HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	発光を観測することにより細胞や材料を調べる
Author(s)	太田, 信廣
Description	北海道大学大学院地球環境科学研究院平成20年度公開講座 ヒトと地球にやさしい化学技術. 平成20年8月19日～9月30日. 札幌市
Relation	北海道大学大学院地球環境科学研究院平成20年度公開講座 ヒトと地球にやさしい化学技術. 第4回.
Issue Date	2008-09-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/36625
Type	lecture
File Information	2008_ota.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

第４回　９月９日（火）

発光を観測することにより細胞や材料を調べる

講師：電子科学研究所　教授　太田信廣

１．光と環境問題

約１億５千キロメートルの距離にあり約６千度と高温な輻射体である太陽から毎年約 54.4 $x10^{20}$ キロジュールの光エネルギーが地球にやってくる。約 24%が大気により吸収され、14%が地上に、32%が海上に降り注ぎ、残りが大気により散乱される。300 nm 以下の波長の光が、主に成層圏に存在するオゾンによって吸収されて地上には普通到達しないが、オゾンが減少すれば到達するようになり人体に影響を与えるとされている。また、地球温暖化の原因として指摘されているのは、地球表面からの輻射熱（赤外領域の電磁波）が温室効果ガス（例えば二酸化炭素）によって吸収されることである。かかる光が関係した環境問題を考えるためには、電磁波（可視光、紫外光、赤外光だけではなく単に波長が異なるだけのＸ線や電波も含む）と物質の相互作用をきちんと理解しておくことが不可欠である。また、太陽光は地球上の生命体のエネルギー源であり、化石燃料によるエネルギーが近い将来枯渇することから、太陽光の有効利用は避けて通ることはできない。これらの問題を考える上で、また光が関係した電子機器の省力化や光エネルギー変換材料の開発、さらには発光材料のの利用といった問題を考える上でも光と物質の相互作用を理解しておく必要がある。

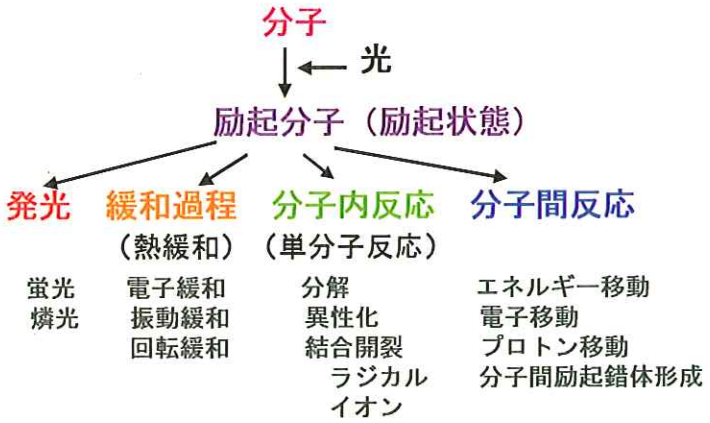

図１、光吸収後の種々のプロセス。

２．光を吸収した分子の挙動

光を吸収した分子は励起分子と呼ばれる不安定な状態を生成する。この状態からは蛍光や燐光とよばれる発光を出すプロセス（輻射過程）と、光を出さない様々

なプロセス（無輻射過程）が存在する。図 1 に示すように無輻射過程には、状態間でエネルギーのやりとりが行なわれる緩和過程、個々の分子内で起こる単分子反応および励起分子と他の分子との間で起こる分子間反応がある。たとえば、オゾンが３００nm 以下の波長の光を吸収して分解するのは単分子反応に分類することができる。また植物の光合成反応において光エネルギーが電気エネルギーに変換される過程では、生体内の励起分子と他の分子との間で、エネルギー移動や電子移動反応が起こっている。そして太陽光が燦々とふりそそぐ所では我々は暖かいと感じるのは、緩和過程が起こることにより光エネルギーが熱に変換されるためである。励起分子からの発光する輻射過程と無輻射過程は競争反応なので、発光特性（発光のスペクトル分布、発光の収率、発光の寿命、...）を調べることにより、光励起された分子がそのように振舞うかを調べることができる。

