

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：10103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05106

研究課題名(和文) 高感度表面増強旋光度計測法の開発と分子異性化の in situ可視化への応用

研究課題名(英文) Development of surface-enhanced rotational spectroscopy method and its application to in situ visualisation of molecular isomerisation

研究代表者

高瀬 舞 (Takase, Mai)

室蘭工業大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：20631972

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)：本研究では、表面プラズモン共鳴が生じる強い電場内にキラル分子を存在させることにより、通常単分子レベルでは検出できない分子の旋光度を検出する方法の開発を行った。その結果、旋光性を有する分子を貴金属微粒子の表面に吸着させることによって、SPRに起因する吸収が旋光性を有するとともに、吸着分子の旋光度が著しく増大することが明らかとなった。この現象は、貴金属微粒子の量に非線形に応答したため、貴金属微粒子が単粒子ではなく複合した場合のSPRのカップリングによる増強もまた旋光度の増大に影響を与えることが示唆された。このように高感度な測定が可能となり、in-situによる動的観測の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで物質固有の比旋光度を有するため、測定が難しいとされてきた微小な旋光度の変化について、その旋光度を増強することにより、通常の旋光度計をもちいて計測することが可能となった。これにより、非常に低い濃度で含まれる、毒性の強い分子を、in situの旋光度計測により見つけることが可能となる。このような理工学分野の基礎的な知見によって、医療をはじめとする人の生活に直結する化学技術となると考えている。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a method to detect the optical rotation of molecules that are usually undetectable at the single-molecule level by placing chiral molecules in a strong electromagnetic field in which surface plasmon resonance is generated. As a result, it was found that by adsorbing molecules with optical rotation on the surface of noble metal particles, the absorption due to SPR has optical rotation and the optical rotation of the adsorbed molecules is significantly increased. This phenomenon responded nonlinearly to the amount of noble metal nanoparticles, suggesting that the enhancement due to coupling of SPRs when the metal particles are complexable rather than monoparticles also affects the increase in the degree of optical rotation. Thus, highly sensitive measurements were possible, indicating the possibility of in-situ dynamic observation.

研究分野：光無機材料化学

キーワード：表面プラズモン 表面増強分光 比旋光度 エナンチオマー 微量分析 キラル分子検出 分子分別

1. 研究開始当初の背景

旋光度測定による光学活性評価： 光学活性な分子に直線偏光を入射するとその偏光面が回転し、この回転角度を旋光度と呼び、分子のもつ旋光性がどちら向きにどの程度か、を知ることができる (図 1)。濃度と光路長に比例する旋光度は、温度と入射光波長に対し物質固有の比旋光度を有する。また、分子が吸収しない波長の光でも測定可能で、入射する光の波長を選ばないため、どのような波長の光でも直線偏光でありさえすれば測定することが可能である。旋光度計の感度は、高くても 0.002°程度であり一般的にミリモルのオーダーの溶液が必要になる。できるだけ正確な値を導くにはより高濃度溶液 (1g/mL に近づける) が必要となる。簡便な旋光度計測では 1%以下のエナンチオマーは通常検出不可能である。数マイクロモル以下を対象とする、極微量な分子を選択的に検出するシステムの構築により、旋光度によるその場かつ迅速な測定が可能となる。

光学活性分子の同定： 分子構造から推定する核磁気共鳴 (NMR) や X 線構造回折 (XRD)、光学特性を利用する円二色性 (CD) スペクトルや赤外円二色性 (VCD) スペクトル、旋光分散 (ORD) スペクトル、旋光度といった測定が行われる。これらどの測定においても、例えばラセミ体中に存在するごく少量 (1%未満) の光学活性体の検出など微量分析は極めて困難である。結晶の晶癖により分離可能な場合もあるが、生体関連物質、特に薬効の得られる光学活性分子においては 1%未満のエナンチオマーのために生命にかかわる危険を伴い、その利用に制限が生じることがある。したがって、簡便かつ高感度な光学活性分子の同定方法が必要である。

