光濃縮で生体分子の反応を加速！医療検査に新たな光を

大阪公立大学　理学研究科物理学専攻・教授
共創研究機構LAC-SYS研究所・所長
飯田　琢也

はじめに

みなさんは光で物体を動かすことができると思いますか？SFのような話ですが、条件が整えば、ミクロな世界では光の力(光誘起力)で物体を動かすことができます。光は電磁気学によって波(電磁波)として説明され、量子力学によって粒子(光子)として説明される二重性と呼ばれる性質を持ちます。電磁波としての性質に注目すると、レンズで集光した高強度の領域(焦点)に物質を引き寄せて捕まえることができます。粒子としての性質に注目すると古典的な粒子同様に運動量を持ち、光の照射方向に物質を押すことができ、このような作用を光圧と呼びます。また、ナノサイズに加工した金属に光を当てると効率良く熱を発生(光熱効果)することができ、液体中の狙った場所で流れを発生して光を照射している領域からずっと離れたところにある物質も集めることができます。私たちは、このような光誘起力や光熱効果による流れを利用して微小な物質を集めることができる「光濃縮」の仕組みを明らかにしながら(図1)、生命機能の基礎となる生体分子の反応を加速する仕組みを世界に先駆けて研究してきました。

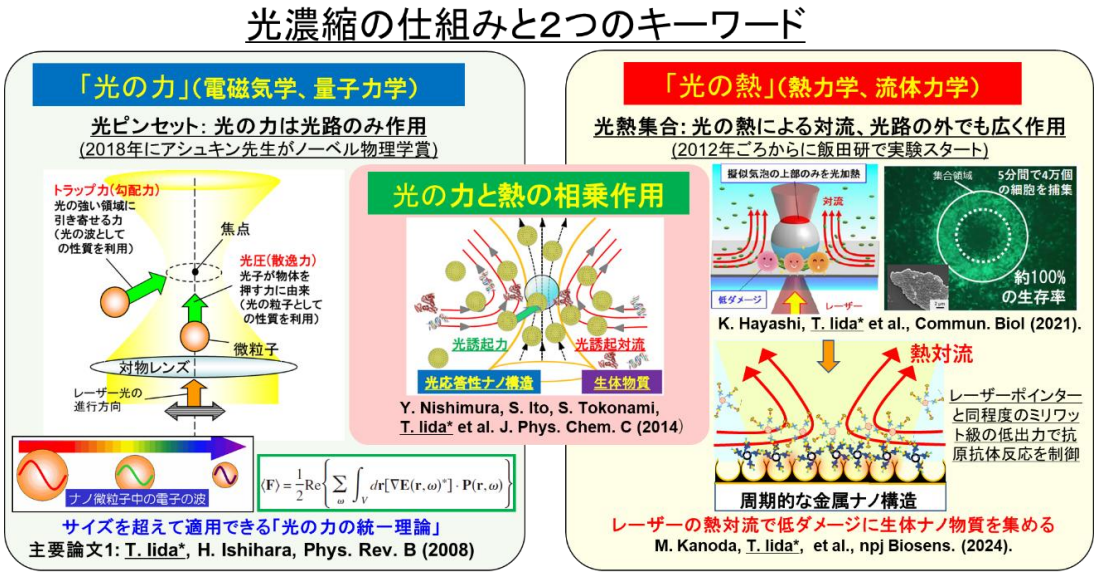


図１　分子認識の光誘導加速の基礎となる光濃縮の仕組み

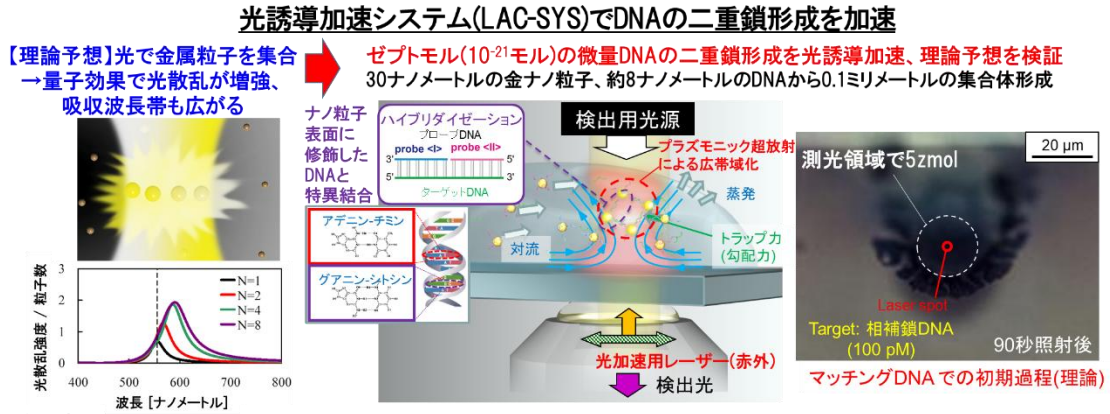
１．光の力と光の熱でミクロな物体を集める「光濃縮」の仕組み

光誘起力はミクロな原子の運動制御や、マイクロメートル以上の大きさの細胞などマクロな物体を一つ一つ精密操作できる光ピンセットなどの研究に用いられてきました。しかしながら、中間領域にある生体分子などのナノ物質も含む系統的な理論は20世紀末にはなかったため、物質のスケールを超えて適用できる光誘起力の統一的理論を電磁気学と量子力学を使って構築しました。私はこの理論を使って新しい現象を予言して自分自身で実験して実証したいという思いを強くし、レーザーをレンズで集光して顕微鏡で観測できる装置(光濃縮システム)を光物理化学の研究者に教えて頂きながら構築しました。この装置を使

