

# スケールを越えて分子を視る



若 者

加 藤 遼\*

Division of Advanced Electronics and Optical Science, Graduate School of  
Engineering Science, The University of Osaka

Key Words: Vibrational Spectroscopy, Mid-Infrared Photothermal Imaging,  
Plasmonics, Biophotonics, Microbiology

## はじめに

物質の機能も生命現象の機序も、突き詰めれば分子の構造・配置・相互作用に行き着く。分子そのものを直接視ることができれば、現象の本質に迫れる。私は分子の「指紋」を読み取る振動分光(ラマン散乱・赤外吸収)の技術開発と応用を進めてきた。本稿では分子スケールと細胞スケールの「自己組織化」を、それぞれ異なる技術で読み解く取り組みを紹介する。

## 研究経歴

私は、2021年3月に大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻で博士号(工学)を取得した。Prabhat Verma教授と馬越貴之助教(現・准教授)のもとで「チップ増強ラマン分光顕微鏡の開発とナノ材料物性計測」に関する研究を行い、手法を開発しその手法で材料の新たな物性を可視化する楽しさを学んだ<sup>1-3</sup>。その後、徳島大学ポストLEDフォトリクス研究所において、田中拓男特別招聘教授と矢野隆章教授のもとで、特任研究員としてバイオセンサー・イメージングの研究に従事した<sup>4-6</sup>。両氏は私に自由な研究活動を許してくださり、そのおかげで超解像赤外分光やナノバイオ界面、微生物といった新しい分野・対象に挑戦できた。研究者としての幅が広がった、間違いなく重要な期間であった。2024年6月からは現職(大阪大学大学院基礎工学研究科 助教)に

就き、南川丈夫教授とともに研究室を運営している。

## Vision～分子を視て本質に迫る、科学と応用の循環

私の研究の軸は「分子を視て本質を理解する」ことである。マクロな材料物性も細胞や組織の振る舞いも、源をたどれば分子レベルの秩序や相互作用に行き着く。マクロな観察では見えない機構も、分子で表現すれば理解できる。私は分子の構造・配向・ダイナミクスを、その場で非破壊に読み取る計測にこだわってきた。対象とするスケールは、分子一個から集合体、細胞、細胞集団、組織、バルクまで幅広い。これらは「分子を視る」という一本の軸で地続きに扱える。私は材料科学を出発点に、応用先を医学系、そして近年は微生物学へと広げてきた。とりわけ最近では、微生物がつくる秩序ある世界に強く惹かれている。材料・医学・微生物学という異なる分野を、振動分光という一つの方法論でつなげる点に、この研究の面白さがある。

## 様々な階層スケールにおける自己組織化

自己組織化(self-assembly)は、分子や細胞が外部の誘導なしに自発的に秩序構造を組み上げる現象で、タンパク質の折りたたみからナノ構造、バイオフィームまで、生命と物質の各階層に普遍的に見られる。この機構の理解は、材料設計にも生命現象の解明にも重要であるが、秩序の生成と構造を染色や標識に頼らず非破壊で、分子情報として捉えることは難しい。振動分光はこれに応えるが、空間分解能・感度の壁がある。私はこの壁を計測技術で押し広げてきた。以下、二つの例を紹介する。

## 分子スケールの自己組織化：クモ糸タンパク質×TERS

一つめは単分子スケールの自己組織化である。ク



\* Ryo KATO

1993年12月生まれ  
大阪大学大学院 工学研究科 応用物理学専攻 (2021年)  
現在、大阪大学大学院 基礎工学研究科 システム創成専攻 電子光科学領域 助教 博士(工学) 光工学  
TEL: 06-6850-8515  
E-mail: kato.ryo.es@osaka-u.ac.jp

モ糸タンパク質(スパイドロイン)は、規則正しく並んだ $\beta$ -シート結晶を骨格として、軽量でありながら鋼鉄をしのぐ強靱さを示す魅力的な生体材料である。この優れた物性は、分子がどのような二次構造をとり、どう配列・配向するかに支配される。近年、こうした生体分子を原子レベルで平坦な二次元材料(グラフェンや二硫化モリブデンなど)の上に自己組織化させ、力学・電子・生物機能を併せ持つハイブリッド界面を作る試みが注目されている。私たちは、約35kDaの人工ミニスパイドロイン(NR7C)が、二次元材料表面上で整列したナノワイヤー(長さ2 $\mu$ m超)へと自発的に組み上がることを見出した。この生体分子と二次元材料のハイブリッド界面は、バイオセンサーやバイオエレクトロニクスといった機能性ナノ構造の基盤になりうる。

