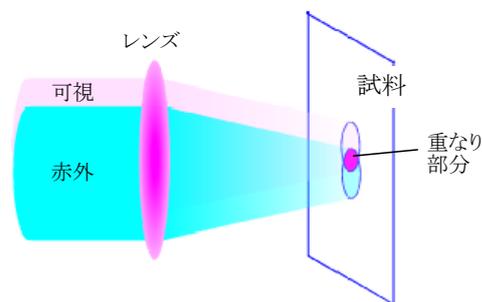


ディビジョン番号	1
ディビジョン名	物理化学

大項目	3. 凝縮系の物性と機能
中項目	3-6. 生物物理化学
小項目	3-6-2. 単一細胞の超解像赤外分光

概要（200字以内）

振動分光学に基づき、細胞・組織の特定部位の赤外吸収スペクトルを観測する、且つ、特定の赤外吸収帯の空間分布を画像化し、細胞や組織の構造と生命活動を可視化する測定法である。細胞内部のダイナミクスを可視化するにはナノメートル台の空間分解能が必要であるが、赤外領域の回折限界は波長と同程度のマイクロメートル台である。従って、赤外領域に対し回折限界以下の分解能を有する超解像赤外分光の適用が必要不可欠である。



図：超解像赤外分光の一例

赤外と可視の重なり部分のみを抽出することで赤外に対して回折限界を突破する超解像を達成できる。

現状と最前線

分子振動は分子構造と分子の置かれている環境を鋭敏に反映するため、生命科学の基礎となる細胞内部の生命活動を捉える手段として極めて有効である。近年では、ラマン分光と顕微鏡を融合させたラマン顕微分光や、共鳴ラマン散乱を利用したヘムタンパク分子測定などで新たな知見が得られてきている。赤外線吸収は、ラマン散乱と共に分子振動を測定する代表的手段である。従って、赤外線による微小部位の分光測定（顕微分光）や特定の赤外線吸収帯の空間分布を測定する赤外イメージングは生物物理化学の測定手段としても有効と考えられる。例えば、癌の迅速診断を念頭においた、アミドⅠ振動バンドによる赤外イメージングが生体組織などに対して試みられている。

一方で、赤外吸収を細胞など生物に適用する際には2つの大きな問題が存在する。第1の問題は空間分解能の低さである。空間分解能の低さは赤外線の波長に由来する本質的な問題である。光学顕微鏡の空間分解能は、波長： λ 、用いるレンズの開口数：N.A. に対して回折限界 $d = 0.61 \lambda / \text{N.A.}$ で決まる。赤外線を透過可能なレンズの開口数は一般に可視光より低い（0.4程度）うえ、赤外線の波長は数〜数十マイクロメートルであるため、赤外顕微鏡の空間分解能はマイクロメートル台が限界となる。一方、細胞内部の測定を行うには内部のオルガネラを区別できるナノメートル台の分解能が必要とされるため、現在市販されている赤外顕微鏡／顕微

分光装置による研究には大きな限界がある。従って、何らかの手段で回折限界以上の空間分解能、即ち超解像分解能を有する赤外顕微分光法が必要である。現在、細胞内部の観察を目的に行われている赤外超解像顕微分光法の試みとしては、赤外レーザーと可視レーザーを同時に用いる赤外-可視二重共鳴分光法と顕微鏡法を融合させた2波長超解像赤外顕微鏡法が上げられる。この方法は、赤外吸収によって生じた振動励起分子のみを、さらに可視吸収させることによって選択的に検出するものである（赤外-可視二重共鳴）。赤外-可視二重共鳴信号は、赤外と可視の重なり部分でのみ観測される（図参照）ため、赤外に対して回折限界以下の超解像を達成し、空間分解能を可視の回折限界並みに向上させることが可能となる。

もう一つの問題は水の赤外吸収による妨害である。生物試料、特に生命活動を行っている試料は水を多量に含んでおり、2.7マイクロメートル帯などの水の赤外吸収と重なる領域で生物試料を構成する分子の赤外吸収を測定することは至難の業である。これを回避するには水の吸収の影響の少ない中赤外領域を測定するか、強い水の吸収を補正できる測定手段が必要である。中赤外領域まで赤外線の波長を延ばすと、通常、赤外顕微鏡の空間分解能は波長で決まる回折限界により低下するが、前述の2波長超解像赤外顕微鏡法では、赤外と可視の重なり部分からのみ信号が観測されるため赤外線の長波長化によっても空間分解能は低下しないことが期待される。

赤外吸収はラマン散乱と異なる原理で分子振動を測定するため鋭敏に測定できる分子振動がお互いに相補的な関係にある。従って以上の問題を解決して生物物理化学の有効な手段となることが望まれる。

将来予測と方向性

- ・ 5年後までに解決・実現が望まれる課題
可視の光学顕微鏡と同程度のサブミクロン空間分解能の達成
水の影響を回避できる中赤外超解像顕微分光法の確立
3次元断層像の観測
- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
オルガネラまで明瞭に捉えることのできる数十ナノメートル空間分解能の達成
ビデオレートに追いつく程度の高速度測定
水の吸収の補正

キーワード

赤外線吸収、超解像、分子振動、2波長、顕微分光

(執筆: 藤井 正明 、 酒井 誠)