値と良い一致を示した(図2)。このキラル検出能はこれまで行ってきた反射光の偏光検出方式では不可能であり、キラル検出能の高いSHGによりキラル選択性を飛躍的に向上させることに成功した。また、濃度に対してSHG最大偏光角も比例し、この手法の定量性も確認された。

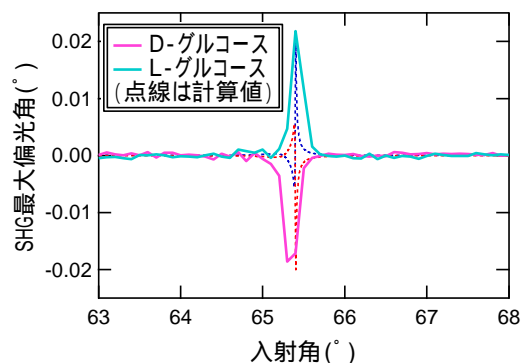


図2. 1% D-グルコース、L-グルコース水溶液のSHG検出表面プラズモンエリプソメトリー。

さらに、タンパク質の一つである牛血清アルブミン(BSA)に適用した。その結果、BSAの存在時にはキラルな信号として正のSHG最大偏光角の変化が観測され、バルクの旋光分散測定で得られるキラリティ(比旋光度 $[\alpha] = -61^\circ$)と合致した。一方、BSAの金薄膜への吸着は測定時間の間でも進行するなどわずかな時間でも顕著であり、そのため濃度に対する信号の線形性など測定の定量性を得るには至らなかった。

(2) 新規円二色性測定法の開発

本計画では、直線偏光子と1/4波長板のみから構成される新規CD測定法を開発し、その原理検証を行った。この手法では、市販のCD測定装置のように、左右の円偏光を交互に照射するのではなく、直線偏光を照射した上で試料のCDによる偏光特性の変化(=試料により生じる楕円率)を直線偏光子と1/4波長板を用いて分光検出する(図3)。これにより、市販のCD測定装置に比べて装置の小型化や低コスト化が実現でき、さらに、分光検出器で計測するために測定の短時間化も期待される。

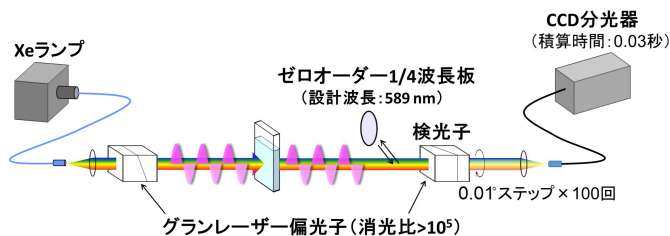


図3. 楕円率計測に基づく円二色性測定装置の構成図。

この測定法の原理検証のために、紫外から近赤外に至る幅広いスペクトル領域でCDを示す酒石酸ニッケル(II)の光学異性体(L体、D体)に対して適用した。図4に示すように、L体、D体では対称なCDスペクトルが得られ、これらのラセミ混合物ではCDは消失することが確認できた。また、市販装置と比較すると、波長板が機能する可視-近赤外領域(450-1000 nm)では測定誤差範囲内で一致し、市販装置の光検出能が低下する近赤外領域ではノイズをより低減できることが確認された。

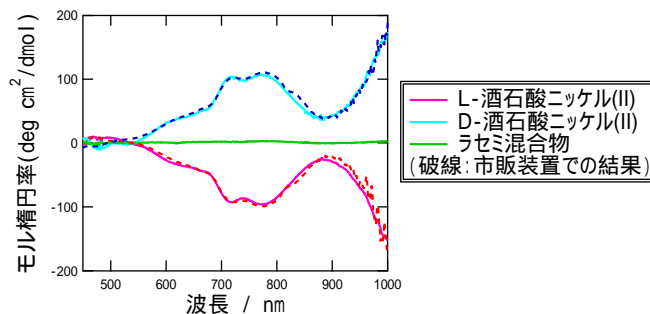


図4. 楕円率計測に基づく円二色性測定装置により測定したL-酒石酸ニッケル(II) (赤), およびD-酒石酸ニッケル(II) (青), およびそれらのラセミ混合物 (緑)。破線は市販のCD分光装置(JASCO J-820)で測定した結果。

