「光の利用と物質材料・生命機能」研究領域 領域活動・評価報告書 ー平成 25 年度終了研究課題ー

研究総括 増原 宏

1. 研究領域の概要

本研究領域は光との相関を新しい光源から探ることにより、情報通信、ナノテクノロジー・材料、ライフサイエンス、環境・エネルギー等の諸分野において、これまでにない革新技術の芽の創出を目指す研究を対象とする。具体的には、光源として高出力、超短パルス、超長波長のレーザー、放射光、極微弱光、単一光子レベルの光も想定し、光の本質に迫る研究、光を使い尽くす研究、光でのみ可能になる合成・物性・機能の研究、光によって実現するプロセス、光が関わる細胞機能、光で初めて解き明かされる生体組織、光でのみ制御できる生命機能、これに加えてリアルな材料や生物を対象とした光計測法、イメージング法の研究などが含まれる。

2. 事後評価対象の研究課題・研究者名

件数: 14件

※研究課題名、研究者名は別紙一覧表参照

3. 事前評価の選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

- 1) 選考は、「光の利用と物質材料・生命機能」領域に委嘱された領域アドバイザー12 名の協力を得て、研究総括が行う。
- 2) 選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とする。
- 3) 選考に当たっては、さきがけ共通の<u>選考基準</u>(URL: http://www.jst.go.jp/pr/info/info666/shiryou4.html) の他、以下の点を重視した。

光科学技術の研究は、光そのものに関わる科学技術を発展させるだけではなく、新しい物質システム、生命機能を生み出すメカニズムに関する概念や発想を与える。この光科学技術の特徴を踏まえた、今までにない斬新なアイデアによる研究を求めた。具体的には、数年から10年で新しい「光の利用」のストリームを作る可能性があるか、その代表者になれるか、実現可能性を示す手がかり、経験、あるいは背景はあるかを問う一方、他の研究費では実現できない研究として区別化出来ているか、個人研究であることを自覚しているかを考慮した。さらに、国際的にもさきがけていること、幅広い科学と技術の分野をカバーすること、年齢的にも地域的にもヘテロな分布とすることを重要と考えた。

4. 事前評価の選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー・外部評価者3名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補課題を選定した。以下は平成22年度選考件数や採択数で、平成20年度採択に関しては、「平成23年度終了課題」についての「領域活動・評価報告書」に記載。

選考	選考書類選考面接選考		採択数			
, E 1)	自然达力	шусл				
				内	3年型	14件(0件)
対象数	199件	21件	14 件	-n	5年型	0件(0件)

()内は大挑戦型としての採択数。

※本領域においては、5年型、大挑戦型を採択しなかった。

備者:

1)平成22年度採択課題のうち、以下は今年度事後評価対象としない。

・江口研究者

ライフイベントにより研究を一時中断し、終了年度がずれるため。



- 2)加えて、以下を今年度の事後評価対象とする。
 - ・永井研究者 (平成20年度採択) 研究期間が5年で、今年度終了するため。
- 5. 研究実施期間

平成 20 年 10 月~平成 26 年 3 月(5年型) 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月(3年型)

6. 領域の活動状況

領域会議: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月の期間では以下の通り7 回実施した。

- ・第5回領域会議 東京、平成23年1月6日(木)~1月8日(土) チサンホテル浜松町
- ·第6回領域会議 新竹(台湾)、平成23年5月28日(土) 台湾国立交通大学
- 第7回領域会議 東京 平成24年3月8日(木)~10日(土) 東京大学・山上会館
- ・第8回領域会議 博多 平成24年9月1日(土)~2日(日) 博多エクセル東急ホテル
- ・第9回領域会議 東京 平成25年3月9日(土) 東京大学・一条ホール
- ・第 10 回領域会議 奈良 平成 25 年 9 月 2 日(月)~3 日(火) 東大寺総合文化センター・小ホール
- ・第 11 回領域会議 東京 平成 26 年 3 月 6 日(木) 東京大学・一条ホール

シンポジウム(本研究領域や研究者が直接企画に関わった事例)

- •AS(Academia Sinica)-JST 合同シンポジウム「Innovative Use of Light/Bio Materials」 台湾中央研究院と科学技術振興機構との合同シンポジウム 平成 23 年 5 月 26、27 日(台湾、台北)
 - 11 名口頭発表(うち二期生3名)、全員ポスター発表
- ・シンポジウム「若手研究者が拓く光生物物理学」 平成23年9月17日(兵庫県立大学)日本生物物理学会 オーガナイザー: 須藤、増田 講演者: 増原挨拶、須藤、増田、永井
- ・光拠点第4回合同シンポジウム 平成23年11月14日(キャッスルプラザ、名古屋)
 - さきがけ「光の利用」からは、増原挨拶、研究者約30名がポスター発表
- ・シンポジウム「光学が切り拓く分野横断研究」 平成 23 年 11 月 29 日(大阪大学)日本光学会 JST さきがけ「光の利用と材料・生命機能」領域グループ企画 講演者:小関、佐崎、石坂、スミス、足立、新倉、岩倉、八ツ橋、志賀、増原挨拶
- ・JST さきがけ研究領域合同国際シンポジウム 「持続する社会を先導する光科学:環境・エネルギー・機能材料」 平成24年3月26日(月)、27日(火)(慶応大学)日本化学会 本領域では、増原挨拶、研究者3名の口頭発表、特別講演外国人ADヴァイスUCLA教授研究者:口頭発表3件、ポスター発表が15件、計18名が発表
- ・第5回文部科学省「最先端の光の創成を目指したネットワーク研究拠点プログラム」シンポジウム 平成25年1月11日(日本科学未来館)
- 本領域からは研究者 19 名がポスター発表
- ・シンポジウム「光化学と光生物学のマリアージュ」 平成25年3月22日(立命館大学びわこ・くさつキャンパス)日本化学会



オーガナイザー: 奥津、高木

講演者:高木、小笠原、奥津、増田、須藤

研究者自主企画による領域内研究交流会

・「レーザーと光利用の夢物語」 奈良先端科学技術大学院大学 平成 23 年 7 月 1 日(金)~2 日(土)

参加者:一期生4名、二期生5名、三期生4名、総括、技術参事、他1名

•第1回三期生研究交流会 東京大学理学部3号館

平成 24 年 1 月 21 日(土)~22 日(日)

参加者 三期生 11 名 総括・技術参事、他 1 名

•第1回生物系研究交流会 理化学研究所(和光)

平成 24 年 6 月 2 日(土)~3 日(日)

参加者:一期生2名、二期生3名、三期生3名、総括、技術参事、他1名

·第2回三期生研究交流会 山梨大学

平成 24 年 12 月 12 月 5 日(水)~6 日(木)

参加者:三期生9名、総括、技術参事、他3名

•第1回化学系研究交流会 JST 東京別館 4F 会議室 平成25年1月12日(土)

参加者:一期生3名、二期生2名、三期生2名、総括、技術参事、他3名

・第1回物理系研究交流会 東京大学駒場キャンパス・電気通信大学 平成25年6月21日(金)~22日(土)

参加者:一期生3名、二期生3名、三期生6名、総括、技術参事、他3名

・第3回三期生研究交流会 アルファあなぶきホール(高松)

平成 25 年 12 月 14 日(土)~15 日(日)

参加者:三期生 13 名(うち 1 名はイギリスより skype で参加)、総括、技術参事、他 2 名

研究総括(または技術参事)の研究実施場所訪問などは以下の通りである。

- サイトビジット:19回(総括、担当アドバイザー、両参事の研究実施場所訪問)
- 総括面談: 7回
- 技術参事の研究者訪問:41回

7. 事後評価の手続き

評価は、領域会議での発表内容(6 回実施)、アドバイザー・ミーティング(2 回実施)でのアドバイザーからのコメント、半期ごとの研究者から提出される半期報告書に対する担当アドバイザーからのコメント、さらには終了半年前に実施した「終了検討会」と、その後折りを見て実施した面談、および各研究者より提出された研究課題別評価を参照して研究総括が実施。

(事後評価の流れ)

平成25年9月 終了検討会を開催、最後の半年間における研究計画について議論、前日に開催したアドバイザー・ミーティングでのコメントを踏まえて、その後必要に応じて個別面談を行った。

平成26年3月 研究報告会開催後、担当アドバイザーからのコメント

平成26年3月 研究者より研究報告書(案)受理

平成26年3月 研究期間終了

平成 26 年 4 月 領域活動・評価報告書および研究報告書提出

8. 事後評価項目

- (1) 研究計画書の目標に対する研究課題の達成度
- (2) 研究遂行にあたり示されたさきがけならではの独自性
- (3) 外部発表(学術論文、口頭発表など)、特許など研究成果の発信状況
- (4) 学術賞、学会招待講演、新聞記事発表など外部からの評価状況
- (5) 得られた研究成果の科学技術への貢献度
- 9. 評価結果



今年度終了する研究者は、本さきがけ研究者の三期生3年型13名と一期生5年型1名の計14名である。三期生の採用に当たっては、提案されたその研究内容のサイエンスあるいはテクノロジー一般としての評価、光科学技術としてのポテンシャル、さきがけ研究としての新規性や独創性、個人研究としての意味を検討吟味した。また例年のように「光の利用」に関する新領域の、数年後から10年後のリーダーを発掘したいという想いを込めるとともに、一期生や二期生を含め領域全体としてバランスをとりたいと考えた。その結果3年の通常型研究を14件採択することになったが、1人がライフイベントのため、10か月の研究期間延長となっている。13件はいずれもレベルの高いユニークな研究であり、チャレンジ度も高く、戦略目標、本研究領域の趣旨をよく理解しているものである。光による新しい量子状態の実現と制御の研究が4件、単一イオンと単一光子の強結合を目指した取り組みが1件、新しい光学現象の研究とその応用が2件、界面光化学応用が1件、新規バイオプローブの開発が3件、人のUV感覚の研究と藻類の研究が各1件であるが、これに5年型一期生の化学発光バイオプローブの1件が加わり、「光の利用」の研究領域を押し広げ、光科学技術のさらに新しい可能性を探ることができた。

光による新しい量子状態の実現と制御の研究では、香月研究者が固体光励起により生成した波動関数を、佐藤研究者はフェムト秒レーザーによりスピン運動を、是枝研究者は熱の波動を制御する研究を展開し、岸本研究者は連続的に高繰り返しでボーズ・アインシュタイン凝縮を目指した。高橋優樹研究者は単一イオンと単一光子の強結合を実現するべく努力した。新規光学現象に基づいて岩長研究者は、メタマテリアルを用いた超解像顕微鏡の開発を行い、東海林研究者は磁場による光の進路制御のデモンストレーションに成功した。界面光化学応用として江波研究者は、大気汚染や健康問題の基礎となる計測法を提案した。バイオプローブの開発と応用の研究は多方面で行われているが、中川研究者は光分解反応によるガス状分子の発生をする分子を、小坂田研究者は光制御性と X 線励起特性を持つナノ粒子を、Biju 研究者は複数の機能を持ちかつ使用後に分解排出させられる分子をそれぞれ開発した。生物生体に関しては、小島研究者が人の UV 感覚に関連した蛋白質の発見に成功し、高橋文雄研究者は藻類の遺伝子解析から環境、水問題解決の基礎となる成果を上げた。

本さきがけが発足した平成20年より5年型研究が始まった。ただ一人採用された永井研究者はスケールの大きい研究を展開し特筆すべき成果をあげた。化学エネルギーを利用して蛍光を発する蛋白質を高輝度化して、生体内を照らす局所ナノ光源として駆使する研究手法を開発し、神経興奮の検出や、光合成依存的ATP産生の検出、自由に動き回るこのマウスの背中で光る腫瘍部位のビデオレートでの可視化などを世界に先駆けて可能にした。化学発光をベースにした全く新しい科学技術の流れを創りだそうとしている。

物質材料から生命機能に広がる「光の利用」研究は、三期生の段階でさらに広がりを見せ、きわめて高度な量子状態制御から固体、藻類にまで及んだ。世の注目を集めているバイオプローブ研究にしても、本さきがけの研究課題の新奇性は明らかであり、熱の波動性の証明から熱レーザーの可能性を論ずる一方、原子レーザーの開発への手がかりをつかんだ研究など、レーザー研究としても他の追随を許さない。光源開発としても、化学発光に基づくナノ生物光源は世界初である。光学現象についても流行を追わず歴史的な視点に立ったうえで、さきがけらしさを追求した。ここで述べた研究者の課題は世界的にも極めてユニークで、オリジナリティーの高いことは外国人アドバイーザーからも高く評価されている。このような研究から真に世界から尊敬される日本の光研究が生まれるものと信じており、その重要な一歩を示すことができた。

1. 永井 健治 研究者 「ナノサイズ高輝度バイオ光源の開発と生命機能計測への応用」(5年型) 蛍光タンパク質を利用したバイオイメージング技術により、動植物の生理機能を可視化できるようになり、広く普及している。しかし、蛍光に必要な光照射による試料の光損傷や、自家蛍光によるコントラストの低下、さらには意図しない活性化を引き起こすなどの問題もある。

永井研究者は、これらの問題あるいは課題を解決する手段として、励起光照射を必要としない化学発光タンパクに着眼した。化学発光タンパクを使用する上での最大の課題は高輝度化であった。ウミシイタケルシフェラーゼをもとに、ランダム変異の導入などにより、10 倍以上の輝度の化学発光タンパクを開発し、Nano-lantern と名付けた。さらに、特定の生体因子の結合に伴い構造が変化するペプチドを挿入し Ca2+、cAMP、ATP を検出する各種機能プローブを開発した。これにより、光遺伝学ツールを用いた光刺激依存的な神経興奮を Ca2+の上昇としてとらえることに成功しただけでなく、葉緑体に Nano-lantern (ATP)を局在発現させた植物体を作製し、光合成依存的な ATP 産生を世界で初めて観察する事にも成功した。

一期生を募集した平成 20 年度に初めて 5 年型が発足した。永井研究者は 5 年型にふさわしいスケールの大きな研究計画を提案し、一期生でただ一人 5 年型として採用された。得られた成果はバイオサイエンスとして画期的なものであるが、化学エネルギーにより働く Nano-lantern は細胞の中から照らす新しいタイプのナノ光源と位置づけることもできる。加えて、その研究姿勢や領域会議における議論、他の研究者との共同研究

など、あらゆる場面で際立った貢献があったことを特記しておく。今後の活躍を信じてやまない。

2. 岩長 祐伸 研究者 「転送光学に基礎をおく超解像顕微鏡とメゾ機構のその場観察」

光学顕微鏡には、空間分解能に固有の原理的限界が存在する。これを打開するため、これまでに共焦点顕微鏡や微分干渉顕微鏡、各種超解像顕微鏡が開発されてきた。しかしながら、メゾスコピピックスケールにおける動的現象を観察し解明する事は用意でなかった。

岩長研究者は、この問題を解決する手法としてメタマテリアルを活用することにより、回折限界以下の分解能で観察できる光学顕微鏡の開発を目指した。キーポイントはハイパーレンズで、絶縁体と金属膜からなる多層膜からなる半円球状のレンズである。使用する光の波長に対して最適化した多層膜を設計し、実際に作製して分解能を評価した。その結果、作製したハイパーレンズと通常の光学顕微鏡との組み合わせで、約70 nm(波長の5.7分の1)の分解能が得られる事を示した。また、ハイパーレンズを2次元に配列する事で、観察領域の制限を解決できる事も示した。

アイデアやシミュレーションで得られる結果を実現するために微細加工が必要な場合、アクセスできる装置や技術に依存するが、さらに加工技術のレベルにも依存する。このさきがけ研究で得られた分解能は、現在のところ他の超解像顕微鏡と同程度まで向上しているが、結果は決して限界ではなく、新たな加工技術の導入や開発により将来さらなる高分解能が期待できる。また走査することなく一括してイメージ観察できる利点を生かして、今後その場観察を動的に行うデモンストレーションを実現し、このユニークな超解像顕微鏡のポテンンシャルを示していくことを期待する。

3. 江波 進一 研究者 「大気中および生体中の界面光反応のその場計測」

地球温暖化や PM2.5 など、地球の気候変動や大気汚染物質による人体への影響に関心が集まっている。 前者を理解する上で重要な反応は雲の形成過程で起こり、後者では肺の内部で起こる気体と液体の境界相 での界面反応が鍵となる。このような化学反応は、界面に生成する短寿命のラジカル種を直接その場検出す ることが困難であることから、これまでほとんど研究が進んでいなかった。

江波研究者は、この課題を解決するために新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせた界面光反応のその場計測手法の開発に取り組んだ。開発された手法で得られる情報は、液体の表面部分厚さ 1nm 以下に存在する化学種のダイナミックな組成変化であり、生体中や大気中での界面ラジカル反応のメカニズムに対する情報が得られた。前者の系では気候変動の鍵となる大気エアロゾルの気液界面に生成するペロキシラジカルを直接検出し、後者の系ではオゾンや PM2.5 を吸引したときに肺の表面で起こる界面活性タンパク質のラジカル酸化反応を直接測定した。

既にある実験技術を新しい観点で組み合わせ、新しい情報を得る手法となることを示した。取り扱うことのできる界面反応は、様々な身近なところで起こっている基本的で重要な化学反応である。江波研究者の主張するように、開発した手法を気象、環境、バイオ、ナノなどが様々に関わる学際的な研究へと展開して貰いたい。

4. 小阪田 泰子 研究者 「光機能性量子ドットを用いた単一分子神経活動イメージング」

ナノ粒子を利用した生体イメージングは、生体分子の細胞内でのダイナミクスや動物レベルでの分子の可視化のツールとして期待されており、多くの関連研究が行われている。しかしながら、将来の革新的光イメージング技術の開発に向けて、さらに新しい特性をもった光機能性ナノ粒子の開発が必要である。

小阪田研究者は、光スイッチ可能な量子ドットを開発し、光ナノ加工技術と一分子計測法と組み合わせ、光による in vivo でのリアルタイム単一分子イメージングを可能にし、神経のネットワークを光により解き明かすことを目指した。そのために、光によって発光を自在に制御できる光機能性ナノ粒子として、スイッチングの鍵となる分子であるジアリルエテンをドープした蛍光性ポリマーナノ粒子を合成した。このナノ粒子を用いることで、光照射により、発光が制御でき、培養した細胞レベルでの蛍光スイッチングが可能になった。また、硬 X 線を照射することで発光する生体適合性の高いナノ粒子として、イリジウム錯体をドープしたポリマーナノ粒子やタンパク質により内包された金クラスターを開発した。

試行錯誤の末、目的を達成するための技術要素をいくつか開発した段階である。このさきがけ研究で、従来、全く知られていなかった生体適合性の高いソフトなナノ粒子からの硬X線励起発光現象を見いだしたことにより、新たな光イメージング技術のポテンシャルを示した。生体深部に照射できる X 線により、発光させるシンチレーションとして機能させるのみならず、ガスメディエーターを放出させるなどの様々な応用が期待される。

5. 香月 浩之 研究者 「凝縮系波動関数の時空間マニピュレーションとイメージング」



香月研究者は、孤立分子系などを対象としたコヒーレント制御を行ってきた。本さきがけ研究では、固体凝縮系中での波動関数を、光により時間空間の両次元において制御し、生成される波動関数をイメージングすることを目指した。このような手法が実現できれば、固体中に自在に励起状態の波動関数を生成し、その時間的な発展を制御し、さらにはその過程をイメージングすることも可能になる。波動関数の状態が制御できれば、対象とする系の様々な物理・化学的性質を制御することにつながる。

研究期間中に異動があり、新たに閉サイクル冷凍機をベースとした光学クライオスタット系を作製した。この装置を使って、固体パラ水素結晶を作製し、まず空間変調を掛けた光パルスより二次元的な波動関数の分布を結晶内に生成し、その分布をプローブ光の散乱イメージとして測定できることを確認した。次に、時間遅延光パルス対を照射して振動波束を二個形成し、両者の間の干渉状態のイメージングに成功した。さらに、空間位置の違いによって干渉フリンジの位相が異なることを利用し、振動励起状態の振幅と位相の空間分布をイメージングして2次元計測することに成功した。さらに、有機分子結晶を対象として、フェムト秒レーザーを光源とした顕微鏡システムと蛍光スペクトル観測系を作製し、結晶内の空間的に異なる二点から放射される光のコヒーレンスについて計測することが可能な装置を立ち上げた。

異動に伴う、装置の再構築に時間を要したが、それまでの経験を生かした装置を立ち上げる事ができた。それにより期待できる成果が得られ始めたところである。先駆けるための助走段階で研究期間が終わる事となったが、固体パラ水素から有機分子結晶などへ研究対象を広げつつあり、さきがけ研究としての真価をこれから発揮してもらいたい。

6. 岸本 哲夫 研究者 「連続発振原子波レーザーの開発と微細加工技術への応用」

レーザー技術の発展に伴い、レーザー光を用いて運動している原子を減速し、また冷却させた原子を空間に保持することが可能となり、これらの技術を利用して位相空間密度を上げて多数原子を基底状態まで落とし込んだボース・アインシュタイン凝縮体(BEC)の生成が実現された。BEC は様々な量子物理現象の研究に用いられてきたが、その生成に際してはいくつもの工程を切り替えて適用していく必要があり、また用いられる冷却手法は万能ではなく、それを適用できる原子種も限られていた。

これに対し岸本研究者は、すべての工程を光学的手法で可能とし、BEC を連続的に実現するアプローチをさきがけ研究として提案した。この手法では、連続的な高繰り返しのBECが実現できる可能性がある。各工程の検証を実験的に一つ一つ行い、それらの工程の可能性を実証し、これらの各工程を組み合わせることにより、連続的に BEC 原子集団の供給ができることを示した。これは新しいレーザーすなわち原子波レーザーの実現に道を開いた事になる。

戦略目標に照らしても、さきがけとしても原子レーザーの開発は大変興味深くユニークな提案として採択した。 目指した結果からかなり手前で終わったが、必要な要素技術の開発や新しい計画設定も可能となったので、 この取り組みはよしとしたい。

現在、技術要素開発が一通り終了したところで、実際に全行程がアイデア通りに実現できるかどうかについては、今後の課題として残された。さきがけに採択された時点でのアイデアの見直しや、実験に必要な原子の特性の実測など、遭遇した課題を着実に解決した経験を今後の研究活動にも生かして、近い将来、原子波レーザーを実現してもらいたい。

7. 小島 大輔 研究者「哺乳類のUV感覚にせまる光センサー蛋白質の機能解明」

昆虫が紫外線(UV)で"見ている"ことが知られている。昆虫より高等動物である鳥類でもUV センサーを持っている事も分かっていた。本さきがけ研究を開始する直前に小島研究者は、マウスのゲノム上に見出した光センサー遺伝子 OPN5 により作られるタンパク質が、UV センサーとして機能していることを報告した。

本さきがけ研究では、この OPN5 遺伝子が人間にも存在し、試験管内での再構成実験により、ヒト OPN5 が UV センサー蛋白質として機能することを明らかにした。マウスを用いた実験では、OPN5 蛋白質は、体表にある組織(網膜や耳介)のごく限られた細胞に存在することを実証した。一方、霊長類(ニホンザル)の OPN5 遺伝子の解析から、光センサー蛋白質をコードしない splicing variant mRNA の存在を示し、現在は、その機能解明にむけて研究中である。

新たな発見が、新たな疑問を生み出す典型のような研究展開となった。これまで認識されていなかった霊長類の OPN5 遺伝子の発見と、その遺伝子のスプライシングにより作られるタンパク質のバリエーションはいったい何のためなのか、興味のつきない課題に遭遇してさきがけ研究を終了した。さきがけ研究らしい研究展開であり、今後もパイオニアとしてこの研究領域を開拓してもらいたい。

8. 是枝 聡肇 研究者 「光による熱の固有状態の創成と波動制御の実現」



熱伝導は一般に拡散過程として認識されているが、波動として振る舞う事も古くから指摘されており、第2音波という名前もつけられている。しかし、その実験結果の報告も数件しかなく、熱がコヒーレントな波動として 伝搬するという認識はなかった。

是枝研究者は、「量子常誘電体」と呼ばれる物質に着目し、誘導ブリルアン散乱の手法を用いて、光で低温の量子常誘電体内部に熱の波動を光で励起することを試みた。具体的には、高温超伝導体としてよく知られているチタン酸ストロンチウムをとりあげ、熱の波動の振動数(波長)を自由に制御できることまでを示した。このとき、誘起された熱の波動は、励起領域内で完全に位相を揃えて振動しており、「コヒーレントな熱の波動」が生成されたことを確認した。

これまで第2音波が報告されていたのは 3 例のみで、極めて希な現象であると思われてきた。量子常誘電体で第2音波励起が確認できたことは、量子常誘電体と総称される物質群は勿論,同様のフォノン分枝を持つ他の多くの物質においても第2音波が励起できる可能性がある。そうすれば、より一般的な物理現象として捉えることが可能となり、それらの物質による熱波動の共振器や熱レーザーの実現など,熱波動科学とよべる研究分野が開拓されることを期待する。

9. 佐藤 琢哉 研究者「フェムト秒光波制御による超高速コヒーレントスピン操作」

物性研究にフェムト秒光パルスが広く使われ始めているが、固体の磁性研究に用いられた例は少なかった。これに対し、佐藤研究者は、時間的に整形されたねじれ偏光ダブルパルスを用いて反強磁性体の磁化を3次元的に自在に制御すること、空間的に整形された円偏光パルスを用いてフェリ磁性体中にスピン波を生成し、その伝播方向を制御することを目標に研究を行った。

興味深い成果がいくつか得られているが、特に、ポンプ光の集光レンズの前側焦点面に長方形の開口を挿入し、試料表面でのスポット形状を楕円形にしたパルス光を照射したところ、全く新しい現象を見出した。すなわち、楕円の長軸が印加磁場に平行・垂直のとき、スピン波は磁場に対して垂直・平行方向に伝播する様子を動画として捉え、指向性をもったスピン波の発生を示すことに成功した。この結果は、Nature Photonics に発表されている。

この論文発表の反響は大きく、発表後の1年間に内外それぞれ5件程度の招待講演の依頼があった。これは、スピン波伝搬を光で見てみたいというチャレンジ精神が、工夫と根気のいる観察を成功させ、新しい実験物理を拓くことにつながったものと考えられる。学術的な面白さを追求しながらも、新しい産業や既存産業の高度化につながるものが無いか、多様な価値の掘り起しができないかなどにも配慮したトライアルの成果であり、今後の展開を多いに期待したい。

10. 東海林 篤 研究者「磁気光学効果を利用した光の伝搬特性制御」

物質の光学的特性を示す誘電率はテンソルで表され、その非対角成分は外部からの印加磁場で変化しうる 複素数値をもつ。光アイソレータや光サーキュレータといったデバイスに応用されている磁気光学効果はその 非対角成分の虚数部を利用したものであり、透過光や反射光に偏光の変化を誘起させることにより動作させ ている。しかし、これらは光の偏光を利用したデバイスであり伝搬方位を制御するデバイスではない。

東海林研究者は、誘電率テンソルの非対角成分の実数部を積極的に活用することに着眼した。この非対角成分の実数部は、光を吸収する効果となることから、これまであまり着目されてこなかった。しかし光の波長と同程度の大きさの微小構造体においてこの実数部は、光によって物質内部に誘起される分極・光誘起分極の向きを変化させ、入射光とは異なる方位へ光を散乱させるという特異な効果をもたらす。この実証実験を行うために2次元の磁性フォトニック結晶を試作し、実際に期待される効果が実現することを確認した。

磁場で光伝搬制御をしたいという想いが実現し、原理と実験課題が明らかにされた。試作したフォトニク結晶は試作段階であり、加工手法には改良余地があり、将来大幅な性能向上が期待できる。そのためにも、外部機関との共同研究なども視野に入れて仕上げてゆくと、デバイス・システムレベルの応用が見えてくるものと判断する。ユニークな視点で立ち上げたこの研究の魅力が一見してわかるようなデモンストレーションをしており、それによりこの研究の認識が高まることを期待する。

11. 高橋 優樹 研究者「単一イオンと単一光子間の量子インターフェースの実現」

原子と光子の相互作用の大きさは、原子を光共振器に閉じ込めるとことで大きく増幅し、ある条件下では原子と光子の相互作用の大きな強結合状態が起こる。このような物理系は、単なる学術的興味のみならず、量子情報ネットワークの基幹デバイスとしてや新奇な量子光源または精密計測応用などの観点からも注目されている。

これを実現するためには光共振器のミラー間の間隔を狭め、共振器の体積をできるだけ小さくする。

る。高橋研究者は、光ファイバーを用いた新しい光共振器とそれと一体化した新たなデザインのイオントラップ 「光ファイバー共振器一体型イオントラップ」を提案し、その動作実証を行った。実証実験の結果、設計どうり の系でイオンをトラップすることに成功し、単一イオンと光共振器の強結合が可能な系を始めて実現した。

物理系では、自分の新奇なアイデアを実証するためには、自分で新しい装置を立ち上げなくてはならない。 新規性が高いほど、その立ち上げ期間が長くかかる傾向がある。高橋研究者は、さきがけ研究期間のほとん どすべてを装置の立ち上げに費やし、最後の数ヶ月で実証実験に成功した。研究期間中に全く成果が得られ ない可能性もあったチャレンジングな提案を採用し、3年半もの時間と研究資金、さらには研究者の身分を与 えることができたのは「さきがけ」ならではの制度である。実証された新奇な「光ファイバー共振器一体型イオ ントラップ」のこれからの展開を多いに期待したい。

12. 高橋 文雄 研究者 「広範な藻類のもつ転写因子型光受容体の機能解析とその応用」

植物は、光合成に太陽光を利用するのみならず、その効率化を行うために信号として利用している。さらに、 形態を変化させたり、細胞内の小器官を移動させたりすることにも光を活用している。植物が、光を信号として 受け取るのが光受容体で、藻類は陸上植物とは違った光受容体を持つ可能性が示唆されていたにも関わら ず、その光受容体の実在は確認されていなかった。

高橋文雄研究者は、2007年に藻類から新規青色光受容体発見し、オーレオクロムと名付け、DNA 結合能と 光受容能を持ち合わせていることを明らかにした。本さきがけ研究では、様々な藻類の青色光受容体オーレ オクロムを単離し、そのオーレオクロムの構造変化をタンパク質レベルで確認、光によって誘導もしくは減少 する遺伝子群の特定を行った。また青色光受容体オーレオクロムを持つ藻類の光応答反応について、実験 室内で用いられる方法を開発し、多くの光誘導性の現象を発見した。

最近、エネルギー、食料、環境問題に対して水性植物を活用しようする研究が活発化している。これらはすべて水性植物の太陽光利用に基づいている。藻類を研究対象として、光受容タンパクの様々な機能を明らかにしたことは、藻類学のみならず植物科学の光生物学に大きな進展をもたらし、赤潮対策の糸口にもなる可能性があり、今後の研究進展が多いに望まれる。

13. 中川 秀彦 研究者 「二光子励起で発生させるガス状細胞情報伝達分子を駆使したストレス計測」

一酸化窒素(NO)や硫化水素(H2S)は毒性ガスとして知られているが、生体ではその機能維持に重要な役割を果たしており、常温常圧でガス状の物質であることから、"ガス状細胞情報伝達分子(ガス状メディエーター)"と呼ばれている。これらのガス状メディエーターの研究は、病気の治療や、さらには生命現象の解明にも貢献できる可能性がある。しかしながら、これらのガス状メディエーターの研究はその毒性と取り扱いの困難さゆえ、あまり進んでいないのが現状である。

中川研究者は、光照射により NO、H2S、HNO、ONOO-といったガス状メディエーターを発生する光ドナー化合物を分子設計し、合成することに成功した。合成した化合物を細胞内に導入し、光を照射することによりガス状メディエーターを細胞内の狙った位置に発生させることにも成功した。さらに、二光子励起により NO を発生する化合物を開発してマウス脳内に投与し、光照射を行った場所と時間でだけ NO を発生させ、照射部位の血管径を拡張させることに成功した。

生体内の主要なガス状メディエーターを光照射により放出できる化合物を開発し、その薬学的効果を確かめる事にも成功した。このことは、中川研究者が目指している多様なガス状メディエーターを駆使した新しい光線力学療法の開発に目処をつけたことになる。開発した、あるいはこれから開発する化合物から、光照射により照射部位に発生させるガス状メディエーターの生体に対する薬学的研究、さらには治療への展開が多いに期待できる。

14. Vasudevan Pillai Biju 研究者 「がんの可視化と光線治療に向けた光分解性バイモーダルナノパーティクルの開発」

X 線のような放射線治療は放射線障害による健康リスクが問題となるため、磁場や低出力レーザーを用いた MRI・蛍光イメージング法と光線療法に関心が集まってきた。結果として、蛍光ナノ粒子、MRI 造影剤や光線療法薬剤はがんの検出・治療のための治療的診断法用として広く研究が行われているが、既存のナノ粒子や薬剤はそのサイズの大きさのため生体器官への蓄積が問題となっている。

この問題を解決するためビジュ研究者は、蛍光・MRI イメージング両方に使用できるバイモーダル造影剤として、新規の無毒性かつ光分解可能なナノ粒子を開発した。このナノ粒子は光照射によって分解・断片化して尿により排泄されるため、生体器官に蓄積されてしまう問題を解決した。さらに、がん細胞やマウスのバイモーダルイメージを得るだけでなく、光線力学的療法に有用な一重項酸素の産生をも可能にした。このような光

分解ナノ粒子は、薬剤送達・遺伝子の制御やがん細胞の検出・イメージング、そしてがん細胞の画像誘導温 熱療法・光線療法への候補物質となることが見込まれる。

広く認識されている課題に果敢に挑戦し、非常にアクティブに研究活動を行ってきたことは、多くの論文などのアウトプットからも明らかである。さらに、使用後に光照射により分解して尿中に排出できるバイモーダル造影剤の開発に成功した事は、この分野に新しい概念を提供した事になる。新しい可能性を示す事は、他の研究者の参入を促し、この分野の研究活動が活発化する。まさに「さきがけ」研究らしい研究活動であったと評価している。

10. 評価者

研究総括

増原 宏 台湾交通大学 応用化学系及び分子科学研究所 講座教授

領域アドバイザー(五十音順。所属、役職は平成25年3月末現在)

石原 一 大阪府立大学大学院工学研究科 教授

伊藤 繁*1 名古屋大学 名誉教授

小原 實 慶應義塾大学理工学部 教授

熊野 勝文 東北大学マイクロシステム融合研究開発センター 客員教授

小杉 信博 自然科学研究機構分子科学研究所 教授

佐々木 政子 東海大学 名誉教授

七田 芳則 京都大学大学院理学研究科 教授

中島 信昭 豊田理化学研究所 フェロー

三澤 弘明 北海道大学電子科学研究所 所長

美濃島 薫 産業技術総合研究所 イノベーション推進本部 事務局長

三室 守*2 京都大学大学院人間・環境学研究科

宮脇 敦史 脳科学総合研究センター 副センター長

吉原 經太郎 自然科学研究機構分子科学研究所 名誉教授

Frans Carl De Schryver*3 Katholieke Universiteit Leuven, Emeritus Professor

Din Ping Tsai*4 台湾中央研究院應用科學研究中心 センター長

Shimon Weiss*5 University of California, Los Angeles, The Dean Willard Chair

Johan Hofkens*6 Katholieke Universiteit Leuven, Department of Chemistry, Professor

- *1 平成 22 年 6 月~現在
- *2 平成 20 年 6 月~平成 23 年 2 月
- *3 平成 21 年 12 月~現在
- *4 平成 23 年 4 月~現在
- *5 平成 22 年 4 月~現在
- *6 平成 24 年 2 月~現在

(参考)

件数はいずれも、平成26年3月末現在。

(1)外部発表件数

	国 内	国 際	計
論 文	3	75	78
口頭	193	134	327
その他	35	6	41
合 計	231	215	441

(2)特許出願件数

国 内	国際	計
9	3	12



(3)受賞等

・永井 健治

第 10 回日本学術振興会賞(2013 年 12 月) 第 21 回木原記念財団学術賞応用科学賞(2013 年 4 月)

・岩長 祐伸

コニカミノルタ画像科学奨励賞: <u>岩長祐伸</u>「ハイパーレンズからなる大面積・超解像プレートの研究」 (2013 年 3 月)

•香月 浩之

平成 23 年度文部科学大臣表彰·若手科学者賞(2011 年 4 月) 分子科学研究奨励森野基金(2011 年 8 月)

・佐藤 琢哉

日本物理学会 第7回若手奨励賞(2013年3月). 応用物理学会 第55回光学論文賞(2014年3月).

