

研究紹介

フェムト秒レーザーと単一細胞内研究反応場の構築と計測

増原 宏

私たちはレーザーにより拓かれる化学、すなわちレーザーによる新しい方法論や手法の開発、それらを駆使した化学現象の探索、そのダイナミクスとメカニズムの分子論的電子論的解明をモットーに研究をしてきた。本特定領域研究においても、私たちのグループは単一生細胞を中心に、レーザーを駆使した新しい研究手法を開発し、レーザー励起で引き起こされる現象を明らかにするべく取り組んでおり、現在以下のような研究を行っている。

1. フェムト秒レーザー間接照射による単一細胞の操作とナノ粒子導入

培養液中に高輝度のフェムト秒パルスを集光すると、衝撃波、キャビテーションバブルが発生し、過渡圧力が生じ、液中に対流が誘起される。すなわち任意の時に、任意の位置に、力を誘起することができる。この力を利用し、基板に接着していた細胞を剥がし、自由に操作し、パターンングすることができた。またマウス NIH 3 T 3 細胞に 200nm の蛍光性高分子微粒子を分散し、細胞から 20 μ m 離れた位置にフェムト秒パルスを照射することにより、細胞内に導入することに成功した。細胞を超短パルスレーザーで直接照射することなく導入する手法として注目されている。

2. フェムト秒レーザー直接照射による単一細胞への DNA プラスミドの導入と発現

DNA プラスミドのモデルとして蛍光分子をラベルしたデキストランを取り上げ、レーザー直接照射による導入の条件を明らかにしている。また緑色蛍光蛋白プラスミドを導入し、発現させることに成功した。後者の場合、細胞膜にのみ集光するだけでなく、核膜をも照射したときにのみ核外に発現を確認しており、その導入と発現のメカニズムに興味を持っている。

3. フェムト秒レーザー誘起衝撃波による結晶化ダイナミクスの解明

一般に高分子、デンドリマー、生体分子は複雑なコンホメーションを持ち、その結晶化は容易でなく、膜蛋白質に至っては数年を要することもあるといわれている。2002 年に我々は阪大院工佐々木研究室（現 A04 班員）との共同研究により、フェムト秒レーザー照射による高効率、高品質結晶の作製に道を拓いており、現在そのダイナミクス、メカニズムを実時間イメージングにより調べている。最近では、結晶化にはフェムト秒パルスによるキャビテーションバブルの発生が必要であり、形成された界面が結晶核を生成しかつ結晶成長の場となっていることを示す結果を得ている。

4. 単一金ナノ粒子プラズモン共鳴分光・イメージングと生体細胞への応用

フェムト秒白色光をプローブ光として共焦点顕微システムを用い、マウス NIH 3 T 3 細胞の 3 次元光散乱イメージングと分光を行った。細胞のみの場合、細胞構造を反映した 3 次元光散乱画像のスペクトルには特徴あるピークは検出されなかった。金ナノ粒子を添加するとプラズモン共鳴バンドが見られ、単一粒子レベルで分布と会合状態を考察できるようになった。