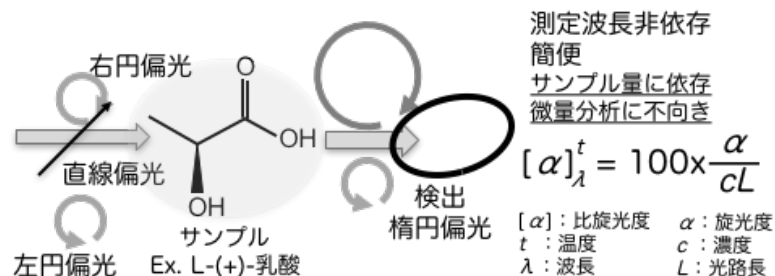


図 1 旋光度計測に関する模式図

申請者は表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用する表面増強ラマン分光において単一分子を検出できることを見出し (MRSJ, 32 (2), 409-412 (2007)/JPPA, 221 (2-3), 169-174 (2011)), その感度が SPR による強電場および金属との相互作用による化学的効果によることを報告した。旋光度はミリモル以上のできるだけ高濃度な溶液を必要とするため、この増強機構を旋光度計測に適用することで高感度化ならびに旋光度における表面プラズモン共鳴 (SPR) と分子の相互作用を真に明らかにする。医学、薬学、生物、農学など人の生存と大きく関わるキラリティのシンプルな手法での高感度検出は学術的ブレークスルーとなると考える。

2. 研究の目的

本提案研究の主たる目的は、簡便な測定手法である旋光度計測に SPR を導入し、フェムトモルオーダー、単分子レベルの高感度分析を可能とし、以下に挙げる点を明らかにする。

- SPR アクティブな構造体の露出結晶面に関する解析と吸着分子の配列への影響
- BNSH による選択的分子捕捉による能動的ターゲット分子-SPR 結合の構築
- SPR が旋光度計測に与える影響とそのメカニズム

光学活性分子への SPR による感度の向上は、SPR 効果を利用する新たな分野の開拓である。申請者のこれまでの研究において SPR-キラリティの相互作用の存在が認められている (2-(1))。本申請においては単分子レベルの検出を多数分子の検出と同様のタイムスケールで行うことに意味があり、これにより in situ 測定を可能とする。特にサリドマイドパラドクスのような一定の環境下において自発的にラセミ化するような分子に対し、その経時変化をリアルタイムに観測することが可能となる。これは、生体内で利用する全ての光学活性分子にとって重要な知見を与えると確信している。このようなアプローチは他になく、メカニズムを詳細に解析することにより特に微量、低感度な他の測定法へも SPR を導入可能とする。汎用性に優れた検出技術は理工学、医療、薬学、農学など衣食住や健康を支える様々な分野においても重要な課題であり本申請研究の成果は多くの分野へ影響を与えるものである。

3. 研究の方法

金/銀コロイドの調製と表面構造評価： 前駆体となる貴金属化合物と還元/保護剤の多価カルボン酸を変えて粒子形状、粒径、表面露出結晶面について明らかにする。

金属粒子表面へのBNSH単分子層の構築： コロイド表面の保護剤をキラリティを有する分子に変換する。吸着エネルギーの違いを利用し、または、還元保護剤としてこれらの分子を使用することによって保護分子を置換、規則配列単分子層を構築する。

分子複合系における光学特性評価： 紫外可視吸収、円二色性 (CD) , 赤外スペクトルに対する、SPR の影響を明らかにする。

旋光度増強現象の増強率とメカニズムの解明： 前年度の結果より算出した増強率から SPR による光との相互作用の時間、光、SPR 電場の寄与を明らかにする。

選択的分子捕捉と高感度 in situ 分析への展開： 光学活性な BNSH やその他の分子について選択的分子捕捉を探索する。サリドマイドはその光学異性体が重篤な副作用を起こすことよりも、ケト-エノール平衡により体内で有毒な光学活性体に変化することがキーである。このような変化をする分子を種々の環境下において in situ 測定により明らかにすることで、特に生体内で起きる危機的状況を事前に予測できる技術へ展開する。