·Vasudevan Pillai Biju

Asian and Oceanian Photochemistry Award for young scientists (2010 年) 光化学協会奨励賞 (2011 年) 英国王立化学会フェロー (2011 年)

(4)招待講演

国際 80 件

国内 97 件



別紙

「光の利用と物質材料・生命機能」領域 事後評価実施 研究課題名および研究者氏名

(3年型)

(3年型)			
研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現 職(平成 26 年 3 月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
岩長 祐伸 (兼任)	転送光学に基礎をおく超解像顕微鏡とメゾ 機構のその場観察 (物質・材料研究機構)	物質・材料研究機構 先端フォトニクス 材料ユニット 主任研究員 (同上 量子ドットセンター 主任研究員)	44
江波 進一 (兼任)	大気中および生体中の界面光反応のその 場計測 (京都大学白眉センター)	京都大学 白眉センター 准教授 (カリフォルニアエ科大学 博士研究員)	40
小阪田 泰子 (兼任)	光機能性量子ドットを用いた単一分子神経 活動イメージング (京都大学)	京都大学 物質―細胞統合システム拠点特定拠点 助教 (科学技術振興機構 さきがけ研究者)	35
香月 浩之 (兼任)	凝縮系波動関数の時空間マニピュレーションとイメージング (奈良先端科学技術大学院大学)	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 准教授 (自然科学研究機構 助教)	40
岸本 哲夫 (兼任)	連続発振原子波レーザーの開発と微細加工技術への応用 (電気通信大学)	電気通信大学 大学院情報理工学研 究科 特任准教授 (同上 先端領域教育研究センター 特認准教授)	43
小島 大輔 (兼任)	哺乳類のUV感覚にせまる光センサー蛋 白質の機能解明 (東京大学)	東京大学大学院理学系研究科 講師 (同上)	40
是枝 聡肇 (兼任)	光による熱の固有状態の創成と波動制御 の実現 (立命館大学)	立命館大学理工学部 准教授 (東北大学理工学部 助教)	44
佐藤 琢哉 (兼任)	フェムト秒光波制御による超高速コヒーレントスピン操作 (東京大学)	東京大学生産技術研究所 助教 (同上)	43
東海林 篤 (兼任)	磁気光学効果を利用した光の伝搬特性制 御 (山梨大学)	山梨大学医学工学総合研究部 助教 (同上)	43
高橋 優樹 (専任)	単ーイオンと単一光子間の量子インターフェースの実現 (サッセックス大学)	科学技術振興機構 さきがけ研究者 (同上)	40
高橋 文雄 (兼任)	広範な藻類のもつ転写因子型光受容体の 機能解析とその応用 (立命館大学部)	立命館大学生命科学部 助教 (科学技術振興機構 さきがけ研究者)	39
中川 秀彦 (兼任)	二光子励起で発生させるガス状細胞情報 伝達分子を駆使したストレス計測 (名古屋市立大学)	名古屋市立大学大学院薬学研究科 教授 (同上 准教授)	40
V.P. Biju (兼任)	がんの可視化と光線治療に向けた光分解性バイモーダルナノパーティクルの開発 (産業技術総合研究所)	産業総合研究所健康工学研究部門 主任研究員 (同上)	35



(5年型)

研究者氏名	研 究 課 題 名	現 職(平成 26 年 3 月末現在)	研究費
(参加形態)	(研究実施場所)	(応募時所属)	(百万円)
永井 健治	ナノサイズ高輝度バイオ光源の開発と	大阪大学産業科学研究所	
(兼任)	生命機能計測への応用	教授	100
(末往)	(大阪大学)	(北海道大学電子科学研究所教授)	



研究報告書

「ナノサイズ高輝度バイオ光源の開発と生命機能計測への応用」

研究タイプ:5年型

研究期間: 平成 20 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 永井健治

1. 研究のねらい

蛍光タンパク質を利用したバイオイメージング技術は生命科学研究に"革命"をもたらした。 今や細胞や細胞内小器官、或いはタンパク質 1 分子が蛍光タンパク質で蛍光化され、顕微鏡 のもとで観察されている。可視化の対象は細胞内コンパートメントの形や空間分布など、"構 造"に焦点がおかれる場合が多いが、工夫次第で細胞内のイオン濃度やシグナル伝達の活 性化状態など生体分子や細胞の"機能"を捉えることもできるようになった。また、近年では超 解像蛍光観察技術が著しい進歩をとげ、蛍光バイオイメージング分野はまだまだ成長の真っ 直中にある。このように、蛍光観察技術が進歩する一方で、試料への光毒性や自家蛍光とい った問題は未解決のまま残されている。このような状況の中で、ホタルに代表される発光生物 が有する化学発光タンパク質(ルシフェラーゼ)を用いたライブイメージングに注目が集まりつ つある。ナノメートルサイズのタンパク質性発光分子であるルシフェラーゼは発光物質ルシフェ リンの酸化を触媒して発光させる作用を持つ酵素の総称である。蛍光分子と異なり励起光の 照射を必要としないことから、蛍光観察では困難な小動物個体内の生理現象を高いコントラス トで可視化するツールとして利用されてきた。しかし、発光強度が極めて低いため画像を得る のに数秒から時には数十分以上の露光時間を必要とし、発光基質を細胞に導入する必要が あるなどの欠点が存在した。そこで本研究では、試験管内分子進化とタンパク質エンジニアリ ングによりルシフェラーゼの発光強度を大幅に向上させ、細胞から個体レベルまでの生理現 象をビデオレート(30 画像/秒)で可視化可能にすることを第一の目的に掲げた。また、この高 輝度化学発光タンパク質を"ナノスケール局所照明光源"として利用することで、細胞内の生 体分子の動態を可視化可能な発光プローブを開発すると共に、光照射によって細胞やタンパ ク質の機能をコントロールするオプトジェネティクス(光遺伝学)と併用できる解析技術の開発 を目指した。さらに、発光基質を自ら産生する細胞を開発し、これまでにない"発光自動化"の 達成を狙った。

2. 研究成果

(1)概要

高輝度化学発光タンパク質を開発するために、既存のルシフェラーゼの中でも分子量が比較的小さく、発光に必要な捕因子が少ないウミシイタケルシフェラーゼ(RLuc)にランダム変異を導入し、より明るく発光する変異体 RLuc8-S257G を得た。さらに RLuc-S257G を蛍光量子収率の高い黄色蛍光タンパク質 Venus (Φ=0.7)と高い FRET 効率で融合することで、発光強度を 10倍以上に増加させることに成功し、Nano-lantern を得た(図1A, B)^{文献1}。Nano-lantern を細胞内の様々な部位に発現させたところ、凝集塊などを形成することなく正しい局在を示し、蛍光に遜色ない画像が得られた。また、癌細胞を Nano-lantern で標識することで、自由に動き回るマウ



スの腰部で光る癌組織をビデオレートで撮影することに成功した(図 1C) ^{文献1}。

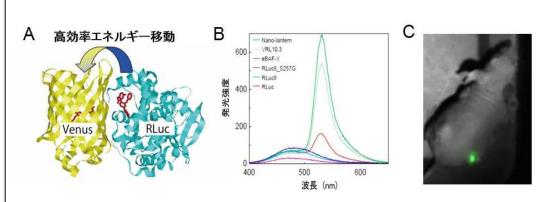


図1. 高輝度化学発光タンパク質 Nano-lantern による癌の可視化

A: Nano-lantern の構造模式図. Nano-lantern は改変型ウミシイタケルシフェラーゼ RLuc と黄色蛍光タンパク質 Venus の融合タンパク質であり、RLuc から Venus への高効率な励起エネルギー移動によって発光強度を増加させている。B: 様々な化学発光タンパク質の発光スペクトル. C: Nano-lantern による自由行動化にあるマウス体内の癌組織検出. 緑色の部分が癌組織.

さらにNano-lanternのRLuc-S257G部分に、特定の生体因子の結合に伴い構造が変化するペプチドを挿入し Ca²⁺、cAMP、ATP を検出する機能プローブ Nano-lantern (Ca²⁺)、Nano-lantern (cAMP)、Nano-lantern (ATP)を開発した。Nano-lantern (Ca²⁺)と ChR2(チャネルロドプシン2)を神経様細胞に共発現することによって、青色光照射依存的な神経興奮を Ca²⁺の上昇としてとらえることに成功しただけでなく、葉緑体に Nano-lantern (ATP)を局在発現させた植物体を作製し、光合成依存的な ATP 産生を世界で初めて観察する事にも成功した(図2) ^{文献}1。このような化学発光プローブを光遺伝学ツールと高い時間分解能で併用可能にするため

に、CCD カメラの読み出し時間中に 光刺激を行う顕微観察刺激システ ムも構築した^{文献 2}。また、化学発光 イメージングとの併用が可能な光 遺伝学ツールとして、光不活性化 法に応用可能な単量体型光増感タ ンパク質 SuperNova ^{文献 3} や青色光 照射によって Ca2+を放出するタンパ ク質 PACR ^{文献 4} の開発も行い、光で 生命機能に摂動を加えながら、化 学発光でイメージングする汎用的 研究手法を確立した。その一方で、 細胞内の化学発光の自動化を達成 すべく、発光基質の生合成に関わ る酵素遺伝子の単離を様々な発光 生物でチャレンジしたがついに成功 しなかった。

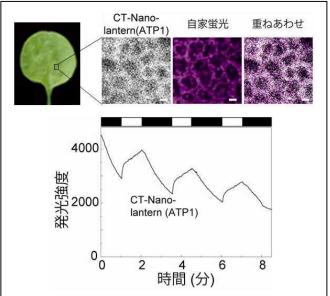


図2. Nano-lantern(ATP)によるシロイヌナズナの葉緑体における光合成依存的な ATP 合成の可視化



(2)詳細

研究テーマ A「高輝度化学発光タンパク質の開発」^{文献 1}

代表的な化学発光タンパク質の一つであるレニラルシフェラーゼ(Renilla luciferase, RLuc)は 刺胞動物に属するウミシイタケから同定されたルシフェラーゼであり、セレンテラジンをその発 光基質とする。分子サイズが比較的小さい(35 kDa)事、ホタルルシフェラーゼと異なり ATP、 Mg²⁺の補因子を必要としない事から化学発光を利用したスクリーニング等で使用される機会が 多い。しかしながら、蛍光に比べて暗いためこれまでライブイメージングには使われて来なかっ た。RLuc が暗い理由の一つとして、発光量子収率が約 0.05 と非常に低い事があげられる。こ れは蛍光イメージングで用いられる蛍光色素の量子収率の 1/10 以下である。まず手始めに RLuc にランダムなアミノ酸変異導入を行い、明るさを改善する変異を探したが、それだけでは RLuc の量子収率を飛躍的に上げるのは困難である事に気がついた。そこで化学発光タンパク 質と蛍光タンパク質間の共鳴エネルギー移動(Förester resonance energy transfer, FRET)を化 学発光の明るさの改善に利用する事を着想した。FRET はドナー分子からアクセプター分子へ と励起エネルギーが移動する現象であり、分子間相互作用を検出する方法としてライフサイエ ンス分野で応用されている。実際には FRET は実験室だけでなく自然界でも起こっている。例え ば、前述したウミシイタケの生体内では発光タンパク質(RLuc)と蛍光タンパク質(ウミシイタケ GFP)が強く相互作用し、両者の間で高効率の FRET が起きており、結果として明るい緑色に発 光している事が知られている。言い換えればウミシイタケは暗い RLuc からでなく、明るいウミシ イタケ GFP から効率よく発光させるために FRET を利用しているのである。この方法を真似て高 輝度化学発光タンパク質をデザインするにあたり RLuc のアクセプターとなる蛍光タンパク質と して Venus を用いる事にした。RLucと Venus の様々な融合タンパク質を作製し最も FRET 効率 の高いものをプローブとして選び出すために、融合タンパク質構築には Venus だけでなくその 円順列変異体 5 種類も利用し、RLuc と Venus の間のアミノ酸リンカーは様々な長さを試した。 また、RLucをC末端、VenusをN末端側に替えた融合タンパク質も作製した。精製した各融合 タンパク質の発光スペクトルから、Venus 由来の発光値(530 nm)と RLuc 由来の発光値の比 (530/480 nm 比)を求める事で、最大の FRET 効率を持つ融合タンパク質を選別した。さらに、 RLuc 自体の発光量を改善するために、エラー誘発 PCR 法により RLuc に対してランダムなアミ ノ酸変異を導入し、発光量を指標にマイクロプレートリーダでスクリーニングする事で、発光量 を改善するアミノ酸変異を見出した。これを先述の最大の FRET 効率を持つ融合タンパク質に 導入する事により、RLuc の 10 倍以上の明るさを有するタンパク質を得ることに成功し、ナノス ケールの光源という意味を込めて「Nano-lantern(ナノ・ランタン)」と名付けた。

研究テーマ B「Nano-lantern を用いた細胞~個体レベルでのイメージング」

文献 1

Nano-lantern を細胞内の様々な場所に局在させてイメージングができるかどうかを試したところ、Venus の蛍光でイメージングした場合と遜色ないクオリティで細胞小器官を可視化する事ができた。次に個体レベルでの化学発光イメージングを試みるため、Nano-lantern を安定発現させたマウス大腸癌細胞株 colon26 細胞をBALB/c マウスの皮下に移植し数ミリの腫瘍に成長させた。小動物個体レベルでの化学発光イメージングを行うためのシステムを自作して観察した結果、毛を剃らず無麻酔で自由に動き回るこのマウスの背中で光る腫瘍部位をビデオレート



で可視化する事に成功した。

Nano-lantern を応用し、細胞内で重要な働きを持つ分子を検出するための機能性プローブを作製した。まずその手始めに Ca²⁺プローブの作製を行った。FRET や蛍光タンパク質をベースとした Ca²⁺プローブ作製にならい、Nano-lantern の発光タンパク質(RLuc)内部に Ca²⁺に結合し構造を変化するカルモジュリン(CaM)とそのターゲットである M13 ペプチドを挿入した。挿入部位を検討した結果、RLuc の 228 番と 229 番のアミノ酸残基間に挿入した融合タンパク質は Ca²⁺有無でのシグナル変化が 300%と非常に大きくなることが分かり、Nano-lantern(Ca²⁺)と名づけた。Nano-lantern(Ca²⁺)はこれまでの化学発光タンパク質に比べても非常に明るいため、それ

研究テーマ C「高輝度化学発光タンパク質エンジニアリングによる機能プローブの開発」^{文献 1}

た。Nano-lantern(Ca^{2+})はこれまでの化学発光タンパク質に比べても非常に明るいため、それを発現させた HeLa 細胞の Ca^{2+} イメージングをビデオレートで行う事に成功した。また、細胞を操作する光遺伝学的手法と今回開発した Nano-lantern(Ca^{2+})の併用を行った。代表的な光遺伝学ツールである ChR2(チャネルロドプシン 2)は青色光を照射する事で神経細胞を興奮させる事ができるが、蛍光指示薬で使用する励起光で ChR2 が作動してしまうため、これまで両者の併用は難しかった。Nano-lantern(Ca^{2+})は励起光を必要としないため、ChR2 を作用させること無く併用する事が容易にできた。

次に cAMP を検出する機能性プローブの作製を行った。これまで FRET を利用した cAMP が報告されていたが、シグナル変化量が非常に小さく(1-15%) 検出が容易でない事が問題となっていた。EPAC1 タンパク質の cAMP 結合に必要な断片を Nano-lantern(Ca^{2+})の CaM-M13 に替えて挿入したところ、cAMP の有無でシグナルが 130%変化するプローブを作製することができ、Nano-lantern(cAMP)と名づけた。Nano-lantern(cAMP)を発現させたアメーバ細胞の集団を飢餓状態に置いたところ、細胞が集合していく過程で cAMP が細胞間を伝播していく様子を捉えることに成功した。

さらに、ATP を検出するプローブの作製を試みた。FRET を利用した ATP プローブ(ATeam) に利用されている FoF1-ATP 合成酵素の ε サブユニット(mBSU ε)を Nano-lantern(Ca $^{2+}$)の CaM-M13 に替えて挿入したところ、ATP の有無で 200%のシグナル変化を示すプローブを作製することができ、これを Nano-lantern(ATP)と名づけた。シロイヌナズナの葉緑体に Nano-lantern(ATP)を発現させる株を作製し、光照射に伴う ATP 産生の様子を可視化すること に世界で始めて成功した。

研究テーマ D「CCD カメラの読み出し時間中に光刺激を行う顕微観察刺激システムの構築」^{文献}
2

光照射によってタンパク質や細胞の機能を操作する"光遺伝学"的技術が生命科学の分野で近年台頭しつつある。この技術により高い時空間分解能で細胞を刺激し、何が生じるのかを分子レベルで実時間観察するという解析法が今後の生命科学研究において重要になることは疑う余地もない。その為には光遺伝学的技術に蛍光タンパク質などを利用したライブイメージング技術を組み合わせた解析法を確立する必要がある。しかしながら、両技術を併用しようとすると、1)光遺伝学的な刺激光が蛍光観察チャネルに漏れこみ、S/N が悪化する、2)蛍光観察に必須の励起光照射が光刺激となってタンパク質や細胞の機能に摂動を与えてしまう、とい



うジレンマがあった。そこで、CCD カメラの読み出し時間中に光刺激を行う顕微観察刺激システムを開発するとともに、上述の実時間観察が可能な高輝度化学発光タンパク質と併用することで、これらの問題を克服することに成功した。

研究テーマ E「化学発光タンパク質と併用が可能な光遺伝学的ツールの開発」^{文献 3, 4}

蛍光タンパク質は、タンパク質や細胞を蛍光標識するためのツールとして生命科学研究で大いに利用されている。一方、励起光照射により僅かながら発生する活性酸素によって周囲の分子を酸化して不活性化する光増感分子としての利用も原理的には可能であると考えられている。しかしながら、一般的な蛍光タンパク質は光照射による活性酸素の産生量が少なく、また KillerRed と呼ばれる活性酸素の産生能が高い蛍光タンパク質は2量体を形成するため、他のタンパク質との融合が困難であった。そこで KillerRed をタンパク質進化工学により改変し、単量体型で効率よく活性酸素を産生する新しい蛍光タンパク質 SuperNova を開発した。さらに、SuperNova を用いて AuroraB や Cofilin などの特異的なタンパク質の不活性化やアポトーシスの誘導などに成功した。今後、光遺伝学(オプトジェネティクス)用のツールとなり、化学発光イメージングと併用することで多種多様なタンパク質や細胞の時空間的な機能の解析が可能になると期待される。

次に、光照射によって細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させることが可能な人工タンパク質 PACR (Photo-Activatable Ca^{2+} Releaser)を開発した。PACR は Ca^{2+} 結合タンパク質 (Calmodulin)、 Ca^{2+} -Calmodulin 結合ペプチド (M13)、光感受性ドメイン (LOV2)の3者を融合した構造を有し、青色光照射による LOV2 ドメインの立体構造変化によって、Calmodulin-M13 間の相互作用が阻害され、 Ca^{2+} に対する親和性が低下する結果、 Ca^{2+} が Calmodulin から放出される。最大の利点は遺伝子にコードされているためシグナル配列や特異的プロモーターの付加によってミトコンドリアや ER などの細胞小器官や、筋肉や神経などに発現が可能であることである。実際にHeLa 細胞に PACR を発現させた系では青色光照射によって核内など、細胞内局所的に Ca^{2+} 濃度を変化させることができた。さらに、モデル動物の一種である線虫の接触神経細胞へPACR を発現させたところ、青色光照射により線虫の運動を操作することに成功した。

3. 今後の展開

オプトジェネティックバイオイメージング解析法の確立: 更なる高輝度化、多波長化、長期 観察のための発光基質生合成系の完成と高い時間分解能で光遺伝学との併用が可能な汎 用的顕微鏡システムの構築を行い、生命科学研究の標準解析法を確立する。

4. 評価

(1)自己評価

申請時に提案した課題 3 つのうちの 2 つ、つまり「高輝度化学発光タンパク質およびそれを用いた生理機能プローブの開発」と「生命機能計測への応用」は当初の目的にかなう成果をあげることができた。さらに、最終年度には更なる高輝度化を達成することができ、誰もが簡便に使える汎用的ツールにまで発展させることができたと自負している。その一方で、最もさきがけ研究らしいリスクの大きなテーマであった「発光基質の生合成に関わる酵素遺伝子の単離」には、多くの時間と労力を割いたものの、ことごとく失敗に終わってしまった。このテー

マはバイオイメージングのみならず様々な分野への波及効果が期待できるだけに、失敗から 得た教訓を生かして、近い将来必ずや成功させたい。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

蛍光タンパク質を利用したバイオイメージング技術により、動植物の生理機能を可視化できるようになり、広く普及している。しかし、蛍光に必要な光照射による試料の光損傷や、自家蛍光によるコントラストの低下、さらには意図しない活性化を引き起こすなどの問題もある。

永井研究者は、これらの問題あるいは課題を解決する手段として、励起光照射を必要としない化学発光タンパクに着眼した。化学発光タンパクを使用する上での最大の課題は高輝度化であった。ウミシイタケルシフェラーゼをもとに、ランダム変異の導入などにより、10 倍以上の輝度の化学発光タンパクを開発し、Nano-lantern と名付けた。さらに、特定の生体因子の結合に伴い構造が変化するペプチドを挿入し Ca2+、cAMP、ATP を検出する各種機能プローブを開発した。これにより、光遺伝学ツールを用いた光刺激依存的な神経興奮をCa2+の上昇としてとらえることに成功しただけでなく、葉緑体に Nano-lantern (ATP)を局在発現させた植物体を作製し、光合成依存的な ATP 産生を世界で初めて観察する事にも成功した。

ー期生を募集した平成 20 年度に初めて 5 年型が発足した。永井研究者は 5 年型にふさわしいスケールの大きな研究計画を提案し、一期生でただ一人 5 年型として採用された。得られた成果はバイオサイエンスとして画期的なものであるが、化学エネルギーにより働くNano-lantern は細胞の中から照らす新しいタイプのナノ光源と位置づけることもできる。加えて、その研究姿勢や領域会議における議論、他の研究者との共同研究など、あらゆる場面で際立った貢献があったことを特記しておく。今後の活躍を信じてやまない。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- Saito K, Chang YF, Horikawa K, Hatsugai N, Higuchi Y, Hashida M, Yoshida Y, Matsuda T, Arai Y, Nagai T. A luminescent protein for high-speed single-cell and whole-body imaging. Nature Communications, 3, 1262, 2012
- 2. Chang YF, Arai Y, Nagai T. Optogenetic activation during detector 'dead time' enables compatible real-time fluorescence imaging. Neuroscience Research 73, 341-347, 2012
- 3. Fukuda N, Matsuda T, Nagai T. Optical control of Ca²⁺ concentration in live specimen with a genetically encoded Ca²⁺ releasing molecular tool. **ACS Chem. Biol.,** in press
- 4. Takemoto K, Matsuda T, Sakai N, Fu D, Noda M, Uchiyama S, Kotera I, Arai Y, Horiuchi M, Fukui K, Ayabe T, Inagaki F, Suzuki H, Nagai T. SuperNova, a monomeric photosensitizing fluorescent protein for chromophore-assisted light inactivation. **Scientific Reports**, 3, 2629, 2013.
- 5. Saito K, Hatsugai N, Horikawa K, Kobayashi K, Matsu-ura T, Mikoshiba K, Nagai T. Auto-luminescent genetically-encoded ratiometric indicator for real-time Ca²⁺ imaging at



the single cell level. PLoS ONE, 5: e9935, 2010

(2)特許出願

研究期間累積件数:3件

1.発 明 者:永井健治、新井由之

発明の名称:光学顕微鏡、および、光学顕微鏡のオートフォーカス装置

出 願 人:大阪大学 出 願 日:2012/11/26

出願番号:特願2012-257426

2.発 明 者:永井健治、松田知己、福田憲隆

発明の名称::光駆動カルシウムイオン制御タンパク質

出 願 人:北海道大学 出 願 日:2011/2/1

出願番号:特願2011-020234

3.発 明 者:永井健治、松田知己、高橋里佳

発明の名称::光増感性蛍光タンパク質

出 願 人:北海道大学 出 願 日: 2010/2/3

出 願 番 号: 特願 2010-22603

(2)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表(国際招待講演 56 件、国内招待講演 69 件)

- 1. Nagai T. Manipulation and visualization of biological function with genetically encoded molecular spies. 2013 ASCB annual meeting, 2013. 12. 14. New Orleans, USA
- Nagai T. "Genetically-encoded functional probes applicable in conjunction with photo-manipulation technologies", Optogenetics2013, 2013.9.27 (Keio University, North Hall, Tokyo, Japan)
- Nagai T. "Revolutionary bioimaging with super-duper luminescent proteins.", Fluorescent proteins and biological sensors III, Janelia Farm, USA, 2012.11.5
- 4. Nagai T. "Auto-luminescent genetically encoded indicators for real time in vivo imaging" SPIE 2011 Smart Nano+Micro material and Devices 2011.12.5 (Swainburne Univ. of Technology, Melbourne, Australia)
- 5. Nagai T. "Toward invention of high performance genetically-encoded luminescent indicators for functional imaging in living organisms J Symposium to commemorate 150 years of German-Japan friendship, 2011.07.15 (Mirai CAN Hall, Tokyo, Japan)

受賞

第 10 回日本学術振興会賞

第 21 回木原記念財団学術賞応用科学賞

著作 (欧文誌4件、和文誌 24件)



- 1. 新井由之、永井健治「CCD のデッドタイムを利用した光刺激法が可能にする蛍光・化学発光イメージングとオプトジェネティクスの高時間分解能併用」生化学(印刷中)
- 2. 松田知己、永井健治「光スイッチング機能プローブで挑む細胞の個性」生体の科学(印刷中)
- 3. 齊藤健太、永井健治「高輝度化学発光タンパク質 Nano-lantern の開発」化学と生物 (印刷中)
- 4. Nagai T. Real time imaging of biological phenomena with super-duper luminescent proteins. CYTOLOGIA(印刷中)
- 5. 永井健治、齋藤健太、初谷紀幸「化学発光タンパク質の高輝度化とバイオイメージング への展開」顕微鏡 48(3), 1-3, 2013

プレスリリース

- 1. 「蛍光タンパク質性の"ナノ爆弾"と生命科学研究への応用」にと題して 2013 年 10 月 15 日にプレスリリースし、以下のメディアで取り上げられた。
 - ・日経産業新聞「光当て活性酸素がん細胞を攻撃」 2013 年 10 月 16 日
- 2. 「動き回る小動物体内の組織や生理機能を高感度に検出可能な超高輝度発光タンパク質の開発に成功」と題して2012年12月10日にプレスリリースし、以下のメディアで取り上げられた。
 - ・読売新聞「がん細胞光って知らせる 阪大 発光タンパク質利用」2012年12月14日
 - ・毎日新聞「体傷つけずにがん観察-光るタンパク質組み合わせ-」2013年1月5日
- 3. 「青、緑、赤の蛍光を発する高性能蛍光性カルシウムイオンセンサータンパク質の開発に成功」と題して2011年9月6日にプレスリリースし、以下のメディアで取り上げられた。
 - ・北海道新聞「蛍光タンパク質多色化に成功」 2011 年 9 月 9 日
 - ・西日本新聞「青、緑、赤で完治の蛋白質を開発」 2011 年 9 月 10 日
 - ・日本経済新聞「高感度なセンサータンパク質 緑青赤で細胞把握容易に」 2011 年 9 月 16 日
 - ·朝日新聞「神経回路「ツール」で解明」 2011 年 11 月 5 日
- 4. 「世界最高の検出感度を持つカルシウムイオンセンサー"カメレオン-Nano"の開発に成功」と題して 2010 年 8 月 2 日にプレスリリースし、以下のメディアで取り上げられた。
 - ・化学工業日報 「細胞内 Ca イオンを高感度検出-蛋白系センサー開発」 2010 年 8 月 9 日
 - ・読売新聞 「てんかんなど関与の体内物質 濃度変化の検出力向上」 2010 年 8 月 10 日
 - ・北海道新聞 「細胞のカルシウムイオン濃度感知 高感度タンパク質作製 てんかん



発作解明に期待」 2010年8月10日

- ・科学新聞「カルシウムイオンを超高感度で検出」 2010年8月13日
- ・日経産業新聞「カルシウムイオン濃度 細胞内の変化 感度 10 倍 創薬研究に利用」 2010 年 8 月 13 日
- ・北海道医療新聞「カルシウム濃度変動 超高感度に検出」 2010年8月27日
- 5. 毎日新聞より直接取材依頼があり 2009 年 6 月 23 日に 連載企画 「理系白書 '09 挑戦のとき」において 「永井健治さん(40) 北海道大学電子科学研究所教授 蛍光タンパク質を追及」と題して取り上げられた。



研究報告書

「転送光学に基礎をおく超解像顕微鏡とメゾ機構のその場観察」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 岩長 祐伸

1. 研究のねらい

顕微鏡の解像度の物理的限界は19世紀後半に定式化され、回折限界として知られている。 回折限界は照射光の波長の半分のサイズが結像できる最小のサイズであることを意味している。この限界により、光学顕微鏡で観察できるサイズの下限は300ナノメートル程度であることが広く周知されている。この回折限界を厳密に表現すると、「均一な光の媒体を用いて結像すると、得られる最小のサイズは波長の半分程度」ということになる。つまり、均一な光の媒体を用いて、という前提がある。論理的には、この前提に縛られていない状況下で結像を得ると、もっと小さなサイズまで見える(結像できる)可能性がある。

2000年以降、メタマテリアルと呼ばれる新しい光の媒体を研究する分野が急速に発展し、世界中で精力的な研究競争が展開されている。フォトニック・メタマテリアルは人工的なサブ波長構造からなる光の媒体で、「不均一な」光の媒体である。私はこの点に着目し、メタマテリアルを活用したハイパーレンズを創製して、これを組み込むことのみで光学顕微鏡の性能を向上させる超解像顕微鏡を2010(平成22年)年5月に提案し、実現することを目指してきた。具体的には、メゾスコピックスケール(数十ナノメートルから1マイクロメートル程度のスケール、以下メゾスケール)までを観察対象にできるようにすることを目標として設定した。開発する超解像顕微鏡は性能が向上した光学顕微鏡であることから、対象をその場観察でき、なおかつ動的画像も取得できる顕微鏡を構築することも目標とした。これらの点から、既存の電子顕微鏡や走査型顕微鏡等と比べて、対象をその場観察ができる、非接触・非侵食型である、対象の染色が不要などの利点をもつ新たな光学顕微鏡であると特長付けることができる。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、最終目標である回折限界を超える性能をもつ超解像顕微鏡の開発を実現するために、つぎの3つのステップに分けて研究を遂行した。

- (A)動作波長を可視光域にもつハイパーモードをもつメタマテリアルの数値的設計
- (B) ハイパーレンズアレーの作製
- (C)ハイパーレンズの光学超解像性の実証実験。

ここでは、光の回折(広がり)を抑えて伝搬する光のモードをハイパーモードと呼ぶ(図1参照)。ハイパーモードを活用したレンズをハイパーレンズと呼び、それをアレー化したものをハイパーモードアレーと名付ける。各項目については、つぎの詳細を参照願いたい。

本研究では数値的設計、ナノ加工による作製、光学超解像性の実証を、個人研究として一貫して単独で実施したことにより、各工程でのフィードバッグが即時にかかり、研究全体の進展を早めることができた。最終的な結果として、回折限界を超える光学像を観測し超解像性



(ハイパー分解能)を実証に成功した(図3参照)。今回、構築した顕微鏡はメゾスケールを光 学観察できるもので、本さきがけ研究における核心的課題を達成した。

(2)詳細

研究テーマA「ハイパーモードをもつメタマテリアルの数値的設計」

図1は回折限界より小さいサイズのスリットを光が透過する様子を示す。図1(a)は光の透過側が空気(均一媒体)からなり、そのときの光の伝搬する様子を疑似カラー表示で図1(b)に示している。光はスリット幅程度進行するだけでスリットの2倍程度まで急速に広がる。この図は光の回折現象を数値計算によって可視化したものである。図1(c)はスリットを通った光が金属絶縁体多層構造のメタマテリアルを伝播する配置を示している。図1(d)は光の回折を抑制してスリット幅を維持した光線状の伝播を可能にするハイパーモードを示している。ハイパーモードはメタマテリアル中の光の伝搬モードのうち、波数分散が特別な条件を満たすものによって実現できる[論文1]。

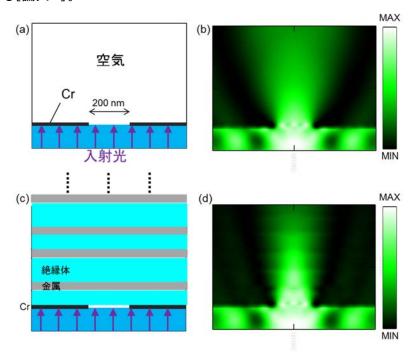


図1.(a)回折限界未満の幅のスリットに下から光を照射する配置。

- (b) 配置(a)で光を照射したときの伝搬光の上向き成分(疑似カラー表示)。
- (c) 回折限界未満の幅のスリットを透過した光が金属絶縁体多層構造のメタマテリアルを伝搬する配置図。
- (d) 配置(c)で光を照射したときの伝搬光の上向き成分(疑似カラー表示)。

メタマテリアルの光の伝搬を固有モードから第一原理的に解析する方法を確立したことで [1-4]、メタマテリアルで常用されているモデルによって設計と実際のメタマテリアルの間に意図せぬ不一致が生じないように細心の注意を払った。金属絶縁体多層構造のメタマテリアルの厳密解析としてフォトニック・ブロッホ状態を求め [1]、ハイパーモードが可視光でも現れる構造パラメータを新たに発見し、ハイパーレンズの設計に取り込むことができた。



研究テーマB「ハイパーレンズアレーの作製」

図2はハイパーレンズアレー作製の工程を模式的に示している。多段階のナノ加工を単独 で実施して、最終的にハイパーレンズアレーを得た。

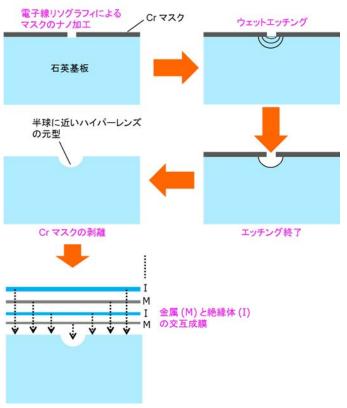


図2. ハイパーレンズアレー作製の工程(模式図)。モールドのナノ加工から、ハイパーレンズの完成まで。

研究テーマC「ハイパーレンズの光学超解像性の実証実験」

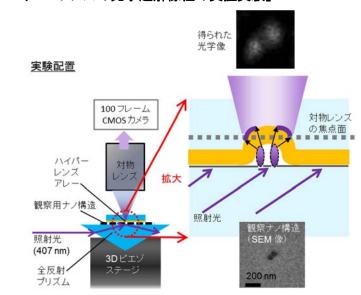


図3. ハイパー分解能の実証実験配置(模式図)と観察像の一例。



図3はハイパー分解能の実証実験配置を模式的に示している。照射光は全反射プリズムによって暗視野配置で観察対象を照らし、ハイパーレンズで対象の散乱像を回折限界以上にまで拡大して通常の光学顕微鏡で観察する系を構築した。

図3の右側ではハイパー分解能の実証実験として、円形のナノ構造が2つ隣接した像を2つの光学像として分離して見ることができるかどうか検証を行った。隣接距離は約70 nm であり、照射光の波長405 nm の5.7分の1に相当する。回折限界は波長の2分の1であることから、得られた光学像は回折限界未満の対象観察に成功したことを示している。なお、観察光学像はCMOSカメラで一括取得されたもので、走査イメージではない。

このように構築した観察系はハイパー分解能をもつ超解像顕微鏡であることを実証できた。ハイパーレンズを含めたこの超解像顕微鏡の倍率から観察サイズの下限を見積もると、さらに小さいもの、50 nmを切るサイズまで観察可能である。従来の光学顕微鏡の観察サイズの下限(約 300 nm)より1桁下のメゾスケールまで観察することを今回の超解像顕微鏡は可能にしている。

3. 今後の展開

従来の光学顕微鏡の性能を向上させた超解像顕微鏡は汎用的であるため、多様な観察対象のその場観察に有用である。今後観察の実例が増えていくことで、その有用性が広く認知されていくと予見され、将来的にはメゾスケールの現象をその場観察した結果をもとに現象を解明する新規の研究分野(「メゾスケール科学」)の基本ツールとなることが期待される。メゾスケールには細胞内ダイナミクス、細胞間ダイナミクスなどの未解明現象が多く存在する。これらの問題が今回の超解像顕微鏡の1つの応用先と考えられる。

4. 評価

(1)自己評価

本さきがけ研究を通じて、ハイパーレンズを活用して回折限界未満の対象の観察光学像を得るという未踏の試みに成功した。ナノ構造からなるメゾスケール構造の光学像を直接その場観察し、顕微鏡として対象の結像を得た今回の成果は、光学顕微鏡の分解能を1桁上げた成果である。回折限界は定式化から140年以上経つが、その物理限界のために多くの補完技術を取り込んだ顕微イメージング技術開発を科学者に課してきた側面がある。今回のハイパーレンズを用いた超解像顕微鏡は回折限界を超える多くの努力のなかでも最も直接的に光学顕微鏡の性能向上を実証したもので、光のみで前処理・後処理なく「見える」世界を1桁広げた先駆的成果であると自己評価している。

他方で、メゾスコピックスケールの動的現象をその場観察するという発展的目標は研究期間内に達することができなかった。一番大きな原因は回折限界の壁が極めて厚く、超解像光学像を得るまでに多くの時間と努力を要したからであった。もう一つには保持方法も含めたメゾスコピックスケールの観察対象に相当の準備が必要であることも原因となった。

3年半にわたる本さきがけ研究の終了時点では、空間分解能だけを捉えて、前処理または後処理の必要な他の超解像技術との差異があまりないと見る向きもあるかもしれないが、光のみで動的その場観察できる今回の超解像顕微鏡は、今後観察応用が進むにつれて、その真価が明らかになると考えている。



(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

光学顕微鏡には、空間分解能に固有の原理的限界が存在する。これを打開するため、これまでに共焦点顕微鏡や微分干渉顕微鏡、各種超解像顕微鏡が開発されてきた。しかしながら、メゾスコピピックスケールにおける動的現象を観察し解明する事は容易でなかった。

岩長研究者は、この問題を解決する手法としてメタマテリアルを活用することにより、回折限 界以下の分解能で観察できる光学顕微鏡の開発を目指した。キーポイントはハイパーレンズ で、絶縁体と金属膜からなる多層膜からなる半円球状のレンズである。使用する光の波長に 対して最適化した多層膜を設計し、実際に作製して分解能を評価した。その結果、作製した ハイパーレンズと通常の光学顕微鏡との組み合わせで、約70 nm(波長の5.7 分の1)の分解 能が得られる事を示した。また、ハイパーレンズを2次元に配列する事で、観察領域の制限を 解決できる事も示した。

アイデアやシミュレーションで得られる結果を実現するために微細加工が必要な場合、アクセスできる装置や技術に依存するが、さらに加工技術のレベルにも依存する。このさきがけ研究で得られた分解能は、現在のところ他の超解像顕微鏡と同程度まで向上しているが、結果は決して限界ではなく、新たな加工技術の導入や開発により将来さらなる高分解能が期待できる。また走査することなく一括してイメージ観察できる利点を生かして、今後その場観察を動的に行うデモンストレーションを実現し、このユニークな超解像顕微鏡のポテンンシャルを示していくことを期待する。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- M. Iwanaga, "Photonic Metamaterials: a new class of materials manipulating light waves," Science and Technology of Advanced Materials, 2012 年, Vol. 13, No. 5, 053002. Editor's choice for Highlight 2012
- 2. <u>M. Iwanaga</u>, "First-Principle Analysis for Electromagnetic Eigen Modes in an Optical Metamaterial Slab," Progress In Electromagnetics Research, 2012 年, Vol. 132, p. 129-148.
- 3. <u>M. Iwanaga</u>, "Enhancement of local electromagnetic fields in plasmonic crystals of coaxial metallic nanostructures," Physical Review B, 2012 年, Vol. 85, No. 4, 045427.
- 4. <u>M. Iwanaga</u>, "In-plane plasmonic modes of negative group velocity in perforated waveguides," Optics Letters, 2011 年, Vol. 36, No. 13, p. 2504-2506.

(2)特許出願

研究期間累積件数:1件

(平成26年3月末現在は非公開)

- (3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等) 招待講演7件(登壇分):
 - 岩長祐伸「フォトニック・メタマテリアル:現状と展望」日本フォトニクス協議会定例会、



2013年7月。

- M. Iwanaga, "Transmission-Enhanced Bloch States in Stacked Uniaxial Metamaterials," The First International Conference on Emerging Advanced Nanomaterials (ICEAN 2012), October 2012.
- <u>岩長祐伸</u>「フィッシュネット・メタマテリアルにおける面内プラズモン伝搬」日本学術 振興会光エレクトロニクス第 130 委員会、2011 年 12 月。

ほか4件

受賞1件:

● コニカミノルタ画像科学奨励賞: <u>岩長祐伸</u>「ハイパーレンズからなる大面積・超解像 プレートの研究」(2013 年 3 月 11 日)

著作物:日本語解説4件、分担著書3件(内訳日本語2件、英語1件) プレスリリース1件:

● 「負の屈折現象を生み出す逆進的な光の流れ解明」(2011 年 6 月 7 日) 日刊工業新聞「逆方向の光が要因」(2014 年 7 月掲載) 科学新聞「負の屈折現象を可能にする逆進的な光の流れ解明」(2014 年 6 月掲載)



研究報告書

「大気中および生体中の界面光反応のその場計測」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成23年4月~平成26年3月

研究者: 江波進一

1. 研究のねらい

科学技術の目的は人類がより幸福に暮らしていくために必要な知見・技術を構築することである。その大前提がある限り、我々にとって最も重要かつ深刻な大気環境問題は科学技術が解決すべき最重要テーマの一つである。特に地球規模の気候変動問題と、健康と直接に関連している大気汚染問題は、人類が直面している緊急に対策を要する課題である。我々の身の回りにおける環境の中で、もっとも興味深く、本質的な反応は界面で起きている。例えば、地球の気候変動に大きな影響を与えている大気エアロゾルは大気中でオゾンやヒドロキシルラジカルなどの反応性ガスと空気/エアロゾル境界相において不均一反応を起こす。その結果、大気エアロゾルは液相や気相中とは全く異なる反応によって常に変質し続け、その放射強制力を変化させている。放射強制力とは地球の気候に対して持つ放射の大きさのことで、正の放射強制力は温暖化に、負の放射強制力は冷却化に作用する。大気エアロゾルは基本的に負の放射強制力を持つため、地球の冷却化に寄与している。また人間が光化学スモッグの主要成分であるオゾンや PM2.5 を吸引すると肺の上皮被覆液界面で有害な界面特有の生成物が生じ、喘息などを引き起こす炎症の原因になっている可能性が近年報告されている。

このように地球の気候変動と大気汚染物質による人体への悪影響の問題の解決のために重要な鍵となるのが気体と液体の境界相で起こる界面反応である。特に界面で起こる光反応は反応性の高いラジカル種を生成するため重要であるが、これまでほとんど研究が進んでこなかった。界面に生成する短寿命のラジカル種を直接その場検出する手法が存在しなかったためである。本さきがけ研究では新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせたこれまでにない界面光反応のその場計測手法を開発する。本手法で得られる情報は液体の表面部分厚さ 1nm 以下に存在する化学種のダイナミックな組成変化であり、大気環境化学や生化学など様々な分野で本質的役割を果たしている界面光反応・界面ラジカル反応の本質を解明する。またこのような新規界面光反応の研究によりこれまでにない新技術・新材料の創製にもつながる。

2. 研究成果

(1)概要

新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせたこれまでにない界面光反応のその場計測手法の開発に成功した。本手法で得られる情報は液体の表面部分厚さ1nm以下に存在する化学種のダイナミックな組成変化であり、大気中および生体中で鍵となる界面ラジカル反応のメカニズムが初めて解明された。前者の系では気候変動の鍵となる大気エアロゾルの気液界面に生成するペロキシラジカルを直接検出することに成功した。後者の系ではオゾンや



PM2.5 を吸引したときに肺の表面で起こる界面活性タンパク質のラジカル酸化反応を直接測定することに成功した。また 1nm 以下という極めて薄い厚さの水の界面に生成する短寿命な化学種の濃度を自在に制御することができる全く新しい手法が開発された。

(2)詳細

新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせたこれまでにない 界面光反応のその場計測手法の開発に成功した(図1)。

水のマイクロジェットを作り、オゾンと水蒸気を含むガスを放射する。また同時にレーザー光を照射することによってラジカルを発生させる。空気/マイクロジェットの気液界面でラジカル反応が起きた後、マイクロジェットはすぐにネブライザーガスによって分解し、マイクロメートル以下のサイズの微小液滴となり、最終的に気相にイオンを放出する。その間約10~50マイクロジェットの気液界面に存在する反応物・生成物のイオンが質量分析法で検出される。

本手法を大気エアロゾルに含まれる長鎖カルボン酸とヒドロキシル (OH) ラジカルの界面ラジカル反応、また実際の人間の肺に含まれる界面活性タンパク質 SP-B と OH ラジカルの界面ラジカル反応へ応用した。反応性ガスには O_3/H_2O を用いた。 光源は YAG レーザーの 4 倍波 266nm を用いた。 O_3 の 266nm 光分解によって生成する気相の $O(^1D)$ と H_2O の反応によって OH ラジカルを発

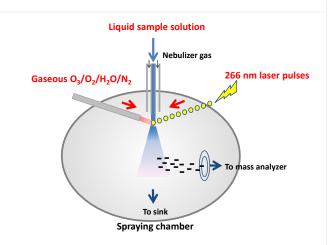


図1 気液界面で瞬時に起こる界面光反応を直接検出 することができる新規手法の模式図

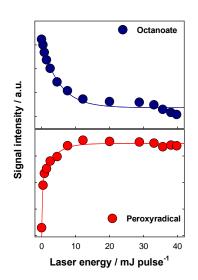


図2 地球の気候変動に影響を与えている大気エアロゾルの界面光ラジカル反応への応用。

生させた。OH ラジカルと気液界面に存在する長鎖カルボン酸もしくは SP-B の気液界面反応をその場測定することに成功した。前者の反応系では気候変動の重要な鍵となるエアロゾルの気液界面に生成するペロキシラジカルを初めて直接検出することに成功した(図2)。OH ラジカルがアルキル基のH原子を引き抜き、そこに酸素分子が付加してペロキシラジカルが生成すると考えられる。気液界面のペロキシラジカルがさらに反応し、カルボニルやアルコール



に変化していく過程も初めて解明され た。つまり地球の気候変動に影響を 与えている大気エアロゾルの界面光 ラジカル反応のメカニズムを解明した ことになる。また後者の反応系では SP-B スルフェン酸中間体の直接検出 など、肺に含まれる界面活性タンパク 質のラジカルによる酸化メカニズムが 初めて解明された(図3)。スルフェン 酸中間体は様々な反応経路を取りう る鍵となる生体分子であり、今回初め て SP-B スルフェン酸が検出された。 つまりオゾンや PM2.5 を吸引したとき に肺の表面に生成するOHラジカルに よる界面活性タンパク質の変質メカニ ズムが初めて明らかになった。このよ うに光を用いることで、大気エアロ ゾルの界面ラジカル反応や生体表 面に含まれる物質の界面酸化反応 の研究が初めて可能になった。ま た 1nm 以下という極めて薄い厚さ の水の界面に生成する短寿命な化 学種の濃度を自在に制御すること ができる全く新しい手法が開発され た(図4)。

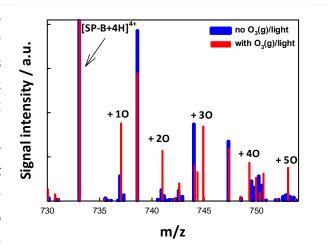


図3 オゾンや PM2.5 を吸引したときに肺の表面で起こる界面活性タンパク質のラジカル酸化反応への応用。気液界面に生成する SP-B スルフェン酸などの中間体を直接検出することに成功した。

ultra-thin (≤1nm) gas-liquid interface

≤1nm

My PRESTO:
Interfacial radical control

Nano

The control of short-lived radical species at the ultra-thin (≤1nm) gas-liquid interface

図4 1nm 以下という極めて薄い厚さの水の界面に生成する短寿命な化学種の濃度を自在に制御することができる全く新しい手法の開発。

3. 今後の展開

人間の肺の表面には界面活性タンパク質のほかにアスコルビン酸(ビタミンC)などの抗酸化物質が存在している。より実際の肺の表面に近い条件下で界面活性タンパク質がどのように気液界面で酸化されるかを調べる予定である。また肺の表面だけではなく、目や皮膚の表面、植物・農作物の表皮などに大気汚染物質が与える悪影響を分子レベルで調べる予定である。これらの研究は大気汚染物質の分子レベルでの健康影響評価のさきがけになる。このように光を用いることで、生体表面に含まれる物質の界面酸化反応の完全な解明といったブレイクスルーが見込まれる。さらに本技術は大気、環境、バイオの領域だけではなく、ナノ界面特性を活かした応用・発展が期待される。



4. 評価

(1)自己評価

本さきがけ研究では新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせたこれまでにない 界面光反応のその場計測手法の開発に成功した。本手法で得られる情報は液体の表面部分 厚さ1nm以下に存在する化学種のダイナミックな組成変化であり、大気中および生体中で鍵と なる界面ラジカル反応のメカニズムが初めて解明された。また 1nm 以下という極めて薄い厚さ の水の界面に生成する短寿命な化学種の濃度を自在に制御することができる全く新しい手法 が開発された。当初の狙い通り、大気、環境、バイオ、ナノにまたがる学際的なブレイクスルー になったと評価している。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

地球温暖化や PM2.5 など、地球の気候変動や大気汚染物質による人体への影響に関心が集まっている。前者を理解する上で重要な反応は雲の形成過程で起こり、後者では肺の内部で起こる気体と液体の境界相での界面反応が鍵となる。このような化学反応は、界面に生成する短寿命のラジカル種を直接その場検出することが困難であることから、これまでほとんど研究が進んでいなかった。

江波研究者は、この課題を解決するために新規質量分析法と光分解用レーザーを組み合わせた界面光反応のその場計測手法の開発に取り組んだ。開発された手法で得られる情報は、液体の表面部分厚さ 1nm 以下に存在する化学種のダイナミックな組成変化であり、生体中や大気中での界面ラジカル反応のメカニズムに対する情報が得られた。前者の系では気候変動の鍵となる大気エアロゾルの気液界面に生成するペロキシラジカルを直接検出し、後者の系ではオゾンや PM2.5 を吸引したときに肺の表面で起こる界面活性タンパク質のラジカル酸化反応を直接測定した。

既にある実験技術を新しい観点で組み合わせ、新しい情報を得る手法となることを示した。取り扱うことのできる界面反応は、様々な身近なところで起こっている基本的で重要な化学反応である。江波研究者の主張するように、開発した手法を気象、環境、バイオ、ナノなどが様々に関わる学際的な研究へと展開して貰いたい。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- S. Enami, Y. Sakamoto, A. J. Colussi, Fenton chemistry at aqueous interfaces, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2014, 111, 623-628.
- 2. <u>S. Enami</u>, A. J. Colussi, Long-range Hofmeister effects of anionic and cationic amphiphiles, *J. Phys. Chem. B*, **2013**, *117*, 6276–6281.
- 3. <u>S. Enami</u>, A. J. Colussi, Long-range specific ion-ion interactions in hydrogen-bonded liquid films, *J. Chem. Phys.*, **2013**, *138*, 184706 (6 pages).
- 4. S. Enami, M. R. Hoffmann, A. J. Colussi, Dry deposition of biogenic terpenes via cationic



oligomerization on environmental aqueous surfaces, *J. Phys. Chem. Lett.*, **2012**, *3*, 3102–3108. 5. S. Enami, H. Mishra, M. R. Hoffmann, A. J. Colussi, Hofmeister effects in micromolar electrolyte solutions, *J. Chem. Phys.*, **2012**, *136*, 154707 (5 pages).

(2)特許出願

なし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等) 招待講演

S.Enami

「エアロゾルの気液界面でおこる化学反応機構の解明」 第 30 回エアロゾル科学・技術研究討論会 Kyoto (Japan), **2013**, AUG 27-29.

S.Enami

「水の界面におけるプロトン移動反応の実験的研究」 東北大学大学院理学研究科化学専攻セミナー Sendai (Japan), **2011**, OCT 25.

国際学会口頭発表

S. Enami

"Hydronium at the air-water interface is a superacid" 29^{th} Symposium on Chemical Kinetics and Dynamics Sendai (Japan), **2013**. JUN 5-7.

S. Enami, M. R. Hoffmann, A. J. Colussi

"Proton transfer reaction at the air-water interface" Workshop on Interstellar Matter 2012
Sapporo (Japan), **2012**. OCT 17-19.

S. Enami

"Direct observation of Hofmeister effects in micromolar electrolyte solutions" 28^{th} Symposium on Chemical Kinetics and Dynamics Fukuoka (Japan), **2012**. JUN 6-8.

プレスリリース

「水の界面で起こるフェントン反応のメカニズムを解明 - Fe(IV) = O 中間体の直接検出に成功-」2014 年1月6日



新聞報道

「京大、120 年来の謎だった水の界面で起こる「フェントン反応」の機構を解明」 2014年1月10日 マイナビニュース、Yahoo!ニュース



研究報告書

「光機能性量子ドットを用いた単一分子神経活動イメージング」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 小阪田泰子

1. 研究のねらい

X 線や可視光などの"光"を利用したイメージングは、工業的利用や、医療やライフサイエンス分野などに、幅広く応用されている。このイメージングを可能にするには、言うまでもなく、調べたいところを可視化する、つまり、調べたいところを明瞭にするために、コントラストを付けたり、光るようにするが必須となる。特に、後者の"光る"ことを可能にするには、"光る"プローブと"光"との相互作用に着目しプローブを設計する必要がある。これまでに、"光る"プローブとしては、有機色素、蛍光タンパク、そして、ナノ粒子等が用いられてきた。中でも、ナノ粒子は、その特異な電子的・光学的性質から、物理学的および生物学的なイメージングへの利用、応用の可能性が注目されてきた。とりわけ、このナノ粒子を利用した生物応用の一つである、生体一分子イメージングは、生体一分子の個々の細胞内でのダイナミクスや、マウスといった実験動物レベルでの分子の可視化のツールとなりうることが期待されている。しかしながら、これらのナノ粒子を用いたイメージングは、生体適合性などの問題点から、多くが開発途上であり、特に、細胞内や個体での生物学的な現象を自在に可視化し、生物学的機構を明らかにすることは困難であった。

本さきがけ研究では、神経系などの細胞や個体レベルでの自在な単一分子レベルでのターゲットとする生体分子のイメージングを実現し、生物学的知見を得ることを研究のねらいとした。その目標達成のためには、まず調べたい場所で"光る"機能を持つ光機能性ナノ粒子の開発を行うことが必要で、その技術を元に、例えば神経細胞内での軸索輸送などのダイナミクスを個体レベルで観察できる技術開発が進めば、神経細胞内での一分子リアルタイムイメージングへの応用へとつながり、生物学的機構を調べることが可能なツールの一つとなりうると考えた。また、細胞のみならず、マウスなどの個体を対象としたイメージング、および、将来の革新的な医療イメージング技術の開発を目指すために、医療でよく用いられている硬×線励起によるイメージングや光操作法の開発を狙い、X線励起発光に関する研究を開始した。もし、この技術が実現されれば、透過性の高い硬 X線を照射光源として用いることで、個体のあらゆる部位に存在するターゲット生体分子をラベル化し検出する、あるいは、光操作できるような革新的手法を開発できると考えた。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、1. 光によって発光を自在に制御できる光機能性ナノ粒子の開発を行った。スイッチングの鍵となる分子であるジアリルエテンをドープした蛍光性ポリマーナノ粒子を合成した。このナノ粒子を用いることで、光照射により、発光が制御でき、固定した細胞レベルでの蛍光スイッチングが可能になった(研究テーマ A)。また、2. 医療でよく用いられている硬 X 線



を励起光源として照射することで発光し、生体適合性の高いナノ粒子を開発した。具体的には、イリジウム錯体をドープしたポリマーナノ粒子やタンパク質により内包された金クラスターが硬X線照射により発光することを明らかにした(研究テーマ BC)。これらの研究では、従来、全く知られていなかった生体適合性の高いソフトなナノ粒子からの硬X線励起発光を始めて明らかにし、新たな光イメージング技術のポテンシャルを示した。

(2)詳細

研究テーマA「光スイッチング機能を有するナノ粒子の開発」

光によって、発光をスイッチングすることで、調 べたいところを可視化するナノ粒子を開発するこ とを目的とした。近年、光スイッチングに基づく超 解像度イメージングが報告され、より輝度の高い ナノ粒子で光スイッチングを行うことが出来れ ば、新しいイメージング手法の開発につながる可 能性も示唆された。しかしながら、研究開始時に は、水に可溶な、そして明瞭にシグナルをオンー オフすることの出来る光スイッチング粒子は全く 報告されていなかった。そこで、本研究では、水 に可溶で、発光のオンとオフを光で制御できる、 発光ナノ粒子の開発を目指した。光スイッチング のスイッチとして働く分子として、ジアリルエテン を用いた。このスイッチング分子を、蛍光性のポ リマーナノ粒子の中にドープし、光スイッチング可 能なナノ粒子を作製した。作製した溶液に、紫外 光の照射で蛍光のオフ、可視光の照射で、蛍光 の回復が見られ、蛍光のスイッチングが可能なこ とが分かった。また、固定した細胞の微小管をこ の光スイッチングナノ粒子で染色し、光スイッチン グを行った。その結果、細胞でも、光スイッチング が繰り返し可能であることが分かった。以上のよ うに、光スイッチング機能を有するナノ粒子を用 いることで、細胞レベルで、光で見たい場所を照

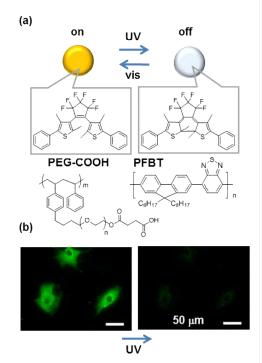


図1. (a) 光スイッチング可能なポリマーナノ粒子。両親媒性の PEG-COOHポリマーと蛍光性ポリマーPFBT からなるポリマードットに、スイッチング分子ジアリルエテンをドープすることで、蛍光を光で制御可能。(b) 細胞での蛍光スイッチングの一例。

らすことが、光により制御することが出来る技術が開発できた。本研究は、英国王立化学会雑誌の Chem. Commun. に掲載され、バックカバーに研究が紹介された。

研究テーマB「イリジウム錯体をドープしたポリマーナノ粒子での硬X線励起発光の実証」

生体透過性の高い硬X線を励起光源として、自在にナノプローブを光らせ、イメージングに応用することは可能であろうか?もし実現すれば、イメージングのみならず、発生した発光を光反応に利用するといった様々な展開が考えられる。しかしながら、生体で応用できるプローブが硬X線励起で発光するといった研究は報告されていなかった。そこで、硬X線励起で発光



する生体適合性の高いナノ粒子の開発に着手し た。硬X線をまず吸収する分子として、電子密度の 高い遷移元素錯体である、イリジウム錯体を用い ることを考えた。上記のポリマーナノ粒子にイリジ ウム錯体をドープすることで、発光性のナノ粒子を 作製した。このナノ粒子は、従来、イリジウム錯体 は、酸素で消光されるため、通常のイメージングに は使うことが出来なかったが、ポリマーナノ粒子中 にドープすることで、酸素に関係なく光ることが、ま ず分かった。この光るナノ粒子が、硬X線励起でも 光るか、実際に硬X線を照射し、発光を CCD カメラ で撮影することにより調べた。その結果、このイリ ジウムナノ粒子は、硬X線照射により発光すること が分かった。ポリマーのみや、イリジウム錯体なし では、有意な発光が観測されなかったことや、硬 X 線励起発光スペクトルがイリジウム錯体の発光に 帰属されたことから、このナノ粒子により、確かに 発光が生成していることが、実証された。本研究 は、Chem. Commun. の Emerging investigator issue に掲載され、バックカバーに採用された。

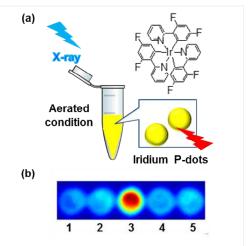


図2. (a) 硬 X 線励起により発光するポリマーナノ粒子。酸素存在下でも、硬 X 線照射によりイリジウム錯体由来の発光が観測される。(b) イメージングの一例。3 のイリジウム錯体をドープしたポリマードットで発光が見られた。

研究テーマC「タンパク質により内包された金クラスターでの硬 X 線励起発光」

次に、硬X線を吸収し発光する分子の候補として、金属クラスターに着目した。特に、生体適合性の高い生体分子により内包された金属クラスターが、硬 X 線励起発光を示すのではないかと考えた。可視光励起で発光することが知られている一本鎖 DNA-Ag_x、リゾチームー Au₈ およびウシ血清由来アルブミン(BSA)-Au₂₅ において、硬X線励起で発光が見られるかどうかを、硬 X 線照射により調べた。興味深いことに、一本鎖 DNA-Ag_x、リゾチームーAu₈ では目立った発光は確認されなかった。一方、BSA-Au₂₅ では、明瞭なコントラストが確認されたことから、硬 X 線励起により、発光す

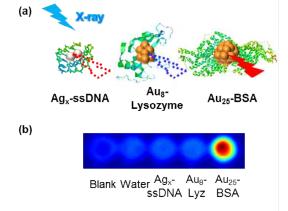


図3. (a) 金属クラスターでの硬 X 線励 起発光。(b) 硬 X 線励起により、 BSA-Au₂₅由来の発光が見られた。

ることが分かった。このことは、硬 X 線励起発光は、これまで光源に用いられてきた紫外線や可視光励起とは、全く異なった発光の挙動をすることを示唆するものである。本研究は、 *Chem. Commun.* に掲載され、Inside front cover に採用された。

3. 今後の展開



本研究では、光とナノ粒子の相互作用を基盤とし、蛍光スイッチングによるイメージングや硬X線励起発光によるイメージングを実証した。前者の光スイッチングナノ粒子を神経などのリアルタイムイメージングに応用するには、粒子サイズのコントロールや局所的な光照射および観察方法を工夫する必要がある。これらの改良により、時空間的に発光を制御することで、細胞や個体でのタンパク質の輸送機構などをトラッキングするイメージング研究への展開が期待される。後者のX線励起による発光は、本研究で、見出したソフトなナノ粒子でのX線励起発光の機構解明を行い、より発光効率の高いナノ粒子開発への指針を得ることでさらに高感度化が可能である。また、発光波長をより長波長化することで、より生体イメージングに適したナノ粒子開発を行うととともに、検出感度の向上などを行うことで、革新的なX線イメージング法の実現に一歩近づくことが出来ると考える。また、発光を経た光反応による活性酸素種の発生やアンケージングへの利用といった様々な応用にも展開が期待される。今後、様々な光を使い尽くすことで、光とナノ材料の相互作用を基盤とした一分子レベルでの神経などの生体分子をターゲットとした光による細胞、個体イメージング法や操作法の開発へとつなげていきたい。

4. 評価

(1)自己評価

本研究では、将来の単一分子レベルでの生体分子の自在な神経イメージングの実現を狙った、新規光機能性ナノ粒子の開発を行った。当初目的とした光スイッチング可能なナノ粒子の開発し、また、ソフトなナノ粒子からの硬X線励起発光を始めて見出した。後者のX線発光に関する研究は、さきがけ研究開始当初にねらいとして設定した、光スイッチングを可能にするナノ粒子の開発の過程で、積極的に光を存分に利用する研究を考えた結果、硬X線の光としての利用に関する研究に発展した。このソフトなナノ粒子でのX線励起発光の発見は、研究開始当初には全く予想していなかった大きな副産物で、プラスに評価できる。しかしながら、当初の目的である、神経などの生体イメージングは、様々な手法を試みたが、さきがけ期間中に実現するには至らなかったが、これまでの経験を元に、更なるプローブや観察方法などの改良により、近い将来の実現に向け、引き続き取り組んで行きたい。今後も、様々な"光"を巧みに使い尽くすことで、ナノ材料や生体関連物質を含めた物質材料、生命機能と、"光"との相互作用を基盤にし、光機能性材料の開発に加え、神経のダイナミクスを自在に調べる、あるいは操ることの出来る革新的なイメージング手法や光操作法の開発を達成し、生物学的機構解明に関する研究や応用研究に展開したい。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