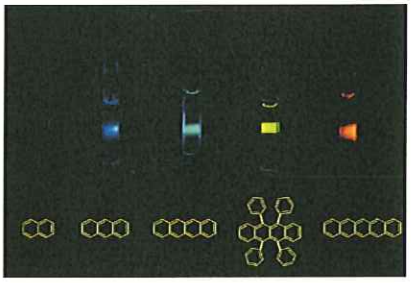

図２、左からナフタレン、アントラセン、テトラセン、ルブレン、ペンタセンの蛍光。

３．発光特性と周囲の環境

基本的には、どの分子も光を吸収して励起状態が生成すれば、発光を示すことになる。この発光特性は、分子固有のものであることから、発光特性を調べることにより、どのような分子が含まれているかの分析を行なうことができる（発光分析）。例えば、分子の長さによっても発光の色（スペクトル）が異なる。図２に示すように、芳香族分子は長さが大きくなる程、発光波長は長くなる。ナノ粒子発光体の場合も同様に、サイズが大きくなるほど発光波長は長くなる。逆にこのことを利用して、調べたい材料（溶液、膜、固体、細胞等）に発光特性が既知の分子を入れてその発光を観測し、対象とする材料の性質や内部環境を調べることができる。発光特性は分子固有であると同時に、１）溶媒や周囲の極性、２）プロトンイオン濃度（pH）、３）各種金属イ

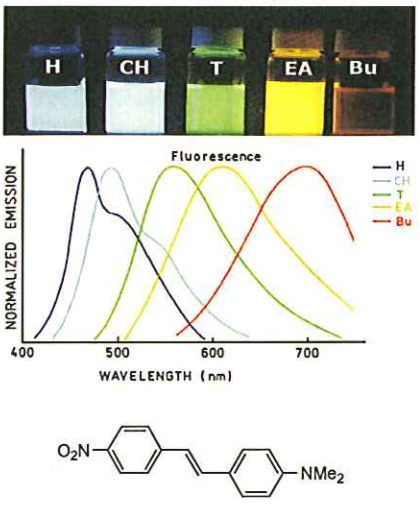

図３、DNS 蛍光の溶媒効果

オンの存在、４）媒体の粘度、５）局所環境の剛体性、６）温度、等に依存する。勿論、これら環境の違いに大きく左右されるものもあればそれほどでもない分子もある。したがって、ある発光物質を用いて（発光プローブとよぶ）媒体の環境の違いを調べる際には、調べようとする物理的パラメーターの変化に大きく反応するプローブ分子を用いる必要がある。図 3 に示すのは 4-ジメチルアミノ-4'-ニトロスチルベン（DNS）の異なる溶媒中での発光スペクトルである。無極性溶媒中では青い色（波長が〜450 nm）であるが、溶媒の極性の増加と共に長波長にシフトし、極性溶媒の n-ブタノールでは赤色（波長が〜700 nm）となる。

４．発光による生細胞研究

蛍光測定と顕微鏡を組み合わせた蛍光顕微分光法を用いて細胞や生体を調べることができる。トリプトファンのインドール基からの蛍光のように、蛋白質を構成する分子種から発光するものがあり、自家発光とよんでいる。それ以外に例えばpHや特定のイオンに敏感に応答する蛍光体をプローブとして細胞中に導入して、その発光特性を調べることにより、細胞内の環境や反応を調べることができる。また、遺伝子操作により発光種を有する蛋白質を細胞内に発現させることもできる。例えば、４つのアミノ酸の配列を図4のように並べてできる発光種（*p*-hydroxybenzylidene imidazolidone）を有する緑色蛍光蛋白質（GFP）は良く知られている。このGFPをtudor遺伝子と融合させた蛋白質を細胞内に発現させると図5に示すような蛍光強度のイメージが測定できる。また蛍光強度以外に蛍光の寿命のイメージを測定すると図５右図のように測定でき、ストレスを受けている細胞（a,b）の蛍光寿命は短くなっている。

