

赤外超解像顕微鏡法による毛髪 α -ケラチンの分子配向イメージング(東工大・資源研¹、北里大・理²)○牛尾公平¹、渡瀬五常²、石川春樹²、藤井正明¹、酒井誠¹Orientation-sensitive molecular imaging of human hair α -keratins
by IR super-resolution micro-spectroscopy(Tokyo Institute of Technology¹, Kitasato University²)○Kohei Ushio¹, Yukihisa Watase², Haruki Ishikawa², Masaaki Fujii¹, Makoto Sakai¹

【序】振動和周波発生 (VSFG) 法を顕微鏡技術と融合させた赤外超解像顕微鏡は、通常の光学顕微鏡と同程度の空間分解能を有しながら、界面選択性や分子配向に敏感であるという特徴を併せ持つ。我々は昨年までに、毛髪横断面 (図1 : $\alpha = 0^\circ$) の α -ケラチンのアミドバンド領域において赤外超解像イメージングを行い、アミド III バンド (1250 cm^{-1}) では高感度で α -ケラチンが検出される一方、アミド I バンド (1650 cm^{-1}) では α -ケラチンが全く観測されない現象を見出した。アミド I

バンドは主に α -ケラチンの伸長方向に沿った 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 -ケラチンでは両者はほぼ直交な関係にある。入射光である赤外光および可視光を毛髪横断面に対して垂直に照射する我々の実験ではアミド III バンドのみ検出可能であったことから、

α -ケラチンが毛髪伸長方向にきれいに配向しており、 α -ケラチンの分子配向が VSFG の信号強度に影響を及ぼしたと結論した[1, 2]。この結果は、毛髪断面の角度 α を 0° から徐々に傾けて (図1)、 α -ケラチンの分子配向を変えて測定を行ったときに、毛髪横断面 (図2左 : $\alpha = 0^\circ$) では観測されなかったアミド I バンドによる VSFG 信号が、毛髪斜め断面 (図2中央 : $\alpha = 45^\circ$) では明瞭に観測されたことから支持される。しかし同時に、我々の予想とは異なり、毛髪縦断面 (図2右 : $\alpha = 90^\circ$) では入射光の電場の振動平面と平行であるのに強度が弱くなっていることも分かった。本研究では、VSFG の信号強度が分子配向に加え、入射光 (可視光、赤外光) や VSFG 光の偏光の組み合わせに対して大きく依存すること[3]を利用し、アミド I バンドにおける VSFG 信号強度の偏光依存性測定結果と VSFG の理論を照らし合わせて、分子配向について議論する。

【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 $5\text{-}9 \mu\text{m}$ ($1111\text{-}2000 \text{ cm}^{-1}$) 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

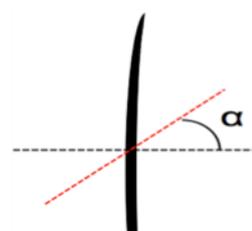


図1 : 毛髪の断面の角度 α
横断面は $\alpha = 0^\circ$ 、縦断面は $\alpha = 90^\circ$ に相当する。

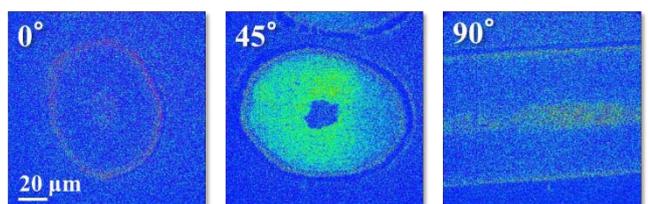


図2 : 毛髪の断面の角度 $\alpha = 0^\circ, 45^\circ, 90^\circ$ のアミド I バンドにおける VSFG 像 (画像の左上は角度 α 、赤外光と可視光の偏光は直交関係)。

レンズ（焦点距離：50 mm）を用いて直径約 100 μm の大きさを毛髪試料全体に照射して、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。偏光依存性測定では、 $\alpha = 45^\circ$ 断面におけるアミド I バンドに対し、1/2 波長板、偏光フィルターで VSFG 光、可視光、赤外光における縦偏光、横偏光を変えて、全 8 通りの組み合わせで測定した。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 1 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。厚みは全て 3 μm で調製した。