ナノ粒子を利用した生体イメージングは、生体分子の細胞内でのダイナミクスや動物レベルでの分子の可視化のツールとして期待されており、多くの関連研究が行われている。しかしながら、将来の革新的光イメージング技術の開発に向けて、さらに新しい特性をもった光機能性ナノ粒子の開発が必要である。

小阪田研究者は、光スイッチ可能な量子ドットを開発し、光ナノ加工技術と一分子計測法と組み合わせ、光による in vivo でのリアルタイム単一分子イメージングを可能にし、神経のネットワークを光により解き明かすことを目指した。そのために、光によって発光を自在に制御できる光

機能性ナノ粒子として、スイッチングの鍵となる分子であるジアリルエテンをドープした蛍光性ポリマーナノ粒子を合成した。このナノ粒子を用いることで、光照射により、発光が制御でき、培養した細胞レベルでの蛍光スイッチングが可能になった。また、硬 X 線を照射することで発光する生体適合性の高いナノ粒子として、イリジウム錯体をドープしたポリマーナノ粒子やタンパク質により内包された金クラスターを開発した。

試行錯誤の末、目的を達成するための技術要素をいくつか開発した段階である。このさきがけ研究で、従来、全く知られていなかった生体適合性の高いソフトなナノ粒子からの硬X線励起発光現象を見いだしたことにより、新たな光イメージング技術のポテンシャルを示した。生体深部に照射できる X 線により、発光させるシンチレーションとして機能させるのみならず、ガスメディエーターを放出させるなどの様々な応用が期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- 1. <u>Osakada, Y.</u>; Hanson, L.; Cui, B., "Diarylethene doped biocompatible polymer dots for fluorescence switching.", Chem. Commun. 2012, 48, 3285-3287. (バックカバー)
- 2. <u>Osakada, Y.</u>; Pratx, G.; Hanson, L.; Solomon, P.E.; Xing, L.; Cui, B., "X-ray excitable luminescent polymer dots doped with an iridium(iii) complex.", Chem. Commun. 2013, 49, 4319-4321. (バックカバー, emerging investigator issue)
- 3. <u>Osakada, Y.</u>; Pratx, G.; Sun, C.; Sakamoto, M.; Ahmad, M.; Volotskova, O.; Ong, Q.; Teranishi, T.; Harada, Y.; Xing, L.; Cui, B. Hard X-ray-induced optical luminescence via biomolecule-directed metal clusters. Chem. Commun. 2014, 50, 3549-3551. (インサイドフロントカバー)

(2)特許出願

該当なし。

(2)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

- 1. Yasuko Osakada, "Synthesis of photoswitchable polymer dot and its application", 2011 光化学討論会、2011 年 9 月 6 日、宮崎(口頭発表)
- 2. Yasuko Osakada, "X-ray excited luminescent polymer dots doped with iridium(III) complex", International conference on photochemistry 2013, Leuven, Belgium, 2013 年 7 月 23 日、(口頭発表)
- 3. 小阪田泰子「X 線照射によって発光するナノプローブ」2013 年光化学討論会、シンポジウム 4、輝く若手研究者たち~分子光化学の進化を目指して~2013 年 9 月 13 日、愛媛大(招待講演)



研究報告書

「凝縮系波動関数の時空間マニピュレーションとイメージング」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成22年10月~平成26年3月

研究者: 香月浩之

1. 研究のねらい

コヒーレント制御とは光の持つコヒーレンスを対象とする系に転写して、系の量子状態を外部から自在に制御する技術である。この手法を用いて、化学反応の生成物比制御や量子情報処理における任意の初期状態の生成などが研究されている。これまでの私の研究において、より単純な孤立分子系を対象としたコヒーレント制御を行ってきたが、この技術を固体凝縮系に応用して、凝縮系中での波動関数を時間空間の両次元において制御し、その結果を観測する技術を開発することが本研究の最終目標である。このような手法が実現できれば、固体中に自在な励起状態の波動関数を生成することが可能となり、その時間的な発展の様子を制御して、イメージとして計測することも可能になる。波動関数の状態は、物質の示す様々な特性の起源となることから、その制御が可能となると対象とする系の様々な性質を制御することにもつながる。

コヒーレント制御を行うためには対象系の位相緩和寿命が重要となる。固体でありながらコヒーレンスの緩和寿命が非常に長いパラ水素結晶の振動励起状態と、自発的なコヒーレンスの形成を伴う、ポラリトン凝縮が起きる可能性がある有機結晶中の励起子ポラリトン状態とを対象とする。パラ水素結晶に状態を書き込む際には、非共鳴ラマン遷移を利用する。生成された波束の状態は結晶中に長時間留まる。最終的な励起状態の分布を読み出すために、波束の分布全体をカバーするような弱く集光させたプローブ光を遅延時間経過後に照射し、散乱光の空間パターンを観測する。有機分子性結晶を用いた実験では、まず蛍光顕微鏡を組み上げ、フェムト秒パルスで励起した際に得られる蛍光の空間コヒーレンスを探る装置を立ち上げる。励起強度がしきい値を超え、ポラリトンの凝縮が起きるような状況が達成できると、結晶中に広がった状態が生成され、異なる位置から発せられる蛍光の間にコヒーレンスが存在するようになると考えられる。励起子ポラリトン状態の生成に伴うコヒーレンスの自発的な形成過程について、超短パルスレーザーを用いて解き明かすことが目標である。

2. 研究成果

(1)概要

固体パラ水素結晶を作製するために、液体ヘリウムを必要としない閉サイクル冷凍機をベースとした光学クライオスタットを作製した(図1および図2)。空間変調を掛けた光パルスを集光することによって二次元的な波動関数の分布を結晶内に生成し、その分布をプローブ光の散乱イメージとして測定することに成功した。次に、干渉計を用いて作製した時間遅延パルス対を用いて振動波束を二個形成し、両者の間の干渉をイメージ計測した。空間位置の違いによって干渉フリンジの位相が異なっており、振動励起状態の振幅と位相を空間イメージとして計測することに成功した。有機分子結晶を対象として、フェムト秒レーザーを光源とした顕微鏡システ



ムと蛍光スペクトル観測系を作製した。得られた蛍光イメージ像に対して、ダブルスリットによる空間フィルタを組み合わせることで、結晶内の空間的に異なる二点から放射される光のコヒーレンスについて計測する装置を立ち上げた。

(2)詳細

研究テーマA「閉サイクルクライオスタットを用いた固体水素結晶作製技術の確立」

平成24年6月の異動による研究環境の変化に伴い、液体ヘリウムを消費せずにパラ水素結晶を作製できる極低温クライオスタットを新たに準備する必要が生じたため、まずはその立ち上げを行った。機械的振動の影響を低く抑えるため、パルスチューブ型の冷凍機を購入し、パラ水素ガス導入用のステンレスチューブ導入管や結晶作製用銅製セルを設計し、光学クライオスタットを作製した。光学窓を開けた状態で最低到達温度は4Kを切るまで下げることができ、十分な冷却能力が得られた。均一な結晶を作製するための温度及びガス流量のパラメータを探索し、最終的に無色透明でクラックのない良質な結晶を成長させる手法を確立した。



図1 作製したクライオスタット外観



図2 結晶作製用銅セルの拡大図

研究テーマ B「二次元励起状態空間分布の生成とそのイメージングによる一括読み出し手法の確立」

パラ水素結晶中に振動励起状態を生成するために、チタンサファイアオシレータと OPO を用いて830nm, 617nmのフェムト秒パルスを準備した。両者の差周波を水素分子の v=1←0 遷移と共鳴させ、インパルシブラマン遷移で励起を行う。二次元位相変調子に対してホログラムを投影することで、任意の波面パターンを持ったパルスを構成することが可能である。実験ではポンプ光、ストークス光の両者に対して2×2のドットパターンを作製し、それらを固体水素結晶中で重ねることで、空間的な励起状態分布を生成した。生成された波束の状態は波数ベクトルがほぼ 0 の状態であり、固体中で同じ位置に留まる。十分な時間経過後に読み出し用のプローブパルスを照射することにより、波束の状態を読み出す。この際、プローブ光を弱めに集光することで波束の存在する空間全体を一度にプローブすることに成功した。得られたイメージが書き込みパルスと比較して歪んでいるのは、波長の異なるパルスの焦点面の微妙なずれと三次元



的なパルスの重なりが二次元に射影されていることの影響と考えられる。実験のスキーム図を 以下に示す(図3)。

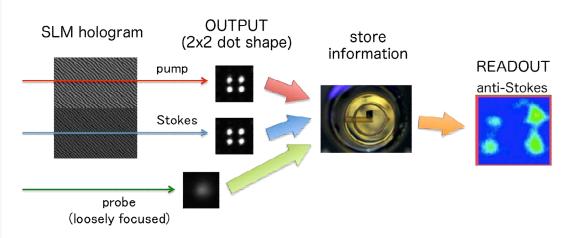


図3 空間整形パルスを用いた振動状態書き込みとイメージ読み出しのスキーム

研究テーマC「水素結晶中に作製した励起状態分布の干渉イメージング計測の実施」

マイケルソン干渉計を用いて、ポンプ光とストークス光を遅延時間のついたダブルパルスを作製して、それらを固体水素結晶に照射することで遅延をかけた独立した二つの波束を作製した。 実験の都合上、本実験ではノーマル水素を対象として用いている。二つの波束を完全に空間的

に重ねた場合には、8fsの間隔でスポット全体が 明滅する様子が観測された(図4)。得られた干 渉フリンジの質は非常に高く、励起に用いた光 源の干渉よりも良いことが明らかになった。この 理由は、様々なモードの混ざっている光と比較 して、固体水素の励起状態が純粋な状態となっ ていて、フィルタリングされたためと考えられる。

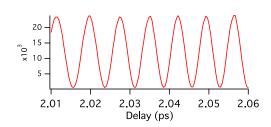


図4 計測された干渉フリンジ

3. 今後の展開

波束間の干渉の様子をイメージング計測により読み出し、空間的に異なる場所で異なる位相の状態が生成されていることを確認することができた。固体水素に関連した研究として、今後顕微分光系へ移行することでよりミクロスコピックな領域における波動関数の位相項の影響を見ることができる。超短パルスによる励起であるため、多少の環境の違いによってエネルギーがシフトしても励起することが可能であり、エネルギーの微妙なずれは干渉フリンジの周期の変化としてとらえられる。また、液体水素にも応用は可能であり、この場合水素分子の流れを可視化することにもつながると考えている。

さらに、まだ端緒についた所であるが、有機半導体結晶における励起子ポラリトンの流れとその分布を可視化し、さらには照射光の操作によって励起子ポラリトンの分布や運動量を制御する技術にまで発展させていきたいと考えている。



4. 評価

(1)自己評価

装置がようやく立ち上がった時期に異動が決定し、さらに液体へリウムの問題で追加の実験装置の立ち上げが必要となり、丸1年間以上実験が停滞してしまったことは、やむを得ないことではあったが研究の進捗には大きな影響が出てしまった。しかし、結果的にこれまで使用していた装置の問題点を踏まえて、より性能の良い、使いやすい実験装置を作製することができた。異動に伴う様々な追加出費が必要となり、最終年度では研究を効率よく行うことができなかった点も残念である。それでも、固体中に励起状態の空間分布を生成し、その結果をイメージ計測で読み出すことと、異なる位相を持った励起状態の分布を干渉フリンジ計測によって可視化することに成功した。これらの手法は今後固体中での波束状態の制御と観測を行うための基盤となる技術であり、本さきがけの成果である。後はこれらを組み合わせることで、固体中における様々な量子状態の波動関数の位相振幅分布を可視化しつつ制御する手法を確立したい。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

香月研究者は、孤立分子系などを対象としたコヒーレント制御を行ってきた。本さきがけ研究では、固体凝縮系中での波動関数を、光により時間空間の両次元において制御し、生成される波動関数をイメージングすることを目指した。このような手法が実現できれば、固体中に自在に励起状態の波動関数を生成し、その時間的な発展を制御し、さらにはその過程をイメージングすることも可能になる。波動関数の状態が制御できれば、対象とする系の様々な物理・化学的性質を制御することにつながる。

研究期間中に異動があり、新たに閉サイクル冷凍機をベースとした光学クライオスタット系を作製した。この装置を使って、固体パラ水素結晶を作製し、まず空間変調を掛けた光パルスより二次元的な波動関数の分布を結晶内に生成し、その分布をプローブ光の散乱イメージとして測定できることを確認した。次に、時間遅延光パルス対を照射して振動波束を二個形成し、両者の間の干渉状態のイメージングに成功した。さらに、空間位置の違いによって干渉フリンジの位相が異なることを利用し、振動励起状態の振幅と位相の空間分布をイメージングして2次元計測することに成功した。さらに、有機分子結晶を対象として、フェムト秒レーザーを光源とした顕微鏡システムと蛍光スペクトル観測系を作製し、結晶内の空間的に異なる二点から放射される光のコヒーレンスについて計測することが可能な装置を立ち上げた。

異動に伴う、装置の再構築に時間を要したが、それまでの経験を生かした装置を立ち上げる事ができた。それにより期待できる成果が得られ始めたところである。先駆けるための助走段階で研究期間が終わる事となったが、固体パラ水素から有機分子結晶などへ研究対象を広げつつあり、さきがけ研究としての真価をこれから発揮してもらいたい。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

該当なし



(2)特許出願

なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

- 1. "Spatio-temporal manipulation and imaging of condensed-phase wavefunction" 香月浩之 日本化学会第 92 春季年会 JST さきがけ研究領域合同国際シンポジウム 2012.3.27 慶應義塾大学
- 2.「アト秒精度の分子波東干渉制御」 香月浩之 横浜国立大学大学院 工学研究院 グループ研究セミナー 先端光科学技術と光機能性材料開発の最前線, 2012.12.21 横浜国立大(招待講演)
- 3. 「固体パラ水素を用いた量子情報の保存と読み出し」〇香月浩之、大森賢治 レーザー学会学術講演会第 33 回年次大会, 2013.1.29 姫路商工会議所(招待講演)
- 4. "ultrafast coherent control of delocalized vibrational wavefunctions in solid para-hydrogen" Hiroyuki Katsuki, 15th Asian Chemical Congress, 2013.8.22 Resorts World Sentosa, Singapore (招待講演)
- 5.「固体パラ水素における時空間振動波束干渉制御」 〇堀江 徹, 大森 健三, 柳 久雄, 香月 浩之 第 61 回応用物理学会春季学術講演会 2014.3.18 青山学院大学

受賞

- 1. 平成 23 年度文部科学大臣表彰·若手科学者賞 2011.4.11 「アト秒精度の波束干渉技術を用いた量子状態精密制御の研究」
- 2. 分子科学研究奨励森野基金 2011.8.31 「アト秒精度の波束干渉法を用いた分子の精密量子制御についての研究」



研究報告書

「連続発振原子波レーザーの開発と微細加工技術への応用」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成22年10月~平成26年3月

研究者: 岸本 哲夫

1. 研究のねらい

原子と光子の相互作用を巧みに利用することで、熱運動する原子を冷却したり、その原子を捕獲可能な保存場ポテンシャルを形成したりすることが可能である。レーザー技術の発展と共に、実際にレーザー光を利用して極低温まで原子気体を冷却する方法(レーザー冷却)が確立され、さらに極低温原子間の衝突によって熱平衡化させた後に高い運動エネルギーの原子集団のみを強制的に排除(強制蒸発冷却)することで、絶対零度近傍で相転移が生じ、ボース・アインシュタイン凝縮(BEC)することが既に実験的に示されている。この BEC 生成の成功以降、凝縮系の物理に関する実験は多岐に渡って精力的に研究されてきた。ただ、どの原子や分子でもこの絶対零度が達成できるわけではなく、現実には限られた原子種やそれらの組み合わせから成る分子でのみしか実現できていない。その中においても、複雑なエネルギー構造を持つ分子などでも、シュタルクシフトを利用して減速させたり、He バッファーガスとの衝突を利用して冷やしたりする方法は研究が進んでいる。特にバッファーガス冷却法は冷却できる粒子の種類を格段に増やした点で、非常に強力な手法である。ただ、残念ながら到達できている温度にミリケルビンの壁というものがあり、この手法のみでは分子の絶対零度を達成するに至っておらず、この温度を実現可能な別の新たな冷却手法の構築が課題として残されている。

そこで本研究では、全光学的手法によって連続的な高繰り返しのボース・アインシュタイン 凝縮(BEC)生成法を新たに提案し、真の原子波レーザーの実現を狙った。この生成され続け る絶対零度の冷媒と所望の粒子を接触させることで、複雑なエネルギー構造を持つ粒子をも

ミリケルビンの壁を越えて冷却し、 絶対零度まで落とし込むことが可能 となる。また、ここで生成された粒子 線源は高いフラックスとその単色性 から粒子線描画技術の分解能の飛 躍的向上が期待され、延いては微 細加工技術への応用へとつながる と考えられる。

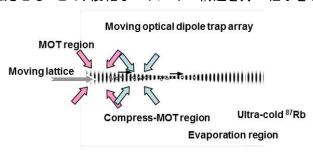


図1. 研究開始当初の実験概念

2. 研究成果

(1)概要

本研究は開始当初、図1に示されるように従来の時間的操作を空間的に配置することで連続的に BEC を実現する計画であった。しかし、実際に実験を進めると、単純に既存の時間操作手順を空間的に横につなげても効率的に極低温・高密度な原子集団を生成し続けることが



難しいことが明らかになり、当初の手法から見直すこととした。そこで(A)まず、光子の散乱力を利用したレーザー冷却領域から、蒸発冷却の際に必要となる光子の双極子力を利用した保存場による捕獲領域への連続的な受け渡し手法を新たに見出した。さらに、そこで必要な原子の温度と密度の条件を実験的に調査した[論文 1]。(B)次に、これらの条件に見合うような、さらなる低温化・圧縮高密度化が連続的に可能な手法を新しく考案し、計算から光双極子トラップなどの必要条件を予測した。(C)そして、この提案で使われる光双極子トラップの特殊波長の存在を実験的に初めて検証し、その波長を同定した。(D)また、通常の閉じた2準位系と異なり、他準位への緩和が存在する系でのレーザー冷却[論文 2]を用いることで、圧縮高密度化をする提案となっているため、実験でこの遷移を用いたレーザー冷却が可能であることを初めて示した。一方、残された研究期間で当初計画の最終段階まで取り組むことはできなかったものの、上記(A)-(D)の成果によって時間的操作を踏まずに、高い位相空間密度の原子集団を連続的に供給し続ける道筋をつけた。これらによって、真の原子波レーザーの実現に向けての基盤技術を確立することはできた。

(2)詳細

研究テーマA「レーザー冷却領域から保存場捕獲領域への連続的な受け渡し手法の確立」図1に示したように、磁気光学トラップ(MOT)過程と圧縮 MOT(CMOT)過程の領域を空間分離し、さらに レーザー冷却過程から"外れて"保存場ポテンシャルへ原子集団を連続的に捕獲する手段を見つける必要があった。そこで、通常のMOTの中心にCMOT領域を配置することで、冷やされた原子の圧縮を図り、また、レーザー冷却サイクルから外す方法として、暗状態を利用することとした。

本研究で用いる 87 Rb 原子の場合、励起状態の線幅と超微細構造分裂幅の関係から、光子を吸収・自然放出する冷却サイクル $(5S_{1/2}(F=2) \rightarrow 5P_{3/2}(F'=3))$ から $5S_{1/2}(F=1)$ 準位に外れる (depump)レートが十分でなく、Na 原子の実験で用いる dark-spot MOT と呼ばれる手法が適用できない。そこで、本研究の場合、 $(5S_{1/2}(F=2) \rightarrow 5P_{3/2}(F'=1))$ や $(5S_{1/2}(F=2) \rightarrow 5P_{3/2}(F'=1))$ や $(5S_{1/2}(F=2) \rightarrow 5P_{3/2}(F'=2))$ へ depump 光を当てることで、depump レートを上げた。また、通常は時間的に repump 光強度を 1/1000 程度にして圧縮 MOT することで高密度化する代わりに、空間的に MOT 領域の中心でだけ repump 光強度が小さくなる dark-spotMOT の手法を"併用"することで高密度化出来ることを実証した。このことは、原理的には、時間操作なく、空間的に中心対称に各過程を分離配置することで連続的に原子を光双極子トラップへロード出来る可能性を示している。但し、今回の実験では、実際には depump 光を照射する直前に磁場勾配だけは増加させ、圧縮を図っているため、完全に時間操作のない手法には至らなかった。したがって、ここでは圧縮方法に関しては先の課題として残し、depump 光と dark-spotMOT の併用によって主としてレーザー冷却領域から保存場捕獲領域への連続的な受け渡し手法を確立したといえる[論文 1]。

研究テーマ B 「さらなる低温化・圧縮高密度化が連続的に可能な手法を新しく考案」

研究テーマ A でレーザー冷却サイクルから外して極低温原子を保存場に捕獲可能な手法を 見出したが、蒸発冷却を行う前段階としてはまだ温度と密度共に不十分であった。そこで、独



自の手法を新たに考案する必要があった。

まず図2に 87 Rb 原子のエネルギー準位図を示す。新しく考案した手法では、通常用いる 780nm 遷移以外に、 $(5S_{1/2}(F=2)\rightarrow 6P_{3/2}(F'=3)$ の狭線幅冷却遷移を用いる。この遷移の励起状態の自然線幅は 780nm 遷移のそれの 1/4 程度であるため、ドップラー冷却の限界温度 (∞ 自然線幅)が下がる大きなメリットがある。また、冷却光の波長が短くなるため、吸収断面積(∞ λ^2)が小さくなり、冷却過程で自然放出光の再吸収によって制限される限界密度を向上させることが可能となる。これらのことから、蒸発冷却を始める際の初期位相空間密度(∞ 密度/温度 $^{3/2}$)が2桁以上上がることが期待される[論文 2]。さらに、図2中に示される 4D 準位や 7D 準位などが存在するため、光

双極子トラップに 1560nm 近傍のレーザーを用いることにより、780nm 遷移に対しては非常に大きく、420nm 遷移に対してはほぼゼロの光シュタルクシフト差を生じさせることが可能なことが計算によって初めて示され、マジック波長の存在を予測した。

そこで、これらすべてを組み合わせることで、空間的に MOT の外側領域で通常の冷却をし、内側領域でさらなる低温化と圧縮高密度化を図り、中心近傍で完全に暗状態に落ち込ませ、極低温原子を連続的に溜めこ

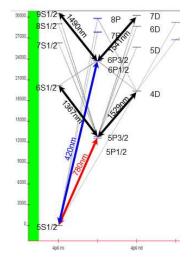
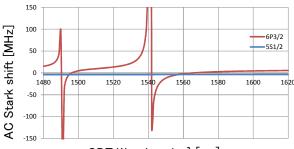


図2. 87 Rb 原子のエネルギー準位図



ODT Wavelength λ [nm]

図3. エネルギー準位に対する 光シュタルクシフトの波長依存性

[ODT の条件: P=5W, r(1/e)=40 μ m]

む機構を実現できる手法を新しく考案できたと考えている。

研究テーマ C 「光双極子トラップの特殊波長の存在の実験的検証とその波長の同定」

研究テーマ B で考案した手法を実際に用いる上で、まずその 1560nm 近傍と計算で予測した

マジック波長の存在を示す必要があった。ただ、 光シュタルクシフトを計算で見積もる際には、各遷移に対する実験や理論計算の文献値を利用したが、必要な準位に対する値が参考文献によってば

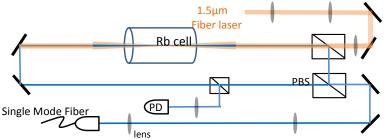


図4. 飽和吸収分光法によるマジック波長探索の実験配置図



らつきがあったため、マジック波長の同定を行うには、精度が不十分であり、実際に実験で探すことが不可欠だった。そこで、室温で動き回る原子(ドップラーシフト量:500MHz~1GHz)でも自然幅の分解能(~MHz)で分光可能な飽和吸収分光法を用いて、このマジック波長の探究を行った(図4)。通常この分光法では、室温原子集団に対し probe 光と pump光を対向させ、その吸収信号から原子の超微細構造を観測する。この飽和吸収分光の系に $1.5 \mu m$ 波長のレーザーを重ねて、超微細構造の分光信号の周波数軸上のシフト量を観測することで $1.5 \mu m$ レーザーの波長に対する光シュタルクシフト量の差の依存性を調べた(図5中の右上写真)。

40nm の範囲に渡って分光実験を行った際の飽和吸収信号のシフト量をプロットしたものを図5に示し

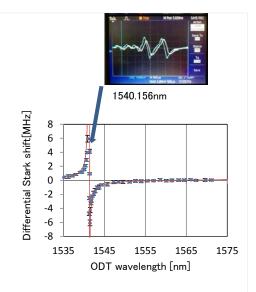


図5. 光トラップのマジック波長 同定のための飽和吸収分光結果

た。フィッティングから 5S-6P 遷移に対するマジック波長は、1557nm から 1560nm の間に存在することが確定した。このことで、このマジック波長の光双極子トラップを用いて、MOT の中心領域で原子のエネルギー準位をシュタルクシフトさせるが、基底状態と励起状態を等しくシフトさせることでより冷却効果が期待できる 5S-6P 遷移間による冷却が可能になりつつ、5S-5P 遷移間のシュタルクシフトは大きいために 780nm 冷却光を感じさせない状況を作り出すことができるようになる。

研究テーマD「他準位への緩和が存在する系でのレーザー冷却の実証と圧縮高密度化」

次に、5S-6P 準位間の狭線幅遷移におけ る87Rb原子に対する冷却効果はまだ実証 されていなかったので、この波長でのレー ザー冷却の実証が不可欠となった。通常 の吸収・放出を繰り返す2準位系で考える 冷却サイクルと異なり、5S-6P 準位間では 他準位への緩和が存在するため、効率的 な冷却が可能かどうか不明な点があった [論文 2]。そこで、まず自作の周波数安定 化された外部共振器型半導体レーザーを 用いて1次元 MOT によって離調周波数や 光強度、偏光などのパラメータに対する冷 却到達温度や密度を調べた。そして得ら れた条件を基に、通常の 780nm での MOT 光に重ねる形で 420nm の3次元 MOT を 配置し、実験を行った結果を図6に示した。

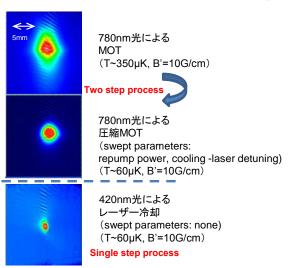


図6. 420nm 光による原子集団のさ らなる冷却と圧縮高密度化

図から見て明らかなように、420nmでのレーザー冷却に成功し、さらに圧縮高密度化にも成功



していることが分かる。冷却到達温度も時間操作を行う通常の CMOT の時と同程度であり、また、原子集団の大きさも通常行うCMOTと同程度まで圧縮されている(注:図中のCMOTは磁場勾配を時間的に変化させなかった時のデータ。BEC 生成実験では通常、磁場勾配も変化させることで圧縮高密度化させる)。420nm 光を用いることでさらに冷却が進むことが実証され、しかも磁場勾配を 780nm の MOT の時と同じままで変化させずとも圧縮高密度化が可能なことを示せたことは、時間的操作を経ずして高い位相空間密度の原子気体集団を連続的に生成できることを示唆しており、これらの結果は極めて大きな一歩である。

3. 今後の展開

本研究により、高い位相空間密度の状態で原子集団を保存場に連続的に供給し続けるための基盤技術が確立できたと考えている。今後これらを組み合わせることで、マジック波長の光双極子トラップを利用した2色同時 MOT によって異なる温度・密度領域を作り出し、続く蒸発冷却によって連続的にBEC 生成を実現できるようにする。この系は既存の蒸発冷却と異なり、加熱された原子を排除せず、外側領域で光子によって再度冷却されるリサイクルシステムとなっているため、原子間衝突の時間で制限されてきた蒸発冷却時間の大幅な短縮も図られると期

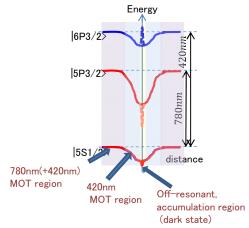


図7. 2色同時 MOT によって異なる 温度・密度領域を実現させる系

PRESTO

待される。その先の展開としては、この連続供給型絶対零度原子線源を冷媒として用いることで、 冷却できる原子や分子の選択肢が格段に増やすことができる。また、この真の原子波レーザー が実現すると、温度(単色性)・位置(指向性)ともに良く制御されていることを利用して、中性原 子の状態あるいはイオン化させることで微細加工技術への応用が広がると考えている。

4. 評価

(1)自己評価

本研究では、全光学的手法によって連続的な高繰り返しのボース・アインシュタイン凝縮 (BEC) 生成法を確立し、真の原子波レーザーを実現するという壮大な目標をもって臨んだ。当 初は、既存の時間的冷却操作手順を空間軸に置き換えることで目標達成可能であるという指針を立てていたが、詳細部分で理論的に詰めて予想できておらず、盤石な研究計画でスタートしたとは言えなかった。研究を進めていく過程で、既存のステップを空間軸に置き換える工夫だけでは、得られる位相空間密度において大きな飛躍を見込めないと感じ、全く新しい視点からのアプローチを考案する必要性に迫られた。考案に至るまでの試行錯誤に時間を要したが、この新しいアプローチの各仮説が正しいことを順に実験的に証明しながら、着実に進んできたと評価できる。しかし、本研究期間中における自分のアウトプットは十分とは言いがたい。今後、本研究成果を踏まえて、マジック波長の光双極子トラップと2色 MOT による組み合わせで、いままでの時間的冷却操作手順を全て MOT 空間内に配置し、コンパクトかつ非常に効率的な方法を確立すべく取り組んでいく所存である。ただ、今後計画通りに実現した暁には冷媒とし

て用いることで、飛躍的に冷却可能な粒子の選択肢が広がる可能性を秘めており、非常に今後の展開が楽しみだと考えている。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

レーザー技術の発展に伴い、レーザー光を用いて運動している原子を減速し、また冷却させた原子を空間に保持することが可能となり、これらの技術を利用して位相空間密度を上げて多数原子を基底状態まで落とし込んだボース・アインシュタイン凝縮体(BEC)の生成が実現された。BEC は様々な量子物理現象の研究に用いられてきたが、その生成に際してはいくつもの工程を切り替えて適用していく必要があり、また用いられる冷却手法は万能ではなく、それを適用できる原子種も限られていた。

これに対し岸本研究者は、すべての工程を光学的手法で可能とし、BEC を連続的に実現するアプローチをさきがけ研究として提案した。この手法では、連続的な高繰り返しの BEC が実現できる可能性がある。各工程の検証を実験的に一つ一つ行い、それらの工程の可能性を実証し、これらの各工程を組み合わせることにより、連続的に BEC 原子集団の供給ができることを示した。これは新しいレーザーすなわち原子波レーザーの実現に道を開いた事になる。現在、技術要素開発が一通り終了したところで、実際に全行程がアイデア通りに実現できるかどうかについては、今後の課題として残された。さきがけに採択された時点でのアイデアの見直しや、実験に必要な原子の特性の実測など、遭遇した課題を着実に解決した経験を今後の研究活動にも生かして、近い将来、原子波レーザーを実現してもらいたい。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- 1. <u>T. Kishimoto</u>, "Towards Continuous Loading of Dense and Cold Rubidium Atoms into an Optical Dipole Trap", proceedings of the 10th Asian International Seminar on Atomic Molecular Physics, Taipei, Taiwan (2012), pp.56–58
- R. Kouno, Y. Yoshino, and <u>T. Kishimoto</u>, "Laser Cooling of Rubidium Atoms Using the 5S-6P Transition", proceedings of the 10th Asian International Seminar on Atomic Molecular Physics, Taipei, Taiwan (2012), pp.223-224

(2)特許出願

研究期間累積件数:1件

1

発 明 者:岸本哲夫·牧野剛博

発明の名称:「光学素子保持装置および光学素子保持装置の製造方法」

出 願 人:国立大学法人電気通信大学、シグマ光機株式会社

出 願 日: 2012/4/17

出 願 番 号: 特願 2012-094257

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)



[国際会議招待講演]

- T. Kishimoto, "Towards Continuous production of BEC", International Workshop on Control of Cold Atoms and its Applications, Tokyo, Japan (2014)
- T. Kishimoto, "Towards Continuous Loading of Dense and Cold Rubidium Atoms into an Optical Dipole Trap", proceedings of the 10th Asian International Seminar on Atomic Molecular Physics, Taipei, Taiwan (2012)

[国際会議発表]

 R. Kouno, Y. Yoshino, and <u>T. Kishimoto</u>, "Laser Cooling of Rubidium Atoms Using the 5S-6P Transition", proceedings of the 10th Asian International Seminar on Atomic Molecular Physics, Taipei, Taiwan (2012)

[国内会議発表]

吉野 悠太、岸本 哲夫、"⁸⁷Rb の5S-6P 遷移におけるマジック波長探索"、日本物理学会 2013 年秋季大会(2013)

吉野 悠太、河野 塁、岸本 哲夫、"光双極子トラップを用いた効率的な Bose-Einstein 凝縮体の生成に向けて"、第9回農工大・電通大合同シンポジウム「ナノ未来材料とコヒーレント光科学」(2012)



研究報告書

「哺乳類のUV感覚にせまる光センサー蛋白質の機能解明」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 小島 大輔