CD測定装置は、キラル分子に関して稀有な情報を提供する反面、市販装置は費用が高額であるため、現状では各研究室に普及する分析装置には至っていない。開発した測定法は、測定対象が溶液試料に限定されるものの、劇的な低コスト化(1/10以下)が実現でき、簡易なキラル分析法として生化学などの分野で適用が期待される。

(3) ランタノイド発光を利用したキラル分子検出

ユウロピウム(III)やテルビウム(III)などのランタノイドイオンは磁気双極子遷移による発光帯を有しており、この特性を利用することで高感度なキラル分子検出が期待される。そのため、アミノ酸であるアラニンやフェニルアラニンが配位したこれらのランタノイド錯体において、円二色性発光(発光の右回り・左回りの円偏光成分の差)を計測し、光学異性体の検出能を調べた。この際、水による消光を除くため、 β -ジケトンを用いた溶媒抽出により、イオン液体(1-butyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide)中で計測を行った。比較的アミノ酸濃度の高い条件(5 mM以上)では光学異性体間の違いが有意に観測され、これはイオン液体自身(特に、構成アニオン)が配位することで、アミノ酸の配位を阻害していることが要因であると考えられる。そのため、イオン液体の構成イオンを変えることで、一層の高感度化が実現できると期待される。また、最適な抽出条件を見出すために、イオン液体におけるランタノイドの溶媒抽出挙動も実験的に明らかにし、イオン液体は原子番号がより大きいランタノイドにおいて高い抽出性能や分離効率を示した。(論文、)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Anomalous Lanthanoid(III) Species Extracted with 4-isopropyltropolone and Neutral Ligands in an Ionic Liquid

Yohei Higuchi, Yoshio Nishiyama, Hirohisa Nagatani, Hisanori Imura
Monatsh. Chem. 105, 821-829 (2019)[DOI: 10.1007/s00706-019-02416-4]

Synergistic Extraction Equilibrium of Lanthanide(III) Ions with Benzoylacetone and a Neutral Ligand in an Ionic Liquid

Mizuki Hatakeyama, Yoshio Nishiyama, Hirohisa Nagatani, Hiroyuki Okamura, Hisanori Imura
Solvent Extr. Res. Dev.-Jpn., 25, 79-89 (2018).[DOI:10.15261/serdj.25.79]

[学会発表](計11件)

「イオン液体/水系におけるEu(III)キレート抽出速度」

米澤 光晴, 西山嘉男, 永谷広久, 井村 久則
第 37 回溶媒抽出討論会, 同志社大学今出川校地 (京都市), P20, 2018.11.26 (Poster)
トロポロンと疎水性中性配位子を用いたイオン液体協同効果系におけるランタノイド(III)
の抽出平衡解析
樋口 陽平, 西山 嘉男, 永谷 広久, 井村 久則
第 78 回分析化学討論会, 山口大学 (宇部市), P2034, 2018.5.27 (Poster)
Synergic Ionic-Liquid Extraction of Lanthanoid(III) with Tropolone and Hydrophobic
Neutral Ligands
Yohei Higuchi, Yoshio Nishiyama, Hirohisa Nagatani, Hisanori Imura
The 21st International Solvent Extraction Conference (ISEC2017), Miyazaki, P46,
2017.11.07 (Poster)
楯円率計測を利用した新規円二色性測定法の開発
西山 嘉男, 石川 翔一, 永谷 広久, 井村 久則
日本分析化学会 第 66 年会, 東京理科大学 (東京都), P2014, 2017.9.10 (Poster)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://chem.s.kanazawa-u.ac.jp/anal/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西山嘉男 (Nishiyama Yoshio)

金沢大学・物質化学系・助教

研究者番号: 40617487

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。