

レーザ発振する 蛍光タンパク質ドーブ生細胞

それは生きていて、そして、それはレーザを発振する！ 蛍光タンパク質を生産するように遺伝子組み換えされた単一生細胞は、高Qの空洞共振器内に置かれ、ナノジュールのナノ秒パルスで光ポンピングされた時、極小の生物レーザとして動作した⁽¹⁾。細胞は生き続けただけでなく、そのタンパク質を含む溶液よりも良好なレーザになった。

過去半世紀間に、レーザ作用は有機物を含む広範囲の材料において実証されてきた。しかし、米マサチューセッツ総合病院のウェルマン光医学センターのマルテ・ギャザー氏とユン・ソクヒョウン氏によって行われた上記

の実験は、生細胞がレーザ媒質としての役割を果たすことを初めて明らかにした。2人の物理学者はハーバード・メディカル・スクールとも連絡を取り合った。

第一著者のギャザー氏は、「このプロジェクトの動機の一つは、基礎科学的な好奇心だった。われわれは、われわれが知る限りレーザ光が自然界では放出されないことについて、根本的な理由があるのかどうか、生物学的物質または生物においてレーザ発振を達成する方法を発見できるのかどうかという疑問を持った」と語っている。

かれらの出発点は数十年前に下村修氏が発光クラゲで発見した緑色蛍光タンパク質であった⁽²⁾。発光クラゲ中のタンパク質はカルシウムイオンとの反応によって励起され青緑色蛍光を放射

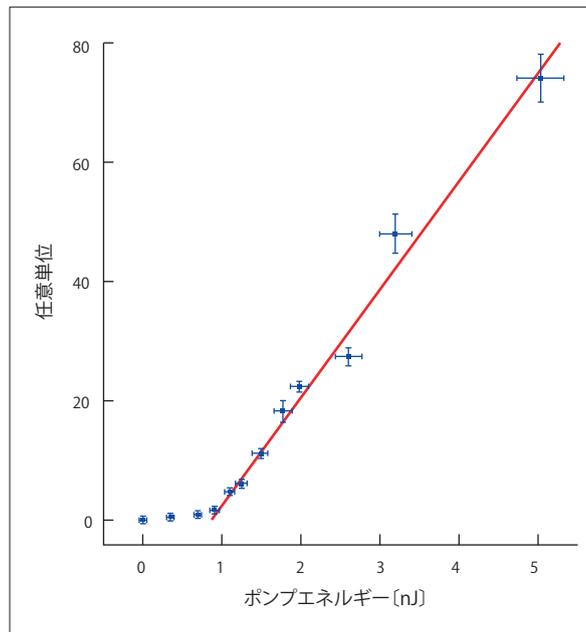


図1 蛍光タンパク質をドーブされた生細胞は516nmレーザ光を放射し、そのポンプエネルギー閾値は約1nJであった。

するが、研究室では青色または紫外光の照射によって509nmにピークがある蛍光を放射した。長い間、有機色素による蛍光が知られてきたが、下村氏の発見したものが最初の蛍光タンパク質である。

色素ではなく、蛍光タンパク質

多くの有機色素は可視スペクトル領域の明るい蛍光を放射するが、生細胞の蛍光イメージングにそれらを使用する生物医学研究者にとっては、それらの毒性が問題になった。蛍光タンパク質はこの問題を避け、遺伝子工学はそれが他のタイプの細胞内で生産されることを可能にした。1990年代に、緑色蛍光タンパク質のDNAコードを別のタンパク質の遺伝子コードに接続して遺伝子によって2つのタンパク質を融

合する技術が考案された。これによって、接着したタンパク質の蛍光を監視することによって元のタンパク質を追跡することができた。カリフォルニア大学サンディエゴ校のロジャー・チェン氏はさらに機能を強化したタンパク質を開発し、この開発に対して2008年に他の2人の研究者とともにノーベル賞を受賞した。

2002年の研究では溶液中の緑色蛍光タンパク質からの2光子励起によるレーザ発光を報告した⁽³⁾。ギャザー氏とユン氏は、まず、Qスイッチ532nmレーザを用いて赤色蛍光タンパク質の単一光子ポンピングを試みた。しかし、彼らは、465nmで緑色タンパク質

を励起することができる古い波長可変光パラメトリック発振器(OPO)を引っ張り出した後、緑色蛍光タンパク質に切り換えた。緑色光を強く反射する一対の反射鏡間の7mm共振器内を緑色蛍光タンパク質で満たすと、37nmにわたって広がる蛍光が観測された。その線幅は、OPOからの5nsパルスをそのタンパク質のレーザ閾値14nJ以上にすることによって、12nmに狭まった。

生物レーザの創製を目的として、彼らはヒトの胚腎臓細胞から抽出した細胞列に緑色蛍光タンパク質の遺伝子を運ぶプラスミドを注入した。それから、彼らは20μm間隔の一対の分布ブラッグ反射体によって形成された高Q共振器内の媒質中に緑色蛍光タンパク質を含む単一細胞を置いた。細胞は直径約15μmであったが、共振器面に触れる

ことはなかった。

彼らは、顕微鏡対物レンズを通して細胞上にOPOパルスを集光させ、溶液中よりも1桁以上低い1nJ近傍のレーザー閾値を観測した(図1)。ギャザー氏とユン氏はこの低い閾値は、「さもなければ辛うじて安定しているだけの」平行平面反射鏡共振器内に光を集光させたので、細胞の屈折率が周辺媒質より高くなった結果であると、Nature Photonicsに記している。閾値のすぐ上の、516nm波長レーザー線の幅はそれらの分光計の解像度0.04nmより狭かったが、ポンプパワーを高くすると複数の線が出現し、パルス間での変動がほとんどない複雑なモードパターンが観測された。

驚いたことに、この細胞はレーザー発

振後も生存し続けた。ギャザー氏とユン氏は、「細胞生存度がレーザー発振の影響を受けるという徴候は全く認められなかった」と記している。細胞の死はレーザー実験で使われたものに比して数桁高いポンプパワーで起きた。退色は10Hzの繰り返し周波数で数百パルスを超えるまで起きなかった。

この実験はその新規性のために一般誌で広く報道された。しかし、傷つけずに生きた細胞にレーザー発振を誘起する能力はバイオイメーキングに新しい可能性を開いた。放射されたモードパ

ターンは屈折率に強く依存するので、モードパターンから細胞内の3D構造を明らかにすることができた。明るく、指向性のある蛍光はフローサイトメトリの測定速度を向上させた。治療にも応用された。ユン氏は、「患者の内部に配置された生体適合構造からレーザー光を放射する能力は光線力学療法に役立つであろう」と語っている。ギャザー氏は、長期的には、生物レーザーはエレクトロニクスと生体組織のインタフェースを提供するであろうと期待している。(Jeff Hecht)

参考文献

- (1) M. Gather and S.H. Yun, Nature Photon., June 12, 2012; doi:10.1038/NPHOTON.2011.99.
- (2) O. Shimomura et al., J. Cell. Compar. Physiol., 59, 223-239(1962).
- (3) D.J. Pikas et al., J. Phys. Chem. B, 106, 4831-4837(2002)

LFWJ