

2D11

VSFG 検出赤外超解像顕微鏡による毛髪 α -ケラチンの分子配向観察

(東工大・資源研¹, 北里大・理², 花王・ビューティケア研³)

酒井誠¹, 牛尾公平^{1,2}, 長瀬忍³, 平野祐司³, 伊藤隆司³, 石川春樹², 藤井正明¹

Observation of molecular orientation of human hair α -keratins by VSFG detected IR super-resolution microscopy

(Tokyo Tech.¹, Kitasato Univ.², Kao Corp.³) Makoto Sakai¹, Kohei Ushio^{1,2},
Shinobu Nagase³, Yuuji Hirano³, Takashi Itou³, Haruki Ishikawa², Masaaki Fujii¹

【序】毛髪はケラチタンパク質からなる直径 30 ~ 120 μm 程度の階層構造をもつ繊維であり、中心部がメデュラ、外側を覆っている薄い層がキューティクル、メデュラとキューティクルの間の毛髪の 85 % 以上の大部分を占めるのがコルテックスである (図 1 : 毛髪横断面参照)。コルテックス領域では、 α -ヘリックス構造のケラチタンパク質 (α -ケラチン) が繊維状に集合して中間径フィラメント (IF) を形成し、毛髪の伸長方向にファイバー状に並んでいることが知られている[1]。我々は、昨年の分子科学討論会において、振動和周波発生 (VSFG) 検出赤外超解像顕微鏡

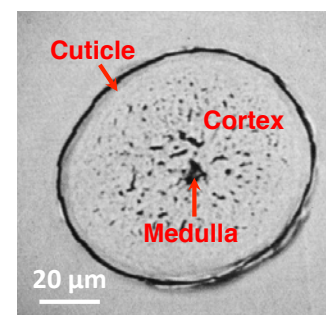


図 1 : 日本人毛髪横断面の透過像 (試料の厚さ : 3 μm)

を用いて、毛髪横断面の超解像赤外分光イメージングを行い、アミド III バンド (1250 cm^{-1}) においては高感度で α -ケラチンが検出される一方、アミド I バンド (1650 cm^{-1}) においては α -ケラチンが全く観測されないことを報告した。アミド I バンドは主に C=O 伸縮振動モードに対応し、アミド III バンドは C-N 伸縮振動モードに対応することを考慮すると、 α -ケラチンでは両者の振動モードはほぼ直交な関係にあり、 α -ケラチンがアミド III バンドのみ検出可能な毛髪伸長方向に沿って配向している、即ち、分子配向が VSFG 発光強度に大きく影響を与えたと結論した[2, 3]。

本研究では、まず第 1 に、上述の我々の結論通りに α -ケラチンの分子配向が影響してアミド I バンドが観測されなかったのか否かを検証するために、毛髪伸長方向に対して垂直にカットした横断面だけではなく、斜め断面あるいは縦断面においても超解像赤外分光イメージングを行い、毛髪伸長方向の直交軸に対する角度 (= α -ケラチン分子配向の向き) と VSFG 像の信号強度の相関を調べた。また、 α -ケラチンの分子配向について詳細な議論をするために、偏光依存性も併せて測定した。VSFG 法は 2 次の非線形光学過程であり、非線形感受率 $\chi^{(2)}$ に依存する。 $\chi^{(2)}$ は、分子配向をあらわに表す分子の超分極率 β および VSFG 発光、可視光、赤外光の 3 つの偏光の組み合わせに依存するため、偏光依存性測定により詳細な解析が期待される。

【実験】励起光源に使用した赤外光と可視光は、再生増幅器によって増幅された Ti : Sapphire レーザーのピコ秒パルスを変換することで得られ、それぞれ赤外光 5-9 μm ($1111\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$) および可視光 613 nm の波長を用いた。これらの光をビームコンバイナーで同軸に合わせた後、BaF₂ レンズ (焦点距離 : 50 mm) を用いて直径約 100 μm の大きさで毛髪試料に照射した。試料

からの VSFG 発光は背面から長作動対物レンズ (NA = 0.4) を用いて集め、赤外カットフィルター、バンドパスフィルターを通した後に結像レンズにより ICCD カメラ上に結像した。毛髪試料には、日本人毛髪をエポキシ樹脂に包埋した後、マイクロトームで毛髪伸長方向の直交軸に対して様々な角度 ($\alpha = 0 \sim 90^\circ$: 図 2 参照) で断面を切り出しカバーガラス基板上に載せ、エタノールで馴染ませることにより基板上に半固定したものをを用いた。毛髪試料の厚さは全て $3 \mu\text{m}$ で調製した。