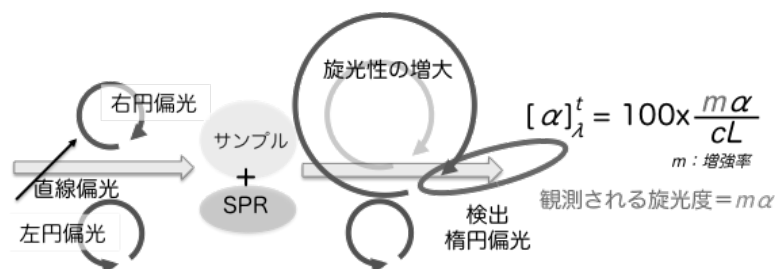


図2 「表面増強旋光計測」のメカニズム。

4. 研究成果

種々の保護剤で調製した金コロイドは、クエン酸、*meso*-酒石酸で還元したコロイド溶液は透明度のある、プラズモン共鳴吸収に起因するワインレッド色の溶液が得られた。D-酒石酸、L-酒石酸、DL-酒石酸、またはD, L-酒石酸混合溶液のキラリティを有する分子で修飾された金コロイド溶液は濁ったワインレッド色の溶液が得られた。何れの溶液もコロイドの特有の現象であるチンダル現象を示したことからコロイドの生成が

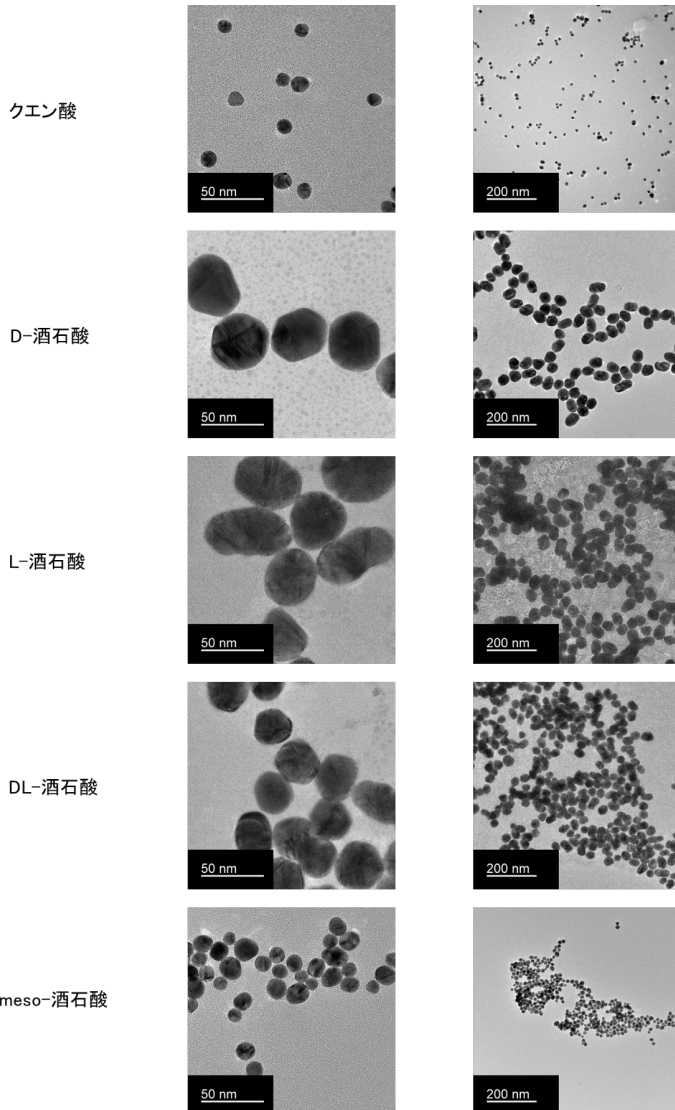


図3 各種保護剤で安定化させた金コロイド溶液の TEM 像

確認できた。クエン酸、酒石酸以外の多価カルボン酸で安定化させた金コロイド溶液の様子を図 3.2 に示した。リンゴ酸、アスパラギン酸、グルタミン酸で安定化させた金コロイド溶液は酒石酸に近い懸濁した溶液が得られた。

