

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26610127

研究課題名(和文) アキシコンレンズを用いた局所励起システムの開発

研究課題名(英文) Development of local excitation system using axicon lens

研究代表者

石島 秋彦 (ISHIJIMA, Akihiko)

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：80301216

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：アキシコンレンズによる光学系で一番問題なのが光軸の調整の困難さである。そこで、まずは単一アキシコンレンズによる光学系の構築を行った。アキシコンレンズによる光学系の一番重要な点は頂点の精度である。頂点の精度が輪帯照明の精度に関わってくる。そこで、頂点の精度の影響を回避ために、レーザービーム径を拡大して入射することにした。レーザービーム径の拡大は、市販のビームエキスパンダ、2枚の凸レンズ、の二通りで行った。しかしながら、いずれもビームプロファイルが乱れて、理想の輪帯照明の構築には至らなかった。今後は、いかに理想的なビームプロファイルを維持した光学系を構築するかが課題となる。

研究成果の概要(英文)：The most important point of an optical system using axicon lens is alignment of axis of light. An accuracy of axicon apex is important point. To avoid of it, the expanded laser beam was incident to the system. To expand the beam radius, we used both a commercially produced beam expander and two convex lenses. However, in both cases, the beam profiles were turbulence. Next point is the establishment of optical system having a fine beam profile.

研究分野：生物物理学

キーワード：バクテリア

1. 研究開始当初の背景

バクテリア走化性システムは、細胞膜上のべん毛モーターの回転方向の頻度を変えることにより、より好ましい方向に進む。走化性シグナルは、細胞極に存在するレセプターに結合し、その情報は細胞内に伝わり、各モーターの回転方向が転換される。このバクテリア走化性応答に関わるタンパク質、その局在などに関しては、様々な研究が進んでいるが、いまだに、**どのようにして、シグナル分子の結合・解離が回転方向転換を引き起こしているのか?**というモーターの回転方向転換メカニズムは未知の部分が多い。

2. 研究の目的

本申請の目的は、アキシコンレンズを用いた新しい照明システムによる局所励起システムの開発を行うものである。従来の局所励起システムである、エバネッセント照明、シート照明、斜光照明などの欠点を克服したアキシコンレンズによる斜光照明システムを構築することにより、カバーガラスから離れた位置での局所励起が可能となる。

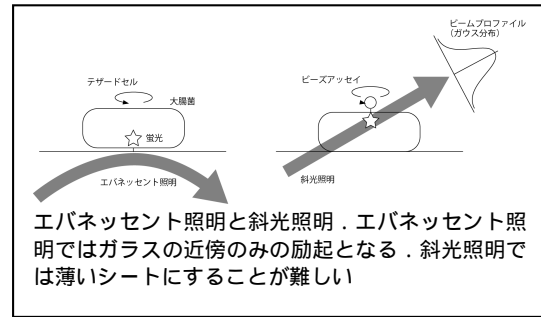
3. 研究の方法

背景光をいかに下げるか、が蛍光観察には必須の要件となる。そのため、エバネッセント照明手法が開発され、さまざまな研究に用いられてきた。しかしながら、エバネッセント照明はそのメカニズムからガラス表面近傍のみの励起となり、細胞の上面といったエリアへの局所励起は不可能である。また斜光照明システムが開発され、ガラス近傍以外での局所励起が可能となったが、それでもサブミクロン程度の励起となり、大腸菌のような厚みが1ミクロン程度のサンプルでは意味をなさない。ベッセルビームなどで非常に薄いシート照明も開発されているが、その光学系の複雑さ、薄い

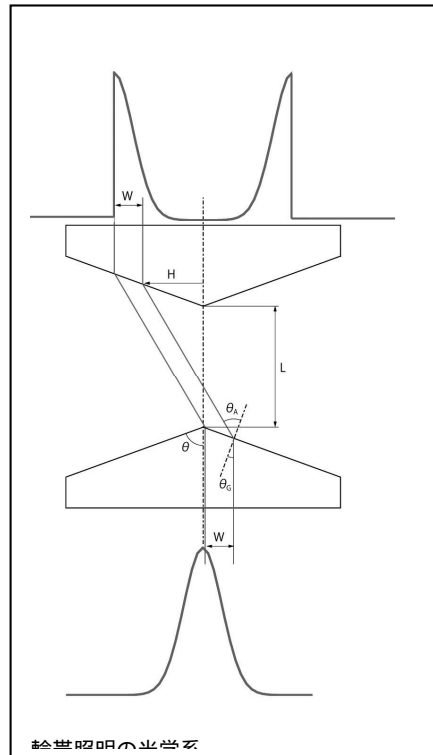


アキシコンレンズ
(東京インスツルメンツ HP より)

といっても0.2ミクロン程度とまだ十分ではない。

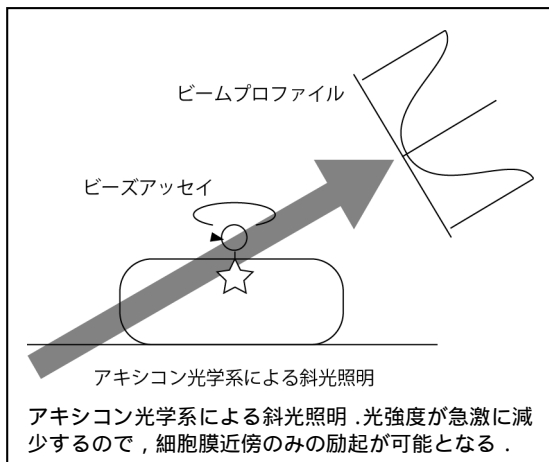


申請者は、新しい局所励起システムとして、**アキシコンレンズを用いた光学系**を利用することにより、**細胞の上面の近傍のみの局所励起システム**を提案する。このシステムは従来のように薄いシート照明を作成する、というのではなく、励起照明のビームプロファイルを変えるものである。従来の照明でのビームプロファイルはガウス分布を取ると考えられている。従って、斜