って金属ナノ粒子の集合体に赤外レーザーを集光して捕まえると猛烈な対流が発生し、スポットよりもずっと広い数百ミクロンにわたる領域から焦点付近に引き寄せて高密度に集められる現象を見つけました。また、光照射する部位と対象物質を集める領域を空間的に分離した設計を行い、光熱効果による対流を使いつつもレーザー光を数分間照射するだけで数万個の細胞を約100%の生存率で集められる条件も明らかにしました。さらに自己組織化という方法で金属ナノ構造を周期的に並べてデザインするとレーザーポインターと同程度のミリワットレベルの微弱なレーザー光でも光濃縮ができることも分かりました。

2. 金属ナノ粒子を光で集めてDNAの二重鎖形成を光で加速する

金属ナノ粒子を高密度に捕捉すると粒子中の電子からの光散乱が量子効果によって増強し、吸収波長がシフト・広帯域化することを前述の光誘起力の統一理論を用いて予言しました(**図2**)。この効果を検証するためにバイオ分析化学の研究者から一本鎖のDNAを修飾した直径30ナノメートル(10^{-9} m)の金ナノ粒子の分散液を提供いただいて、塩基配列のマッチした一本鎖DNAとの混合液に光濃縮システムでレーザーを照射して顕微観察を行いました。理論の予言通り、液滴表面に光圧で押し付けられて高密度に集まった金ナノ粒子の吸収波長が広帯域化して透過像が暗くなるとともに赤外光を吸収しやすくなり、集合体の成長とともに光熱変換効率が高まって対流が発生しました。この対流に乗って遠方から運ばれてきた金ナノ粒子もDNAの二重鎖形成によって架橋されて集合体の成長に寄与し、わずか数十秒～数分間で0.1ミリメートルというマクロな集合体が形成できました。定規の目盛の1/10ですので目を凝らせば肉眼でも見えるサイズです。この実験は、生体分子の選択的な反応である「分子認識」を光の力と熱の相乗作用で加速できることを世界に先駆けて示した重要な成果です。さらに、極微量のDNAの二重鎖形成を加速して光学顕微鏡で観察できる大きさの構造体が形成できることから、様々な生体分子を高感度・迅速かつ高選択的に分析できる「光誘導加速システム(LAC-SYS)」の考案につながりました。



主要論文2：T. Iida*, J. Phys. Chem. Lett. 3, 332 (2012). 主要論文3：T. Iida*, Y. Nishimura, S. Tokonami*, et al. Sci. Rep. (2016).

