

Optical-PTIR を用いた水中における浮遊生細胞の分析

内田 徹
構造化学研究部

要 旨 赤外分光法は、分子の振動による赤外線吸収を測定することで、分子構造の情報を得る手法である。光熱変換を利用した O-PTIR (Optical Photothermal IR Spectroscopy) では、サブミクロンの空間分解能かつ非接触での赤外分析が可能である。本稿では、細胞の構成成分 (タンパク質や核酸など) の分布、局在を可視化するために、生理的条件下で非固定細胞を測定した事例を紹介する。

1. はじめに

FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) は、化合物の定性分析や反応率解析など、幅広い用途で用いられる分析手法である。赤外吸収スペクトルには、分子固有の振動モードがピークとして検出され、化合物の組成分析が可能となる。また、バルク的な分析だけでなく、ATR (Attenuated Total Reflection) 法による表面分析や、顕微 (ATR) IR 法¹⁾によるイメージング評価も可能であり、様々な分析的要求に対応できる。

一方で、ライフサイエンス分野における生体試料の分析を視野に入れた場合、より微視的な視点での評価が重要となる。上述のような赤外分光法は、化学構造解析に適した手法と言えるが、その空間分解能は、光の回折限界により数 μm 程度が限度であり、例えば単一細胞の分析を考えた場合、赤外分光法の空間分解能の向上は重要課題となっている。また、水分を含有している生体組織の測定を鑑みた場合、どうしても溶媒の妨害を受けてしまい、解析が困難となる (図 1)。また ATR 法では、試料との接触測定であるため、細胞や生体組織にとってストレスを与えてしまうことも危惧される。

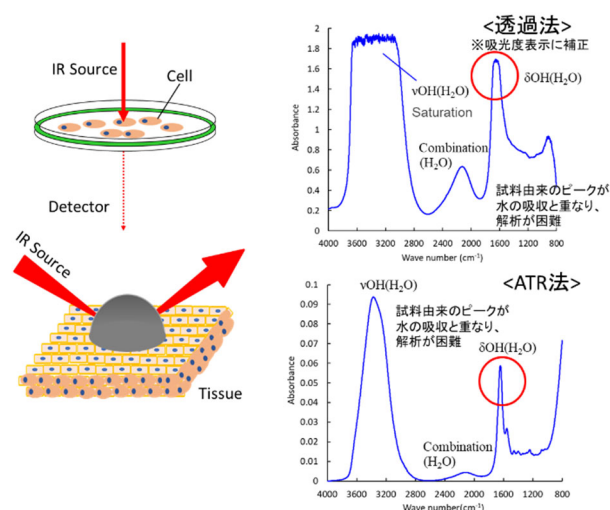


図 1 FT-IR 測定の課題

近年、赤外分光法の回折限界の「壁」を打破すべく、従来とは全く原理の異なる新しい「ナノ赤外分光法」が開発されている²⁾³⁾⁴⁾。このうち、比較的よく知られる手法として AFM-PTIR 法 (atomic force microscopy-based photothermal-induced resonance spectroscopy, AFM-IR 法とも呼ばれる) が挙げられる。AFM-PTIR 法は、2012 年に Dazzi ら⁵⁾により開発されたナノ赤外分光法であり、赤外パルス光照射による試料の赤外吸収に伴う熱膨張を AFM カンチレバーの変位として捉えることを原理とする。試料上への赤外光の照射は回折限界に縛られており、数 μm オーダーの広領域において試