

超極微小重量測定 (10^{-21} g)

これまで極微小重量測定は、Lavrikら¹⁾による fg (10^{-15} g) オーダー、Ekinciら²⁾やIlicら³⁾による ag (10^{-18} g) オーダーなどが報告され、年々微量化が進んでいる。この背景には、微量を測定するためのデバイスに不可欠な、nm オーダーの加工を可能にしたナノテクノロジーの功績が大きい。Yangら⁴⁾は、nano electromechanical systems (ナノ電気機械システム; NEMS) を用い、30 個の Xe 原子の重量に相当する 7 zg (7×10^{-21} g) の測定に成功した。今回の測定は ag の測定を成功させたグループと同一グループによるものであった。図 1 に測定装置の模式図を示す。装置内は 10^{-5} Pa 以下、46 K (Xe 測定時)、37 K (N_2 測定時) に保たれており、装置の核となるセンサー部分の NEMS には SiC 製の長さ $2.3 \mu\text{m}$ × 幅 150 nm × 厚さ 70 nm 、振動数 133 MHz (Xe 測定用) 及び長さ $2.3 \mu\text{m}$ × 幅 150 nm × 厚さ 100 nm で 190 MHz (N_2 測定用) の異なる二つの振動子が用いられている。孔径 $100 \mu\text{m}$ のノズルから Xe または N_2 を NEMS に吹き付け、シャッターによりその吹き付けは制御されている。NEMS は一定の振動数で振動しているが、ここに原子または分子が付着した場合、振動数は減少する。質量と振動数の減少は比例関係となるため、振動数を測定することで zg オーダーの測定が可能となる。今回測定した Xe 原子 30 個、7 zg は生体分子一つ分、4000 Da に相当する。zg の重量測定が可能となったことにより、今後 DNA などの生体分子 1 個の測定も可能になると考えられる。

1) N. V. Lavrik, P. J. Datskos : *Appl. Phys. Lett.*, **82**, 2697 (2003).

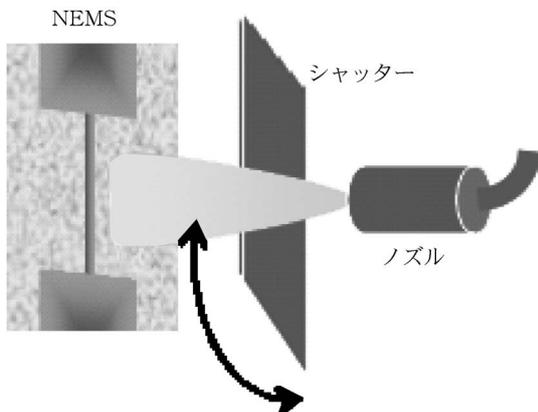


図 1 測定装置 (文献 4 より引用)

- 2) K. L. Ekinci, X. M. H. Huang, M. L. Roukes : *Appl. Phys. Lett.*, **84**, 4469 (2004).
- 3) B. Ilic, H. G. Craighead, S. Krylov, W. Senaratne, C. Ober, P. Neuzil : *J. Appl. Phys.*, **95**, 3694 (2004).
- 4) Y. T. Yang, C. Callegari, X. L. Feng, K. L. Ekinci, M. L. Roukes : *Nano Lett.*, **6**, 583 (2006).

(山口東京理科大学基礎工学部 浅野 比)

地球内外の生命探査のための分析技術

惑星探査によって地球外生物が見つければ科学史に残る大発見となるであろう。これは生命の起源についても大きな手がかりを与えてくれる。ラマン分光法や赤外分光法は試料の前処理をあまり必要とせず、様々な有機物や無機物を高感度に分析できるので、地球外生物を検出するための装置として惑星探査機に搭載することが検討されている。

極限環境微生物の中には紫外線から身を守るために carotenoid などの有機色素を持ち、岩石中に生息するものがある。地球外生物にとってもおそらく紫外線は有害であり、紫外線に対する同様の防御機構をもっているであろう。ここで、ラマン分光法を用いると有機色素と岩石を同時に同定できるので、地球外生物を検知できるものと期待されている。実際、Villarらは、火星環境を想定して採取した北極圏 (Spitzbergen, Norway) の玄武岩の隙間にいる極限環境微生物のコロニーをラマン分光法で分析し、有機色素と鉱物の両方を同定した¹⁾。また SEM と組み合わせれば微細な形状も分かるので、少なくとも地球上の極限環境微生物の探査において強力な方法である。また、Edwardsらは、強い紫外線にさらされしかも乾燥した、言わば火星表面を思わせる砂漠の天然塩田 (sabkhar, UAE) の試料について、有機色素と鉱物の両方を同定し、高度好塩シアノバクテリアの生態を調べることに成功した²⁾。

一方、炭酸カルシウムは生命探査の鍵を握る物質の一つであるが、例えば火星にも炭酸カルシウムが存在することが確かめられつつある。最近、炭酸カルシウム鉱物であるアラゴナイトは、生物由来と非生物由来のものではカルサイトに転移する温度が異なることが DTA 分析によって見いだされた³⁾。この差異から生物が存在する証拠を得られるものと考えられるが、赤外分光法を用いてさらに研究したところ、非生物由来のアラゴナイトは 480°C 程度でカルサイトに転移するのに対して、生物由来あるいは化石由来のアラゴナイトは 420°C でもカルサイトへの転移が起こることが確かめられた⁴⁾。また生物由来のカルサイトが酸化カルシウムと二酸化炭素へと分解する温度も、非生物由来の場合と比べて下がる。ここで調べられた化石は漸新世以降 (3 千万年前から百万年前) のものであり比較的新しい。従って、この方法を用いて地球外の岩石や太古の化石の中から生物由来の炭酸