図２　金属ナノ粒子の光集積の理論とDNAの二重鎖形成の光誘導加速の先駆的実験

3. 抗原抗体反応の光誘導加速と疾病マーカータンパク質の微量検出、医療検査への応用

私たちは、光誘導加速の仕組みをタンパク質にも適用したいと考え、免疫の基礎となる抗原抗体反応への適用にも取り組みました。一方、タンパク質は熱に弱いため、光熱効果でダメージを受けないように工夫する必要があります。そこで、人間の細動脈と同程度の幅(100マイクロメートル)のマイクロ流路にポンプでサンプルを送り込み、スポットを広げて光子密度を低くすることで、流体圧と光圧の相乗効果で抗体とタンパク質の衝突確率を高めつつ熱的ダメージを受けない条件を探索してマイクロフローLAC-SYS

を構築しました(図3)。また、光散乱に由来する光圧の効果を高めるため、光の波長と同程度の大きさのマイクロビーズの表面に抗体を修飾してプローブ粒子とし、生物学の研究者にも相談して、膜タンパク質を検出対象として選びました。その結果、光の力で抗原抗体反応を加速することに成功し、数十アトグラム(10^{-18} g)の微量膜タンパク質をわずか3分で検出することに成功しました。従来の抗原抗体反応を用いる方法に比べて約100倍の高感度化と約100倍の迅速化ができたことになります。さらに、同様の膜タンパク質を表面に発現しているエクソソームと呼ばれる細胞由来ナノ粒子は従来3～4時間超遠心分離をしてから測定していましたが、LAC-SYSではこのプロセスを省略して数分で測定ができることも分かりました。

このように、従来法より高感度・迅速・簡便に計測できることを実証し、医学系の研究者との共同研究で血液中の大腸がんのマーカータンパク質の測定にも成功しました。わずか5マイクロリットル(10^{-6} L)のゴマ粒程度の血漿中に含まれるマーカータンパク質を基準値の1000分の1の低濃度でも5分間のレーザー照射で計測できることも明らかにしました。医療現場で簡便に使える試作機の開発も産学連携で進めており、近い将来、血液一滴でがんの超早期診断を行える検査方法の確立につながると期待されます。