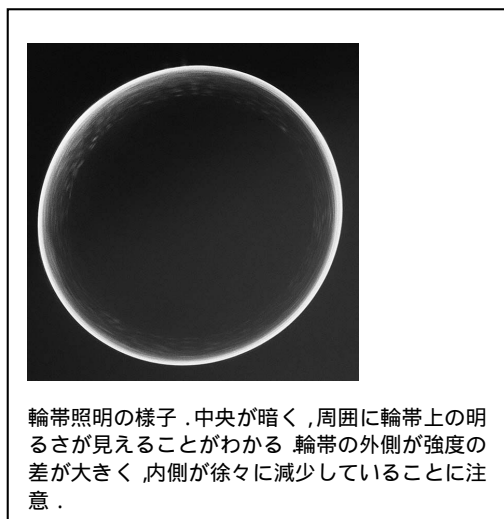
光照明により、細胞上面にかすかに接する程度に照明しても、ガウス分布の裾野の広さから結果的に細胞全体を励起してしまうことになる。そこで、**アキシコンレンズを2枚用いたビームプロファイルを変更した照明系**を用いる。アキシコンレンズを2枚組み合わせることで輪帯照明を作成することができる。その光学特性からこの輪帯照明は、内側はガウス分布と同様のプロファイルを取るが**外側は急激な強度変化**が起こる。この部分を目的の細胞上面に照射することにより、局所励起が達成可能となる。アキシコンレンズは従来では輪帯照明に用いられてきたが、この特殊なビームプロフ

アイルを局所照明に利用する，ということ
は未だ誰も考えついたものではなく，斬新
なアイデアである



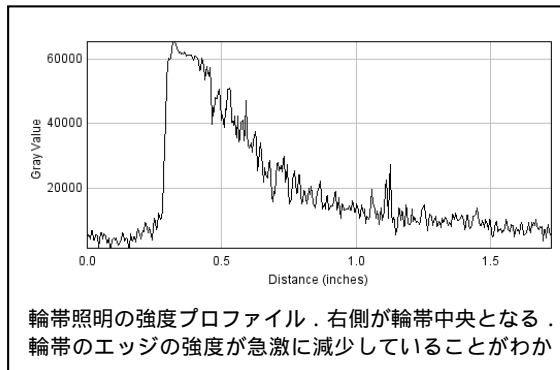
4．研究成果

アキシコンレンズによる光学系の構築の前に，一般的な斜光照明システムを用いてそのビームプロファイルが細胞の照明にどのように影響するかを検討した．この情報により，本申請の主たる目的であるアキシコンレンズを用いた照明系との比較が可能となり，その優位性を検定可能となる．まずはマスクを用いての照明系の構築を行ったしかし，エッジからの漏れ光によりバクテリアの上面のみの照明系の構築までは至らなかった．次に，アキシコンレンズによる光学系の構築を行った．アキシコンレンズによる光学系で一番問題なのが光軸の調整



の困難さである．そこで，まずは単一アキシコンレンズによる光学系の構築を行った．アキシコンレンズによる光学系の一番重要な点は頂点の精度である．頂点の精度が輪帯照明の精度に関わってくる．そこで，頂点の精度の影響を回避ために，レーザービーム径を拡大して入射することにした．レ

ーザービーム径の拡大は，市販のビームエ



キスパンダ，2枚の凸レンズ，の二通りで行った．その結果，一応は輪帯照明の構築に成功し，そのプロファイルを取得することができた．強度プロファイルは予想されたように外輪部分が急速に強度減少するものであった．しかしながら，いずれもビームプロファイルが乱れて，理想の輪帯照明の構築には至らなかった．今後は，いかに理想的なビームプロファイルを維持した光学系を構築するかが課題となる．さらに単一アキシコンレンズでは斜光照明には適用できないため，最終的には二枚のアキシコンレンズによる光学系の構築が必要となる．そのためには，2枚のアキシコンレンズの光軸を位置，角度を含めて調整できるようなシステムの開発が必要となる．

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)

{学会発表}(計 4 件)

Yong-SukChe, Hiroto Takahasi, Akihiko Ishijima, Hajime Fukuoka, Importance of receptor cooperativity on the switching coordinate of flagellar motors on a single Escherichia coli cell, 日本生物物理学会例会, 2016年11月27日, つくば国際会議場(茨城県つくば市)

Hajime fukuoka, Hiroto Takahasi, Akihiko Ishijima, 走化性タンパク質の細胞動態と細胞応答の同時計測, 日本生物物理学会例会, 2016年11月26日, つくば国際会議場(茨城県つくば市)

Yuichi Inoue, Yoichiro Sawano, Hajime Fukuoka, Hiroto Takahasi, Akihiko Ishijima, カーボンナノチューブを用いたべん毛モーターの抑制的制御, 日本生物物理学会例会 2015年9月15日, 金沢大学(石川県金沢市)

Yoichiro Sawano, Yuichi Inoue, Akihiko Ishijima, バクテリアべん毛モーターにおける二軌道回転, 日本生物物理学会例会, 2015年9月13日, 金沢大学(石川県金沢市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石島 秋彦 (ISHIJIMA, Akihiko)
大阪大学・大学院生命機能研究科・教授
研究者番号: 80301216

(2) 研究分担者

(なし)