1. 研究のねらい

バクテリアからヒトまで、多くの生物は太陽光を直接もしくは間接的に利用して、外界の認識や生体機能の調節を行っている。ヒトの感じることのできる 400-770 nm の波長領域は可視光と呼ばれるが、これよりも短波長側の紫外線(ultraviolet = UV)のうち、低傷害性の UVA 光(315-400nm)を利用する生物も少なくない。例えばミツバチやアリなどの昆虫が UV 感覚をもつことは古くより知られており、花の識別やナビゲーション(太陽コンパス)に利用すると考えられている。一方、脊椎動物においてもキンカチョウやムクドリなどの鳥類においては、配偶者選択・雌雄識別・雛識別などの個体間コミュケーションや、餌の追跡に UV 感覚を利用すると考えられている。ところが哺乳類においては UV 光受容の生理的な役割は明らかになっておらず、とくにヒトの場合には「UV 光センサー」は存在しないとさえ考えられてきた。それでは本当にヒトは UV 光を感知できないのだろうか? 私は最近、マウスのゲノム上に存在する機能未知の光受容体遺伝子 Opn5 の解析を行い、この遺伝子産物 OPN5 が UV センサー蛋白質として機能することを見出した。OPN5 は、ロドプシンなどの視物質を含む光センサー蛋白質ファミリー(オプシン類)のメンバーであるが、その分子機能は全くわかっていなかった。OPN5 遺伝子はヒトを含む広い動物種において維持されていることから、ヒトにおいても UV 受容を介して重要な生体機能に寄与する可能性があると着想した。

そこで本研究では、ヒト OPN5 の機能解析を通して「ヒトには UV センサーはない」という常識を覆すことに挑戦する。さらにマウスをモデルとして、OPN5 発現細胞を特定し、OPN5 発現細胞の UV 光応答を測定する。最終的には、遺伝子改変マウスを用いて OPN5 が関与する生理機能の同定を目指す。これらの研究を通じて、哺乳類の UV 光受容の生理的役割に迫る。

2. 研究成果

(1)概要

本研究ではまず、試験管内での再構成実験により、ヒト OPN5 が UV センサー蛋白質として機能することを明らかにした。このことから、ヒトにはこれまで知られていなかった UV 感知システムが存在し、OPN5 がこれを担っていると推定される。OPN5 蛋白質は、体表にある組織(網膜や耳介)のごく限られた細胞に存在することが、マウスを用いた実験から分かった。さらに、これらの細胞が実際に UV を感知しているかどうかを検証するため、生きた細胞の UV 応答をリアルタイム計測する測定系を確立した。今後、OPN5 の関わる生体機能を探索することにより、これまで知られていなかった UV 感知システムの役割が明らかになるものと期待される。一方、霊長類(ニホンザル)の OPN5 遺伝子の解析から、光センサー蛋白質をコードしないsplicing variant mRNA の存在が明らかになった。霊長類へと至る進化の過程において、OPN5 遺伝子が(光センサーとは別の)何らかの機能を獲得したのではないかと推定された。



(2)詳細

研究テーマA「再構成実験系によるヒト OPN5 タンパク質の機能解析」

ヒトOPN5がUVセンサー蛋白質かを検証するため、再構成実験系によるヒトOPN5タンパク質の機能解析を行った。ます、ヒトOPN5cDNAの発現ベクターを構築し、ヒト腎臓由来の培養細胞(HEK293細胞)において強制発現させ、組換えヒトOPN5タンパク質を調製した。この組

換えタンパク質の高純度精製を試みたが、機能解析に十分な量を得ることができなかった。そこで、(精製度は低いが)簡便かつ確実な方法でヒト OPN5 タンパク質を調製し、吸収スペクトル解析を行った。その結果、UV 照射によるヒト OPN5 の吸収スペクトル変化を測定することに成功し、ヒト OPN5 が UV センサー蛋白質であることを明らかにした(図1)。

さらに、OPN5が細胞内でどのような分子に光 シグナルを伝達するかを検証した。OPN5を含

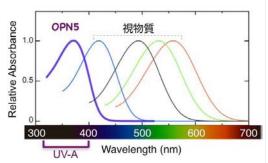


図 1. ヒト OPN5 は UV センサー蛋白質である

む膜試料を調製して UV 光を照射したところ、HEK293 細胞に内在する G タンパク質の活性化が検出された。 G タンパク質はオプシン類や他のレセプター蛋白質などと相互作用して、シグナル伝達を行うタンパク質ファミリーであり、いくつかのサブタイプに類別される。この G タンパク質のサブタイプを同定するため、OPN5 ならびに cAMP 結合型ルシフェラーゼ(発光タンパク質)を HEK293 細胞に導入して、cAMP 濃度変化の測定を行った。この細胞に UV 光を照射したところ、cAMP 依存性の発光が減少したことから、OPN5 が Gi サブタイプの G タンパク質を介して cAMP 合成酵素を抑制すると考えられた。そこで、OPN5 と Gi を用いた再構成実験を試験管内で行ったところ、OPN5 が UV 光依存的に Gi を活性化することが明らかになった。

研究テーマB「マウス生体組織における OPN5 発現細胞の特定」

UV センサー蛋白質 OPN5 が生体内のどの組織、どの細胞に存在するかを特定するため、 OPN5 抗体を用いた免疫組織学的解析を行った。すでに私はマウス OPN5 に対する特異的な 抗体の作製に成功し、またこれを用いたイムノブロット解析により、OPN5 が存在するマウス生

体組織(脳・眼球・耳介)を特定していた。これらのうち、「体表にあって UV 光受容する可能性が高い組織」として眼球と耳介を選び、これらの生体組織切片に OPN5 抗体を反応させた。その結果、OPN5 は (1) 網膜においては、視細胞以外のニューロン(神経節細胞・水平細胞・アマクリン細胞)の一部に存在すること(図2)、(2) 耳介においては筋細胞や表皮細胞に存在すること、がわかった。さらに、OPN5 のシグナル伝達タンパク質(Gi型 G蛋白質;研究テ

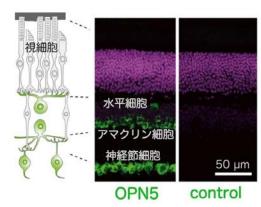


図2. マウス網膜における OPN5 発現部位



ーマA参照)も、OPN5発現細胞に共局在することが明らかになった。この結果から、OPN5は 生体内においてもGiを介したシグナル伝達経路を駆動する可能性が高いと考えられる。

研究テーマ C「OPN5 発現細胞の UV センシングの検証」

動物の体内で OPN5 が UV センサーとして機能することを検証するため、生きた細胞の UV 光応答をリアルタイム計測する測定系を確立した。一般的に、細胞が外部からの刺激に応答する際、細胞内の Ca⁺⁺濃度が上昇することが多い。そこでまず、標的細胞に UV 光刺激を与え、かつ細胞内 Ca⁺⁺濃度上昇を「単一細胞」でリアルタイム計測することのできる光刺激顕微

鏡システムを構築した。このシステムを用いて、培養細胞(Neuro2A)をモデル細胞系として細胞内 Ca⁺⁺濃度のイメージング測定を行った。細胞内 Ca⁺⁺濃度の検出のため、長波長光(585 nm: OPN5 の光反応と干渉しない)で励起される Ca⁺⁺指示薬X-rhod-1を細胞内に導入した。OPN5を強制発現させたモデル細胞系におけるUV光刺激実験を行ったところ、380nm 光照射直後に細胞内 Ca⁺⁺濃度が一過的に上昇することを、単一細胞レベルで検出することに成功した(図3)。OPN5 の UV 受容によりCa⁺⁺応答が引き起こされると考えられる。

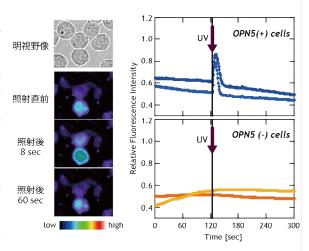


図 3. UV 刺激による OPN5 発現細胞の Ca⁺⁺応答

一方、マウス生体において OPN5 発現細胞の UV 光応答を調べるため、OPN5 発現細胞が 蛍光ラベルされた遺伝子改変マウス系統の作出を試みた。具体的には、*Opn5* 遺伝子の全領 域を含む BAC-DNA ベクターを改変し、*Opn5* 遺伝子プロモータの直下に蛍光蛋白質 Venus 遺伝子を組み込んだ。この BAC-DNA ベクターをマウス胚に導入し、遺伝子組換えマウス1系 統を樹立することに成功したが、残念ながら、Venus 由来の蛍光を検出することができなかっ た。そこで同様の遺伝子改変マウスをさらに2系統樹立した。これらのマウス系統において OPN5 発現細胞が蛍光ラベルされていれば、OPN5 発現細胞の UV 光応答実験に供すること ができるが、これは今後の課題として残された。

研究テーマ D「マウス生体内での UV センシングの役割」

OPN5 がどのような生体機能に関与するかを解明するため、*Opn5* 遺伝子を破壊した遺伝子組換えマウス(OPN5-KO マウス)を作製した。研究テーマ B において特定された OPN5 発現細胞の情報にもとづいて、マウス生体において UV 応答を示す考えられる生理現象を推定し、その測定系の構築を試みた。マウスにおける UV 生理現象の探索と、OPN5-KO マウスでこの UV 生理現象が消失するかどうかの検証は、今後の課題として残された。

研究テーマE「霊長類において OPN5 遺伝子を発現する生体組織の特定」

ヒトの OPN5 が体内のどこに発現しているのかを調べるため、様々な組織に由来する cDNA (cDNA アレイ)を用いて OPN5 の定量的 PCR 解析を行った。驚いたことに、(マウスでは検出さ



れていた)網膜では OPN5 発現は検出されず、精巣などの限局した組織のみに OPN5 の発現 が低レベルながら検出された。ただしこのヒト cDNA アレイは、全ての組織が網羅されていな いことや、アレイ作製に用いられた検体の健康状態が不明であるなど、いくつかの問題を有し ていた。そこで、ヒトに近い霊長類モデルとしてニホンザルに実験対象を移し、OPN5 発現組 織の特定を試みた。ニホンザルの様々な生体組織(京都大学霊長類研究所より提供)におけ る OPN5 遺伝子の発現分布を調べたところ、マウスと同様に耳介において強い発現が確認さ れ、これに加えて精巣や角膜にも比較的強い発現が検出された。ヒトの場合と同様に(かつマ ウスとは異なり)網膜における発現は検出されなかった。一方、この過程において、通常の OPN5 タンパク質をコードする mRNA とは異なる、『splicing variant』 mRNA がニホンザル組織 で検出された。この splicing variant mRNA は、通常の OPN5 mRNA よりも圧倒的に発現量が 高いが、オプシン型のタンパク質をコードしておらず、(光センサーとは異なる)何らかの機能 を果たすと考えられた。さらに、この splicing variant がどのような動物種に存在するかを調べ たところ、(1) 真骨魚類(ゼブラフィッシュ)や鳥類(ニワトリ)では殆ど検出されなかったが、(2) 齧歯類(マウス)では通常 mRNA とほぼ同じレベルで検出され、(3) 霊長類(ニホンザル)にお いては通常 mRNA よりも10倍以上高い発現量を示すことがわかった。霊長類へと至る進化の 過程において、OPN5 遺伝子が(光センサーとは別の)何らかの機能を獲得したのではないか と推定された。

3. 今後の展開

本研究では、ヒト OPN5 が UV センサーであることが明らかになり、これまで知られていなかった UV 感知システムがヒトに存在することが示唆された。今後は、この UV 感知システムが「どこで」「何のために」存在するかを明らかにしたい。具体的には、本研究で確立した光刺激顕微鏡システムを用いて、OPN5 発現細胞が生体内でも UV 応答することを示す。そのためには、OPN5 発現細胞が適正に蛍光ラベルされた遺伝子改変マウス系統が必要である。また、OPN5 がどのような UV 生理現象に関与するかを解明するため、引続き OPN5-KO マウスを用いた解析を続ける。さらに、この UV 生理現象がヒトにも存在するかどうかを調べることにより、医学・健康分野への応用へと発展させたい。また、本さきがけ研究で新たに発見された OPN5 splicing variant mRNA の解析を進めることにより、ヒトや霊長類における OPN5 遺伝子の新たな(光センサーとは別の)機能を明らかにしたい。

4. 評価

(1)自己評価

本研究では OPN5 がヒトの UV センサー蛋白質であることを世界にさきがけて明らかにできた。これにより(当初のねらい通り)、ヒトにも UV 感知システムが存在することが強く示唆され、さきがけ研究を進める上での強いモチベーションになった。また、マウス OPN5 の発現細胞の同定や、単一細胞レベルでの OPN5 の UV 応答の検出系の確立など、多くの成果を挙げることができた。しかし、当初より最も難しいと考えていた「OPN5 の UV 応答がどのような生理現象に関与するか」という重要な問題については、残念ながら研究期間内に答えを出すことができなかった。ただし解決の糸口は掴みつつあり、これを当面の重要課題として現在も引き続き解析

を進めている。一方、霊長類の OPN5 遺伝子の解析から、当初は想定していなかった方向(霊長類における OPN5 遺伝子の機能多様化の可能性)にも研究が広がり、常識にとらわれない新たな展開を示すことができたと考える。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

昆虫が紫外線(UV)で"見ている"ことが知られている。昆虫より高等動物である鳥類でも UV センサーを持っている事も分かっていた。本さきがけ研究を開始する直前に小島研究者 は、マウスのゲノム上に見出した光センサー遺伝子 OPN5 により作られるタンパク質が、UV センサーとして機能していることを報告した。

本さきがけ研究では、この OPN5 遺伝子が人間にも存在し、試験管内での再構成実験により、ヒト OPN5 が UV センサー蛋白質として機能することを明らかにした。マウスを用いた実験では、OPN5 蛋白質は、体表にある組織(網膜や耳介)のごく限られた細胞に存在することを実証した。一方、霊長類(ニホンザル)の OPN5 遺伝子の解析から、光センサー蛋白質をコードしない splicing variant mRNA の存在を示し、現在は、その機能解明にむけて研究中である。

新たな発見が、新たな疑問を生み出す典型のような研究展開となった。これまで認識されていなかった霊長類の OPN5遺伝子の発見と、その遺伝子のスプライシングにより作られるタンパク質のバリエーションはいったい何のためなのか、興味のつきない課題に遭遇してさきがけ研究を終了した。さきがけ研究らしい研究展開であり、今後もパイオニアとしてこの研究領域を開拓してもらいたい。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Daisuke Kojima*#, Suguru Mori*, Masaki Torii*, Akimori Wada, Rika Morishita, Yoshitaka Fukada# (*equally contributed; #Correspondence): UV-sensitive photoreceptor protein OPN5 in humans and mice. PLoS ONE, 6, e26388 (2011).

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

著書(総説):1件

 Daisuke Kojima, Yoshitaka Fukada: Molecular mechanisms of the function of pineal organs. in "Vertebrate Photoreceptors: Functional Molecular Bases" (T. Furukawa, J. B. Hurley, S. Kawamura, eds.) Springer Japan, Tokyo, Japan; in press.

学会発表(国際会議における招待講演):3件

 Daisuke Kojima: Non-visual photoreception in vertebrates, in the symposium "Evolutionary Biochemistry and Physiology of Photoreception in Animals." The 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (ICCPB2011),



- Nagoya, JAPAN, June 4, 2011.
- 2. Daisuke Kojima: OPN5, a photosensory protein for mammalian ultraviolet photoreception. The 12th Congress of the International Society of Developmental and Comparative Immunology, Fukuoka, Japan, July 9, 2012.
- 3. Daisuke Kojima: Photic regulation of body colour in zebrafish. The 6th Asia & Oceania Conference on Photobiology, Sydney, Australia, November 11, 2013.

その他の学会発表:

国際会議(口頭発表およびポスター発表):3件 国内会議(口頭発表およびポスター発表):7件



研究報告書

「光による熱の固有状態の創成と波動制御の実現」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成22年10月~平成26年3月

研究者: 是枝 聡肇

1. 研究のねらい

物質科学では、「熱が発生する」と言うと、「エネルギーが散逸する」こととほぼ同義に解釈されてしまう。それは物質内の熱伝導が拡散的な「熱伝導方程式」に支配されるため、いちど系に与えられた熱エネルギーは熱力学第2法則に従って不可逆的に拡散するべきである、という固定観念に基づいていると思われる。しかしながら、あまり広くは認識されていないが、物質内の熱伝導はむしろ波動方程式によって記述されるのが本質であり、拡散的な「熱伝導」とは、物理的には「温度の波動」が強く減衰を受けた状態であると解釈されなければならない。

このような「温度の波動」(「第二音波」とも呼ばれる)は固体物質中においては 1960 年代から 1970 年代までの間にわずか 3 例の報告があるのみで、極めて希な現象である。しかし、1990 年代頃から、物性物理学上極めて重要な物質群として知られるペロフスカイト型酸化物の一部の物質において「温度の波動」の存在が理論的、実験的に再検討され始めた。このペロフスカイト型酸化物という物質群は超伝導・強磁性・強誘電性・巨大応答特性など、応用上も極めて重要な物性を担う物質を豊富に含むが、これらの物性は温度に強く依存する素励起であるため、もし十分に制御された「温度の波動」をこれらの物質内に保持できれば、積極的かつ多彩な物性操作を実現できる可能性が拓ける。また、新たに熱を波動として保持できる物質を発見、あるいは開発し、熱を改めて固有の周波数・速度を持つ波動的な素励起として、科学者や社会に広く再認識させることは、物質科学における新たな普遍的視点を付加することとも位置づけられる。

そこで本研究では、誘導光散乱と呼ばれる手法を用い、光と熱(格子振動量子の統計的集団)との相互作用を通して、位相の揃った大振幅の温度の波動、いわば「コヒーレントな熱波動」を物質内部に創成することを計画した。そのために、まず超短パルスレーザーを用いた誘導熱・ブリルアン散乱システムを構築し、つぎにこれと極低温装置とを組み合わせて、チタン酸ストロンチウムをはじめとするペロフスカイト型量子常誘電体結晶における熱波動のコヒーレント励振を計画した。さらに、光学配置の制御によって、コヒーレント熱波動の周波数・波長などの系統的な波動制御を目指した。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では熱波動の候補媒質として、強誘電体の仲間である「量子常誘電体」と呼ばれる物質群に着目し、誘導ブリルアン散乱の手法を用いて、低温状態にした量子常誘電体内部に熱の波動を光で励起することを試みた。その結果、高温超伝導体の母材料としてもよく知られるチタン酸ストロンチウムという結晶においては、温度が下がるにつれて熱の波動の減衰が弱くなり、十分に低温では熱拡散現象が熱の波動伝搬へと姿を変えていく様子が観察され



た。さらに、レーザー光の操作によって熱の波動の振動数(波長)を自由に制御することにも成功した。このとき、誘導ブリルアン過程を通してレーザー誘起された熱の波動は、励起領域内で完全に位相を揃えて振動しており、「コヒーレントな熱の波動」の創成に成功したと言える。

(2)詳細

研究テーマ A「コヒーレント熱波動励振システムの構築」

光の電場と物質の格子歪みとの結合を通して、レーザー光によって物質中にコヒーレントな振動が発生する過程を「誘導ブリルアン過程」という。誘導ブリルアン過程ではポンプ光として入射する 2 つの電場の間の周波数差と運動量の差を物質中の超音波の周波数と運動量に共鳴させることで、非線形分極を通して物質内部に位相の揃った大振幅の振動(一般的には超音波)を発生させることができる。通常は誘導ブリルアン過程による密度変化と同時に、電子励起状態の無輻射緩和による温度上昇(誘導レイリー散乱)を伴うことがほとんどであるが、そのような熱の成分による分極は非振動的な緩和的時間変化(指数関数的減衰)しか示さないと考えられてきた。しかし、非平衡性を適切に考慮したうえで、熱輸送過程を波動方程式に立脚した立場で書き直すと、熱の波動の減衰の度合いによって、熱による緩和型のプロファイルが振動型へと姿を変えることが導かれる。つまり誘導レイリー散乱が「熱による誘導ブリルアン散乱」へと変化することが起こり得る。

温度の波動を物質内部に創り出すプロセスとしては、パルスレーザーによるインパルシブ励起を採用した。この方法では交叉するポンプ光による干渉縞に沿って(二光子)吸収が起こり、十分に速い(1 ピコ秒未満の)無輻射緩和を経て物質内部に瞬間的に周期的温度分布が

作られる。その温度分布は物質場が持つ特性にしたがって時間発展するが、その様子は連続発振のプローブ光を励起領域に入射すれば、その回折光強度の時間変化として実時間上で直接モニターすることができる。システム構築当初はプローブ光の回折強度を直接モニターしていたが、検出感度が低く、信号の観察にはポンプレーザーの強度を高くする必要があったため、レーザ

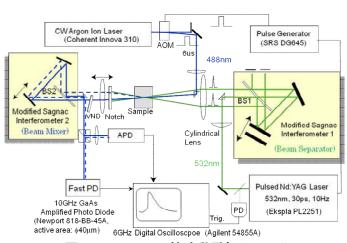


図 1 コヒーレント熱波動励振システム

一照射による結晶温度の上昇が無視できない問題となった。そこで検出感度を向上させるため、独自に構成した光へテロダイン検出法を用い、(正負の符号を取り得る)プローブ光の電場振幅を観測する方法へと変更した(図 1)。図 1に示した検出系(左側)は、ポンプ光を分割するのに用いているのと同じ変形サニャック干渉計を、逆に局発光と信号光のミックスに用いるというポンプ側(右側)とは対称な配置となっている。この構成ではサニャック干渉計の特性によって局発光と信号光の間に位相差のゆらぎがまったく生まれないため、いかなる能動制



御も用いることなく、受動的に 100%の安定性を実現できた。この高度に安定化された光ヘテロダイン方式によって検出感度は 20 倍以上も向上し、長時間積算も可能となったため、ポンプ光のエネルギーを最小限まで弱めても十分な S/N 比で信号が記録できるようになった。

研究テーマ B「量子常誘電体におけるコヒーレント熱波動の励振と波動制御」

熱の波動が存在できる物質としては、1970 年代までに固体ヘリウム、半金属であるビスマス、高度に純化されたフッ化ナトリウムの3例だけが報告されていた。しかし、これらの物質では、積極的な物質設計によって、超伝導や強誘電性、強磁性といった多様な物性を付与できず、温度の波動の単なる観測で研究が終わっていた。一方、ペロフスカイト型酸化物の系統では高温超伝導をはじめとする多様な物性発現の実績があり、もしこのような系にコヒーレントな温度の波動が新しい素励起として登場すれば、温度に依存する様々な素励起との劇的な相互作用と新奇な物性の発現が大いに期待される。

私は本さきがけ研究に先立って、高温超伝導体の母材料としても知られるチタン酸ストロンチウムと呼ばれるペロフスカイト型量子常誘電体結晶において、30K以下の極低温で温度の波動が存在している可能性が高いことを自然光散乱法で報告していた。そこで研究テーマ Aで開発したコヒーレント熱波動の励振システムを用いてチタン酸ストロンチウム結晶内部に熱の固有状態と呼ぶべき、位相の揃った大振幅の温度の波動を創り出すことを試みた。熱の波動は(i)温度を下げると減衰が弱くなる(ii)周波数が上がると相対的に減衰が弱くなる、という性質を持つため、温度変化および周波数変化の実験を通して、緩和型のプロファイルが振動型のプロファイルへと変化する臨界温度および臨界周波数を見出すことができると考えた。

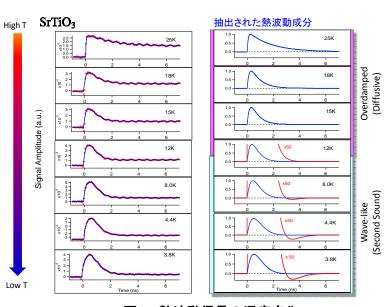


図 2 熱波動信号の温度変化

熱の信号に対応する部分を抽出したものであるが、約 12K の臨界温度より低温側では、熱由来の信号がマイナス側へも振動するようになるという結果が得られた。



つぎに熱波動の制御性を確認するため、ポンプ光の交差角度を変えることにより、波数(および周波数)を系統的に変化させた。その結果を図 3 に示す。ポンプ光の交差角度と熱波動

の波数はほぼ比例関係にあるため、交差角度が 大きくなると熱波動の波数および周波数が大きく なり、一定温度下では振動数が減衰率を上回 り、ついには過減衰の状態を脱して振動的な振 る舞いに変わるはずである。その結果、この予想 のとおり、信号のプロファイルは指数関数的な緩 和型から正弦波の立ち上がりを持つ減衰振動型 へと系統的に変化した。

図 4(a)に、解析によって得られた熱波動の 固有周波数と減衰率の温度依存性を示す。臨界 温度の約12Kを境にして両者の大小関係が逆転 しており、低温側では振動が減衰に打ち勝って いることが確認された。また、図 4(b)に示すよう に、熱波動の周波数が波数に比例するという関 係が確認された。これは熱波動(第二音波)に対 する理論的な分散関係と一致しており、光学配 置によって熱波動の周波数および波長が系統的 に制御可能であることが実験的に示された。つ ぎに同じく図 4(b)より、減衰率と角周波数の 大小関係が入れ替わる臨界波数の存在が明ら かになり、臨界波数より高波数側では、振動が 減衰に打ち勝っている様子が確認された。

これらの実験事実はポンプ光の照射領域で位相の揃った大振幅の温度の波動、すなわち「コヒーレントな熱の波動」が励起され、さらにその波動のチューニングにも成功したことを示している[学会発表 1、2、4]。この場合、決して単にある特定のフォノンモード(いわゆるコヒーレントフォノン)が励起されたわけではなく、フォノンの集団励起状態(フォノンの疎密波)として「温度の固有状態」が実現されていることを強調しておきたい。

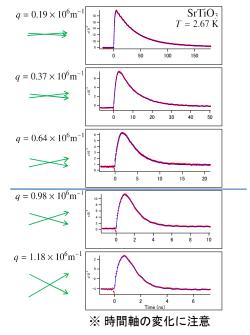


図 4 熱波動信号の波数依存性

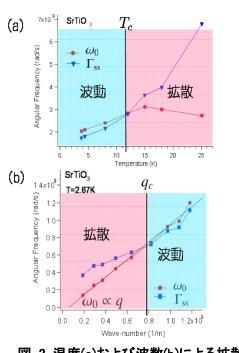


図 3 温度(a)および波数(b)による拡散→ 波動への遷移の様子

3. 今後の展開

熱の固有状態の存在を意識することによって、ある励起状態からの熱の発生を、明確に定義された波動関数(励起状態)間の相互作用として捉え直すことが許される。このような新しい視点



に立てば、従来は熱浴への緩和として見過ごされていたさまざまな現象を、緩和といった現象論ではなく、励起準位間の微視的な相互作用として記述し直すことができるはずである。本研究成果の積極的な発信を通じて様々な分野の研究者に、熱に対する意識改革が波及することを期待したい。もちろん市民にとってもこのような意識の転換がインパクトをもって迎えられることを期待したい。また、本研究の成果を基盤として、熱波動の共振器や熱レーザーの設計、また光によって制御された熱波動による物質内素励起のコヒーレント熱操作など、熱波動科学が新たに展開されることが期待される。

ただし、本研究の期間内に創成された熱の波動はマイナス側へ振動はしているものの、一周期内でほぼ減衰しきっており、寿命が非常に短い。この原因としては励起方法による波長の制限やフォノン密度の不足などが挙げられる。後者の原因に対しては、第二音波の存在に本質的な役割を果たしている特定の光学フォノンモード(強誘電ソフトモード)の状態密度を高強度テラヘルツ波レーザーを用いて人為的に増強することによって、減衰の影響を相対的に小さくすることで解決できると期待される。また、強誘電ソフトモードは強誘電体、および巨大誘電応答を示す「リラクサー」と呼ばれる物質群でも重要な役割を担っており、テラヘルツ波レーザーを用いた分光研究は、強誘電体・リラクサー科学の観点からも実験的な発展が大いに期待される[論文 1、3]。実際に、本研究の終盤には理研の光源開発グループ(南出泰亜チームリーダー)とも共同研究を開始しており、より効率的な熱波動発生を目指して実験を進めている。

4. 評価

(1)自己評価

コヒーレントに振動する温度の波動を創り出すという大きな目標を掲げて研究を行ってきたが、実験システムに工夫を加え続けることで、温度の信号を通常我々がよく知る緩和的な振る舞いから、位相を揃えて正弦波的に振動しようとする状態へと変化する様子をデモンストレートできたと考えている。また、波動制御の基本である周波数のチューニングも分散関係のデモンストレーションと同時に実現できたことから、コヒーレントな熱の波動が間違いなく生成されたことを示せたと考えている。本研究成果のハイライトに関しては、preliminary な結果についてすでに国際会議にて口頭発表を済ませたものの、論文に関してはトップジャーナルへの掲載を目指し、より明瞭な振動状態の実現へ向けた実験的努力を研究期間終了まで続けた。しかし、客観的に 200%の説得力のある結果には至らないまま時間切れとなった。また、研究開始当初に予定していた熱波動の非線形性(熱ソリトン)の検証も、今後の課題として残った。これらの点に関しては「3.今後の展開」で述べたように、高強度テラヘルツ波レーザーを用いた強誘電ソフトモードの励起によって、強誘電体・リラクサー科学と熱波動科学との融合分野という位置づけで、今後の新たな展開として押し進めたい。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

熱伝導は一般に拡散過程として認識されているが、波動として振る舞う事も古くから指摘されており、第2音波という名前もつけられている。しかし、その実験結果の報告も数件しかなく、熱がコヒーレントな波動として伝搬するという認識はなかった。

是枝研究者は、「量子常誘電体」と呼ばれる物質に着目し、誘導ブリルアン散乱の手法を用



いて、光で低温の量子常誘電体内部に熱の波動を光で励起することを試みた。具体的には、高温超伝導体としてよく知られているチタン酸ストロンチウムをとりあげ、熱の波動の振動数 (波長)を自由に制御できることまでを示した。このとき、誘起された熱の波動は、励起領域内で完全に位相を揃えて振動しており、「コヒーレントな熱の波動」が生成されたことを確認した。これまで第2音波が報告されていたのは 3 例のみで、極めて希な現象であると思われてきた。量子常誘電体で第2音波励起が確認できたことは、量子常誘電体と総称される物質群は勿論、同様のフォノン分枝を持つ他の多くの物質においても第2音波が励起できる可能性がある。そうすれば、より一般的な物理現象として捉えることが可能となり、それらの物質による熱波動の共振器や熱レーザーの実現など、熱波動科学とよべる研究分野が開拓されることを期待する。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- 1. <u>A. Koreeda</u>, H. Taniguchi, S. Saikan, and M. Itoh. "Fractal dynamics in a single crystal of a relaxor ferroelectric," Phys. Rev. Lett., **109**, 197601(1-5) (2012)
- 2. <u>A. Koreeda</u> and S.Saikan. "Higher resolution Brillouin spectroscopy by offset stabilization of a tandem Fabry-Pérot interferometer", Rev. Sci. Instrum. **82**, 126103(1-3) (2011)
- 3. <u>A. Koreeda</u>, S. Saikan, H. Taniguchi, and M. Itoh. "Power-Law Quasielastic Light Scattering Observed in Relaxor Pb(Mg_{1/3}Nb_{2/3})O₃", Ferroelectrics, **415**, 24–28 (2011)

(2)特許出願

研究期間累積件数:O件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等) 主要な学会発表

- 1. <u>A. Koreeda, M. Takesada, S. Saikan, and T. Yagi, "Coherent second-sound generation in SrTiO₃", The 4th International Congress on Ultrasonics, Singapore, May 1 -5 (2013)</u>
- A. Koreeda, S. Saikan, M. Takesada, and T. Yagi, "Optical Generation of Coherent Temperature-wave in Quantum Paraelectrics", Joint of The 11th International Symposium on Ferroic Domains and Micro- to Nanoscopic Structures (ISFD) and the 11th Russia/CIS/Baltic/Japan Symposium on Ferroelectricity (RCBJSF), Yekaterinburg, Russia, Aug.20-24 (2012)
- 3. (招待講演) A. Koreeda, "Fractal Dynamics in Relaxors: High-resolution, Broadband Light-scattering Study" Joint of The 11th International Symposium on Ferroic Domains and Micro- to Nanoscopic Structures (ISFD) and the 11th Russia/CIS/Baltic/Japan Symposium on Ferroelectricity (RCBJSF), Yekaterinburg, Russia, Aug.20-24 (2012)
- 4. <u>A. Koreeda</u>, S. Saikan, M. Takesada, and T. Yagi, "Coherent Second-sound Generation in Quantum Paraelectrics", The 14th International Conference on Phonon Scattering in Condensed Matter (PHONONS2012), Ann Arbor, USA, July 8-13 (2012)
- 5. (基調講演) 是枝聡肇「リラクサーの自己相似な周波数応答: 高分解能光散乱分光」第



- 21 回日本 MRS 学術シンポジウム 横浜市波止場会館 12 月 20 日 (2011)
- 6. A. Koreeda, "Optical generation and wave control of heat eigenstates", Academia Sinica & JST Joint Workshop on "INNOVATIVE USE OF LIGHT AND NANO/BIO MATERIALS," International Conference Hall, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, May 26–27, (2011).

