

ナノ・バイオフィotonicsで生命の機能にせまる



研究室紹介

井上 康志*

The Approach to the function of life using nano-biophotonics technology

Key Words : function of life, nano-technology, bio-technology

【はじめに】

私たちの研究室は、ナノテクノロジーとバイオロジー、さらにフォトニクスを融合したナノ・バイオフィotonicsと呼ばれる研究分野の開拓を行っています。走査プローブ技術に代表されるナノテクノロジー、超短パルスレーザー光を用いる非線形フォトニクスを駆使し、細胞や生体分子を超高感度・高空間分解能でセンシング・イメージングする技術の研究・開発を行っています。

さて、本研究室は、2002年4月に生命機能研究科が本学に設立されたときに、工学研究科応用物理学専攻から研究科設立に参画することで、誕生しました。工学的・応用物理学的な観点から、生命機能を解明する光計測技術、イメージング技術開発の一翼を期待されたものと思います。当初は中村収教授と井上（当時助教授）の体制で研究室がスタートしました。しかしながら、研究室の立ち上げにご尽力されていた中村教授が2005年1月に亡くなりました。研究室の方向性を定められ、これからという矢先のことでした。現在は、井上康志教授、VERMA Prabhat 准教授、田中慎一博士研究員と9名の大学院生（工学研究科所属の学生も含めて）、3名の学部生（工学部応用自然科学科応用物理学コース）の所帯です。設立当初から、工学研究科応用物理学専攻河田研究室と密接に連携して教育・研究を推進

しています。それでは、現在研究室で行っている研究についていくつかご紹介いたします。

【研究概要】

生体細胞を生きたまま観察する機器として光学顕微鏡が最も普及しています。しかしながら、空間分解能は、光の波動性により、その波長程度に原理的に制限されています。この制限がある限り、光を用いて100 nmを切る空間分解能は実現することができません。そこで、この限界を克服するために、私たちの研究室では、金属のナノ構造体を利用しています。金属ナノ構造体内の自由電子が光と共鳴的に結合し、表面プラズモンと呼ばれる量子が金属ナノ構造体に局所的に生成されます。共鳴効果により光が増強されるとともに構造体の近傍のナノ空間に閉じ込められます。この現象、実は身近なところで見かけることができます。ステンドグラスです。中世の教会のステンドグラスには金のナノ粒子がガラスの中に分散されていて、表面プラズモンが金ナノ粒子に励起されることで、あざやかな色を呈します。このときの共鳴波長はナノ構造体のサイズ、形状、材質により制御することができるのです。この金属ナノ構造体近傍に閉じ込められた光をナノ光源として用いることで、波長による制限を超えた観察が可能になります。



*Yasushi INOUE

1964年5月生
大阪大学大学院工学研究科博士後期課程
修了（1995年）
現在、大阪大学大学院 生命機能研究科
教授 工学博士 ナノフォトニクス学
TEL : 06-6879-4243
FAX : 06-6879-7330
E-mail : inoue@fbs.osaka-u.ac.jp

私たちは、先端径がナノメートルスケールの金属の探針を用いて、ナノ探針先端に励起した表面プラズモンを光源とした光学顕微鏡（このような顕微鏡は近接場光学顕微鏡と呼ばれています）を考案、駆使し、ナノスケールの分子センシング、ナノイメージングを行っています。具体的には、このナノ光源により試料を照明し、試料からのラマン散乱光（ラマン散乱：光のエネルギーの一部が分子の振動エネ

ルギーに受け渡されることで、散乱光の周波数に変化する非弾性散乱現象)を検出することで、分子種の同定等を行います。とくに非線形な光学現象であるコヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)と組み合わせることで、15 nmの空間分解能を実現しています(図1)。使用しているレーザー光の波長が800 nm程度なので、波長の $1/50$ の構造を観察することができるのです。タンパク分子のサイズが10 nm程度であることから、タンパク分子を分光学的に見分けながら観察することを目標にして、さらなる空間分解能の向上を目指して開発を進めています。また、ナノ探針に使用する金属種によっては、金属原子が分子と化学的な吸着をします。この現象により特定のラマンバンドだけが周波数シフトし、これを検出することで分子の配向状態を観察することにも成功しています。さらに、ナノ探針で試料に力を加えながらラマン散乱光を検出することで、試料の力学的物性をナノスケールで評価できることも明らかにしています(図2)。ナノ探針による振動を加えることにより、新たなナノ計測法の提供と、さらなる空間分解能の向上ができるものと考えています。

