

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21840003

研究課題名（和文） 微小球光共振器を用いた光合成光捕集蛋白の超高感度単一分子分光

研究課題名（英文） Ultrahigh-sensitive single molecular spectroscopy of light-harvesting complexes by using optical microresonators

研究代表者

藤原 正澄 (FUJIWARA MASAZUMI)

北海道大学・電子科学研究所・助教

研究者番号：30540190

研究成果の概要（和文）：

光合成色素蛋白複合体の超高感度単一分子分光に向けて、微小球共振器やナノ光ファイバに代表されるナノ光デバイスを用いた超高感度蛍光検出技術の確立を行った。その結果、(1)単一光合成蛋白の共焦点顕微鏡観察に室温下で成功した。(2)ナノ光ファイバによる単一量子ドット蛍光観察に成功し、集光効率が全発光量の6.6%と非常に高い値である事を示した。これらはナノ光デバイスを用いて光合成蛋白の蛍光検出が4倍の感度で測定可能である事を示唆している。

研究成果の概要（英文）：

We have developed ultrahigh-sensitive single molecular spectroscopy by using nano-photonic devices including optical microresonators and nanofibers and have applied this method to single photosynthetic light-harvesting pigment-protein complexes. We have demonstrated (1) the single molecular observation of the light-harvesting complexes at room temperature with a conventional objective and (2) high-sensitive fluorescence detection of quantum dots using nanofiber (6.6% of the total emission photons was detected). These facts suggest that it is possible to detect fluorescence of single light-harvesting complexes with 4-times greater fluorescence collection efficiency.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,090,000	327,000	1,417,000
2010年度	940,000	282,000	1,222,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,030,000	609,000	2,639,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物性 I

キーワード：非線形光学、光物性、ナノフォトニクス

1. 研究開始当初の背景

本申請課題は、微小球光共振器をはじめとするナノ光デバイス（図1）を用いることで生体単一分子の光学応答を超高感度でプローブする技術の確立を目指したものである。特に、光合成色素蛋白（図2）は光科学において最も重要な生体物質の一つである。光合成蛋白は、近年、コヒーレント分光や単一分

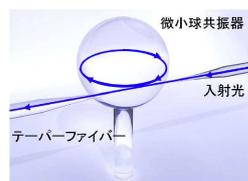


図1：微小球共振器とナノ光ファイバ

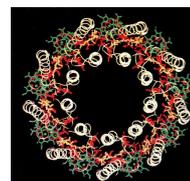


図2：光合成色素蛋白

子分光などの先端光計測技術によって、その高効率光エネルギー変換機構が研究されている。

中でも、単一分子分光は色素と蛋白の相互作用メカニズムの解明や、時々刻々と揺動する蛋白複合体の構造決定などに有用である事が知られている。しかしながら、光合成色素蛋白は蛍光量子効率が室温で 0.02 程度、極低温下でも 0.1 以下と極めて観測の難しい試料であり、蛍光励起スペクトルや偏光依存性などの限られた分光方法しか適用できず、単一蛋白の詳細な光学特性は未だ明らかではなかった。

2. 研究の目的

一方で、量子エレクトロニクス分野で近年開発が進められてきた、高感度蛍光検出技術の一つとして、微小球共振器やナノ光ファイバなどのナノ光デバイスを用いる方法がある。本研究では、これらの手法を光合成蛋白（生体物質）にまで拡張する。それにより、従来は計測不可能であった光合成蛋白の新しい物性的知見を得て、光合成における光エネルギー変換メカニズムの解明を目指す。この事は量子エレクトロニクス分野の技術を物性科学・生命科学分野する事を意味し、さらなる融合研究への道を開拓する。

3. 研究の方法

申請者が現在所属する研究室には生体蛋白などを取り扱った経験、またそのための装置等が全くなく、保管のための冷蔵設備や、pH メータなどの生体蛋白を取り扱う上での実験器具の購入、基礎的分光器具の基礎的なチェックなどから始めた。

次に、804nm 発振半導体レーザーを導入し、必要な光学部品等を入れ替える事で、共焦点顕微鏡をその波長に最適化した。また、光合成蛋白の研究に従来からよく用いられている、ガラス基板とフッ化リチウム基板からのラマン散乱の影響を評価し、最適かつ経済的な基板を検討した。