しかし、この界面で分子が実際にどの二次構造をとり、どの向きに並んでいるのかを確かめるのは容易でない。組織化した層はごく薄く、通常のラマン分光や赤外分光では感度も空間分解能も足りないためである。そこで私たちは、チップ増強ラマン分光(TERS)を用いた。TERSは、先端を数十ナノメートルまで尖らせた金属探針に光を照射し、先端に生じる増強された近接場光をナノサイズの光源として利用することで、通常の光学系では到達できない約10nmの空間分解能でラマン分光を行う技術である。ラマン散乱は分子の振動を「指紋」として非標識で読み取れるため、TERSを使えば、単一タンパク質レベルの局所から二次構造の情報を直接引き出せる。

得られたTERSスペクトルのアミドバンド(タンパク質主鎖に由来する振動)を解析した結果、自己組織化層が結晶性スパイドロインと同等の $\beta$ -シート構造をとることが分かった(図1)。TERSと遠方場ラマンでアミドI・アミドIIIの振動数がよく一致することは、表面上に高度に秩序だった集合体が形成されていることを意味する。さらに、探針近傍の光の偏光方向に対する信号の依存性から、分子が基板に対して平らに寝た配向で並んでいることも明らかになった。加えて、TERS信号は測定位置を変えても、また時間が経っても安定しており、結晶バルクよりもむしろ振動数のばらつきが小さかった。これは、平坦な表面への閉じ込めが、より均一な $\beta$ -シートの充填を促していることを示す。以上の結果は、大きなシルクタンパク質が原子レベルで平坦な

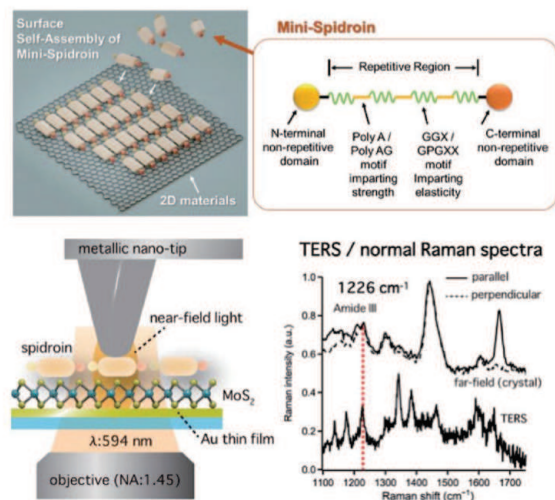


図1: スパイドロイン自己組織化膜のナノスケールラマン分光解析の概要図。文献7より引用

材料上に、堅牢で秩序だった二次元結晶集合体を形成しうることを実証するものであり、シルクで機能化した素子の設計に向けた分子レベルの指針となる<sup>7)</sup>。

### 細胞スケールの自己組織化: 藍藻バイオフィルム×超解像中赤外イメージング

二つめは、細胞集団の世界である。微生物は単独で生きるだけでなく、しばしば多数の細胞が集まり、自ら分泌した細胞外物質に包まれた集団(バイオフィルム)を形成する。バイオフィルムの内部では、個々の細胞だけでは持ち得ない機能; 増殖能やストレス耐性の向上、ときには病原性や薬剤耐性が発現する。これも、細胞と細胞外分子が外部の鋳型なしに自発的に組み上がる自己組織化の一形態である。医療現場での難治性感染や、有用物質の生産など、バイオフィルムは応用上も重要で、その形成機構の理解が広く求められている。光合成細菌である藍藻(シアノバクテリア)もバイオフィルムを形成し、その主成分は細胞外多糖、とりわけ藍藻にほぼ特有の硫酸多糖である。形成機構を解き明かすには、細胞と細胞外分子がどこにどう共在し、相互作用しているのかを可視化する必要がある。ところが、この可視化は従来法では難しかった。広く使われる蛍光イメージングは、染色によるバイオフィルム本来の構造の変化を引き起こすという課題を抱える。非標識で分子を読むラマン分光は有力だが、藍藻の強い自家蛍光に微弱なラマン散乱が埋もれてしまう。一