カルシウムを検出することが望まれる。

- 1) S. E. J. Villar, H. G. M. Edwards, L. G. Benning : *Icarus*, **184**, 158 (2006).
- 2) H. G. M. Edwards, M. A. Mohsin, F. N. Sadooni, N. F. N. Hassan, T. Munshi : *Anal. Bioanal. Chem.*, **385**, 46 (2006).
- 3) M. Cabane, P. Coll, C. Szopa, G. Israël. F. Raulin, R. Sternberg, P. Mahaffy, A. Person, C. Rodier, R. Navarro-González, H. Niemann, D. Harpold, W. Brinckerhoff : *Adv. Space Res.*, **33**, 2240 (2004).
- 4) V. Orofino, A. Blanco, M. D'Elia, D. Licchelli, S. Fonti : *Icarus*, **187**, 457 (2007).

〔大阪府立大学大学院工学研究科 川村邦男〕

● 細胞蛍光イメージングのための 高機能ケージド化合物

Caged compound (ケージド化合物) は、光の照射によって初めて活性化するように設計された化合物群のことである。ケージド化合物を利用すれば、光照射するだけで、基本骨格となった分子の本来の性質を任意の時間・場所に発現させることが可能である。このことから、生きた細胞内の動態を詳細に観察・分析するための強力なツールの一つとして、ケージド化合物は様々な場面で使用されている。ケージ化誘導体が合成されている化合物の例として、ATP、神経伝達物質、細胞内情報伝達物質などが挙げられる。また、蛍光性色素の一つ、フルオレセインのケージ化誘導体も合成されている。このケージ化フルオレセインを用いると、細胞の特定の部分や細胞内のタンパク質に目印をつけることができるので、それらの動的挙動を可視化し追跡する際に便利である。たとえば Mitchison は、ケージ化フルオレセインでラベルしたチューブリンを生きた細胞に打ち込んで微小管に組み込ませた¹⁾。その微小管の一部に光を当てることで蛍光標識し、細胞分裂時の微小管の動態を明らかにしたのである。

しかし、従来のケージ化フルオレセイン {bis(5-carboxymethoxy-2-nitrobenzyl)-caged fluorescein : BisCMNB-FL} は、蛍光性回復のために紫外光 (約 350 nm) による二段階の脱保護が必要であった。よって、細胞動態の可視化に十分な蛍光強度を得るためには、長時間の光照射が必要である。結果、検出対象に大きなダメージを与える。この欠点を克服するため、Kobayashi らはフルオレセイン類縁体 (TokyoGreen)²⁾

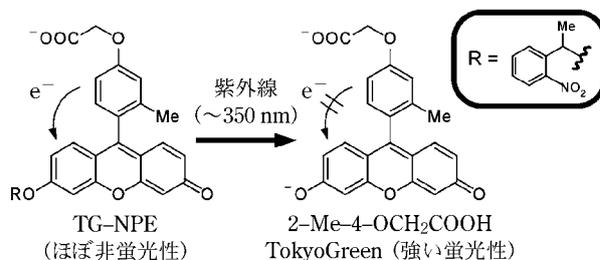


図1 新規ケージ化フルオレセインの構造と一段階脱保護の模式図

から新規ケージ化蛍光性色素 (TG-NPE ; 図1) の合成を行い、BisCMNB-FL との比較・検証を行った³⁾。

まず、BisCMNB-FL と TG-NPE をそれぞれリン酸緩衝液 (pH 7.4) に溶かし、20 秒間の紫外光 (330~370 nm) 照射前後での溶液の蛍光強度を比較した。光の照射後、TG-NPE は約 15 倍の蛍光強度増加を示したのに対し、BisCMNB-FL の場合、照射前後で蛍光がほとんど観測されなかった。

次に、生きた細胞内での蛍光強度回復を観察した。細胞膜透過性の BisCMNB-FL アセトキシメチルエステル体 (AM) または TG-NPE AM を液体培地に加えて HeLa 細胞 (子宮頸がん由来) を処理し、10 秒間紫外光 (330~385 nm) を細胞の一つに当てた後、蛍光強度を測定した。TG-NPE AM 処理した HeLa 細胞は強く蛍光標識された。これに対し、BisCMNB-FL の場合は光照射時間を 600 秒にしても、10 倍濃度の BisCMNB-FL で処理しても、蛍光強度は TG-NPE の場合に及ばなかった。また TG-NPE AM は細胞毒性を持たない、ということも見いだしている。

生きた細胞の動態を知る上で、いかに細胞を非破壊的・非侵襲的に観察するか、ということは重要な課題である。ここに紹介した化合物は、より短時間の紫外光照射で十分に蛍光標識できるので、より自然な状態に近い生細胞の動態観察を可能にする、といえる。

- 1) T. J. Mitchison : *J. Cell Biol.*, **109**, 637 (1989).
- 2) Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano : *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4888 (2005).
- 3) T. Kobayashi, Y. Urano, M. Kamiya, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano : *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 6696 (2007).

〔東京大学大学院理学系研究科 菅野 憲〕