

細胞内の化学種分布を画像化している。同じく光熱変換分光法の一つである光熱ビーム偏向法により、Xe ランプを光源として赤血球の可視域のスペクトル測定も行われている。紫外レーザー光源を用いた光熱変換測定では、同時期に Ar イオンレーザーの第 2 高調波を用いて、また 10 年ほど間が空いた 2006 年に Nd:YAG の第 4 高調波を用いてのアミノ酸分離検出応用が報告されている。同じく 2006 年には紫外光レーザーを励起光源とする単一細胞の光熱変換イメージングが報告されており、紫外域での光熱変換測定がようやく現実的な技術となりつつある。

近年、半導体ベースの固体レーザー技術の発展と普及は著しいものの、370nm 以下の紫外域で連続発振するレーザー光源は少ない。紫外レーザー光は非線形光学効果を用いて得ることが一般的であり、発生効率を高めるためにはパルス光利用が望ましい。一方、顕微測定時には、試料損傷の低減のため、パルスレーザー光利用は不向きである。この点は、モードロックパルス列からなる疑似連続発振レーザーを利用することで緩和できる。モードロック Ti サファイアレーザーの高調波発生システムは波長可変できる利点もある。しかし、第 3 高調波 (240~330 nm) 発生技術が完成に域に達している一方で、第 4 高調波 (190~250 nm) 発生技術は使い易いものとなっていない。また、細胞を観測対象とした場合の紫外光利用は細胞損傷が問題となる。損傷の定量的見極めが求められるとともに励起光出力の低減が必要であり、ともに十分な検討は今度の課題である。なお、後者については多色励起による過剰吸収を誘起することで光熱変換信号を増幅する技術が提案されており、検討が期待される。

細胞観測においては、蛍光標識は一般的であるがその影響は議論されていない、また、観測困難な化学種は観測しないのが常となっている。無標識でより少量の化学種をその場検出できるようになれば、従来見過ごしていた部分にメスを入れることができ、新しい生命物理化学分野が拓かれるものと期待される。

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
 - 細胞内化学種の無標識 3 次元分布イメージングの実現
 - 紫外励起・可視 (近赤外) 光増幅型光熱変換イメージング法の実現
 - 紫外光に対する細胞損傷の定量的評価と損傷機構の解明
 - 細胞内無蛍光性化学種の時間分解分光測定法の実現
 - 光熱変換分光法による生体関連物質の無標識単一分子検出の実現
- ・ 10 年後までに解決・実現が望まれる課題
 - 深紫外～近紫外域をカバーする高安定・波長可変・疑似連続発振レーザー光源の実現
 - 細胞内局所吸収スペクトルのその場迅速測定
 - 細胞内化学反応のその場追跡の実現
 - 外部刺激等により細胞から放出される無蛍光性化学種のその場単一分子検出

キーワード

紫外レーザー、光熱変換分光、単一細胞、顕微イメージング、多色増幅

(執筆者： 原田 明)