直径が数10 nmの金属微粒子をナノ構造体として利用して、細胞内部を観察する手法についても研究を進めています。細胞に金属ナノ粒子を取り込ませ、ナノ光源として利用します。これまでに、金属ナノ粒子にレーザー光を照射し、ナノ粒子近傍からのラマン散乱光を検出することで、金属ナノ粒子近傍に存在する分子を特定することに成功しています。この方法を利用することで、エンドサイトーシスなどの各プロセスに関わる生体分子の動態や化学反応等を追跡することができるものと考えています。

これ以外にも、ライン照明光学系を利用した顕微ラマン分光システムの開発も行っています。照明光をライン状に形成し、試料に照射することで、線状に照明された領域からのラマン散乱スペクトルを、CCDカメラを用いて、同時に観察することができます。ライン照明を試料上で1次元方向に走査することで、試料の2次元イメージングを実現しています。これにより、従来のポイント照明を2次元走査するイメージング法と比べて格段の速度で画像を取

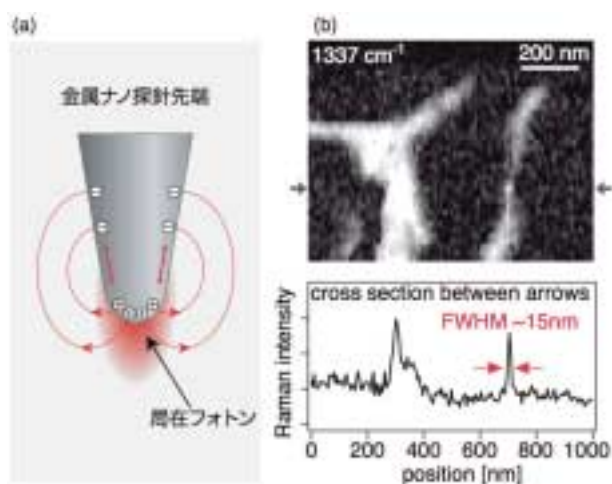


図1 近接場光学顕微鏡を用いた分子ナノイメージング：
(a) 金属ナノ探針先端に励起される局所的な表面プラズモン共鳴。ナノ探針先端に閉じ込められた光(局在光子)をナノ光源として利用する。
(b) コヒーレントアンチストークスラマン散乱を近接場励起して観察したDNAネットワーク。アデニンの分子振動を可視化し、15 nm(波長の50分の1)の空間分解能を達成。