これらの後、(1) 共焦点顕微鏡を用いた光合成蛋白の単一分子分光の実現、(2) 高効率光集光デバイスであるナノ光ファイバの蛍光集光効率の決定、(3) ナノ光ファイバ結合微小球を用いた蛍光体蛍光検出を行った。

4. 研究成果

光合成試料の吸収スペクトルを 1 年通じて定期的に確認する事で、試料が当研究室でも十分に保管可能である事が分かった。また、基板に関しては、本研究で使用する励起レーザーの波長 800nm の周辺では、ラマン散乱の大きな影響は見られず、単一分子を分散させる基板としてはガラスで十分な事を明らかにした。

(1) 光合成蛋白の共焦点顕微鏡観察に室温下で成功した。 設備導入した半導体レーザーに共焦点顕微鏡を最適化し、試料保持も窒素雰囲気下で行うなどの工夫を行った。その結果、単一光合成蛋白からの発光を室温化で安定して検出する事に成功した。図は光合成蛋白の室温下での共焦点顕微鏡画像である。図中の丸で示した輝点からの発光の時間変化を観察すると、明瞭なプリンキングを示した。これは輝点が単一の光合成蛋白分子である事を示す結果である。この結果は関連研究分野の研究会で発表を行った（学会発表⑤）。

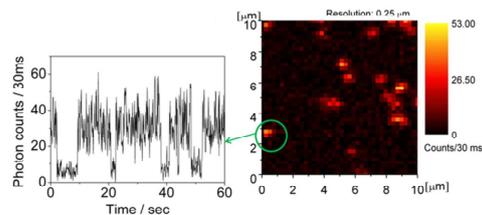


図 3：光合成蛋白の共焦点顕微鏡画像と蛍光の時間変化

(2) ナノ光ファイバに単一量子ドットの蛍光観察に成功し、集光効率が全発光量の 6.6% と非常に高い値である事を示した。

ナノ光ファイバ上に単一量子ドットを配置し詳細な蛍光観察を行う事で、単一量子ドットの総発光量の 6.6% をナノ光ファイバを通じて検出することに成功した。この蛍光集光効率は、開口数 1.1 の対物レンズの効率に相当するものであり、極めて良好な値を示した。図 4 はナノ光ファイバ上に配置した単一量子ドットを通常の対物レンズによって蛍光検出した画像 [(a)] とナノ光ファイバによって蛍光検出した画像 [(b)] を示している。これらの結果は論文として発表するため、原稿準備中である。

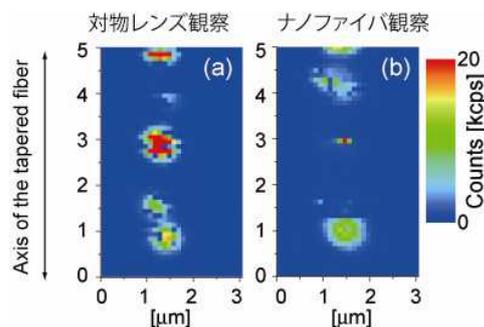


図 4：ナノ光ファイバ上の単一量子ドットの共焦点顕微鏡画像。左側が、従来の対物レンズによる観察であり、右側がナノファイバによる監視図である。

(3) ナノ光ファイバ結合微小球を用いた蛍光体蛍光検出

ナノ光ファイバ結合微小球の微小球上に蛍光ビーズを配置し、光励起することでその発光をナノファイバを通して観察すること

に成功した。

図5にナノ光ファイバ結合微小球上の蛍光ビーズからの発光をナノファイバによって検出した場合の蛍光スペクトルを示した。スペクトルには微小球共振器の共鳴モードに由来する変調構造が明瞭に観察された。これはこの発光が微小球共振器の共鳴モードと結合したものである事を示している。