【結果・考察】毛髪伸長方向に対して斜めにカットした断面である $\alpha = 45^\circ$ 断面のアミド I バンドで測定した偏光依存性の結果を図 3 に示す。画面横方向を X 偏光、縦方向を Y 偏光とおき、偏光の組み合わせは VSFG 光、可視光、赤外光の順に表記している。これらの画像から明瞭な偏光依存性があることは明らかであり、XXY のときに最も強い信号強度、XYX、YXX ではほぼ同程度の弱い信号強度を示し、その他の組み合わせではほとんど信号が観測されなかった。VSFG の信号強度は分子の超分極率 β に依存し、その値は、アミド I バンドを α -ケラチンの伸長方向に沿った単一な C=O 伸縮振動と考えると、 $\alpha = 45^\circ$ 断面では伸長方向に対して 45° 傾いた直線分子に近似して取り扱うことができる。このときの超分極率 β は赤外光の偏光と分子振動の向きが一致するときに値を持つ。 $\alpha = 45^\circ$ 断面では、 α -ケラチンが毛髪断面の長軸方向 (X 方向) に配向しているので、YYX のときに最も信号強度が強くなる[3]はずである。しかしながら、実験結果は赤外光の偏光と分子振動の向きが直交関係の XXY のときに最も強い信号強度を示しており、理論と一致しなかった。アミド I バンドにおける VSFG 信号強度は毛髪断面の厚みに対して比例関係があることから、毛髪断面のカット表面近傍からの信号ではなく、試料内部の分子種からの信号であることは間違いない。VSFG 検出により、 α -ケラチンの特異な物性が観測された、あるいは α -ケラチンとは異なる分子種が観測されたなどの可能性が考えられる。

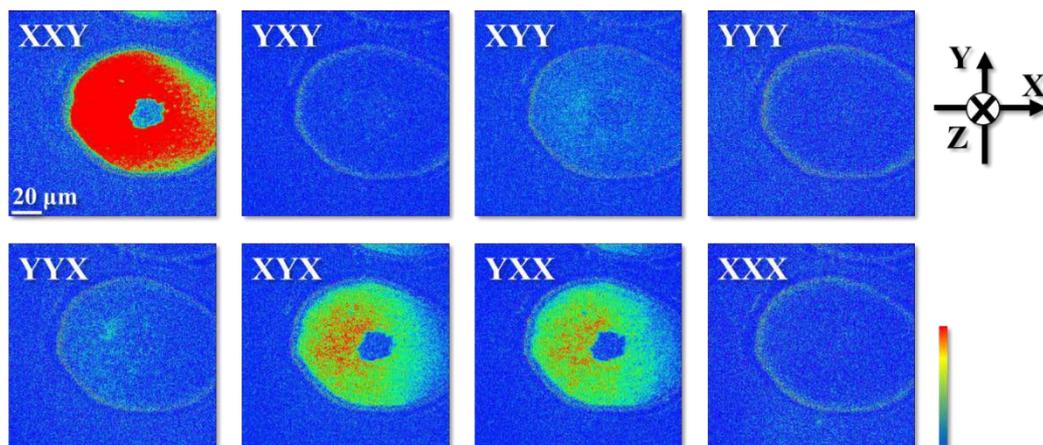


図3 : $\alpha = 45^\circ$ 断面のアミド I バンドにおける VSFG 像の偏光依存性
(画像の左上は VSFG 光、可視光、赤外光の順に表記した偏光の組み合わせ) .

【参考文献】

- [1] S. Nagase, T. Shinozaki, M. Tsuchiya and H. Tsujimura, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **43** (2009) 3.
- [2] M. Sakai, K. Kikuchi and M. Fujii, *Chem. Phys.* **419** (2013) 261.
- [3] Y. R. Shen and V. Ostroverkhov, *Chem. Rev.* **106** (2006) 1140.