

空間捕捉した単一微小液滴表面に構築した生体膜のレーザー顕微分光
(九大院理¹, 大阪市大院理²) ○安富 翔太¹, 迫田 憲治²

Laser microscopy on the biomembrane formed on the surface
of a single levitated microdroplet
(Kyushu Univ.¹ Osaka City Univ.²) Shota Yasutomi¹, Kenji Sakota²

【緒言】直径数~数十 μm の微小液滴内部で発生した発光は、液滴界面において全反射され液滴内部に閉じ込められる。このとき、液滴の外周の長さや光の波長の整数倍が一致すると、液滴の気液界面近傍において光の定在波が形成される。つまり、微小液滴は光共振器としての機能を持っている。また、空間に捕捉された微小液滴は、自身の表面張力によってほぼ真球となるため、光の閉じ込め能力を表す Quality factor (Q 値) が $10^6 \sim 10^{10}$ と非常に大きい理想的な光共振器とみなすことができる。そのため、微小液滴中の分子を光励起すると非常に低いしきい値でレーザー発振が観測される。

我々の研究室では、イオントラップを用いて空間捕捉した単一微小液滴からのレーザー発振を上手く利用することで、液滴中における生体分子の振る舞いを詳細に調査することを目指して研究を進めている。上述の通り、微小液滴が光共振器と見なせるのは、気液界面近傍に限られる。つまり、微小液滴の気液界面近傍に存在する分子のみが、光共振器のなかに閉じ込められており、レーザー発振に参与することができる。微小液滴からのレーザー発振に関するこの特徴を生かすために我々が興味をもっているのが生体膜である。我々は、直径数~数十 μm の微小液滴を空間捕捉しているが、このサイズは細胞の典型的な大きさと一致している。単一微小液滴の表面にリン脂質などから構成される膜構造を形成し、ここからのレーザー発振を観測することができれば、生体膜のダイナミクスや生体膜とタンパク質の相互作用を詳細に調査できる可能性がある。

そこで本研究では、単一微小液滴における生体膜研究の第一歩として、色素ラベルされた両親媒性物質に注目した。この両親媒性物質が溶存した単一微小液滴を空間捕捉し、これにレーザー顕微分光を適用することで、両親媒性物質の発光スペクトルがどのような特徴をもつかについて調査した。

【実験】溶質分子として、ローダミン B (RhB)、および親水基がローダミン B、疎水基がオクタデシル基で構成された両親媒性物質であるオクタデシルローダミン B (ODRB) を使用した。溶媒にはメタノールとグリセリンの混合溶媒 (50/50 vol%) を使用した。エレクトロスプレー法により RhB もしくは ODRB を含む微小液滴 (直径 10 μm 程度) を平行平板型イオントラップによって空間捕捉した。このとき、微小液滴同士の静電反発によって単一の微小液滴のみがトラップ内に安定に捕捉される。トラップされた微小液滴にパルス Nd:YAG レーザーの 2 倍波 (532 nm) を照射することで微小液滴からの発光スペクトルを測定した。

【結果・考察】図 1 に RhB を含む単一微小液滴の発光スペクトルを示す。図 1(a) では励起光の強度が小さいため、RhB からの発光は観測されていない。図 1(b) では 540~620 nm 付近にブロードな発光が観測されている。このブロードな発光は、微小液滴中の RhB からの蛍光に帰属できる。図 1(c) では 540~620 nm 付近のブロードな蛍光に加え、620~650 nm 付近に非常にシャープで強い発光が観測されている。図 2 は、RhB からのシャープな発光の強度を励起光の強度に対してプロットした図である (赤のプロット)。図 2 を見ると、シャープな発光の強度は励起光強度が 63 nJ/pulse を境として急激に立ち上がっていることが分かる。これは、励起光の強度が RhB を含んだ微小液滴のレーザー発振のしきい値を超えたため

レーザー発振に至り、その結果、微小液滴の気液界面に形成される共振モードに対応するシャープな発振線が観測されたと解釈できる。よって、図 1(c) の 620~650 nm 付近に観測されているシャープな発光は、微小液滴中の RhB からのレーザー発光に帰属できる。

図 3 に ODRB を含む単一微小液滴の発光スペクトルを示す。図 3(a) は励起光の強度が小さく、ODRB からの発光は観測されていない。一方、図 3(b) ではブロードな発光 (蛍光) は観測されていないものの、660 nm 付近にシャープな発光が観測されている。また、さらに励起光強度を大きくした図 2(c) では、640~680 nm 付近にシャープで強い発光が観測された。RhB の場合と同様に、このシャープな発光は、微小液滴中の ODRB からのレーザー発光に帰属できる。図 2 は、ODRB からのシャープな発光の強度を励起光強度に対してプロットした図である (青のプロット)。ODRB の場合、レーザー発振のしきい値は 57 nJ/pulse に観測された。

図 1 および図 3 において注目すべき点は、RhB を含んだ微小液滴については 540~620 nm 付近にブロードな蛍光と、620~650 nm 付近にシャープな発光が観測された一方で、ODRB を含んだ微小液滴では、640~680 nm 付近のシャープなレーザー発光のみが観測され、ブロードな蛍光は全く観測されなかったことである。このことは、RhB と ODRB が液滴内でどのように分布しているかを反映していると考えられる。今回、実験に用いた混合溶媒は、RhB にとって良溶媒であるため、RhB は微小液滴中に一様に分布していると考えられる。そのため、微小液滴の気液界面から離れた領域に存在する RhB からの発光は、気液界面における全反射条件を満たすことが不可能になり、ブロードな発光を与える。一方で、ODRB は両親媒性物質であるために、そのほとんどは微小液滴の気液界面上に吸着していると予想される。よって、ODRB からの発光は気液界面での全反射条件を容易に満たすことができるため、シャープな発光 (レーザー発振) のみを示す。このことは、単一微小液滴の気液界面に両親媒性物質による膜構造が形成されていることを強く示唆しており、微小液滴からのレーザー発光を用いることで、微小液滴界面に形成された膜構造を高感度に観測できることを示している。当日は、色素標識されたリン脂質に関する実験結果も報告する予定である。

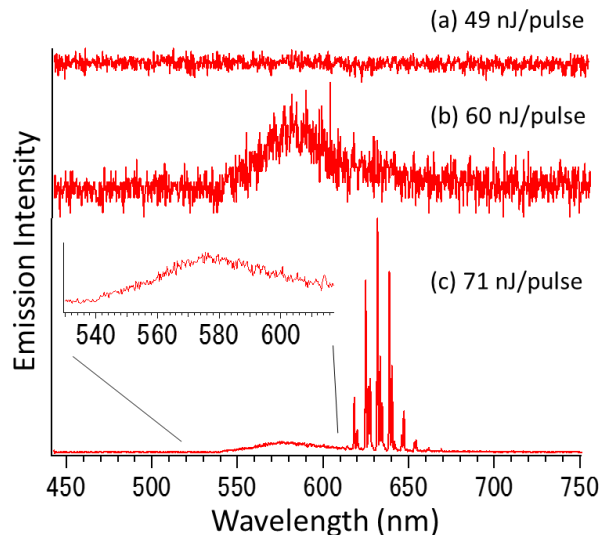


図 1. RhB を含んだ微小液滴の蛍光スペクトル

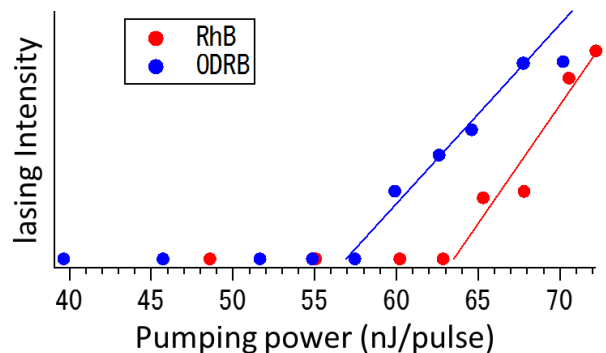


図 2. RhB および ODRB を含んだ微小液滴からのレーザー発光の強度

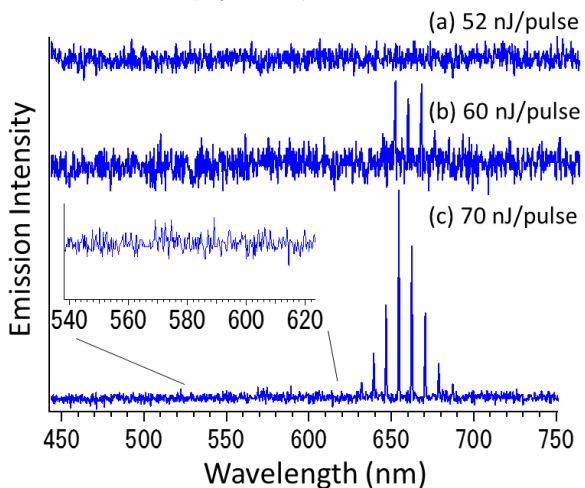


図 3. ODRB を含んだ微小液滴の蛍光スペクトル