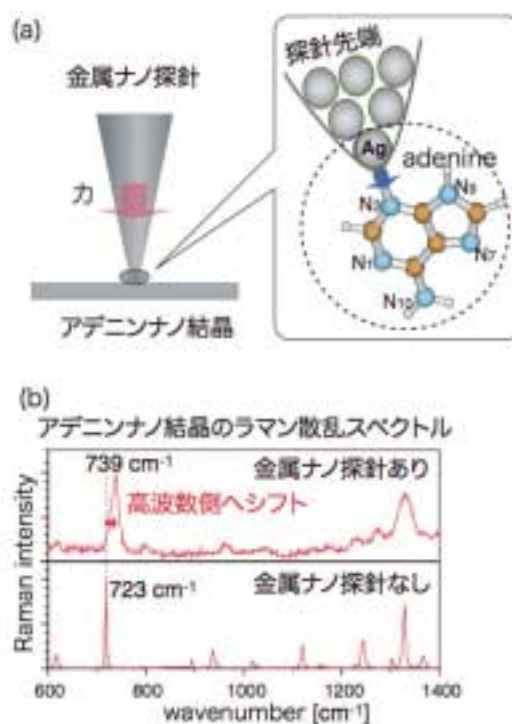


図2 金属ナノ探針と分子間に働く相互作用によるラマン散乱スペクトルの変化。
(a) ナノ探針先端の金属原子と試料分子の間に化学的相互作用および力学的相互作用が生じる様子の模式図。
(b) アデニンナノ結晶のラマン散乱スペクトル。723 cm⁻¹に見られるラマンバンドの振動数が、金属ナノ探針による振動により、高波数側(739 cm⁻¹)にシフトしている。

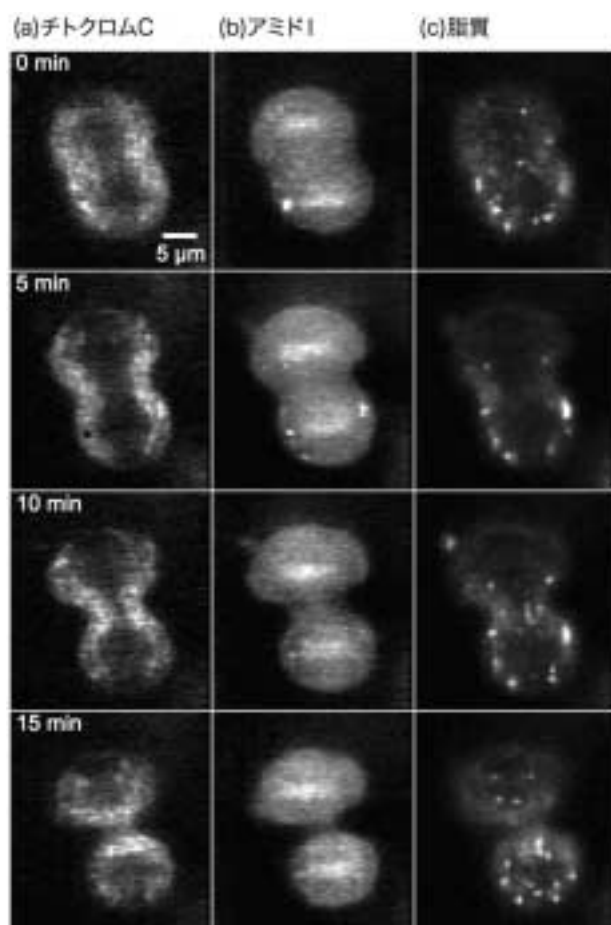


図3 HeLa細胞が有糸分裂する様子を観察したラマンイメージング。チトクロムC (観察波数 753 cm^{-1})、アミドI (観察波数 1686 cm^{-1})、脂質 (観察波数 2852 cm^{-1}) の空間分布をそれぞれ示す。

得することが可能となりました。図3は、開発した装置により HeLa 細胞と呼ばれる細胞が有糸分裂する様子を観察した結果です。チトクロムC (観察波数 753 cm^{-1})、アミドI (観察波数 1686 cm^{-1})、脂質 (観察波数 2852 cm^{-1}) の空間分布を個別にしかも同時に観察することを可能としました。この装置を用いて、有糸分裂中の細胞内の染色体を染めることなく観察することに成功しています。

【おわりに】

誕生してまだ日の浅い研究室ですが、ナノとバイオとフォトリクスをキーワードとして研究を進めています。ご紹介したように、光とナノ構造の相互作用を巧みに利用した計測・イメージング技術の研究開発と生体ナノ計測への展開を図っています。金属ナノ粒子が持つ色あざやかなきらめきに魅せられて、ナノ構造体の作製も行うようになりました。これら技術をさらに発展させ、生体分子のカイネティクスの解明等にも今後は携わっていきたいと考えています。最後になりましたが、ここで紹介した研究結果は学生諸氏、共同研究者の方々の協力なしでは得られなかった研究成果です。この場を借りて御礼申し上げます。

