

掃引干渉縞励起蛍光相関分光法のセンシング応用

Sensing Application of Fluorescence Correlation Spectroscopy with Traveling Interference Fringe Excitation (FCSTFE)

○服部 峰之¹ (1. 産業技術総合研究所 電子光技術研究部門 光センシンググループ)

○Mineyuki Hattori¹ (1. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Electronics and Photonics Research Institute, Optical Sensing Group)

E-mail: mineyuki.hattori@aist.go.jp

蛍光相関分光法(FCS)は、微弱な励起光を利用した粒子の運動性解析の方法であり、励起する領域内の蛍光ラベルした粒子数の変動を蛍光強度の揺らぎとして検出し、自己相関関数を解析する[1,2]。励起光強度が時間変化する条件下での蛍光相関分光法の一般的な理論を考察すると、掃引干渉縞励起の場合、励起領域のサイズに依存する効果と干渉縞周期に依存する効果に分離される。干渉縞の掃引による励起光強度の変調周期に対する、検出した蛍光強度の自己相関関数は、粒子系の運動状態を表し、励起光強度の時間空間変調による位相と振幅についての信号からは、従来のスポットによる励起の方法とは異なって、動的散乱法と類似の関数が得られる。蛍光強度を干渉縞の変調周期でロックイン検出して得られるフーリエ係数の自己相関関数も、動的散乱のそれと類似の形を持ち、この蛍光強度のフーリエ係数の自己相関関数の解析に位相検出器を用いる新たな方法を提案した。この原理に基づく測定系を試作し、溶媒中ポリスチレン粒子の拡散運動の評価に適用し装置の性能を示し、界面や膜中でのラテックス微粒子へ掃引干渉縞励起蛍光相関スペクトロスコピーを適応する場合の利点を明らかにした[3,4]。

蛍光を用いた膜中の粒子運動解析法には、蛍光退色回復法が主に用いられているが、この方法は強い励起光を必要とするので生体膜自体の破壊の問題が起こる。弱いプローブ光のみを用いているので、生きた試料に対する破壊の問題が軽減される。数個の粒子の運動における粒子間相関の効果は、従来のスポットによる励起の方法では、評価することが難しい。観測する粒子数を決めるスポット径と運動解析の空間スケールを決める縞周期とを独立に変化させられるので、生体試料でよくみられる様々な粒子間の運動相関、分子間相互作用の評価に適用できる。

蛍光顕微鏡では、生物の静的形態を観測するか、もしくは、比較的長い時間スケールで平均化された蛍光強度画像の経時変化を、観測対象の動きとして追っている。蛍光相関スペクトロスコピーは、より短い時間のスケールで、微小領域(画素)内での、拡散係数・反応定数といった動的なパラメータを2次元的にマッピングするための顕微鏡への発展も期待され、生体分子関連センシングへの応用が期待される。

[参考文献]

[1] D. Magde, et.al., Biopolymers 13, 29 (1974). [2] D. E. Koppel, Phys. Rev. A 10, 1938 (1974).

[3] M. Hattori, et.al., Rev. Sci. Instrum., 67, 4064 (1996). [4] M. Hattori, et.al., Single Mol., 1, 207 (2000).