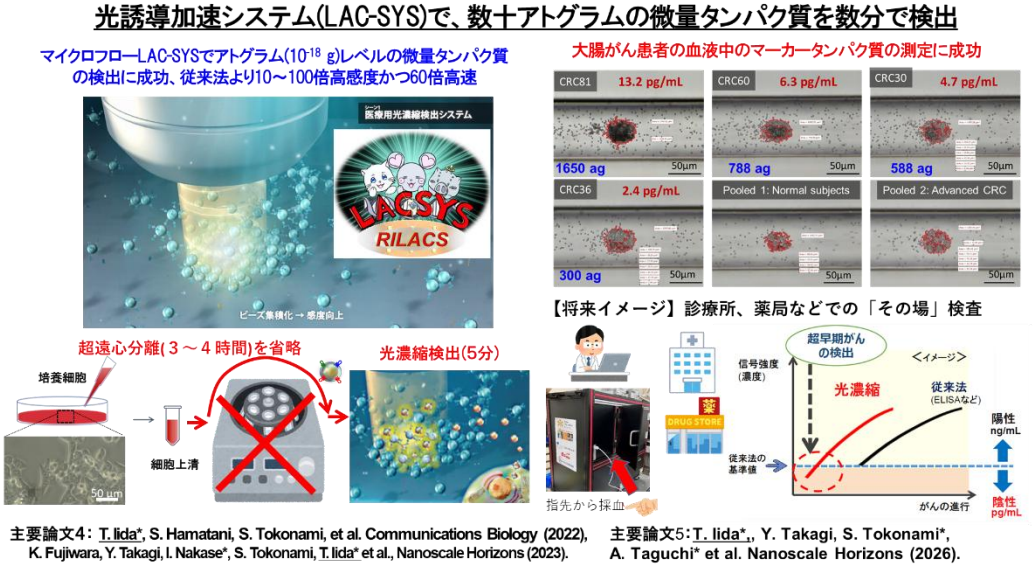


図３　マイクロフローLAC-SYSの仕組みと血漿中大腸がんマーカータンパク質での実証実験

おわりに

本研究で得られた成果は、がん以外にも認知症、感染症など様々な病気の医療検査に応用できる可能性があり、AI・IT技術との融合による「光濃縮デジタルトランスフォーメーション」(光濃縮DX)と呼ばれる次世代技術に発展することで、創薬、食品検査や環境・エネルギーなど幅広い社会的課題にイノベーションを与えるものと期待されます(図4)。 たとえば、食品分野では、食中毒菌の光濃縮による迅速・その場検査に関する基礎研究も推進されており、電流発生菌を電極上に光集積した環境浄化型微生物発電研究開発も行われています。また、狙った細胞に薬剤を光濃縮で導入して低コストかつハイスループットな薬効評価を目指した創薬分野での研究も推進されています。このようにLAC-SYSの研究は大きく広がっており、次世代を担う若手の皆さんの参画を心待ちにしています。

最後に、本研究はJST未来社会創造事業、科研費基盤研究(S)、AMEDムーンショットなどからご支援を頂きました。また、恩師や多くの共同研究者の皆さま、大学執行部の皆さま、ラボメンバー、卒業生、家族に支えられて推進することができました。ここに深く感謝申し上げます。



図４　分子認識の光誘導加速による社会的課題解決に向けた計測技術のイノベーション

用語集

光誘起力： 光が物質に及ぼす電磁気学的な力のことを指します。光誘起力の成分のうち、光子の運動量によりはたらく力(散逸力)に由来する圧力を「光圧」と呼ぶこともあります。直進するレーザー光を物質に照射すれば、光圧により押す力を与えることができます。また、レンズでレーザー光を強く絞ると光強度の強いスポット付近に物質を捕捉することができます。後者の現象を用いた技術を「光ピンセット」と呼び、開発者のArthur Ashkin博士に2018年ノーベル物理学賞が授与されました。

光熱効果： 物質が光を吸収した際に局所的に発生する熱のことを指します。レーザーを金属ナノ構造に照射することで発生した光熱効果を利用して対流を引き起こし、液中の微小物質(マイクロ物質やナノ物質など)を照射点近傍に集めることができます。近年では、集光レーザー照射下での局所的な光発熱効果により発生した対流やバブルなどの流体現象を利用して、対象とする微小物質を遠隔的に集合させる研究が盛んに行われています。

分子認識： 水素結合、金属配位相互作用、疎水性力、分子間力、π－π相互作用、ハロゲン結合、静電気力、ファン・デル・ワールス力などの非共有結合的な比較的弱い相互作用によって、ホスト分子（プローブ粒子表面のDNAや抗体に相当）およびゲスト分子（標的DNAやタンパク質に相当）が選択的(特異的)に結合する機構を指します。「鍵と鍵穴モデル」で例えられる場合もあり、本研究で対象とした抗原−抗体反応や、DNAやRNAなど核酸の二重らせん形成などが例として挙げられます。

光誘導加速： 主にレーザー光を、分子認識を示す分子を修飾した微粒子や基板に照射して光誘起力や光熱効果による対流を発生させて、対象となる生体関連物質を濃縮し、生体分子間の衝突確率を飛躍的に高めて反応を加速する仕組みのことを指します。