解説•総説

1. <u>是枝聡肇</u>「リラクサーのフラクタル・ダイナミクス: 巨大誘電応答の理解を目指して」 セラミックス, **48**, No.7, 538-541 (2013)



研究報告書

「フェムト秒光波制御による超高速コヒーレントスピン操作」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成22年10月~平成26年3月

研究者: 佐藤 琢哉

1. 研究のねらい

磁性は不揮発性を持つことから記録媒体として広く利用されてきたが、他にも多種多様で特異な性質をもつ。たとえば反強磁性体は磁場を印加しなくてもテラヘルツオーダーの共鳴周波数を有するため、超高速に動作する素子としてポテンシャルがある。また最近では絶縁体中でも磁気の波(スピン波)が伝わることが報告され、省エネデバイスとしても注目されている。

物質の磁性を光照射によって制御しようとする研究は古く 1960 年頃から始まった。また応用面では、光磁気(MO)ディスクやミニディスク(MD)としても商品化されたが、照射する光の偏光は直線偏光であり、光は単なる熱源として利用されている。円偏光を照射することで、物質にスピン角運動量を付与できることが示されたが、まだ基礎的な研究レベルにとどまっていた。また、物質の磁性が持つ多種多様な特性をフェムト秒パルスによって積極的に制御する試みはほとんど行われてこなかった。

本さきがけ研究では、単なる直線偏光、円偏光などの偏光状態のみならず、光が本来もっている時間・空間特性を積極的に活用し、波形整形された超短パルス光を磁性体に照射することで、より高い自由度でかつ非熱的にコヒーレントスピン操作することを目的とした。具体的には、時間的に整形されたねじれ偏光ダブルパルスを用いて反強磁性体の磁化を 3 次元的に自在に制御すること、空間的に整形された円偏光パルスを用いてフェリ磁性体中にスピン波を生成し、その伝播方向を制御することを目的とした。

2. 研究成果

(1)概要

3回対称性を持つ反強磁性体 YMnO₃に直線偏光パルスを照射することにより、周波数縮退した 2 つの面内振動モードを独立に励起できることを示した。この結果を利用して、時間整形された光パルスを用いることで、任意のヘリシティに回転運動するテラヘルツ・磁化振動モードを単結晶系で励起することに初めて成功した。

一方、円偏光パルスをガーネットに照射することで逆ファラデー効果によりスピン波を非熱的に生成し、時間分解イメージングすることに成功した。また、スポット形状を楕円形に空間整形した光を用いて生成したスピン波の伝播方向を、長軸方向によって制御できることを示した。



(2)詳細

研究テーマA「時間整形光パルスを用いたベクトル磁化制御~テラヘルツ・スピントロニクス」

従来の MO ディスクや、次世代の光磁気ハイブリッド記録(TAMR)などの光磁気記録では、 光は磁気媒体の温度を一時的に上昇させる熱源として利用されている。この方式では熱冷却 速度や熱拡散のため、記録速度や密度に限界がある。また磁化を直接制御するのは外部磁 場であり、光は照射加熱により磁気媒体の保磁力を下げることで、低磁場でも磁化制御が可 能になるように補助する役割に留まっている。

また、磁気記録媒体は主に強磁性体であり、磁化の速度は、それが歳差運動の周波数に 比例するため、GHz オーダーに限られてしまう。私は、反強磁性体が交換相互作用により、全 ての磁性体中で最速のテラヘルツ・オーダーの歳差運動周波数を有することに着目した(論 文1、2参照)。さらに、六方晶 YMnO₃は3回対称性をもつため、磁化のベクトル制御が可能で あると予想した。

そこで本研究では、外部磁場を用いずに光が主役となって、磁化を非熱的かつ超高速に制御する手法を研究した。時間整形された光パルスを反強磁性体 YMnO₃ に照射することで、磁化の超高速・ベクトル制御を目指した。具体的には、図 1 のようなねじれ偏光ダブルパルスによって、磁化を二次元的に右回り、左回りにテラヘルツ・オーダーで円運動させる。

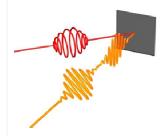


図1 ねじれ偏光ダブルパルスを用いたポンプ・プローブ測定配置

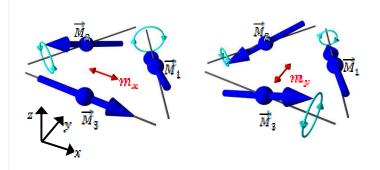


図2 六方晶 YMnO₃の面内磁化振動モード

六方晶 YMnO₃ は 3 副格子系反強磁性体(Neel 温度 70K)であり、磁気共鳴実験で(0001) 面内に 1.3 THz の縮退した磁化振動モード(図 2)が報告されている。本研究においても、予備実験として、波形整形されていない直線偏光フェムト秒パルスを YMnO₃ (0001)面に照射し、逆コットン・ムートン効果によって、縮退した 2 つの磁化振動モードが偏光方向に依存して選択的に励起できることを示した。さらに、ねじれ偏光ダブルパルスを用いて実験を行った。振動周



期の 3/4 または 5/4 だけ時間差をつけたダブルパルスを、偏光面を互いに 45 度ねじって YMnO3 に照射したところ、ヘリシティが異なる磁化の回転モードを誘起できた(図3)。このような運動モードは、単一磁場パルスのトルクや、単一の直線偏光パルス、円偏光パルスでは誘起不可能である。また、ねじれ周波数によって、マグノンやフォノンの選択的励起が可能になる。

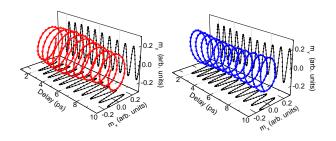


図3 振動周期の(左)3/4、(右)5/4 だけ時間差をつけた、ねじれ偏光ダブルパルスを用いた磁化の回転モード

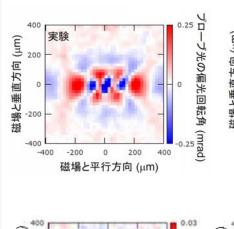
研究テーマB「空間整形光パルスを用いたスピン波励起と伝播方向制御~光マグノニクス」

現代の情報社会を支えるエレクトロニクスでは、電子の持つ電荷の自由度や電荷流が情報を担ってきた。しかし電流に伴う発熱が避けられず、デバイスの高密度化が限界に達しつつある。一方、電子が持つもうスピンの自由度を積極的に利用する技術、スピントロニクスが盛んに研究されている。個々の電子スピンは磁場下で歳差運動を行い、その集団運動(スピン波)は、電流と違って原理的には発熱の問題がない。そのため、スピン波は新しい情報媒体として期待されており、マグノニクスとして近年注目を集めている。スピン波の伝播に関する制御技術の確立が望まれてきた。

これまでスピン波は微細加工されたアンテナからのマイクロ波か、スピン偏極電流によって誘起されてきた。しかし、一旦アンテナや電極が加工され、磁場が印加されると、スピン波の伝播特性を直接変えることは容易ではなかった。われわれは、約 100 fs のパルス幅を持つ光パルスを磁性体に集光することでスピン波を発生させたときの、スピン波の波数分布に関するモデルを提案した。具体的には、まずフェリ磁性体に高強度の円偏光パルス(ポンプ光)を直径 50 μm の円形スポットに集光すると、逆ファラデー効果によりスポット内でスピン歳差運動が始まる。また歳差運動は、ポンプ光のスポット外にもスピン波として二次元的に伝播していく。ポンプ光パルス照射によって誘起されたスピン波の初期状態の波数分布は光パルスの空間強度分布のフーリエ変換によって決まる、というモデルである。

まず光アイソレータとして広く使われているガーネット・フェライト単結晶に、面内に 1 kOe の磁場を試料表面と平行に印加する。試料表面に高強度の円偏光パルス(ポンプ光)を直径 50 μ m の円形スポットに集光すると、逆ファラデー効果によりスポット内でスピン歳差運動が始まる。その様子を時間遅延をつけた低強度の直線偏光パルス(プローブ光)のファラデー回転角を測定することで時間分解測定する。また歳差運動は、ポンプ光のスポット外にもスピン波として二次元的に伝播していく。ポンプ光に対するプローブ光の相対位置を試料上でスキャンすることで、スピン波伝播を時間・空間分解して観測することにも成功した(図4左)。スピン波の波長は 200~300 μ m、群速度は約 100 km/s であった。

上記のモデルに基づいたシミュレーションは、実験結果をほぼ完全に再現することができた(図4右)。このモデルに基づくと、スピン波の伝播方向を制御するには、試料表面での光スポット形状を適切に変形すればよいことが予想される。そこで、ポンプ光の集光レンズの前側焦点面に長方形の開口を挿入し、試料表面でのスポット形状を楕円形にした。楕円の長軸が印加磁場に平行・垂直のとき、スピン波は磁場に対して垂直・平行方向に伝播することを実験(図5)およびシミュレーションで実証した。このように、光のスポット形状に依存して波の伝播方向を制御することに成功した。この結果は、Nature Photonics(論文3参照)に掲載された。



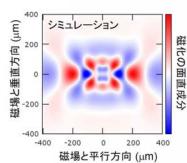
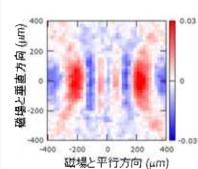


図4 直径50 μmの円 形ポンプ光パルスが原点 に集光された, 1.5 ns 後 のスピン波の波形(左:実 験,右:シミュレーショ ン)。



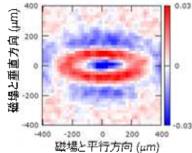


図5 長径 280 μ m, 短径 70 μ m の楕円形ポンプ光パルスが原点に集光された, 1.5 ns 後のスピン波の波形(楕円の長軸が磁場と垂直(左図), 平行(右図))。

3. 今後の展開

研究テーマA「時間整形光パルスを用いたベクトル磁化制御~テラヘルツ・スピントロニクス」

時間整形された光パルスを用いることで、スピンをテラヘルツ・オーダーで二次元的に制御することに成功した。今後は空間光位相変調器によって、単一の光パルス内での偏光状態が時々刻々と任意に変化する光パルスを生成する手法を開発し、さらに高効率・任意な超高速スピン制御をめざす。また、スピン振動は磁気双極子遷移によって電磁波を放出するため、たとえば円偏光テラヘルツ波など、新しいテラヘルツ光源になることが期待される。このように磁性体の磁化を非熱的にかつ高効率で自由にベクトル制御できれば、産業界へのインパクトも大きい。



研究テーマB「空間整形光パルスを用いたスピン波励起と伝播方向制御~光マグノニクス」

微細加工が必要なマイクロ波や電流を一切使わず、空間整形された光パルスのみでスピン波を発生させ、その伝播方向が制御可能になったことで、スピントロニクスの設計自由度が大きく広がることが期待される。本成果は、例えば計算機ホログラムによる種々の形状の光スポットで自在にスピン波を時空間制御する技術、つまり"光マグノニクス"につながり、スピントロニクスにおける光一磁気スイッチング素子への展望が拓かれる。また、今回実証された原理は、スピン波のみならず、光で誘起可能なあらゆる波に対して適応可能であるため、例えば弾性波の方向制御も期待できる。

4. 評価

(1)自己評価

本さきがけ研究をスタートした当初の目的は、反強磁性体に光波制御された光パルスを照射することでテラヘルツ・オーダーのスピン操作を行い、最終的には磁化反転を目指すことであった。この目的に従って、まず適切な物質の選定を行い、予備実験によって原理検証をした。そして、時間制御された光パルスとしては最も単純なねじれ偏光ダブルパルスによって、実際にテラヘルツ・オーダーのスピン操作に成功した。次の課題として空間光変調器を用いたねじれ偏光パルスの作成にむけて、現在進行中である。また、磁化反転に至る方法論は、今後の課題となった。結論として、当初の目的の大部分は達成されたと評価できる。

一方、空間整形された光パルスを用いたスピン波制御は、当初の目的の中には含まれていないものであった。別のプロジェクトにおいて、円偏光パルスを磁性体に照射することで非熱的にスピン波を生成し、観測することに世界に先駆けて成功したが、この過程で、さきがけ研究の一部として、円偏光パルスを空間的に整形することで生成するスピン波の伝播方向を制御できることを思いつき、実証に成功した。この研究成果は高く評価され、Nature Photonics に掲載されたほか、応用物理学会の光学論文賞の受賞対象にもなった。こうして、さきがけ研究の幅が一気に広がったといえる。また、CCD カメラを用いてスピン波の伝播を時間分解イメージングする技術を開発し、測定時間をスキャニング法と比べて約 1000 分の1にまで短縮することに成功した。結論として、当初の目的には全く想定されていなかった、空間整形された光パルスによるスピン波制御が実現し、今後の発展も大いに期待される。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)研究成果の状況や、得られた成果の科学技術への貢献、その他領域独自の評価基準に基づいて事後評価を行い、評価結果及び今後の展開への期待を記載してください。 公開項目です。

この評価結果は、「領域活動・評価報告書」の「9. 評価結果」へ転記してください。



5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- 1. A. Rubano, <u>T. Satoh</u>, A. Kimel, A. Kirilyuk, Th. Rasing, and M. Fiebig, "Influence of laser pulse shaping on the ultrafast dynamics in antiferromagnetic NiO," Phys. Rev. B **82**, 174431 (2010).
- 2. R. Iida, <u>T. Satoh</u>, T. Shimura, K. Kuroda, B. A. Ivanov, Y. Tokunaga, and Y. Tokura, "Spectral dependence of photoinduced spin precession in DyFeO₃," Phys. Rev. B **84**, 064402 (2011).
- 3. <u>T. Satoh</u>, Y. Terui, R. Moriya, B. A. Ivanov, K. Ando, E. Saitoh, T. Shimura, and K. Kuroda, "Directional control of spin wave emission by spatially shaped light," Nature Photon. **6**, 662–666 (2012).

(See also Nature Photon. 6, 643-645 (2012) and Nature Photon. 6, 706 (2012)).

(2)特許出願

研究期間累積件数:2件

1.

発 明 者: 佐藤琢哉, 黒田和男, 志村努, 照井勇輝

発明の名称:波動の誘起・伝播制御システム及び波動の誘起・伝播制御方法

出 願 人:東京大学 出 願 日: 2012/9/14

出 願 番号: 特願 2012-203693

2.

発明者: 佐藤琢哉, 志村努, 吉峯功, 飯田隆吾

発明の名称:スピン波の誘起・初期位相制御システム及び方法、スピン波の誘起・伝播制

御システム及び方法 出 願 人:東京大学 出 願 日:2013/7/4

出 願 番号: 特願 2013-140635

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

国際会議における招待講演

- 1. <u>T. Satoh</u>, R. Iida, T. Shimura, K. Kuroda, and B. A. Ivanov, "Terahertz spin oscillation in antiferromagnetic transition-metal monoxides," MORIS2011 (June 21-24, 2011, Nijmegen, The Netherlands).
- 2. <u>T. Satoh</u>, Y. Terui, R. Moriya, B. A. Ivanov, K. Ando, E. Saitoh, T. Shimura, and K. Kuroda, "Opto-magnonics: Spin-wave manipulation by light pulses in garnet ferrite crystals," The 11th International Conference on Ferrites (ICF 11), 18pA1-I-4 (Apr. 15-19, 2013, Okinawa, Japan).
- 3. <u>T. Satoh</u>, "Generation and manipulation of spin wave by spatially shaped light spot," SPIE Optics+Photonics 2013, 8813-17 (Aug. 25-29, 2013, San Diego, USA).



- 4. <u>T. Satoh</u>, "Generation and Directional Control of Spin Wave by Spatially-Shaped Light Pulses," SSDM 2013, F-1-1 (Sep. 24-27, 2013, Fukuoka, Japan).
- 5. <u>T. Satoh</u>, "Excitation and control of spin wave by light pulses," umc 2013 (Oct. 28 Nov. 1, 2013, Strasbourg, France).

その他 2 件

国内会議における招待講演

- 1. <u>佐藤琢哉</u>,「光パルスで誘起されたスピン波の時間・空間分解測定」 日本磁気学会第 182 回研究会,「光が拓く新しい磁気の世界」(2012.1.31, 日本化学会館).
- 2. <u>佐藤琢</u>哉,「光パルスを用いた磁性体の超高速コヒーレント制御」 日本物理学会「第 68 回年次大会」, 27aEH-3(2013.3.26-29, 広島大学).
- 3. <u>佐藤琢哉</u>,「光パルス照射による磁気の波の発生と伝播制御」 日本学術振興会 光エレクトロニクス第 130 委員会 第 287 回研究会(2013.5.15, 東京理科大学).
- 4. <u>佐藤琢哉</u>,「光パルスで誘起したスピン波伝播の時間分解イメージングと伝播方向制御」 第3回超高速光エレクトロニクス研究会 第20回光波シンセシス研究グループ研究会 理 研シンポジウム(2013.12.11, 理化学研究所).
- 5. <u>佐藤琢哉</u>,「空間整形光パルスを用いたスピン波の生成・制御」 2014 年第 61 回応用物理学会春季学術講演会, 18p-E18-2(2014.3.17-20, 青山学院大学).

その他4件

受賞

- 1. <u>佐藤琢哉</u>, 日本物理学会 第7回若手奨励賞 「光パルスを用いた磁性体の超高速コヒーレント制御」(2013年3月27日).
- 2. <u>佐藤琢哉</u>, 応用物理学会 第 55 回光学論文賞 "Directional control of spin wave emission by spatially shaped light," Nature Photon. **6**, 662-666 (2012) (2014 年 3 月 18 日).

その他出版物

- 1. T. Satoh, "Opto-magnonics: light pulses manipulating spin waves," SPIE Newsroom (2013).
- 2. <u>佐藤琢哉</u>,「空間整形された光パルスによるスピン波生成と制御」 固体物理 **48**, 121-127 (2013).
- 3. <u>佐藤琢哉</u>,「光によるスピン波の生成と伝播」O plus E 35, 721-724 (2013).

プレスリリース

1. 佐藤琢哉,「光パルス照射で磁気の波の発生と伝播制御に成功」(2012年9月5日)



研究報告書

「磁気光学効果を利用した光の伝搬特性制御」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 東海林 篤

1. 研究のねらい

光は、電子と異なり電荷を持っていないことから、目的の所へ伝搬させ利用するには鏡や光ファイバ、導波路といった素子で経路を予め準備しておく必要がある。しかし、もし光の進路を外部から印加する場、とりわけ磁場によって制御できるようになれば、電子の伝搬と同様に自由に扱うことが可能となり、これまでにない新たなデバイス開発へと発展させることが出来るようになると期待される。磁場で光を制御する手法には、透過光や反射光に強度や偏光の変化を誘起させる磁気光学効果が知られており、光アイソレータや光サーキュレータといったデバイスに応用されている。しかし、これらは光の偏光を利用したデバイスであり伝搬方位を制御するデバイスではない。磁気光学効果は、テンソルで表される物質の誘電率の非対角成分が磁場に依存した複素数値を持つことに起因しており、これらのデバイスはその虚数部による効果を応用したものである。これに対し、本研究では非対角成分の実数部を、とりわけフォークト配置(光の進行方向と磁場の方向が垂直の配置)において活用し、発現する効果の展開を狙う。

従来、バルク結晶中に於いてこの実数部の効果は二次であることから非相反性(磁場による非対称性)は示さず、また光を吸収する成分であるとして、詳しく研究されることはなかった。しかし、光の波長と同程度の大きさの微小構造体においてこの実数部は、光誘起分極(光によって物質内部に誘起される分極)の向きを変え入射光とは異なった方位へ光を散乱させるという特異な効果をもたらす。従って、この成分を効果的に利用することが出来れば、これまでにない新たな光の伝搬制御技術へと発展させていくことができると期待される。

本研究では、この誘電率非対角成分の実数部が引き起こす、これまでにない新たな光伝搬制御の実証を行い、開拓する。とはいえ、前述のようにバルク体では興味深い現象は生じない。そこでこの実数部の効果に、例えば球や円柱の内面を周回するウィスパリングギャラリーモードのような幾何学的共鳴、或いはフォトニック結晶における結晶構造共鳴といった光の波長と同程度の大きさの構造体で構成された共鳴体・微小構造共鳴体を組み合わせ、活用を図る。そして、本研究による実証実験を礎に、誘電率非対角成分の実数部というこれまで利用されることのなかった成分を利用した新たな光伝搬制御法をさまざまに展開させていく狙いである。

2. 研究成果

(1)概要

これまで理論グループとの共同研究によって誘電率非対角成分の実数部がフォトニック結晶において非相反的なバンド構造を誘発することが明らかとなった。そこで本研究ではまずこのバンド構造の非相反性に着目し、どのような光伝搬特性が得られるのかを数値シミュレー

ションを用いて探索した。結果、光の波長が構造体の周期と同程度になる領域において、入射光および磁場方向に対し直交する方向への光エネルギーの流れが生じることが明らかとなった。これは虚数部のみが導入されている場合には見られなかった新たな振る舞いであり、この実数部はフォトニック結晶において特異な伝搬特性を誘発することが明らかとなった。

次にこの実数部の効果を実験的に実証すべく、簡単な系を使った光伝搬制御の実験を行った。ただし、単一の微小構造体からの光の散乱の方向変化を直接検出するのは困難である。そこで微小体を一次元に配列し、干渉効果によって生じる回折光の検出を行った。誘電率が詳しく調べられている材料を用いて回折格子を作製、光学実験を行ったところ、理論通り磁場に依存した左右非対称性な光伝搬特性が観測された。

さらに誘電率非対角成分の実数部が大きな材料を用いてフォトニック結晶の作製を行い、 光伝搬制御の実証を行った。ただし、材料の厚膜化が困難であることから、下位のバンドを利 用するスラブ型のフォトニック結晶として設計した。光学測定の結果、光の散乱強度が外部磁 場の向きに依存して右または左方向へ変化する様子が観測された。この散乱強度の変化が 期待した非対角成分の実数部による伝搬制御効果であると考えられ、数値シミュレーションを 用いた解析を現在進めている。

本研究ではこれまで利用されることのなかった誘電率非対角成分の実数部の「光の散乱 方向を変える」という効果を利用した新たな光伝搬制御法の提案と実証を行った。これまで利 用されることのなかったこの実数部の利用法の一端が本研究により明らかとなったことによ り、今後様々な光学現象の発現と応用への展開が行われると期待される。

(2)詳細

研究テーマA「フォトニック結晶における光の伝搬方向制御のシミュレーション」

フォトニック結晶の誘電率の非対角成分に実数部を導入すると、フォトニック結晶のバンド構造に非相反性が生じることが共同研究(大阪府立大学石原研究室:福島宏一氏・合田健太氏)によって明らかとなった。このような非相反性は非対角成分が純虚数の場合には現れず、実数部が有限の場合のみに現れる特異な現象である。そこでこの非相反性によってどのような光の伝搬特性が現れるのか、時間領域差分法(FDTD法)を用いたシミュレーションを行った。構造は三角格子状にロッドが並んだものである。シミュレーションの結果、非対角成分の実数部が有限の場合に、そして構造体の並びの周期と光の波長が同程度になるスケールにおいて、ポインティングベクトル(光のエネルギーの流れ)がロッドの周りで渦を形成し、全体として入射光および磁場に対して垂直方向へのエネルギーの流れが誘起されることが明らかとなった。この結果よりフォトニック結晶に非対角成分の実数部を導入するとこれまでにない多彩な光学現象が発現する可能性が明らかとなった。

研究テーマB「誘電率非対角成分の実数部を使った伝搬制御の実証」

本研究が提案する光の伝搬制御では、誘電率非対角成分の実数部よって誘起された光誘起分極の向きの変化を利用する。そこでこの実数部によって光伝搬の制御が可能であることの実証実験を行った。

材料には誘電率が詳細に調べられているビスマス置換イットリウム鉄ガーネット(Bi:YIG)を採

用。Bi:YIG 結晶を形成するための組成を有する有機金属の有機溶媒液(MOD 法)に対し、市販の回折格子を転写するレプリカ法によって回折格子試料の作製を行った。Bi:YIG は波長450nm付近において非対角成分の実数部が最大に、虚数部がほぼゼロとなる。そこで450nmのレーザー光を回折格子に照射し、±1次の回折光強度の外部磁場依存性の測定を行った。磁場を時間的周期的に反転したところ、二つの回折光の強度が磁場の反転に依存して入れ替わる様子が観測された。この強度変化は、光誘起分極の向きが変化したため回折光強度に変化が生じたという解析結果と一致した。

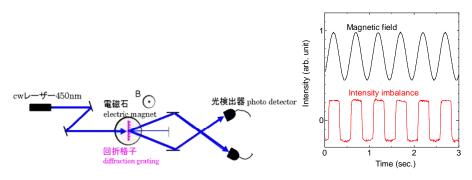


図1:誘電率非対角成分の実数部を使った光伝搬制御の実証のための光学系(左)と、観測された磁場方向に依存した回折光強度のアンバランス(右)

研究テーマ C「誘電率非対角成分実数部の大きな材料を使ったフォトニック結晶の作製と伝搬制御の実証」

フォトニック結晶を使った実証実験には、結晶異方性が小さく、誘電率非対角成分の実数部が可視域から近赤外域付近内で大きな値を示すこと、さらに光吸収が小さいことという条件からセリウム置換イットリウム鉄ガーネット(Ce:YIG)を採用した。この材料は偏析が起こりやすいため1 μ m程度の厚さの膜しか得られないという難点があるものの、上記の条件を満たす材料であることからフォトニック結晶の第一、第二バンドを利用するスラブ型のフォトニック結晶として使用することで厚さの問題を回避した。

置換型ガドリニウムガリウムガーネット基板上に作製した厚さ1 μ m程度の厚さの Ce:YIG 膜に対し収束イオンビーム装置を用いて微小穿孔加工を行った。加工パターンは直径 220nm、深さ1 μ m の穴が 350nm 間隔で並んだ三角格子状の構造であり、Ce:YIG の誘電率非対角成分の実数部が大きくなる付近 900nm にフォトニックバンドギャップの端が来るパターンとなっている。作成した試料に対し光学測定を行ったところ、光の散乱強度が外部磁場の向きに依存して右または左方向へ変化する様子が観測された。この測定結果から、誘電率非対角成分実数部の大きな材料を使ったフォトニック結晶の作製に成功。また観測されたこの散乱強度の変化は、期待した非対角成分の実数部と結晶構造共鳴による伝搬制御効果であると示唆され、現在、誘電率非対角成分を考慮に入れた数値シミュレーションを使い解析を進めている。

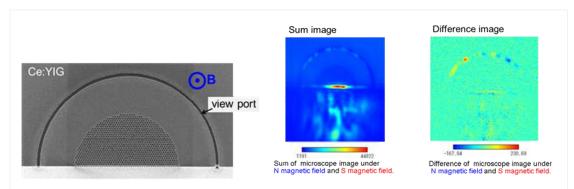


図2:作製したフォトニック結晶の SEM 画像(左)と観測された散乱光強度の磁場依存性(中、右)

研究テーマ D「多重反射解析による Ce:YIG の誘電率の測定」

本研究で使用した Ce:YIG は前述の理由から誘電率非対角成分の実数部を利用した様々な研究や応用に今後非常に重要な材料になると考えられる。しかし薄膜しか得られていないことから誘電率が未だ測定されておらず、本研究を進めていく上で、そしてさらなる研究や応用を進めていくためにもこれを取得しておく必要がある。

通常、磁性体の誘電率はバルクの結晶を使った反射スペクトルの測定によって得られている。しかし薄膜しか得られない本結晶は、裏面からの反射による多重反射の影響により従来行われてきた手法を使うことが出来ない。そこで狭帯域円偏光レーザーを結晶に照射、結晶の角度を変えながら透過光と反射光に現れる多重反射を観測しフィッティングを用いて円偏光複素屈折率を求める多重反射解析法を開発した。誘電率は円偏光複素屈折率から直接算出可能である。現在 900nm において ε_{xx} =4.45+0.0721i、 ε_{xy} =0.0167-0.00159i という値が得られている。この実験で得られた誘電率を使うことで、本研究におけるフォトニック結晶作製のためのデザイン、そして光伝搬のためのシミュレーション計算が可能となり、さらには今後Ce:YIG を使ったさまざまな研究提案を進めていくことが可能となる。

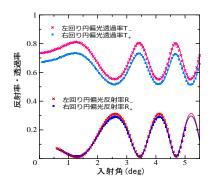


図3: 多重反射解析法による磁性薄膜の誘電率測定のための円偏光反射率と透過率の測定結果とフィッティング結果。

3. 今後の展開

本研究では FIB 加工によって作製したスラブ型のフォトニック結晶を用いて誘電率非対角成分の実数部による光伝搬制御の実証実験を進めてきた。しかしシミュレーションで得られるような顕著な伝搬応答を実現するためには面内の周期構造に対して十分な深さ(アスペクト比)を有す

るフォトニック結晶を作製する必要がある。本研究の結果より FIB 加工で作製したフォトニック結晶は磁性体としての機能を十分有していることが明らかとなった。また本研究では当初懸念されていた偏析はこれまでのところ認められていない。そこで、今後厚膜の作製と中性粒子ビームやボッシュプロセスといった深掘り技術を導入することにより顕著な光伝搬応答の実現を進めていく。一方、今回は三角格子状のフォトニック結晶ついての検討を行ってきた。今後は正方格子やハニカム格子といった他の格子を用いた場合にどのような現象が発現されるか検討していく計画である。

本研究ではフォトニック結晶を用いた実証を進めてきたが、誘電率非対角成分の実数部は他の微小構造体を使った場合にも様々な光伝搬制御を発現させることができる。共同研究(大阪府立大学石原研究室:福島宏一氏・合田健太氏)によって示されたような、単一微小円柱内のウィスパリングギャラリーモードに形成される非対称な渦状の散乱場や、その円柱を一列に配列した場合に発現する斜め前方や横方向への光エネルギーの流れなどである。しかしガーネット結晶では真球や真円柱の作製は困難であることからアモルファス材料などの開拓を行い、これらの効果の実験的実証を進めていく計画である。

4. 評価

(1)自己評価

これまで多くの透明磁性体の誘電率がほとんど明らかにされて来ず、また薄膜透明磁性体の誘電率測定法も研究されていなかったことから、本研究期間中にこの基本的特性の新たな測定方法の開発と実際の測定を進めつつ、本研究の目的であるフォトニック結晶のような微細構造体の作成やデザイン、光学的評価を進めてきた。そのため多くの時間を費やしてしまい、シミュレーションで期待された顕著な伝搬制御の実証までは到達できなかった。しかし本研究の狙いの基本である誘電率非対角成分の実数部が光の散乱方向を変えること、そして微小構造共鳴体・フォトニック結晶と組み合わせることにより光伝搬の方向の制御ができることを実証した。この実証実験は今後の研究の礎となり、誘電率非対角成分の実数部を利用した様々な光学現象が様々に展開されていくと期待される。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

物質の光学的特性を示す誘電率はテンソルで表され、その非対角成分は外部からの印加磁場で変化しうる複素数値をもつ。光アイソレータや光サーキュレータといったデバイスに応用されている磁気光学効果はその非対角成分の虚数部を利用したものであり、透過光や反射光に偏光の変化を誘起させることにより動作させている。しかし、これらは光の偏光を利用したデバイスであり伝搬方位を制御するデバイスではない。

東海林研究者は、誘電率テンソルの非対角成分の実数部を積極的に活用することに着眼した。この非対角成分の実数部は、光を吸収する効果となることから、これまであまり着目されてこなかった。しかし光の波長と同程度の大きさの微小構造体においてこの実数部は、光によって物質内部に誘起される分極・光誘起分極の向きを変化させ、入射光とは異なる方位へ光を散乱させるという特異な効果をもたらす。この実証実験を行うために2次元の磁性フォトニック結晶を試作し、実際に期待される効果が実現することを確認した。

磁場で光伝搬制御をしたいという想いが実現し、原理と実験課題が明らかにされた。試作したフォトニク結晶は試作段階であり、加工手法には改良余地があり、将来大幅な性能向上が期待できる。そのためにも、外部機関との共同研究なども視野に入れて仕上げてゆくと、デバイス・システムレベルの応用が見えてくるものと判断する。ユニークな視点で立ち上げたこの研究の魅力が一見してわかるようなデモンストレーションをしており、それによりこの研究の認識が高まることを期待する。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Astushi Syouji, Hiroki Tominaga "Magneto-optical effects of transparent magnetic diffraction gratings" Journal of Magnetism and Magnetic Materials (2013) vol. 347, 47-50.

(2)特許出願

該当無し

- (3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)
 - 1. 東海林篤 「透明磁性誘電体 Bi:Ga:YIG を用いた磁性回折格子による磁気光学効果」 2011年 第 22 回光物性研究会 IIB-58.
 - 2. 富永裕輝、東海林篤 「偏光の透過率と反射率の微小角解析による Bi:YIG 薄膜の 誘電率テンソルの測定」 第60回応用物理学会春季学術講演会 29p-PB9-2.
 - 3. 富永裕輝、東海林篤 「円偏光の多重反射解析による YIG 薄膜の誘電率テンソル の測定」 2013 年第 74 回応用物理学会秋季学術講演会 17a-P10-4.
 - 4. 福島宏一、中島龍也、東海林篤、石原一 「磁性フォトニック結晶による非相反的 光伝搬制御の理論 Ⅲ」 日本物理学会2013年秋季大会 26pPSB-51.
 - 5. 富永裕輝、東海林篤 「円偏光の多重反射解析による Ce:YIG 薄膜の誘電率テンソルの測定 」 2013 年 第 24 回光物性研究会 IA-8.