クエン酸金、D-酒石酸金、L-酒石酸金、DL-酒石酸金、*meso*-酒石酸金の TEM 像を図 3 に示した。キラリティをもたないクエン酸金、*meso*-酒石酸金は 10-20 nm 程度と比較的小さい粒子径を持つ球状の粒子が得られ、キラリティを有する D-酒石酸金、L-酒石酸金、DL-酒石酸金では 30-50 nm 程度の比較的大きな粒子径を持つ球状および楕円回転体、六角形のコロイドが得られた。図 4 にはコロイド溶液をそのまま CD スペクトル測定を行った結果を示す。これより、SPR 吸収の

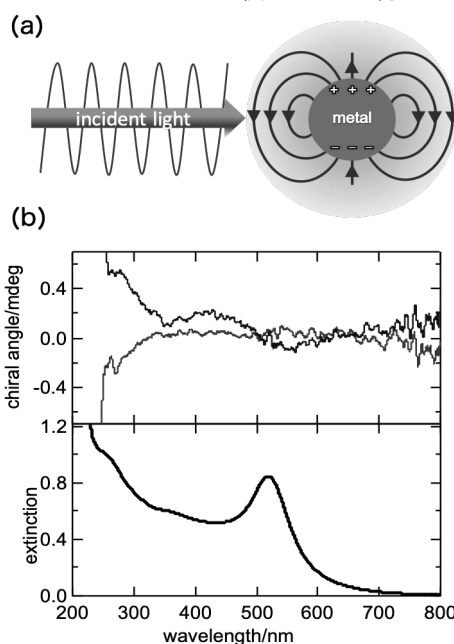


図4 表面プラズモン共鳴の模式図 (a), キラル分子を修飾した金コロイド溶液の CD スペクトル (b 上) は SPR 吸収の極大領域 (消光スペクトル: b 下) で両スペクトルが交差することが示された。

波長付近で交差することが確認された。したがって、表面にキラリティを有する分子を吸着している場合、SPR に対しても分子のキラリティが影響を与えることが示唆された。

そこでクエン酸と D, L ならびに DL-酒石酸をもちいて調製されたコロイド溶液に対して、L 及び D-酒石酸溶液を添加し、その濃度を変化させ旋光度測定を行った。その結果を図 5 に示した。図中の直線はそれぞれ L-酒石酸水溶液における旋光度、D-酒石酸における旋光度である。金コロイド溶液中における光学活性分子の旋光度は光学活性分子濃度に対