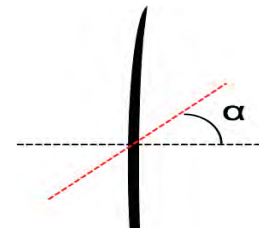


図 2: 毛髪斜め断面の角度 α . 0° は横断面、 90° は縦断面に相当する。

【結果と考察】毛髪伸長方向の直交軸に対して様々な角度でカットした毛髪断面に VSFG 法を適用し、アミド I バンド (1650 cm^{-1}) において超解像赤外イメージングを行った結果を図 3 に示す。 $\alpha = 0^\circ$ 、即ち、横断面では、VSFG 像が全く観測されないが、 α を大きくしていくとコルテックス領域から VSFG 発光が微弱ながらも観測されるようになり、 $\alpha = 45^\circ$ では明瞭な VSFG 発光が観測された。さらに、 α をさらに大きく ($>45^\circ$) していくとコルテックス領域からの VSFG 発光が次第に弱まり $\alpha = 90^\circ$ (縦断面) では、僅かしか VSFG 発光が観測されなかった。以上の結果は、 α -ケラチンの分子配向が VSFG 発光強度に大きく影響を与えるという、我々の結論を証明するものである。その一方で、VSFG 発光の絶対強度については、アミド III バンド (1650 cm^{-1}) に比べるとアミド I バンドは著しく微弱なことも明らかになった。VSFG 発光の強度は、赤外吸収の遷移双極子モーメントとラマン散乱テンソルの行列要素の積からなるが、アミド I バンドにおいては後者の項が極めて小さいために VSFG 発光が微弱になったことが考えられる。

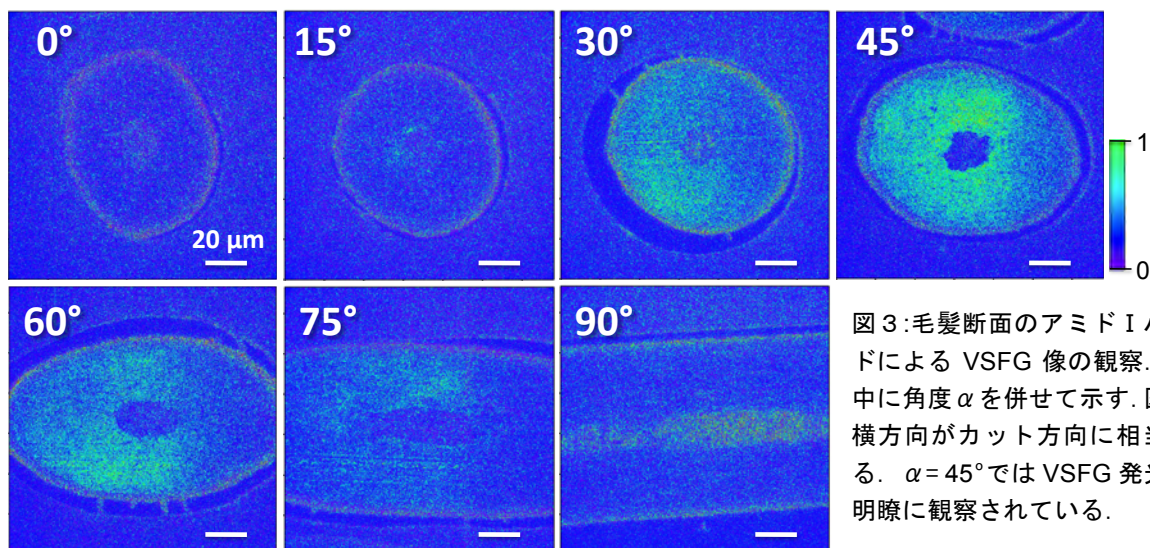


図 3: 毛髪断面のアミド I バンドによる VSFG 像の観察。図中に角度 α を併せて示す。図中横方向がカット方向に相当する。 $\alpha = 45^\circ$ では VSFG 発光が明瞭に観察されている。

α -ケラチンの分子配向と VSFG 発光強度の相関についてより詳細な議論をするために、アミド I バンド観察における VSFG 発光、可視光、赤外光の偏光依存性も測定した。講演では、アミド III バンド観察における角度 α 依存性、偏光依存性の結果も含めて報告する。

【参考文献】

- [1] Nagase, S.; Shinozaki, T.; Tsuchiya, M.; Tsujimura, H., *J. Soc. Cosmet. Chem.* **43** (2009) 3.
- [2] 酒井、菊地、藤井 第 6 回分子科学討論会 (2013 東京) 4A19.
- [3] Sakai, M.; Kikuchi, K.; Fujii, M., *Chem. Phys.* **419** (2013) 261.