方、赤外吸収分光は自家蛍光の影響を受けず、分子の指紋を非標識で捉えられる利点があるが、中赤外光の長い波長ゆえに回折限界で空間分解能が約10  $\mu\text{m}$ に制限され、個々の細胞や細胞外分子の分布を捉えるには粗すぎた。そこで私たちは、超解像の中赤外フォトサーマル(MIP)顕微鏡を開発・応用した。MIPでは、まず中赤外パルス光を試料に照射し、分子が特定波長の赤外光を吸収して生じるわずかな発熱(光熱効果)を、波長が約10倍短い可視光の変化として読み出す。検出を短波長の可視光が担うため、赤外分析でありながらサブミクロンの空間分解能が得られ、従来の赤外イメージングを一桁上回る解像度を実現する。さらに、MIPは可視光を検出に使うため蛍光観察との複合が容易である。この利点を活かし、藍藻自身が発する自家蛍光と、硫酸多糖由来する赤外信号とを同一視野で同時に分離計測した(図2)。その結果、バイオフィーム内の硫酸多糖や細胞外タンパク質が繊維状の構造をつくり、その形状に沿って藍藻細胞が整列している様子を、非標識のまま可視化することに成功した<sup>8</sup>。この描像は、まず細胞外の硫酸多糖が培養液中で繊維状の足場を形成し、そこに藍藻細胞がトラップされることでバイオフィームが組み上がる、という形成機構を支持する。これまで直接見ることが難しかった細胞外分子と細胞の空間的な関係を、分子選択的かつ非標識に捉えられた点に、本手法の意義がある。

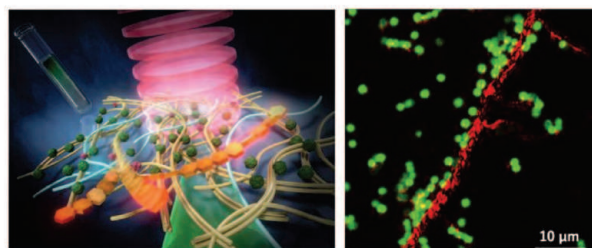


図2：中赤外フォトサーマル顕微鏡によるバイオフィーム構成分子の可視化。文献8より引用

## おわりに

これまで、分子から細胞まで、私は一貫して「自己組織化」を分子の言葉で読み解こうとしてきた。今後は材料科学・医学・微生物学という異なる分野を、振動分光という一つの軸で横断的につなぎ、まだ誰も見たことのない景色を追い求めたい。

## 謝辞

本稿で紹介した研究の多くは、以下の競争的研究資金の支援を受けて行われました。ここに記して感謝いたします。科研費若手研究(24K17654)、JST ACT-X(JPMJAX21B4)、徳島大学研究クラスター(課題番号 2202006、2402003)、中谷財団奨励研究助成、カシオ科学振興財団研究助成。

## 参考文献

- (1) Kato, R.; Taguchi, K.; Yadav, R.; Umakoshi, T.; Verma, P. One-Side Metal-Coated Pyramidal Cantilever Tips for Highly Reproducible Tip-Enhanced Raman Spectroscopy. *Nanotechnology* **2020**, *31*, 335207.
- (2) Kato, R.; Moriyama, T.; Umakoshi, T.; Yano, T.; Verma, P. Ultrastable Tip-Enhanced Hyperspectral Optical Nanoimaging for Defect Analysis of Large-Sized  $\text{WS}_2$  Layers. *Sci. Adv.* **2022**, *8*, eabo4021.
- (3) Kato, R.; Umakoshi, T.; Sam, R. T.; Verma, P. Probing Nanoscale Defects and Wrinkles in  $\text{MoS}_2$  by Tip-Enhanced Raman Spectroscopic Imaging. *Appl. Phys. Lett.* **2019**, *114*, 073105.
- (4) Tanaka, T.; Yano, T.; Kato, R. Nanostructure-Enhanced Infrared Spectroscopy. *Nanophotonics* **2022**, *11*, 2541-2561.
- (5) Kato, R.; Uesugi, M.; Komatsu, Y.; Okamoto, F.; Tanaka, T.; Kitawaki, F.; Yano, T. A. Highly Stable Polymer Coating on Silver Nanoparticles for Efficient Plasmonic Enhancement of Fluorescence. *ACS Omega* **2022**, *7*, 4286-4292.
- (6) Kato, R.; Yano, T.; Minamikawa, T.; Tanaka, T. High-Sensitivity Hyperspectral Vibrational Imaging of Heart Tissues by Mid-Infrared Photothermal Microscopy. *Anal. Sci.* **2022**, *38*, 1497-1503.
- (7) Whittall, D. R.; Kato, R.; Okimura, A.; Takizawa, R.; Motai, K.; Maeda, H.; Yamazaki, Y.; Yano, T.; Takano, E.; Hayamizu, Y. Synthetic Spider Silk Forming Highly-Aligned Nanoarchitectures on 2D-Material Surfaces. *bioRxiv* **2024**.
- (8) Kato, R.; Maeda, K.; Yano, T. A.; Tanaka, K.; Tanaka, T. Label-Free Visualization of

Photosynthetic Microbial Biofilms Using Mid-Infrared Photothermal and Autofluorescence

Imaging. *Analyst* **2023**, *148*, 6241–6247.