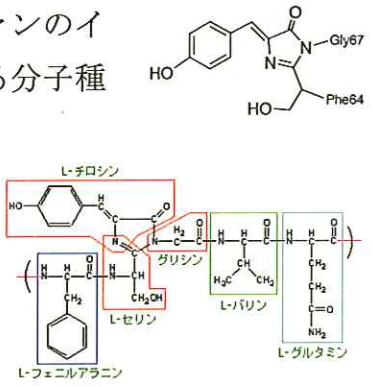

図 4、GFP の構造

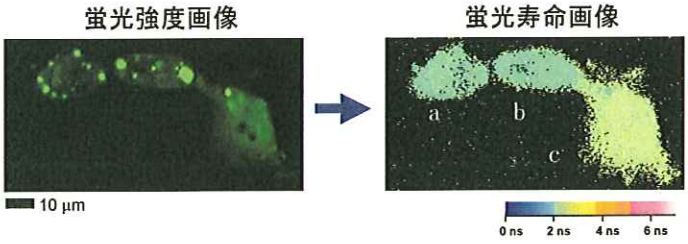

図５、GFP-tudor　融合蛋白質発現の細胞の蛍光強度イメージ（上）と蛍光寿命イメージ（下）。

このように発光（蛍光）測定は、細胞内の環境を調べることにより、細胞の活性度を調べるのに有効である。

５．有機発光ディスプレーと省エネルギー化

発光は励起状態から生成すると上で述べたが、励起分子を生成するのに、いつも光照射を必要とするわけではない。例えば化学反応（ケミルミネッセンス）、生体内反応（バイオルミネッセンス）、熱（サーモルミネッセンス）、摩擦（トリボルミネッセンス）、等の方法により励起分子を生成させることもできる。光照射で生成させる発光をフォトルミネッセンスとよんでいる。また電極の両端から電流を注入してえられる発光を電界発光あるいはエレクトロルミネッセンス（ＥＬ発光）とよんでいる。その例が図６に示してある。有機物のＥＬ発光を利用した、低エネルギーで作動し、鮮明でスペースを取らないディスプレーの開発が進められている。ブラウン管を用いたディスプレーが少なくなり、最近は液晶画面を用いたテレビや携帯電話が普及している。しかし液晶の場合は、バックライトとよばれる背景からの光を必要とし、その光を吸収させたり反射させたりすることにより、色を取り出している。バックライトの必要性から、エネルギーの省力化および薄型化といった点に問題が残る。EL 発光の場合はバックライトが必要ないので、非常に薄くでき、将来的には紙のようなディスプレーの可能性が指摘できる。

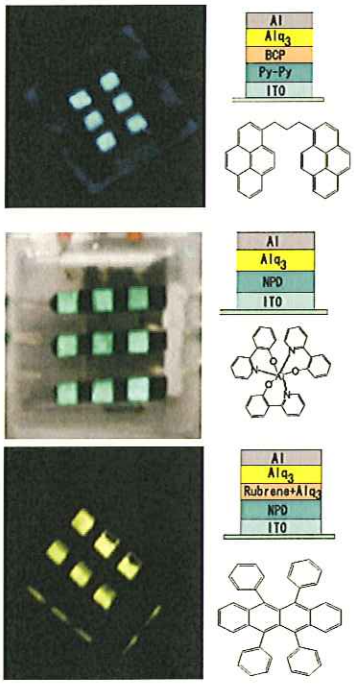

図６、ＥＬ発光素子作成のための層状構造と発光体の分子構造と測定写真。