研究報告書

「単一イオンと単一光子間の量子インターフェースの実現」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 12 月~平成 26 年 3 月

研究者: 高橋 優樹

1. 研究のねらい

原子と光子の相互作用の大きさは、原子を光共振器に閉じ込めるとことで大きく増幅できることが知られている。特にQ値が高く、モード体積の小さい光共振器を用いることで、単一原子と単一光子の相互作用が他の散逸過程を凌駕し支配的になる状況を作り出すことが可能である。このような状況は強結合条件を満たすと呼ばれ、共振器電磁力学(cavity quantum electrodynamics 以下共振 QED と略記)の文脈で研究されてきた。このような物理系は、最近では単なる学術的興味からだけではなく、量子情報ネットワークの基幹デバイスとしてや新奇な量子光源または精密計測応用などの観点からも注目されている。

従来、共振器 QED の研究においては中性原子を用いた実証実験が広く行われてきたが、イオントラップを用いたものは数少ない。RF(= radio frequency)トラップ中に捕獲され、レーザー冷却された単一イオンは制御可能な人工量子系として最も成功した例の一つであるが、従来からの技術的要因により光共振器と共存させることは難しかった。光共振器を用いて光子と原子の強結合を達成する際に重要な要件の一つは、ミラー間の間隔を狭め、共振器の体積をできるだけ小さくすることである。イオントラップを用いる場合、この点において技術的な困難が存在する。まず、共振器を小さくしていった場合、それに伴いイオントラップも小型化する必要があるが、それには電極を微小化する高度な加工技術が要求される。さらに、イオンとミラーの間の距離が狭まるほどに、誘電体であるミラー表面がトラップポテンシャルを乱すとともに浮遊電荷などの悪影響を及ぼし、最終的にはトラップを不可能としてしまう。事実、従来のイオントラップを用いた共振器 QED の実験ではミラー間の間隔を約数 mm 程度と大きくせざるを得ず、そのため単一イオンを用いた系で強結合は未だに実現していなかった。

本さきがけ研究では、光ファイバーの表面を用いた新しい光共振器とそれと一体化した独自デザインのイオントラップを用いることで、上記のような限界を克服することに挑戦した。その結果、イオン-光共振器系で初めて強結合条件を達成し、単一イオンと単一光子を結ぶ量子インターフェースを実現することを目指した。単一イオンで強結合が可能になれば、従来からの共振器 QED 実験を高度化、高信頼化できるだけでなく、単一イオンの豊かな量子操作性を光子に転写し利用する全く新しい可能性を開拓できると期待される。

2. 研究成果

(1)概要

本研究で、「光ファイバー共振器一体型イオントラップ」という新しいデザインのイオントラップを提案し、その動作実証を行った。そのために以下のような段階を踏んで研究を進めた。
1)試作トラップによる誘電体近接下におけるイオントラップの検証 2)光ファイバー共振器の



作製と評価、作製手法の開発 3)ファイバー共振器を内包したイオントラップおよびその周辺装置の作製。真空系、光学系の建設。動作実証。

1)の過程では、試作した系を用いてトラップされた単一イオンからの蛍光を近接ファイバーにより高効率で捕捉できることを実証し、さらに同系を単一光子源として動作させることに成功した。2)ではCO₂レーザーを用いた光ファイバー表面の加工において独自の手法を開発し、従来より広い共振器長の範囲で安定で、かつ複屈折の影響が低減された共振器を作製することに成功した。3)では、多くの時間を一体型共振器の作製とそれを周辺装置に統合し動作させるためのトライ&エラーに費やした。最終的には強結合の観測までには至らなかったが、設計どうりの系でイオンをトラップすることに成功した。これにより単一イオンと光共振器の強結合が可能な系が初めて誕生したことになる。

(2)詳細

研究テーマA「試作トラップによるイオントラップの検証および単一光子の生成」

図1に光ファイバー共振器一体型イオントラップの設計模式図を載せる。二対の円筒型電極がイオントラップを形成しており、外部電極を接地し内部電極にRF電圧を加えることでトラップ電場を発生させる。さらに内部電極の内部には端面をミラー加工した光ファイバーが格納されており、上下のファイバーが対となって光共振器を形成している。 このような構成をとることにより、誘電体表面とトラップ電場との干渉を避け、対称性を乱すことなく光共振器をイオントラップの内部まで導入できる。それにより、従来からの技術的問題を劇的に改善することが可能であると考えた。

このアイディアを実証し、実際にこのトラップによりイオンを捕獲することが可能であることを示すため、本研究では図2のような試作トラップをさきがけ研究開始以前にすでに作製していた。この試作機においては電極中のファイバーは端面をミラー加工していないマルチモードファイバーであり、そのため、この実験は共振器 QED の実験とはなり得ないが、近接したファイバー表面がトラップされたイオンに与える影響を調べるには十分であった。実際、本研究ではファイバー表面からの距離が 270 マイクロメーターの位置においてイオンを安定的にトラップすることに成功した(ここまでがさきがけ以前)。これは当時において、最も誘電体表面に近接したイオントラッ

プであり、その距離は従来にくらべて一桁以上小さい。

また、このようにファイバー表面がイオンに近接した状況ではファイバーを用いて直接イオンからの蛍光を効率的に捕捉することが可能である。ファイバー対の表面は全立体角の約6%を占めている。一方で、その単一性ゆえ、トラップされた単一イオンからの蛍光は単一光子から成ると考えられる。図3は、両ファイバーからの出力光をそれぞれ光子検出し、その検出時刻

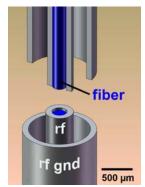


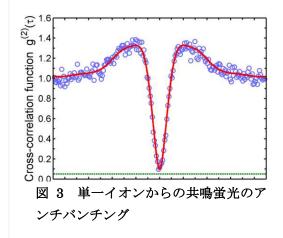
図 1 ファイバー共 振器一体型イオント ラップ模式図



の相関を時間差に関して図示したものである。時間差ゼロにみ 図 2 試作イオントラップ られるくぼみはアンチバンチングと呼ばれ、イオンから得られた蛍光が実際に単一光子である



ことを示している。さらにこの現象を利用し、イオンをパルス光で励起することにより単一光子 パルス列を生成することが可能である。その結果を図 4 に示す。この結果はこの系が単一光 子源として有用であることを示している。これらは論文1にまとめ、発表した。



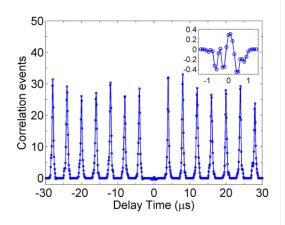


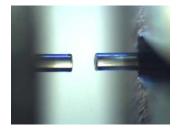
図 4 単一光子パルスの生成

研究テーマB「光ファイバー共振器の作製と評価」

光ファイバーを用いた光共振器、光ファイバー共振器とは、ファイバーの端面にミラーコーティングを施した上で図5のように対向させ、光共振器としたものである。共振器とするためにはファイバーの端面は凹面状に加工する必要がある。CO2レーザーを用い、光強度、集光度、パルス幅などのパラメーターを適切に選んだ上でファイバーの劈開面に照射すると、部分的な蒸発作用が起こり、所望の凹曲面を作り出すことが可能である。さらにその際、表面のごく薄い層が溶融し、表面張力により拡散することで原子スケールで非常に滑らかな表面が形成される。

従来の、ファイバー共振器は主に共振器長が非常に小さい(<100 マイクロメーター)領域でのみ用いられ、そのためファイバー表面の大局的な構造には注意が向けられなかった。一

方、本実験ではイオントラップとの兼ね合いにより比較的長い 共振器長(約300-500マイクロメーター)が必要であり、ファイバー表面のより広範囲に亘る構造が重要になる。そこで本実験ではCO₂レーザーによる加工に独自の工夫を行い、ファイバーを回転させつつ多数のパルスを照射する手法を開発した。その際CO₂レーザーの集光を適度に調節することで、ファイバー表

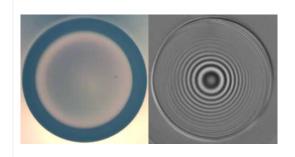


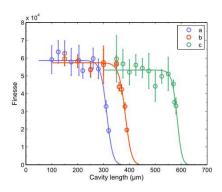
面全体に滑らかな変形を起こさせた。また、ファイバーを回転さ 図 5 光ファイバー共振器 せたことによりビームの非対称性の影響を排し、非常に対称的な形状を作り出すことに成功 した。その一例を図6に示す。

このように加工された上で波長866nmに対する高反射ミラーコーティングを施したファイバーミラーを用いて光共振器を構成してその評価を行った。特に共振器フィネスの共振器長依存性に着目した。図7に示した結果のように広い共振器長の範囲(=数100マイクロメーター)にわたって高いフィネス(>50,000)を有する共振器を得ることができ、当初の目標を達することが



できた。またこれらの共振器では複屈折に起因する共振器ピークの分裂がほぼ見られないこと(<<10MHz) がわかった。これはファイバーを回転させたことで得た良好な対称性の結果だと考えられ、従来研究での分裂はおよそ数 100MHz から GHz にのぼったことを考えると大きな改善であると言える。





研究テーマC「共振器一体型イオントラップの作製と動作実証」

イオントラップに適したファイバー共振器を得た後、実際に内部にファイバー共振器を導入し

た一体型イオントラップの作製ならびにその周辺装置、真空系、光学系の組み立てを行った。図8にイオントラップを含む装置の概観を示す。この装置の組み立てではその過程で多くの技術的問題が発生し、その都度解決していく必要があったものの、最終的にはファイバー共振器を破損させずに組み立ては成功裡に完了した。この装置のトラップ領域にイオン化用のレーザー(423、375 nm)、レーザー冷却用レーザー(397 nm) およびリポンプ用レーザー(850、854 nm) を照射し、単一カルシウムイオンのトラップに成功した。図9に実際にトラップされた図8 一体型単一イオンを捉えた CCD 画像を示す。中央の周辺の概観

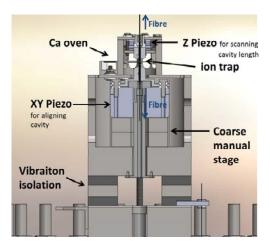


図 8 一体型イオントラップならびにその周辺の概観

白い点が単一イオンであり、397nmのレーザー光に共鳴して蛍光を発しているのが見える。その上下に見えるのは、トラップの内部電極である。このように、このイオントラップが確かに単一イオンをトラップする能力を有していることが実証できた。トラップ領域の上下150マイクロメーター先にはフィネス 40,000 の共振器の表面が控えており、その意味で単一イオンと光共振器の強結合が可能な系がはじめて誕生したと言え、大きな一歩となったと考える。



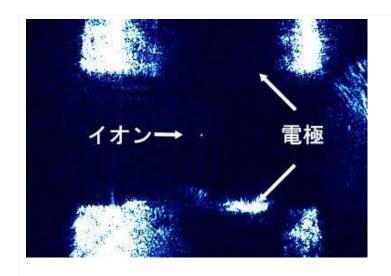


図 9 トラップされた単一カルシウムイオンの CCD 画像

3. 今後の展開

光ファイバー共振器一体型イオントラップを作製し、初期的なイオントラップに成功したものの、これにはまだまだ大いに改善の余地がある。まずはレーザー冷却やマイクロモーション補正の最適化を図り、さらに安定したトラップを実現する必要がある。その上で、ファイバー共振器をイオンの遷移周波数にロックし、イオンと共振器の結合強度を測定する。計算によれば強結合を観測することは十分に可能であり、そうなれば世界初の快挙となる。

強結合が達成されたならば、それを土台に当初の計画のように単一イオンと単一光子の間の量子状態の転写の実験に進むことができる。特に強結合ならではの双方向の状態転写が実現できれば、真の量子インターフェースの実現に向け大変意義深い。またここからさらに量子波長変換などの技術と組み合わせれば、実用的な量子リピーターとしての応用も視野に入ってくる。また、単一イオンの強結合共振器 QED 系は全く新奇な物理系であり、過去の例をみれば未知の物理・応用が開拓される可能性も高い。

一方、ハードウェアの面では本研究では三次元RFトラップのみを扱ってきたが、より一般的な線形トラップとファイバー共振器の組み合わせも当然考えられる。線形トラップを矮小化すれば、本研究と同様、エンドキャップ内にファイバー共振器を格納・遮蔽することは可能だと考えられる。その場合、複数の単一イオンを同時に共振器内に配置することができ、これは単に結合強度を増幅するだけでなく、単一光子と同時に強結合する多体量子系の実現として大変興味深い。

また、本研究で作製技術を確立したファイバー共振器はイオントラップとの組み合わせだけにと どまらず、新しい光共振器としての潜在能力を多分に有していると思うので、他の系との組み合 わせも模索していきたい。

4. 評価

(1)自己評価

本研究の当初の目標は、ファイバー共振器を組み合わせたイオントラップを構築し、強結合を実現し、さらに自在な量子状態の転写を行うというものだった。それに比べれば、今回得ら

れた結果は当初目標の端緒にようやく辿りつけたに等しい。しかしながら、最終目標に向け着実に歩を進め、その距離を縮めることができた。特に、ファイバー共振器一体型イオントラップをゼロから作製し、実際にイオンをトラップするところまで到達したことで、ハードウェアの面では一定の完成を果たすことができた。さらに、このことは、当初の懸案だった共振器のごく近傍にイオンをトラップするという永年の課題が、提案した方法で克服されたことを意味する。よって、現在いまだ単一イオンの強結合が報告されていない中では、この実験がこの分野で世界の先頭を切って走り続けていることが改めて明らかとなった。また研究の過程で、ファイバー共振器という次世代の光共振器の基盤技術を固めることができ、これは将来における幅広い応用が期待できる。このように、本研究では将来の発展的研究に向けて相応の実りがあったと考えている。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

原子と光子の相互作用の大きさは、原子を光共振器に閉じ込めるとことで大きく増幅し、ある条件下では原子と光子の相互作用の大きな強結合状態が起こる。このような物理系は、単なる学術的興味のみならず、量子情報ネットワークの基幹デバイスとしてや新奇な量子光源または精密計測応用などの観点からも注目されている。

これを実現するためには光共振器のミラー間の間隔を狭め、共振器の体積をできるだけ小さくすることである。高橋研究者は、光ファイバーを用いた新しい光共振器とそれと一体化した新たなデザインのイオントラップ「光ファイバー共振器一体型イオントラップ」を提案し、その動作実証を行った。実証実験の結果、設計どうりの系でイオンをトラップすることに成功し、単一イオンと光共振器の強結合が可能な系を始めて実現した。

物理系では、自分の新奇なアイデアを実証するためには、自分で新しい装置を立ち上げなくてはならない。新規性が高いほど、その立ち上げ期間が長くかかる傾向がある。高橋研究者は、さきがけ研究期間のほとんどすべてを装置の立ち上げに費やし、最後の数ヶ月で実証実験に成功した。研究期間中に全く成果が得られない可能性もあったチャレンジングな提案を採用し、3年半もの時間と研究資金、さらには研究者の身分を与えることができたのは「さきがけ」ならではの制度である。実証された新奇な「光ファイバー共振器一体型イオントラップ」のこれからの展開を多いに期待したい。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- Hiroki Takahashi, Alex Wilson, Andrew Riley-Watson, Fedja Oručević, Nicolas Seymour-Smith, Matthias Keller and Wolfgang Lange
- "An integrated fiber trap for single-ion photonics" New Journal of Physics, 2013, 15, 053011
- 2. Hiroki Takahashi
- "Towards strong coupling between a single ion and fiber cavity" The Review of Laser Engineering, 2013, 41, 507



(2)特許出願 該当なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

- 1. <u>H. Takahashi</u>, A. Wilson, A. Riley-Watson, M. Keller and W. Lange "Fiber-coupled single ion as an efficient quantum light source" International Conference of Laser Spectroscopy, Aerzen, Germany (May 31 2011)
- 2. <u>H. Takahashi</u>, A. Riley-Watson, A. Wilson, M. Keller and W. Lange "An integrated fiber-trap for ion-photon quantum interface" The 23rd International Conference on Atomic Physics ICAP 2012, Ecole Polytechnique Palaiseau, France (July 23 2012)
- 3. <u>H. Takahashi</u>, A. Riley-Watson, S. Begley, E. Brama, N. Seymour-Smith, M. Keller and W. Lange "Interfacing single ions and photons via cavity QED" The Second European Conference on Trapped Ions, Obergurgl, Austria (Sep. 11 2012)
- 4. <u>Hiroki Takahashi</u>, Stephen Begley, Ezla Kassa, Markus Vogt, Jack Morphew, Sahar Hejazi and Matthias Keller "Interfacing ions and photons at the single quantum level" IonTech2: Techniques for Trapped Ions, Paris France (23–25 Oct. 2013)



研究報告書

「広範な藻類のもつ転写因子型光受容体の機能解析とその応用」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 高橋 文雄

1. 研究のねらい

本研究のねらいは、まだ研究の進んでいない広範な藻類の光受容体の単離とその機能解析おこない、藻類の光受容反応を明らかにすることその応用につなげることである。

藻類は、水域の一次生産者であり、これらの成長増減の影響は水域生態系の崩壊に直結する。藻類は陸上植物と同様に、水中を透過する光を使って光合成をおこなって、成長している。また水中には青から緑の一部の光しか透過せず、これらの光を信号として用い、光形態形成や光運動(光走性)を行っていることも知られている。2007年に水域の藻類から、新規の青色光受容体オーレオクロムが発見された。オーレオクロムは、DNA結合能と光受容能を持ち合わせている興味深い光受容体である。しかし、有用な藻類(赤潮藻類や昆布やワカメを含む褐藻類)でのオーレオクロムの単離は、いまだ達成されておらず、応用を考える上ではこれらの光受容体オーレオクロムの単離は、必須である。またオーレオクロムは、DNA結合能をもつため、その下流の遺伝子群の探索やオーレオクロムを直接用いた応用も考えられる。本研究では、いまだ困難とされているこれらの藻類の分子基盤(遺伝子の発現情報)を作るとともに、分子生物学技術を用いたオーレオクロムの光依存的な DNA 結合の様式を調査することを目的とした。

光受容体の単離、光受容体の機能解析、光受容体を持つ藻類の光応答性の三点を組み合わせることによって、水域の問題となっている養殖技術や赤潮問題の解決の礎になる研究基盤技術の創生が大きなねらいである。

2. 研究成果

(1)概要

様々な藻類の青色光受容体オーレオクロムの単離し、そのオーレオクロムの構造変化をタンパク質レベルで確認し、光によって誘導もしくは減少する遺伝子群の特定を行った。オーレオクロムはまず光照射後、光受容モチーフであるLOV内の構造変化が起こり、その後N末端側にある転写因子モチーフの構造内に変化が生じ DNA に結合可能になることがわかった。また DNA に結合した後、様々な遺伝子(m-RNA)発現変化を起こしていることがわかった。オーレオクロムが遺伝子上流のプロモーター領域等に結合していることが示唆された。また青色光受容体オーレオクロムを持つ藻類の光応答反応について、実験室内で用いられる方法を開発し、多くの光誘導性の現象を発見した。褐藻類および赤潮などの鞭毛藻類などの形態が青色光依存的に光合成等に有効な形状を示すようになることがわかった。また陸上植物のみで効果を持つ植物ホルモン・オーキシン阻害剤で、根の形成が促されることもわかり、これらの成果は、藻類学のみならず植物科学の光生物学に大きな進展をもたらした。



(2)詳細

研究テーマ A「青色光受容体オーレオクロム等の単離」

海産の藻類はご存じの通り、多糖が多く含まれており、分子生物学的手法によって DNA・RNA(核酸)の単離が困難である。私はまず実験室内での培養系の確立をおこない、この多糖や核酸等の分解がおこらない条件をみつけ、核酸単離を行った。実験室内では光の条件等で多糖成分の分泌が抑えられ、または核酸抽出の際に液体窒素等を用いた急速凍結やフェノールを用いた固定を前処理することで、核酸を安定的に単離することが可能になった。また生態での藻類は、比較的多糖が少ない受精卵等(褐藻類は動物と同様に受精を行う)を用いることによって比較的簡易に核酸抽出が可能になった。

その結果、赤潮藻類等や褐藻類で青色光受容体の単離に成功した。オーレオクロムは 2007 年に単離されたものと同様にN末端側に bZIP

(basic leucine zipper)とよばれる転写因子構造を持ち、C 末端側には LOV (light-oxygen-voltage)とよばれる青色光受容モチーフを持っていた。遺伝子による系統解析の結果、オーレオクロムの青色光受容モチーフは、陸上植物が持つフォトトロピンの LOV2 モチーフに近縁であることがわかった(図1 論文 2、2013)。別々の進化を歩んできた陸上植物と藻類の LOV モチーフが近縁であることは、LOV という光受容能をもったモチーフは遺伝子進化を停止し、より保存された状態になったと考えられる。藻

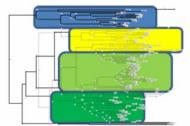


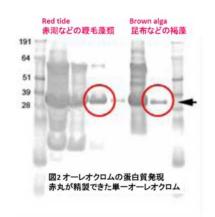
図1LOV motif系統樹 青:菌類 黄:Aureochrome 黄緑:PhototropinLOV2 緑:PhototropinLOV1

類の青色光受容体というだけなく光合成生物すべての青色光受容体の進化にせまった研究となった。

研究テーマB「青色光受容体オーレオクロムの機能解析」

オーレオクロムのタンパク質としての機能解析をおこない、最終的には光スイッチなどの応用を目指す研究の基盤を作ることを目的とした。藻類から直接的に青色光受容体を単離することを試みたが、核酸と違い大量に生成することは困難であった。そのため、オーレオクロム

遺伝子を大腸菌にベクターとして組み込み、タンパク質の大量発現方法の確立を試みた。この際、オーレオクロムは転写因子を持っていることから、大腸菌の核酸(DNA)に結合することがわかり、タンパク質の精製が困難であった。しかし、大腸菌の株や大腸菌の生育温度または発現させるときに使用する IPTG という試薬の濃度を精査することによって、発現を確認し、組み換えタンパク質精製することが出来るようになった(図2)。大腸菌を組み換えするベクターにはヒスチジン tag を用い、そして大腸菌の生育条件は低温 18°C(大腸菌は最適は 37°C)で行った。その後オーレオクロムの大量精



製を行い、生物物理的手法(分光法)によるオーレオクロムの構造解析を行った。まずは吸収



スペクトル測定と暗回復(Dark reversion)を測定した。2種の藻類から得られた吸収スペクトルは、青色領域に3点(380、450、480nm)の吸収極大を示した。さらに暗回復を観察すると、まず照射後青色の領域の吸収がなくなるが、その後10分以上かけて元の吸収極大のスペクトルを持つようになった。興味深いことに不動点が3点存在し、これらはLOVタンパク質内部のシステイン残基とシステインアダクトを形成していることがわかった(システインアダクト

を形成しないフラビン型の受容体は光を吸収後 red shift が起こる)。またLOV内に存在するフラビン類の種類を確認するとFMN(Flavin mononucleotide)であることもわかった。また陸上植物で解析されているLOV モチーフは比較的短寿命の暗回復が示されているに較べ、水域でとられたオーレオクロムの光受容 LOV モチーフは長寿命であることがわかった(図3)。このことから、少ない光を用いて海の中で活性状態を保っていることが推定された。これらの結果は水域の生物がどのように光の使用しているのかはじめて示した例である。さらにこの大量発現

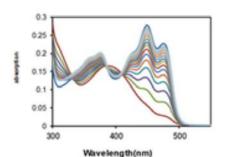


図3 オーレオクロムの吸収変化 青色照射後のスペクトル測定の結果 青色領域がなくなり暗回復して元の吸収 に戻る。三点の不動点が観察されること がオーレオクロムの特徴。

に成功したタンパク質を用い、熱拡散をみる Transient grating (TG)法、ヘリックスやシート構造変化を調べられる円偏光スペクトル、FTIR 法を用いて、オーレオクロム光照射時照射後の構造変化を推定した。TG 法によって、光受容初期に起こるシステインアダクトの形成速度が2.8μ 秒であることがわかった。また円偏光スペクトルを用いた解析により、青色光受容後LOV内のα-helix が収縮し、その後 bZIP内のα-helix が伸長することがわかった(論文3、2013)。また FTIR 法を用いた解析では、低温条件において loop-loop 領域が変化することを発見し、LOVが C 末端に存在するものの変化を初めて観察した結果となった。陸上植物のLOVはN末端に存在するため、別種の構造変化を示し、オーレオクロム光受容体の世界では初めての解析となった。さらに転写因子モチーフbZIP領域のDNAとの相互作用解析をおこなったところ、他のオーレオクロムで決定したシス配列(DNA結合)と同様にTGACGTという配列に結合することがわかった(ACGT は回文配列である)。これらをもとに現在、ゲノムレベルでの探索も同時進行している。

さらにこれらシス配列を決定後、様々な光条件下(培養条件:青、赤、白色、暗所)での遺伝子発現の増減を、次世代シークエンスを用い解析を行った。光合成系の遺伝子の発現の増減も観察されたが特に興味深いのは動物を含めた生物すべてで関与していると考えられている second messenger cAMP(環状アデノシンーリン酸)に関与する転写因子が光条件によって増減していることがわかった(光合成真核生物ではあまり研究が進んでいない)。藻類でも cAMP の研究はほとんど行われておらず、今後の藻類における信号伝達系の研究の重要なデータが獲得できたと考えられる。他にも非常に興味深い遺伝子群の発現の増減が見られ、今後それらについても随時報告していく予定である。最後にオーレオクロムを使って、遺伝子発現制御を行う光スイッチ等の研究を行ったが、現状では m-RNA 発現機構の解明と DNA 結合能に関する研究のみが理解されただけで、最終報告に間に合わなかった。今後もこれらの応用研究も世界に向けて発信していく予定である。



研究テーマC「オーレオクロムを持つ藻類の光応答反応解析」

遺伝子の単離できたオーレオクロムを持つ藻類の光生理反応の解析を行った。この研究の目的は、オーレオクロムを介した生理反応を知ることによって、昆布やワカメ等の褐藻類の養殖技術の発展や赤潮藻類の撲滅につながる研究になると考えたためである。まず褐藻類の光反応性について、実験室内での長期培養を確立させ、様々な光条件下での形態形成反

応を観察した。褐藻類は、青色光のみで、陸上植物でいう葉器官(葉状体)を形成する(誘導可能)ことがわかった(図4)。光合成に効果のある赤色光条件下の培養では、葉器官は形成されず、根器官(仮根)が誘導されることも分かった。また陸上植物が持つ成長ホルモン・オーキシンの効果を調べたところ、青色光による誘導の代替えにはならなかった。しかし、オーキシンの細胞内輸送阻害剤を培地に加えると、青色光で誘導されるはずの葉器官が形成されず、反対

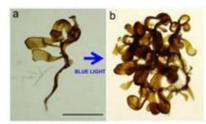


図4 褐藻類の青色光応答 20μmol/m²/sの光で培養すると 葉の再生が増大する

に根が誘導されることを発見した。いままでに藻類研究では報告されていない例で、植物ホルモン研究に一石を投じることになるだろうと考えている。また他の藻類では、赤潮藻類の一種では、青色光によって細胞の形状がかわり、細長くそしてさらに遊泳速度が速くなることがわかった(論文 4, 2012)。これらは赤潮形成するときに海面に上昇する際、光に向かって泳ぐだけでなく、光によって泳ぎやすくなるように形態を変化させることがわかった。また淡水域に存在する藻類も使い細胞内の葉緑体の運動も観察した。この藻類も同様に青色光のみに反応して、弱い光には葉緑体集合反応をみせ、強い光に関しては照射域からの逃避反応をみせることを観察した。この現象は、陸上植物でよく研究されており、非常に速い反応である。今回遺伝子を単離したオーレオクロムは転写因子であることから、このような早い反応にかかわってない可能性がある。未知の光受容体の可能性を示唆できる情報であろうと考える。

以上様々な藻類の応答反応を調べ、多くの現象を発見した。今後これらの光受容から光 応答までの全貌が明らかになることによって、日本だけなく世界の沿岸域の諸問題の解決の 礎になったと考えられる。

3. 今後の展開

さきがけ期間中になしえなかった2つ残したテーマが存在している。青色光受容体オーレオクロム自体をつかった光スイッチの研究である。オーレオクロムは直接 DNA に働きかけ、遺伝子の調節を行っている。大腸菌や酵母などを用いて、オーレオクロムを形質転換し、ある遺伝子(有用な遺伝子群)の発現を光で制御できる仕組みを作っていこうと考えている。また本研究では様々なオーレオクロム関連の基礎的な情報(生化学・生理)が得られた。さらに藻類の光応答に対する研究を生態と実験室内を組み合わせることによって様々な環境問題(赤潮等)や養殖技術の発展に寄与できるのではないかと考えられる。現在も進行中であるが、生態研究者との共同研究等を推進していきたいと考えている。

4. 評価

(1)自己評価



当初の狙いは、藻類の持つ光受容体の単離解析を行い、具体的な応用(養殖技術の革新や赤潮撲滅)を達成の予定であった。光受容体の単離や機能解析、実験室内での藻類の培養法の確立に関しては多くの知見を得られ、このさきがけの3年半で非常に進んだと考えられる。不可能と考えられていた藻類学の分子生物学基盤技術に新たなーページを加えたことは間違いない。また当初日本また世界では私しかしていなかった藻類光研究に、国内では5研究室、海外でも数研究室が追随した。これらの研究の本質が非常に興味深いことで、現在次々の新たな発見が見つかってくること考えられる。多くの研究者に追随されることで私自身もさらに多くの研究者と共同研究等を行い、この研究でリードできる体制になったと考えられる。応用研究面において、さきがけ研究内で2つのことが達成できなかった。まずオーレオクロムを用いた有用遺伝子の光スイッチによる発現・また実験室内から生態へ戻して本質的な応用研究が間に合わなかった。今後前述の協力体制を強化し、数年内にこれらの応用の達成を試みる予定である。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

植物は、光合成に太陽光を利用するのみならず、その効率化を行うために信号として利用している。さらに、形態を変化させたり、細胞内の小器官を移動させたりすることにも光を活用している。植物が、光を信号として受け取るのが光受容体で、藻類は陸上植物とは違った光受容体を持つ可能性が示唆されていたにも関わらず、その光受容体の実在は確認されていなかった。

高橋文雄研究者は、2007 年に藻類から新規青色光受容体発見し、オーレオクロムと名付け、 DNA 結合能と光受容能を持ち合わせていることを明らかにした。本さきがけ研究では、様々な藻類の青色光受容体オーレオクロムを単離し、そのオーレオクロムの構造変化をタンパク質レベルで確認、光によって誘導もしくは減少する遺伝子群の特定を行った。また青色光受容体オーレオクロムを持つ藻類の光応答反応について、実験室内で用いられる方法を開発し、多くの光誘導性の現象を発見した。

最近、エネルギー、食料、環境問題に対して水性植物を活用しようする研究が活発化している。 これらはすべて水性植物の太陽光利用に基づいている。藻類を研究対象として、光受容タンパクの様々な機能を明らかにしたことは、藻類学のみならず植物科学の光生物学に大きな進展を もたらし、赤潮対策の糸口にもなる可能性があり、今後の研究進展が多いに望まれる。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- Usami H, Maeda T, Fujii Y, Oikawa K, Takahashi F, Kagawa T, Wada M, Kasahara M CHUP1 mediates actin-based light-induced chloroplast avoidance movement in the moss *Physcomitrella patens* Planta 236 1889-1897 (2012)
- Ishikawa M, Kataoka H, Takahashi F Analysis of Light-Dependent Cell Morphology and an Accumulation Response in *Ochromonas danica* Cytologia 77(4): 1–9 (2012)
- 3. Hisatomi O, Takeuchi K, Zikihara K, Ookubo Y, Nakatani Y, Takahashi F, Tokutomi



- S, Kataoka H Blue Light-Induced conformational changes in a Light-Regulated Transcription Factor, Aureochrome-1 Plant Cell Physiology 54: 93–106 (2013)
- 4. 石川美恵 高橋文雄 黄色植物フシナシミドロの光応答戦略 -転写因子として働く青色 光受容体オーレオクロム BSJ-Review 4:21-28 (2013)

(2)特許出願

研究期間累積件数:O件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

国際会議

- <u>Takahashi</u> F Functional analysis and application of a photoactivated transcription regulator in diverse algae AS-JST joint workshop on innovative use of light and nano/bio materials(2011)
- 2. Ishikawa M, Gärtner W, Kataoka H, <u>Takahashi F</u> Photochemical analysis of *Ochromonas danica* Aureochrome. The 5th Asia and Oceania Conference on Photobiology(2011)
- 3. Hisatomi O, Takeuchi K, Murakami T, <u>Takahashi F</u>, Kataoka H Characterization of a light-induced transcription factor, AUREO1, expressed in *E. coli* The 5th Asia and Oceania Conference on Photobiology (2011)
- 4. Nozaki H, Yamada T , <u>Takahashi F</u>, Nakada T New Volvocacean algae progressively identified First International Volvox Conference (2011)

その他3回

国内会議(招待講演)

- 1. <u>高橋文雄</u> 植物はなぜ青色光を使うようになったか? 藻類の生存戦略 植物学会東北支部会 公開シンポジウム 石巻専修大学 (2010)
- 2. 片岡 博尚, <u>高橋文雄</u>, 石川美恵 転写因子として機能する藻類の青色光受容体オーレオクロム The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (2011)
- 3. 高橋文雄 二次共生藻の光応答反応について 微細藻類研究会(2013)

その他国内学会発表 10 件



研究報告書

「二光子励起で発生させるガス状細胞情報伝達分子を駆使したストレス計測」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者: 中川秀彦

1. 研究のねらい

従来、毒性ガスとして知られていた一酸化窒素(NO)や硫化水素(H₂S)は、実は、生体内で産生されており、生体の機能維持に重要な役割を果たしていることが近年示されつつある。これらは、常温常圧でガス状の物質であることから、"ガス状細胞情報伝達分子(ガス状メディエーター)"と呼ばれるようになっている。これらのガス状メディエーターの生体機能を詳細に研究したり、その作用を利用して疾患の治療に用いたりすることができれば、新たな生命現象の解明が進み、これまで困難だった疾患の治療法開発へと繋がることが期待できる。しかし、ガス状メディエーターは毒性ガスでもあるため、研究や治療における取り扱いは難しく、これらの応用は進んでいないのが現状である。

このようなガス状メディエーターを研究上取り扱うためには、ガスそのものを取り扱うのではなく、実験条件下でガス状メディエーターを発生する化合物(ドナー化合物)を用いる方法が有効である。このため、代表的なガス状メディエーターである NO について、これまでドナー化合物が開発されてきた。しかし、多くの NO ドナー化合物は、それ自身が不安定で取り扱いにくく、また NO の発生を細かく制御できないものであった。 H_2S についても、近年急速にドナー化合物開発が行われるようになったものの、不安定で制御できないものがほとんどである。

本研究の狙いは、光誘起化学反応と先端レーザー光技術を組み合わせることで、従来取り扱いの難しかったガス状メディエーターを簡便かつ特異的に発生させることにある。これにより、ガス状メディエーターの取り扱いを容易にし、生物学研究や治療法開発に応用する技術を開発・提供できるようになる。通常条件下では安定で、光照射したときのみ、特定のガス状メディエーターを発生する化合物(ガス状メディエーターの光ドナー化合物)を開発し、生命現象解明や治療法開発に応用することで、この技術を実現することを目指した。

2. 研究成果

(1)概要

光照射により NO、H₂S、HNO といったガス状メディエーターとその関連分子(ガス状メディエーターから派生する ONOO-など)を、それぞれ特異的に発生する光誘起化学反応を探索あるいは発見し、この反応を組み込んで、特定のガス状メディエーターを発生する光ドナー化合物を分子設計・化学合成した。合成した光ドナー化合物を培養細胞に適用し、UVA 光(紫外線の1種)により、光依存的に特定のガス状メディエーターを細胞内で発生させることに成功した。さらに、ガス状メディエーターの1つである NO について、近赤外パルスレーザーを用いた二光子励起による NO 発生が可能な化合物を開発し、これをマウス脳内に投与することで、近赤外パルスレーザー照射によって、照射位置のみで照射している時間だけ NO を発生させ、人為的に外部から時間・位置特異的に血管径を拡張させることに成功した。



(2)詳細

研究テーマ A「光 NOドナー化合物の開発と生物応用」

ニトロベンゼンの光異性化反応により NO が遊離する現象を利用して、光 NOドナー化合物を複数開発した。これらの化合物をさらに修飾し、細胞応用に適した適度な水溶性を付与するための親水性官能基を導入することで培養細胞に適用可能な Flu-DNB を開発した。Flu-DNB は 蛍光性で細胞内での分布が観察可能で

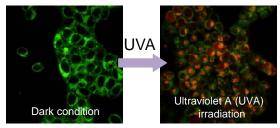


図1 培養細胞内での Flu-DNB からの光照射による NO 発生 緑: Flu-DNB, 橙: DAR-4M-T(NO 検出を示す蛍光)

あり、細胞中で細胞質に分布することが判明した。Flu-DNB は、培養細胞中で UVA 光照射により容易に光異性化反応を起こして NO を放出することが確認され、光 NO ドナー化合物としての基本的な性能を有することが示された(図1)。Flu-DNB を動物実験に適用することを目指して、UVA 光吸収に対応する二光子励起波長である近赤外領域波長のパルスレーザーを用いて光誘起反応の検証を行ったところ、720-740 nm のパルスレーザーによって化学反応し

NO 放出を起こすことが示された。そこで、動物への応用として、麻酔下で頭蓋を一部開いたマウスの脳に Flu-DNB を投与したのち735 nm パルスレーザーを照射して NO 発生を行ったところ、ミクログリア細胞の遊走が誘起され、また脳血管に照射すると、照射位置・照射時間特異的に血管径の拡大が観察された(図2)。この結果により、Flu-DNB と近赤外パルスレーザーを組合せることで、動物個体において NO 投与の光制御および生体応答の操作が可能であることを示した。(論文2)

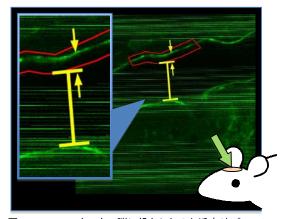


図2 Flu-DNB をマウス脳に投与したのち近赤外パルスレーザー照射したときの血管径の拡張(黄色矢印間) 赤枠で囲んだ範囲のみパルスレーザー照射したところ照射中のみ血管径が拡張した(黄色バー=非照射時の血管径)。

Flu-DNB の基本構造を活かして、化学構

造を一部変更しミトコンドリア局在性官能基であるローダミン構造を導入することで、ミトコンドリアに特異的に分布しUVA 光照射により NO を発生する、ミトコンドリア特異的光 NO ドナー化合物 RpNO を開発した。RpNO は、ミトコンドリアマーカー色素とよい共局在を示し、光照射依存的に培養がん細胞の増殖阻害活性を示した。

研究テーマ B「光 H,Sドナー化合物の開発と細胞応用」

ガス状メディエーターの1つである硫化水素(H₂S)の硫黄原子の2つの原子価を直接光解除性保護基で修飾することにより、光H₂Sドナー化合物を開発した。光解除性保護基は、光照射により脱保護可能な官能基であり、種々の構造のものが知られているが、本研究においては二価の原子価が同時に脱保護される必要があるため、光反応効率がよいことが重要とな



る。また、光反応による脱保護で生じる副生成物が、 H_2S と反応せず、生物学的にも安定である必要がある。これらの条件から、種々の光解除性保護基を検討し、ケトプロフェン型光解除性保護基が適していることを見いだし、光 H_2S ドナー化合物を開発した。この化合物は、UV 光照射依存的に H_2S を放出することが示された。(図3)(論文1)

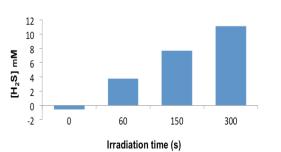


図3 開発した光 H_2S ドナー化合物からの光依存的 H_2S 放出紫外光(300-350 nm, 2.5 mW)を照射し、メチレンブルー法で定量

研究テーマ C「ガス状メディエーター関連活性分子の光ドナー化合物開発」

ガス状メディエーターである NO は、生体内で種々の反応を起こすことでさらに多様な活性 分子へと変換されることが知られている。そのようなものの1つとして HNO 分子が知られるこ とから、光 HNOドナー化合物の開発を行った。エポキシイミノシクロヘキセン誘導体の熱反応 による逆へテロ・ディールズ・アルダー反応により HNO が生成する化学反応を検討することに より、光誘起逆へテロ・ディールズ・アルダー反応により HNO 等価体が発生することを見いだ した。この反応を応用し、細胞応用可能な光 HNOドナー化合物 NiP-DAC-DCを初めて開発し た(図4)。ディールズ・アルダー反応タイプの反応は通常光禁制であることから、本化合物は 特異な反応性を有する興味深い化合物である。

NO から派生するもう1つの活性分子として ONOO⁻が知られている。この活性分子は生体内で生成すると考えられているが、その作用の詳細は研究途上である。そこで、光 ONOO⁻発

生剤の開発を行った。光 NOドナー化合物の反応副生物が酸素を活性化し、これが先に生じた NO と反応することで ONOO⁻が生成する、という連続反応が起こるように、化合物の構造を工夫し、光 ONOO⁻ドナー化合物を初めて開発した。この化合物は

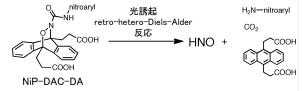


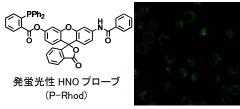
図4 光 HNO ドナー化合物(NiP-DAC-DA)と光誘起逆へテロ・ディールズ・アルダー反応

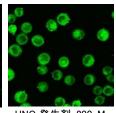
培養細胞内で光照射に応じて ONOO を発生させることができた。(論文4、5)

研究テーマ D「ガス状メディエーター関連活性分子 HNO の検出プローブの開発」

光 HNOドナー化合物の開発により、培養細胞に適用可能な光 HNOドナーを世界に先駆けて開発したが、HNO 自体の研究がまだ発展途上であるため、培養細胞系で有効な HNO 検出

系がないことが研究上問題となった。緩衝液中で使用可能な HNO 蛍光プローブは既に他のグループが開発していたが、このプローブは還元剤反応性であり、還元的環境下の培養細胞内では、HNO による





コントロール(no HNO)

HNO 発生剤 200uM

図5 P-Rhod による培養細胞を用いた HNO 検出 培養細胞内では、HNO によら P-Rhod (1 uM)を投与した培養細胞の培養液に HNO 発生剤を添加し、蛍光イメージング

ない蛍光シグナルが見られることが問題であった。そこで、既存の HNO 蛍光プローブとは全く 異なるスタウディンガー・ライゲーション反応を利用した新しい HNO 蛍光プローブを開発した。



このプローブは、細胞内の還元的環境下でも全く反応せず、HNO に鋭敏に反応することが示され、培養細胞内で使用可能な HNO 蛍光プローブの開発に成功した(図5)。(論文3)

3. 今後の展開

本研究で、マウス個体に応用可能な光 NO ドナーの開発と近赤外パルスレーザーの特徴を活かしたマウス脳内での NO 発生に伴う時間・位置選択的血管拡張に成功した。 H_2S や HNO、ONOO-についても、紫外光領域の連続光を用いる光ドナー開発に成功していることから、NO 以外のガス状メディエーターについても、動物個体に適用可能な光ドナー化合物を開発していく。特に、生体透過性の良い近赤外光による制御が可能な化合物と、パルスレーザー光を利用した二光子励起による時間・位置特異的な反応誘起を行い、様々なガス状メディエーターを動物組織で発生できる化合物群を揃えたい。さらに精密な制御を目指して、これらの開発化合物を細胞内の特定のオルガネラに分布するように構造修飾し、レーザーだけでは実現が難しい細胞内特定オルガネラ単位のガス状メディエーター発生の技術も確立したい。

光を用いた治療法として光増感剤を用いた光線力学療法が知られているが、従来の方法では一重項酸素の発生とそれによる制癌作用の発揮に用途が限定されていた。本研究で開発した技術を上記のようにさらに発展させることで、様々なガス状メディエーターを光によって自在に発生できる光ドナー化合物群を構築し、これらを実験用途や疾患の状態に合わせて自由に選ぶことで、複雑な生物応答や治療効果を誘起できる新しい光線力学療法の技術開発に結びつけたい。

4. 評価

(1)自己評価

本研究では、近赤外パルスレーザーと光NOドナー化合物を用いた二光子励起による動物体内でのNO発生とそれに対する生物応答を引き出すことに成功した。これは、本研究の狙いである、ガス状メディエーターを用いた生物研究・疾患治療研究の新しい技術開発に直接結びつく成果であり、研究の1つの目的が達成できた。さらに、他のガス状メディエーター、およびガス状メディエーターに関連した生物活性分子の光ドナー化合物開発にも成功したことから、本研究で目指している多様なガス状メディエーターを駆使した新しい光線力学療法の開発に先鞭を付けられたといえる。研究期間中にH₂Sやその他のガス状メディエーターについて、二光子励起によるガス状メディエーター放出の実証と、動物への応用が行えなかった。これは目標達成に至らなかった項目であり、今後の課題としたい。

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

一酸化窒素(NO)や硫化水素(H2S)は毒性ガスとして知られているが、生体ではその機能維持に重要な役割を果たしており、常温常圧でガス状の物質であることから、"ガス状細胞情報伝達分子(ガス状メディエーター)"と呼ばれている。これらのガス状メディエーターの研究は、病気の治療や、さらには生命現象の解明にも貢献できる可能性がある。しかしながら、こ



れらのガス状メディエーターの研究はその毒性と取り扱いの困難さゆえ、あまり進んでいない のが現状である。

中川研究者は、光照射により NO、 H_2S 、HNO、ONOO-といったガス状メディエーターを発生する光ドナー化合物を分子設計し、合成することに成功した。合成した化合物を細胞内に導入し、光を照射することによりガス状メディエーターを細胞内の狙った位置に発生させることにも成功した。さらに、二光子励起により NO を発生する化合物を開発してマウス脳内に投与し、光照射を行った場所と時間でだけ NO を発生させ、照射部位の血管径を拡張させることに成功した。

生体内の主要なガス状メディエーターを光照射により放出できる化合物を開発し、その薬学的効果を確かめる事にも成功した。このことは、中川研究者が目指している多様なガス状メディエーターを駆使した新しい光線力学療法の開発に目処をつけたことになる。開発した、あるいはこれから開発する化合物から、光照射により照射部位に発生させるガス状メディエーターの生体に対する薬学的研究、さらには治療への展開が多いに期待できる。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- Naoki Fukushima, Naoya Ieda, Kiyoshi Sasakura, Tetsuo Nagano, Kenjiro Hanaoka, Takayoshi Suzuki, Naoki Miyata, <u>Hidehiko Nakagawa</u>, Synthesis of a photocontrollable hydrogen sulfide donor using ketoprofenate photocages, *Chem. Commun.*, 2014, 50, 587–589.
- Hidehiko Nakagawa, Kazuhiro Hishikawa, Kei Eto, Naoya Ieda, Tomotaka Namikawa, Kenji Kamada, Takayoshi Suzuki, Naoki Miyata, Junichi Nabekura, Fine Spatiotemporal Control of Nitric Oxide Release by Infrared Pulse-Laser Irradiation of a Photo-Labile Donor, ACS Chem. Biol. 2013, 8, 2493-2500.
- Kodai Kawai, Naoya Ieda, Kazuyuki Aizawa, Takayoshi Suzuki, Naoki Miyata, <u>Hidehiko Nakagawa</u>, A Reductant-Resistant and Metal-Free Fluorescent Probe for Nitroxyl Applicable to Living Cells, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, 135, 12690-12696.
- 4. Naoya Ieda, <u>Hidehiko Nakagawa</u>, Tao Peng, Dan Yang, Takayoshi Suzuki, Naoki Miyata*, Photo-controllable Peroxynitrite Generator Based on N-Methyl-N-nitrosoaminophenol for Cellular Application, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134, 2563–2568.
- Naoya Ieda, <u>Hidehiko Nakagawa</u>, Taeko Horinouchi, Tao Peng, Dan Yang, Hiroki Tsumoto, Takayoshi Suzuki, Kiyoshi Fukuhara Naoki Miyata*, Peroxynitrite Generation from NO-releasing Nitrobenzene Derivative in Response to Photoirradiation, *Chem. Commun.* 2011, 47, 6449-6451.

(2)特許出願

研究期間累積件数:1件

1.



発 明 者: 中川 秀彦, 家田 直弥, 鈴木 孝禎, 宮田 直樹

発明の名称: N-ニトロソアニリン誘導体, 並びに, それを用いた高反応性 ROS 発生剤及び

高反応性 ROS の発生方法

出 願 人:公立大学法人名古屋市立大学

出 願 日: 2011/2/26

出 願 番号: 特願 2011-040986

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

【招待講演】

- 1. 中川秀彦, "ケージド H₂S の開発研究", フォーラム・イン・ドージン, 2013 年 11 月 15 日,
- 2. 中川秀彦, "活性酸素・NO のケージド化合物", フリーラジカルスクール in 館山, 2012 年 8 月 7-9 日, 館山
- 3. 中川秀彦, "活性酸素・NO の投与を光で制御できるケージド化合物", 学際バイオワークショップ, 2012 年 5 月 19 日, つくば
- Hidehiko Nakagawa, "Photo-uncaging chemical donors for NO and reactive nitrogen oxide species to probe cellular oxidative stress", 2nd Seminar on Nanoparticles and Single Molecules, Aug. 9, 2011, Takamatsu

【解説・総説】

- 1. 中川秀彦, "時空間制御可能な活性酸素・NO の光制御型ドナー化合物", 医学のあゆみ, 2013, 247, 825-831.
- 2. 中川秀彦, "光作動型ドナー開発による活性酸素·一酸化窒素供与の時空間制御", 実験 医学, 2012, 30, 2879-2883.
- 3. 中川秀彦, "活性酸素の機能を探る小分子ツール 光制御型ドナー化合物の開発", ファルマシア, 2012, 48, 15-19.
- 4. 中川秀彦, "NO·活性酸素ドナー化合物の最前線", 細胞工学, 2012, 31, 194-195.



研究報告書

「がんの可視化と光線治療に向けた光分解性バイモーダルナノパーティクルの開 発」

研究タイプ:通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月~平成 26 年 3 月

研究者:Vasudevan Pillai Biju

1. 研究のねらい

Aim of this project is the efficient utilization of light for life innovation through the development of novel light-sensitive fluorescentbimodal nanomaterials for bioimaging cancer. phototherapy of **Nanomaterials** formulations, also called theranostics, with more than one modality for both biomedical imaging and therapy have become promising in the accurate screening and efficient treatment of diseases such as cancer. For example, nanomaterials such as silica nanoparticles, polymer nanoparticles, carbon nanotube, graphene, gold nanoparticles, liposomes, etc. are extensively investigated as theranostics or

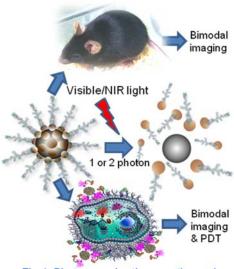


Fig.1: Photouncaging theranostics and their uncaging and applications aimed at

host materials for the incorporation of multiple contrast agents and drugs. These theranostics applied in animal models show excellent contrast enhancement in bioimaging modalities such as positron emission tomography (PET), X-ray computed tomography (CT), single-photon emission computed tomography (SPECT), magnetic resonance imaging (MRI) and fluorescence imaging, and improved curing of cancer under chemotherapy, photodynamic therapy (PDT) and photothermal therapy. Among the imaging modalities, MRI and fluorescence receive great attention in the scenario of increased health risks after biomedical imaging using ionizing radiations such as X-rays. Furthermore, the potential of fluorescence imaging modality to be combined with PDT is of particular interest in the management of cancers. However, as a result of the incorporation of multiple entities, the size of theranostics easily exceeds the limit of renal clearance, which poses a major limitation in their removal from biological systems. This project is aimed at lifting the above limitation by developing novel photouncaging theranostics and validating their photouncaging processes. This project is also aimed at the efficient use of photouncaging theranostics for bimodal (MRI and fluorescence) bioimaging *in vitro* and *in vivo* and PDT of cancer cells (Fig.1).

2. 研究成果

(1)概要



By using light as an innovative tool, herein this project introduces and evaluates the concept of photouncaging theranostics composed of fluorescent [gold quantum clusters (QCs), CdSe/ZnS quantum dots (QDs), porphyrin, etc.] and magnetic nanomaterials (Fe₃O₄, Gd complex, etc.) for bimodal imaging and photodynamic therapy. Chemical caging of fluorescent and magnetic entities into bimodal nanoparticles using photouncaging ligands, which is followed by the conjugation of intracellular delivery vehicles, allows us for the labeling of living cells and obtaining of MRI and fluorescence images. Selective one— or two—photon activation of the theranostics results in the systematic uncaging of the ligands and the nanoparticles. The potentials of photouncaging theranostics for *in vivo* imaging is validated by obtaining MRI and fluorescence images of mice subcutaneously or intravenously injected with the theranostics. Further, photouncaging theranostics composed of Au QCs or porphyrins efficiently produce singlet oxygen (¹O₂), which is the essential element for PDT. The renal clearance and phototherapeutic potentials of photouncaging theranostics are subjects of active research in our laboratory.

(2)詳細

研究テーマ A 「Chemical caging and photouncaging of theranostics」

At first, novel photouncaging and biocompatible molecules (1 and 2 in Fig. 2) composed of biotin and coumarin, which are the linkers of magnetic and fluorescent entities in theranostics. The steps involved the synthesis of these molecules follow standard nucleophilic substitution rearrangement reactions. The structures of these linker molecules are characterized using NMR, mass and techniques. spectroscopic Interestingly, as shown in Fig. 2A, these linkers efficiently uncage under one- or two-

in the systematic changes of

HO CH2 OF THE PROPERTY OF THE

Fig.2: (A) Photouncaging process of 1 and 2, (B) UV-Vis absorption photon activation, which results spectra of 1 with time under photoactivation, and (C) the structures and (D) photouncaging of theranostics.

UV-Vis absorption (Fig. 2B), mass and NMR spectra. Next, photouncaging theranostics are constructed by the conjugation of the linkers to streptavidin-functionalized super paramagnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles (SPION) followed by the conjugation of multiple



(ca 10) CdSe/ZnS QDs or Au QCs, which provided us with fluorescent-magnetic theranostics (Fe₃O₄QD₁₀ and Fe₃O₄QC₁₀, Fig.2C). Here, streptavidin-functionalized QDs are commercially obtained; whereas, Au QC and its streptavidin derivative are prepared in our laboratory. In these preparations, QDs (650 or 705 nm) and QCs (670 nm) with NIR emission are selected for enabling efficient bioimaging both in vitro and in vivo. Further, Au QCs produce 102 in ca 15% efficiency, which is promising for the PDT application of theranostics; whereas, theranostics with high (ca70%) 102 production efficiency are constructed by the preparation of novel porphyrin derivatives and their conjugation to SPION or Fe₃O₄QD₁₀. Two other fluorescent-magnetic bimodal nanoparticles prepared in this project are QDs (NIR fluorescent) conjugated with gadolinium (Gd3+) complex (magnetic) and SPION (magnetic) conjugated with terbium (Tb3+) complex (green fluorescent). Bimodal nature of the theranostics is characterized by recording MRI and fluorescence images of the samples. Finally, photouncaging of the theranostics is validated by recording and analyzing their scanning electron micrographs (Fig. 2D).

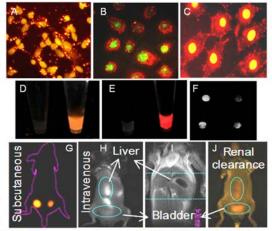
In short, novel magnetic, NIR fluorescent and ¹O₂-producing theranostics are constructed using photouncaging ligands, and their photouncaging processes are validated.

研究テーマ B「Bimodal bioimaging using photouncaging theranostics」

The combination of MRI and fluorescence contrast agents in the photouncaging theranostics prepared under theme A allows us to use those for obtaining combined MRI and fluorescence images in vitro and in vivo. At first, the theranostics for bimodal imaging and cytotoxicity in cultured cancer cells of human or murine origin were tested. Hormones such as allatostatin or epidermal growth factor (EGF) were employed for the intracellular

following

theranostics



delivery of theranostics. The hormones are $\frac{\text{Fig.3: Fluorescence images of (A,D) B16 cells/cell pellet labeled}}{\text{labeled with Fe}_3O_4QD_{10}, (B,E) H1650 cells/cell pellet labeled}$ conjugated to the surface of photouncaging with Fe₃O₄QC₁₀, (C) H1650 cells labeled with QDs, (F) MRI of cell pellets, (G-J) fluorescence/MRI images of B6 mice injected standard with Fe₃O₄QD₁₀: (G) subcutaneous, (H-J) intravenous.

bioconjugate reactions. The cells are treated successively with the bioconjugated theranostics and the nucleus staining Syto dye. After the treatments, the cells are copiously washed with buffer and the medium is exchanged with the standard cell culture medium. The intracellular delivery of bioconjugated theranostics is investigated using fluorescence microscopy. Figs. 3A and 3B show the fluorescence images of murine melanoma (B16) and human lung epithelial adenocarcinoma (H1650) cells labeled with Fe₃O₄QD₁₀ and Fe₃O₄QC₁₀, respectively. The NIR fluorescence of QDs and QCs allows us for obtaining fluorescence



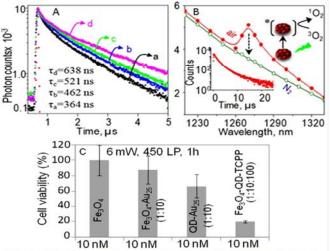
images of cells without any interference of cell autofluorescence. Further, the cells are harvested by tripsinization into cell pellets and recorded the MRI (Fig. 3F) and fluorescence (Fig. 3D,E) images. The enhanced MRI contrast of cells, which is due to the huge magnetic dipole moment of Fe_3O_4 when compared with that of water and biomolecules in cells, is a promising property that can be combined with NIR fluorescence for in vivo bimodal bioimaging. The amounts of theranostics needed for the labeling and fluorescent–magnetic bimodal imaging of cells are in the 0.5 to 2 nM regime, which is far below the toxic levels (>>100 nM) to cells, are evaluated using standard cytotoxicity assays.

The potentials of the theranostics for in vivo bimodal imaging are validated by the subcutaneous or intravenous injection in B6 mice, which is followed by the the MRI and NIR fluorescence imaging (Fig. 3G-J). The NIR fluorescence and MRI contrast of the theranostics enabled us for the efficient detection of the biodistribution, accumulation in the liver and renal clearance of the particles. The renal clearance is also validated by the analysis of fluorescence and MRI contrasts of urine samples.

In summary, theranostics are successfully delivered in living cancer cells or injected in mice, and the NIR fluorescence and MRI contrast enhancements enabled us for validating the potentials of the theranostics for in vitro and in vivo bimodal bioimaging with excellent signal to noise ratios.

研究テーマ C 「Theranostics for singlet oxygen production and photodynamic therapy」

Theranostics composed of QCs produce ¹O₂ in ca 15% efficiency, ² which is characterized by recording time-resolved fluorescence ? the spectra of QCs in the presence and 5 absence of oxygen and under different excitation power density. Considerable increase QC's of fluorescence lifetime (Fig. 4A) with time under nitrogen gas purging and decrease of fluorescence lifetime with ¹O₂. This photosensitized production



increase of excitation power suggest to d) of time under nitrogen purging. (B) Chemiluminescence spectra of ${}^{1}O_{2}$ produced by QCs under air saturated (red) and nitrogen saturated (green) conditions. Inset: decay at 1270 nm. (C) Histograms of MTT assay for H1650 cells labeled with different samples and photoactivated.

of ${}^{1}O_{2}$ is further confirmed by using a ${}^{1}O_{2}$ sensor dye molecule as well as by recording the characteristic (1270 nm) chemiluminescence spectrum of ${}^{1}O_{2}$ (Fig. 4B). On the other hand, the efficiency of ${}^{1}O_{2}$ production by QD-based theranostics is negligibly low, which is considerably improved by the conjugation of newly prepared porphyrin derivatives to either SPION or $Fe_{3}O_{4}QD_{10}$.

The production of ${}^{1}O_{2}$ by QC- or porphyrin- conjugated theranostics is a promising property for PDT, which is evaluated in H1650 cells cultured in 96 well plates. Here, the cells are labeled with 1 to 100 nM Fe $_{3}O_{4}QC_{10}$, or porphyrin-conjugated Fe $_{3}O_{4}$ or Fe $_{3}O_{4}QD_{10}$. Successively, the cells are washed and photoactivated for 30 min to 1h under 450 nm long-pass-filtered light (6 mW/cm²) from a Xe-lamp. After the photoactivation, the cells are treated with the cell permeable 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). Viable cells convert yellow MTT into purple formazan as a result of the NAD(P)H-dependent cellular oxidoreductase enzymes. After 4h incubation of the photoactivated cells with MTT and the subsequent lysis of cells, the amount of formazan produced, which is the direct measure of cell viability, is measured using a microplate reader (Fig. 4C,D). Remarkable reduction in the viability is observed for cells treated with porphyrin-conjugated Fe $_{3}O_{4}$ or Fe $_{3}O_{4}QD_{10}$ and photoactivated.

The production of ${}^{1}O_{2}$ by theranostics and the associated reduction in the viability of cultured cancer cells show the potentials of theranostics for practical PDT application.

3. 今後の展開

The new concept of photouncaging theranostics validated at an interface among light, nanomaterials, bioimaging and photodynamic therapy in this project is expected to untangle challenging issues in life science by the nucleation of new research projects in different directions. The most promising direction is the in vivo application of theranostics for human use such as imaging, phototherapy, and clearance by uncaging using light of suitable energy. In such applications, the photouncaging properties can be combined with photo-controlled delivery of drugs, genes, and contrast agents. Further, photouncaging ligands and nanoparticles can be applied to microfabricated devices for the collection of cancer cells from blood samples as well as the collection, separation and characterization of pathogens. Yet another promising aspect of photouncaging nanoparticles is their extension towards the construction of reusable photoresponsive micro and nano platforms for the collection and detection of biomarkers and exosomes.

4. 評価

By combining NIR fluorescent and magnetic nanomaterials with singlet oxygen production using photouncaging ligands, the project successfully proves the concept of photouncaging fluorescent-magnetic theranostics. In addition to the validation of bimodal bioimaging and photodynamic therapy, the photouncaging strategy in this project successfully lifts one of the major challenges and concerns associated with the use of large-size theranostics in biological systems. Following the evaluation of the bimodal nature and photouncaging, conjugation of biomolecules to the photouncaging theranostics opened up in vitro and in vivo MRI and fluorescence imaging potentials, which is validated in cells and mice. The choice of gold quantum clusters not only provides non-toxic nanomaterials and NIR fluorescence but also singlet oxygen for photodynamic therapy. The limitation associated with the low efficiency of singlet oxygen

production by gold clusters is lifted by the preparation porphyrin conjugated theranostics. Overall, the project is evaluated as the successful validation of photouncaging theranostics for bimodal imaging and phototherapy with its doors opened for practical applications such as drug delivery, phototherapy, biomedical imaging, and the construction of reusable micro and nano platforms for the detection of cancer cells, pathogens and biomarkers.

(2)研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

X線のような放射線治療は放射線障害による健康リスクが問題となるため、磁場や低出力レーザーを用いた MRI・蛍光イメージング法と光線療法に関心が集まってきた。結果として、蛍光ナノ粒子、MRI 造影剤や光線療法薬剤はがんの検出・治療のための治療的診断法用として広く研究が行われているが、既存のナノ粒子や薬剤はそのサイズの大きさのため生体器官への蓄積が問題となっている。

この問題を解決するためビジュ研究者は、蛍光・MRI イメージング両方に使用できるバイモーダル造影剤として、新規の無毒性かつ光分解可能なナノ粒子を開発した。このナノ粒子は光照射によって分解・断片化して尿により排泄されるため、生体器官に蓄積されてしまう問題を解決した。さらに、がん細胞やマウスのバイモーダルイメージを得るだけでなく、光線力学的療法に有用な一重項酸素の産生をも可能にした。このような光分解ナノ粒子は、薬剤送達・遺伝子の制御やがん細胞の検出・イメージング、そしてがん細胞の画像誘導温熱療法・光線療法への候補物質となることが見込まれる。

広く認識されている課題に果敢に挑戦し、非常にアクティブに研究活動を行ってきたことは、多くの論文などのアウトプットからも明らかである。さらに、使用後に光照射により分解して尿中に排出できるバイモーダル造影剤の開発に成功した事は、この分野に新しい概念を提供した事になる。新しい可能性を示す事は、他の研究者の参入を促し、この分野の研究活動が活発化する。まさに「さきがけ」研究らしい研究活動であったと評価している。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- 1. <u>V. Biju</u>, "Chemical modifications and bioconjugate reactions of nanomaterials for sensing, imaging, drug delivery and therapy", *Chem. Soc. Rev.* 43, 744–764 (2014).
- 2. E. S. Shibu, S. Sugino, K. Ono, H. Saito, A. Nishioka, S. Yamamura, M. Sawada, Y. Nosaka, V. Biju, "Singlet-oxygen-sensitizing near-infrared-fluorescent multimodal nanoparticles", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 10559-10563 (2013).
- E. S. Shibu, K. Ono, S. Sugino, A. Nishioka, A. Yasuda, Y. Shigeri, S. Wakida, M. Sawada, V. Biju, "Photouncaging nanoparticles for MRI and fluorescence imaging in vitro and in vivo", ACS Nano, 7, 9881–9859 (2013).
- 4. P. Jones, S. Sugino, S. Yamamura, F. Lacy, <u>V. Biju</u>, "Impairments of cells and genomic DNA by environmentally transformed engineered nanomaterials", *Nanoscale*, 5, 9511–9516, (2013).
- 5. E. S. Shibu, M. Hamada, N. Murase, <u>V. Biju</u>, "Nanomaterials formulations for photothermal and photodynamic therapy of cancer", *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, 15, 53-72 (2013).



 V. Biju, A. Anas, H. Akita, E. S. Shibu, T.Itoh, H. Harashima, M. Ishikawa, "FRET from quantum dots to photodecompose undesired acceptors and report the condensation and decondensation of plasmid DNA", ACS Nano, 6, 3776–3788 (2012).

(2)特許出願

研究期間累積件数:1件

(平成26年3月時点で非公開)

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

<学会発表>

- 1. Biju, V. (plenary), "Engineered nanomaterials: Potential agents for biological applications or potentiators of toxicity" Embassy of India, Tokyo, October 11th 2013.
- 2. Biju, V. (invited), "Nanomaterials formulations for bioimaging", Nanotech 2014, Tokyo Big Sight, January 30th 2014.
- Biju, V. (invited), "Nanomaterials for Multiplexed Fluorescence Imaging", the 4th Asian Spectroscopy Conference, Nanyang Technological University, Singapore, December 17th 2013.
- 4. Biju, V. (invited), "Multifunctional engineered nanomaterials: Bioimaging applications vs toxicity", International Workshop on Photonics of Functional Nanomaterials, City University of Hong Kong, 9th May 2013.
- 5. Biju, V. (invited), "Engineered Nanomaterials for Advanced Bioimaging", International Conference on Materials Science ICMAT 2013, Singapore, 4th July 2013.
- 6. Biju, V. "Photoresponsive nanomaterials for bioimaging", International Conference on Photochemistry 2013, Leuven, Belgium, 24th July 2013.
- Biju, V.; Shibu, E. S.; Sugino, S.; Yamamura, S.; Wakida, S.; Saito, H.; Nosaka, Y.; Ono. K.; Sawada, M. "Photouncaging Nanoparticles for Bioimaging", 2013 Annual Meeting of the Japanese Photochemistry Association, Ehime University, Matsuyama, Japan, 13th September 2013.

<受賞>

- 1. 「Asian and Oceanian Photochemistry Award for young scientists」(2010)
- 2. 「光化学協会奨励賞」(2011)
- 3. 「英国王立化学会フェロー」(2011~)

