

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 生命ナノ動態をありのままに観察するラベルフリー超解像顕微鏡

2. 個人研究者名

馬越 貴之（大阪大学高等共創研究院 講師）

3. 事後評価結果

本研究では、自由電子の集団的量子化で光を物理的にナノ局在させることで、ラベルフリーな超解像顕微鏡の性能を極限に高めることを追求した。ラベルフリーイメージングをビデオレートの撮像速度と 10 nm の空間分解能で実現を試み、光学顕微鏡の覗き込むような観察をナノスケールで可能にするなど、細胞膜を始めとした多くの生命現象のナノダイナミクスをありのままに録画することを目指した。

[どのような量子性をどのように扱ったのか]

- ・プラズモンの光局在効果を、ラベルフリーな超解像イメージングに応用。
- ・高速 AFM 技術を利用してプラズモン励起可能な金属探針を高速走査。

[達成状況とインパクト]

馬越研究者は、近接場光学顕微鏡と高速 AFM を統合した高速近接場光学顕微鏡で、初めてサブ秒オーダーのフレームレートで動画撮影に成功している。まず馬越研究者は、高速近接場光学顕微鏡で脂質分子や膜タンパク質のダイナミクスを計測できるレベルの光学特性として、時間分解能を 10 フレーム/秒、空間分解能を 10 nm を目標として定めた。近接場光学顕微鏡を高速化するための根本的な改良を精力的に続けた結果、従来からの試料走査型のイメージング方式から、探針-レーザー同期走査方式への開発が不可欠であるとの発想に基づき、入射レーザーを走査しつつ高速 AFM と同じ速度で動作できるピエゾミラースキャナーの開発に成功した。さらに、高速に動く探針と入射レーザー集光スポットの位置を同期させる制御プログラムも開発し、探針と入射レーザー位置をナノ精度で制御して高速走査できるに至っている。実際の高速近接場イメージングとしては、テスト試料として溶液下でのカーボンナノチューブを用い、カーボンナノチューブ自体から発せられるレイリー散乱光を検出光として、5 フレーム/秒のイメージング速度でラベルフリー動画観察ができることを示し、約 10 nm の高い空間分解能が得られている。これまでの近接場光学顕微鏡が、1 フレーム取得するのに速くても数分を要していたことから、1000 倍以上もの高速化を実現できている。このように、高速 AFM と近接場光学顕微鏡の技術を組み合わせ、ラベルフリーな高速超解像光学イメージングの実現を目的としたシステムを構築に成功している。特に AFM チップの高速走査に追従してレーザースポットを掃引し光信号強度を十分に得る技術はユニークであり、高精度・高感度化に向けて重要な成果と言える。付加的な成果として、超高安定な近接場顕微鏡も開発しており、当初目標を概ね達成していると考えられる。一方で、高速 AFM と近接場光学顕微鏡それぞれの基本的な技術は確立しているが、それらを組み合わせたイメージングシステムとしての確認が望まれる。当初目的としていた誘導ラマン散乱（ラベルフリー）の高速超解像光学イメージングの実証に期待したい。

本技術がどのような生命活動・分子挙動への計測に応用できるかの方向性について、馬越研究者は生体膜および膜中のタンパク質、脂質を観察するのに適していると考えている。今後さらに Near Field と試料との相互作用の明確化（温度上昇など）などの検討を進めて、対象試料の観察のためにどのようなスペック、使い勝手にすべきかという展望が示しつつ、脂質ラフトや膜タンパク質などが拡散・結合・相互作用するナノダイナミクスなど、生命ナノ動態を観察するための革新的技術に展開していくことを期待したい。