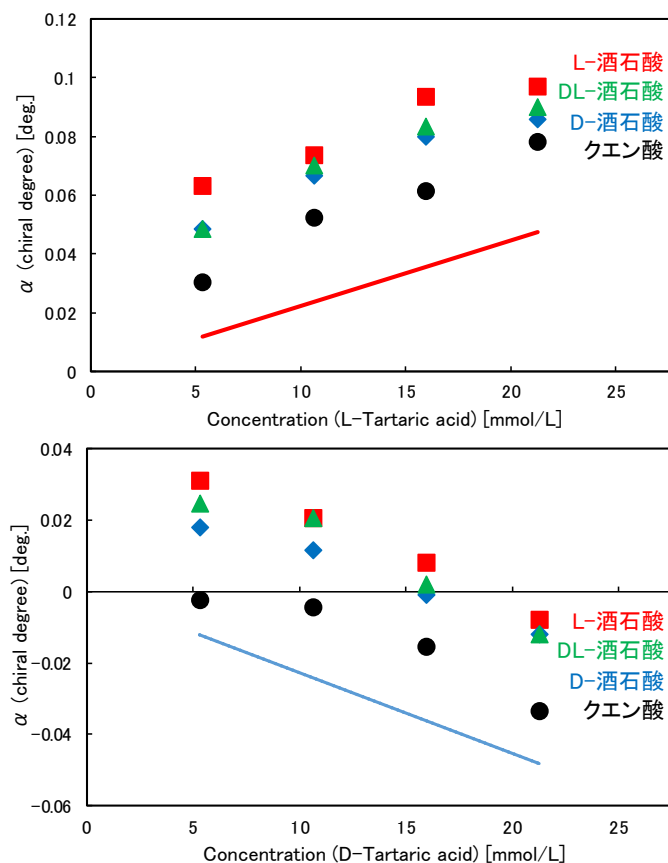


図 5 金コロイド溶液中における L-酒石酸 (上) および D-酒石酸 (下) の旋光度濃度依存性

して線形であり、金微粒子に吸着している分子とのみ相互作用を起し旋光度変調現象が起こることが示唆された。すなわち、SPR による光吸収は SPR 電場の影響が及ぼされる範囲内、特に貴金属表面近傍の吸着分子に強く影響を与えることが明らかとなった。表面増強ラマン分光や表面増強赤外分光など、SPR をもちいる表面増強分光においていわれてきた、貴金属表面との吸着による化学的な影響が、旋光度においても同様であることがわかり、本研究における旋光度の増大はこれまでの表面増強分光につながるものであることが強く示唆された。

以上のことから、貴金属コロイド粒子の還元保護剤にキラリティを有する分子をもちいることによって、粒径あるいは SPR に由来する光吸収についてキラリティを有する貴金属微粒子が合成されることが明らかになった。また、吸着分子の旋光度が著しく増大することが明らかとなった。この現象は、貴金属微粒子の量に非線形に応答したため、貴金属微粒子が単粒子ではなく複合可した場合の SPR のカップリングによる増強もまた旋光度の増大に影響を与えることが示唆された。このように高感度な測定が可能となり、in-situ による動的観測の可能性を示した。旋光度の増大を定量化かつ多くの光学活性分子に対して応用できるように研究がなされれば表面増強旋光度計測法の開発に近づくことができ、単なる現象の発見にとどまらず新たな分野への応用が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 TAKASE Mai	4. 巻 90
2. 論文標題 Development and Application of Semiconducting Materials with Controlled Shape and Structure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Electrochemistry	6. 最初と最後の頁 101006 ~ 101006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5796/electrochemistry.22-00112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤想真・古川慎悟・齊藤考亮・高瀬 舞・馬渡康輝
2. 発表標題 有機物分解反応を目指した希土類複合酸化物光触媒の合成と評価
3. 学会等名 第38回希土類討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高瀬舞・古川慎悟・下村拓也
2. 発表標題 イオン液体を利用して合成した金属酸化物光触媒の分光評価
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2022年夏季研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川慎悟・高瀬舞
2. 発表標題 二次元ラマン分光をもちいる金属複合型光触媒粒子の構造解析
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2023年冬季研究発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高瀬舞
2. 発表標題 ナノサイズのスロウカーボン
3. 学会等名 ナノ学会第21回大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古川慎悟・高瀬舞
2. 発表標題 ラマン分光法をもちいる金酸化チタン複合型光触媒粒子の構造解析
3. 学会等名 ナノ学会第21回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤想真, 古川慎悟, 齊藤考亮, 馬渡康輝, 高瀬舞
2. 発表標題 有機物分解反応を目指した希土類複合酸化物光触媒の合成と評価
3. 学会等名 第38回希土類討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊藤考亮, 高瀬舞
2. 発表標題 アルミニウムを含むスピネル型酸化物半導体の合成と光励起状態の利用
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2022年冬季研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 外本脩貴, 古川慎悟, 高瀬舞
2. 発表標題 構造を制御した酸化チタン光触媒の活性評価
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2022年冬季研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 粟津祥登, 馬渡康輝, 高瀬舞
2. 発表標題 銅-アミノ酸化合物の合成と機能探索
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2022年冬季研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤想真, 古川慎悟, 齊藤孝亮, 高瀬舞
2. 発表標題 ピスマス含有複合酸化物光触媒の形状と光学特性評価
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2021年夏季研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古川慎悟, 佐藤想真, 外本脩貴, 高瀬舞
2. 発表標題 ピスマス含有複合酸化物の光触媒反応
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2021年夏季研究発表会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------