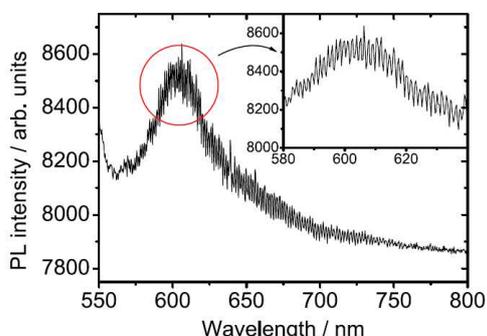


図5: ナノ光ファイバ結合微小球上の蛍光ビーズからの発光をナノファイバによって検出した場合の蛍光スペクトル。微小球の共鳴モードによる強度変調が観測されている。

(4) ナノファイバのホコリに対する機械的脆弱性を明らかにした。

研究の過程で、ナノ光ファイバの透過率が減衰していく事を見出し、空気中のホコリ密度に対する透過率減衰の依存性を系統的に調べた。その結果、ナノ光ファイバの透過率減衰は、水分の吸着などではなく、ホコリの吸着のみに依存する事を発見した。これは当該分野において非常に重要な知見であり、事実、Optics Express 誌にも掲載が受理された。

強調すべき点として、上記(2)に示したように、ナノ光ファイバが開口数 1.1 の対物レンズに相当する蛍光集光効率を有する事が明らかとなった事である。これまでは、クライオスタットや超高真空チェンバーなどでは、作動距離の不足など様々な要因により、開口数 0.7 程度のレンズしか実質的に使用できなかった。事実、光合成蛋白の従来の研究も NA0.55 レンズによって観察がなされていた。ナノ光ファイバは極低温化・超高真空下でも使用可能であり、光合成蛋白の場合、従来の 4 倍の蛍光検出が可能である事が推測できる。

当初の予定である微小球共振器を用いるまでもなく、より簡便に利用可能なナノ光ファイバを用いて光合成蛋白の蛍光検出が 4 倍の感度で測定可能である事を示した事は大変意義深い結果である。結果(1)において光合成蛋白の共焦点顕微分光にも成功しており、今後、ナノ光ファイバ上に蛋白を配置し、単一分子分光を行っていく事が可能である。これらの事を踏まえると、本研究成果は研究

活動スタート支援の目的を十分に達成したといえる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Masazumi Fujiwara, Kiyota Toubaru and Shigeki Takeuchi, "Optical transmittance degradation in tapered fibers", Opt. Express, 2011 年 3 月 31 日掲載受理, 査読有り

[学会発表] (計 7 件)

- ① 藤原正澄、野田哲矢、桃原清太、趙洪泉、竹内繁樹、「テーパ光ファイバによる単一発行体の蛍光検出とそのテーパ部直径依存性」、日本物理学会第 66 回年次大会、2011 年 3 月 28 日、新潟大学
- ② M. Fujiwara, A. Tanaka, K. Toubaru, H.Q. Zhao, H. Takashima, and S. Takeuchi, 「Polarization-purity spectra of a tapered-fiber-coupled microsphere cavity system at cryogenic temperatures」、SPIE Photonics west 2011、2011 年 1 月 25 日、San Francisco USA
- ③ 藤原正澄、「分子の輻射場制御を利用した新しい単一分子分光法とそのカロテノイドへの応用可能性」、2010 年カロテノイド若手の会、2010 年 12 月 20 日、箱根路開雲ホテル
- ④ M. Fujiwara, K. Toubaru, A. Tanaka, H. Q. Zhao, H. Takashima, K. Sasaki, and S. Takeuchi, 「Fiber-coupled Microsphere at Cryogenic Temperatures for Cavity QED Experiments Using Single Diamond NV Centers」、Updating Quantum Cryptography and Communications 2010、2010 年 10 月 19 日、ANA インターコンチネンタルホテル東京
- ⑤ 藤原正澄、桃原清太、田中陽、趙洪泉、高島秀聡、竹内繁樹、「極低温下におけるテーパファイバ・微小球結合系の実現と制御」、日本物理学会 2010 年秋季大会、2010 年 9 月 24 日、大阪府立大学
- ⑥ 桃原清太、藤原正澄、竹内繁樹、「光ナノファイバの透過率減少に関する研究」、第 22 回量子情報技術研究会 (QIT22)、2010 年 5 月 10 日、大阪大学
- ⑦ 藤原正澄、桃原清太、趙洪泉、竹内繁樹、「テーパファイバ・微小球結合系における強結合状態の実現に向けて 2」、第 22 回量子情報技術研究会 (QIT22)、2010 年 5 月 10 日、大阪大学

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/qip/>

<http://www.masazumifujiwara.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤原 正澄 (FUJIWARA MASAZUMI)
北海道大学・電子科学研究所・助教
研究者番号：30540190

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし