

## 光トラッピング用近赤外レーザー光照射に伴う 溶媒の局所加熱効果の検討

( 阪大院基礎工阪大極限セ ) 杉山貴志、片山元気、伊都将司、宮坂 博

### 【序】

光トラッピングは、光の力学作用により溶液中で微小物体の非接触捕捉を可能にする技術であり、単一細胞や単一ナノ粒子操作、モーター蛋白の一分子運動解析、分子集合構造、ナノ粒子集合構造の作製等に用いられ、近年の化学、生物学では広く行われている。光トラッピング用光源としては、波長 1064 nm の Nd:YAG レーザーや Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーが一般的に用いられているが、水や有機溶媒は波長 1064 nm の光を僅かに吸収し、レーザー光を回折限界程度まで集光する光トラップ条件では、集光位置及びその周囲で溶媒の温度が上昇する。一般に化学反応性は温度変化に敏感であり、トラッピング用レーザー光による溶媒加熱効果の定量的検討は光トラッピング下における非常に重要な課題である。そこで我々は、蛍光相関分光法 ( Fluorescence Correlation Spectroscopy: FCS ) を用いた溶液中での局所温度測定法を開発し、トラッピング光集光スポットにおける温度を測定した。顕微蛍光相関分光法とは、顕微鏡下で回折限界程度まで絞った励起光の照射領域内の蛍光分子 ( 1 ~ 2 個程度 ) からの蛍光を共焦点配置した光検出系により測定し、分子の出入りに伴う蛍光強度の揺らぎから蛍光分子の並進拡散係数を決定する測定法である。

一般に FCS では、蛍光分子を励起し、発光を検出するだけなので分子の自由な運動を妨げることなく測定できる。FCS で求めた並進拡散係数と溶媒の温度・粘度校正曲線から溶液中の局所温度を決定できる。

### 【実験】

サンプルにはローダミン 6 G 水溶液、及びアルコール溶液を使用した。励起用レーザーには CW アルゴンイオンレーザー ( 波長 488 nm ) を、光トラッピング用レーザーには Nd:YVO<sub>4</sub> レーザー ( 波長 1064 nm ) をそれぞれ使用した。検出器の前に直径 25  $\mu$ m のピンホールを設置し共焦点顕微鏡とし、観測領域をフェムトリットルオーダーにした。溶液中でのローダミン 6 G の濃度は数 nM とし、観測領域内に常に一個程度のローダミン分子が出入りするよう調製した。まず上記 2 本のレーザーの集光位置をそろえて Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーのパワーを 0~1800 mW まで 300mW ごとに変化させた条件で蛍光相関を測定した。次に Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーのパワーを固定し、蛍光相関の観測位置を変化させ、近赤外光の集光位置周囲の温度の空間分布を測定した。

### 【結果と考察】

図1は2本のレーザーの集光位置をそろえた場合の2-プロパノール溶液における蛍光相関の測定結果であり、自己相関関数の近赤外光強度依存性を示してある。図1から近赤外光強度の上昇に伴い自己相関関数の減衰が速くなるのがわかる。これは溶液中のプローブ分子の並進拡散が速くなっていることに対応する。

図2に見積もった温度と近赤外光強度の関係を示す。この図より溶液中での局所温度が、与える近赤外光のエネルギーに対して線形に上昇していくことが理解される。

FCSの観測ポイントを移動させ、近赤外光の集光位置近傍およそ5  $\mu\text{m}$ の領域で局所温度の空間分布を測定した結果、温度の距離に対する変化は見られなかった。これは、過渡回折格子法などから得られる熱伝導の速度が数 $\mu\text{m}/\mu\text{s}$ オーダーであることを考えると、FCS測定に要した3分程度の時間内では集光位置付近の温度が空間的に均一になってしまったためであると考えられる。

蛍光相関分光法を用いた溶液中局所温度測定法を開発し、光トラッピング条件下での温度上昇度の測定に成功した。本手法により温度の空間分布を極微領域で測定することも可能と考えられる。講演では、他の溶媒での実験結果、測定精度、熱拡散の影響などについても議論する。

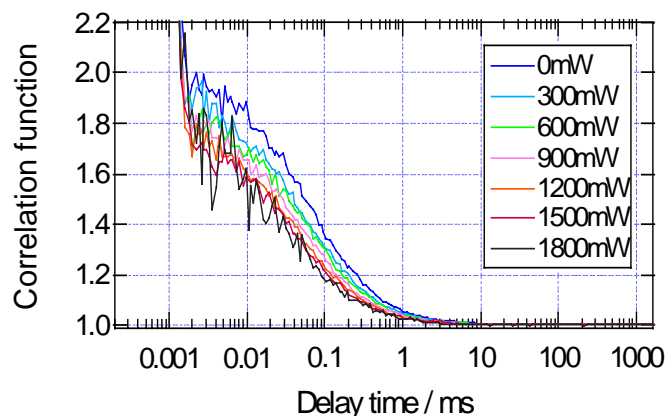


図1 . 2 - プロパノールの蛍光相関の結果

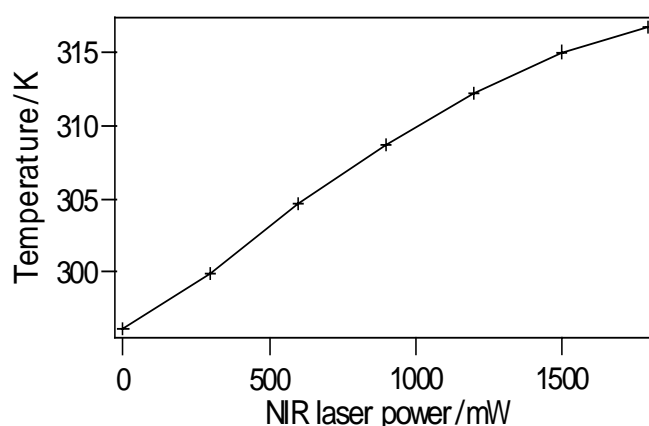


図2 . 2 - プロパノールの温度変化

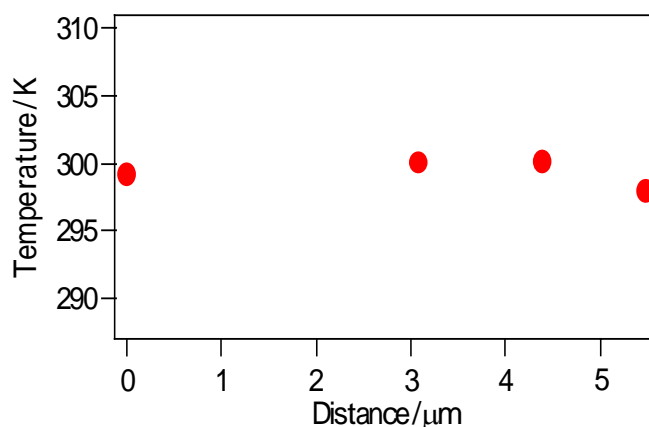


図3. 集光位置をずらした時の温度変化