

3P070

VSFG 検出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 -各振動モードにおける偏光依存性測定-

(東工大資源研)

○牛尾公平、渡瀬五常、藤井正明、酒井誠

Orientation-sensitive molecular imaging of human hair α -keratins by using VSFG detected IR super-resolution micro-spectroscopy -Polarization dependency measurements-

(Tokyo Institute of Technology)

○Kohei Ushio, Yukihiwa Watase, Masaaki Fujii, Makoto Sakai

【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III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}) 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}) では α -ケラチンが全く観測されない現象を見出した。 $\alpha = 0^\circ$ から $\alpha = 45^\circ$ 角度をつけた斜め断面でアミドIの信号が検出されたこと {図 2} 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]。また、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の $\alpha = 45^\circ$ 断面の偏光依存性を測定したところ、明瞭な偏光依存性が観測された {図 3}。一方、解析が不十分のままであった。本研究では、2つの α -ヘリックスが二重螺旋を形成する α -ケラチンのキラリティを考慮に入れて、アミドIの解析を再考すると共に、アミドIIIを含む他の振動モードにおける偏光依存性を測定することで α -ケラチンの分子配向、物性について詳細な情報を得ることが目的である。

【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して用いた。赤外光は $2.5 - 9 \mu\text{m}$ ($1111 - 4000 \text{ cm}^{-1}$)、可視光は 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 $100 \mu\text{m}$ の大きさで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 ICCD カメラ上に結像した。偏光依存性測定では、1/2 波長板、偏光フィルターで VSFG 光、可視光、赤外光における偏光を変えて測定した。毛髪試料には、日本人毛髪をエポキシ樹脂に包埋した後、マイクロトームで毛髪伸長方向の直交軸に対して

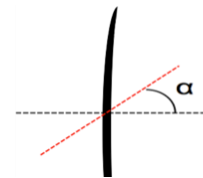


図 1 : 毛髪の断面の角度 α 。横断面は $\alpha = 0^\circ$ 、斜め断面は $\alpha = 45^\circ$ 、縦断面は $\alpha = 90^\circ$ に相当する

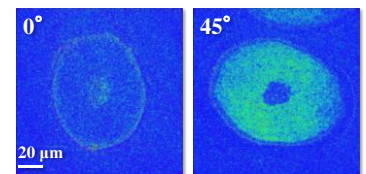


図 2 : 毛髪断面の角度 α の異なるアミドI バンドにおける VSFG 像 (画像の左上は角度 α 、赤外光と可視光の偏光は直交関係)

$\alpha = 0, 45, 90^\circ$ 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 $3 \mu\text{m}$ で調製した。

【結果・考察】図3は $\alpha = 45^\circ$ 断面のアミド I バンドにおける偏光依存性測定結果である。画像横方向が X 偏光、縦方向が Y 偏光とし、VSFG 光、可視光、赤外光に関して、全 8 通りの偏光の組み合わせで測定を行った。 α -ケラチンの階層構造から繊維に沿った面を界面とし、実験上の光学配置における分子と VSFG 光、可

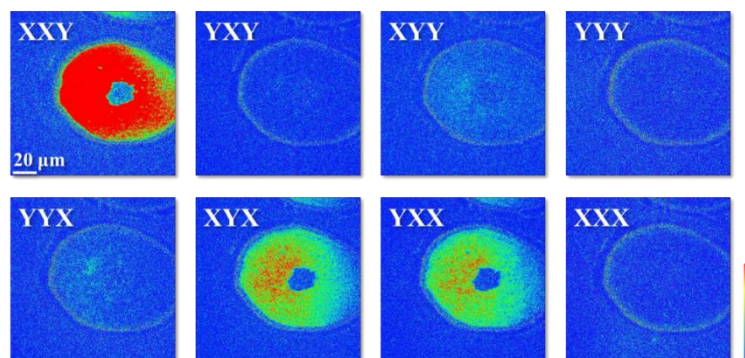


図3： $\alpha = 45^\circ$ 断面のアミド I における VSFG 像の偏光依存性 (画像の左上は VSFG 光、可視光、赤外光の順に表記した偏光の組み合わせ)

視光、赤外光の電場の向きを考慮して解析すると、信号が強く観測されている XXY, YXY, YXX は全てキラルな分子からの信号に相当する。ここで、アミド I が毛髪伸長方向に直交な配向成分 (XXY) でも観測されているのは、2つの α -ヘリックスが二重螺旋を形成する際のねじれにより Y 方向の成分が生じたためと考えられる。一方、その他のアキラルな信号 (YYX, YXY, XYY, XXX) はほとんど観測されていないことが分かった。次に、この解析をもとに、アミド III の結果についても再考した。序論で述べた通り、アミド III では $\alpha = 0^\circ$ でも高感度で信号が検出されている (図4)。XXY, YYX ともに信号が検出されているが、 $\alpha = 0^\circ$ ではアミド III は α -ヘリックスの螺旋に沿った振動なので、両者は試料を回転させたものに対応する。このとき、XXY と YYX では強度変化が小さい。これに対し、 $\alpha = 90^\circ$ 断面では XXY で観測された強い信号が YYX ではほとんど見られなかった。これは、アミド III の振動方向は縦方向に偏っており、試料を回転させると信号強度は大きく変化することに対応する。一方、 $\alpha = 45^\circ$ 断面では、XXY で著しく強い信号が観測された。これは、 $\alpha = 0, 90^\circ$ で観測された信号とは、明らかに別の由来によるものであり、アミド I の結果との対比からキラルな信号であると示唆される。これに対し、 $\alpha = 0, 90^\circ$ や $\alpha = 45^\circ$ の YYX の信号は赤外の電場と分子振動の向きで決まるアキラルな信号が観測されたと考えられる。発表では、他の偏光の組み合わせの結果と VSFG 理論を照らし合わせると共に、CH 及び NH 伸縮振動モードの偏光依存性も合わせて報告する。

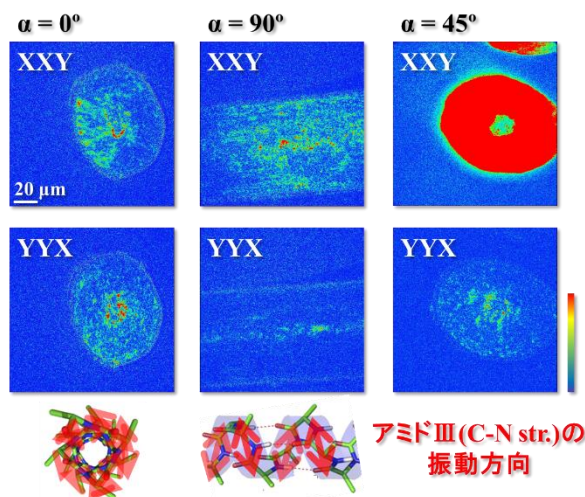


図4： $\alpha = 0, 90, 45^\circ$ 断面でのアミド III バンドにおける XXY, YYX の VSFG 像

【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