

## 「生体の窓」を使った明るい観察が可能なシリコン蛍光体を開発

～毒性の強い元素や紫外線を用いない生体深部のイメージングを実現～

配布日時：平成28年4月25日14時  
国立研究開発法人 物質・材料研究機構

### 概要

1. 国立研究開発法人物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点のフランソワーズ・ウィニック MANA 主任研究者らの研究グループは、白幡直人 MANA 独立研究者らの研究グループ、名古屋大学大学院工学研究科の馬場嘉信教授と安井隆雄助教の研究グループと共同で、「生体の窓」と呼ばれる、光が生体を透過しやすい近赤外の波長域（650–1000nm）において、従来より毒性が格段に低く発光効率の良いシリコン蛍光体<sup>1)</sup>を使ったバイオイメージングに世界で初めて成功しました。
2. 蛍光バイオイメージングとは、肉眼では見ることのできない細胞などを蛍光体で標識して可視化することで、細胞の分布状態や動態をきたままリアルタイムに観察する手法です。この技術を応用することで、病気の発現に関わる細胞や生体分子の動態を観察して、その発現メカニズムの解明につながるなどが期待されています。従来の蛍光体は、その多くが紫外光や可視光に反応して発光しますが、紫外–可視光はヘモグロビンや水など生体組織に吸収されてしまい生体深部が観察できません。また、「生体の窓」の光に反応する蛍光体もありますが、それらの大半は発光効率が悪く、発光効率の良いものは鉛や水銀など毒性のある元素で構成されているといった問題がありました。
3. 本研究グループは、シリコンを主成分とする粒子を用いて、「生体の窓」の波長域に対して効率よく発光する蛍光体の開発に成功しました。シリコンはこれまでもバイオイメージング用の蛍光体として利用が検討されてきましたが、効率良い発光を得るには紫外光で励起する必要があり、また発光効率も低いといった問題に悩まされてきました。本研究では、コアである結晶シリコンのナノ粒子を炭化水素基と界面活性剤で覆う、新しいコア・ダブルシェル構造を考案しました。二光子励起法<sup>2)</sup>を利用すると結晶シリコンを近赤外光で効率良く光励起することができ、炭化水素基は発光量子収率を高める効果があります。さらに界面活性剤で覆うことで水溶性を付与しました。その結果、標的とする生体分子を効率よく標識できるようになり、生体透過性の高い波長域での蛍光バイオイメージングの実現につながりました。
4. 今後は、今回開発したシリコン蛍光体を利用し、生体深部の蛍光イメージングを目指します。
5. 本研究成果の一部は、文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム名古屋大学分子・物質合成プラットフォーム事業の一環として行われました。
6. 本研究成果は、Nanoscale 誌オンライン版にて2016年4月13日に掲載されました。

## 研究の背景

バイオイメージングとは、肉眼では見ることのできない生体分子の分布状態や動態を生きたままの状態を観察できるようにする手法のことです。蛍光法は、トモグラフィ法やMRI法と並びバイオイメージングを達成するための代表的な非侵襲性手法であり、イメージング実験が手軽に行え、イメージング像の分解能が高いことなどの理由から広く研究されてきました。蛍光法は、観察対象とする細胞などを蛍光体でマーカリングすることで、肉眼による可視化を達成します。生命現象を可視化することで、医療分野における予防・診断・治療、さらには創薬の発展に大きく貢献することができます。

蛍光体の代表的なものとして、有機色素、化合物半導体量子ドット、希土類イオン内包ナノ粒子が広く検討されてきました。問題点は次の5点に集約されます。

- ・多くの有機色素にとって発光には紫外光励起を必要とします。しかしながら紫外光の高いエネルギーにより蛍光体そのものが分解し退色してしまいます。
- ・紫外光は一部の生体組織も光励起してしまいます。生体分子から放射された自家蛍光がノイズとなり、コントラストや分解能向上の妨げになります。
- ・ヘモグロビンや水といった生体組織は可視光を吸収してしまうので、可視蛍光体を利用するには観察試料を薄くスライスするといった外科的施術が必要となるなど、利用に大きな制約が生じます。
- ・近赤外蛍光体の多くは発光量子収率<sup>3)</sup>が低いいため、強く光励起させる必要があります。高いフォトンエネルギーは観察部位だけでなく、その組織周辺部にも光照射によるダメージを与えてしまいます。
- ・近赤外波長域で発光効率が高い蛍光体として、化合物半導体量子ドットがありますが、その多くは鉛、砒素、水銀などの生体毒性の高い元素で構成されています。

これらの問題点を抜本的に解決する方法としてシリコンの利用が検討されてきました。結晶シリコンをナノ粒子化することにより、近赤外蛍光体を作製できることは知られていますが、紫外光励起が必要でした。それゆえ、例えば、650—1000nmに相当する光で励起しても、発光量子収率の高い近赤外光を放射させることはできませんでした。

## 研究内容と成果

本研究では、近赤外発光するシリコンナノ粒子の電子構造が二光子励起プロセスに相性が良いことを見いだしました。近赤外光を励起光源に使用することで、シリコンナノ粒子内に存在する電子が最も効率良く励起される大きさのエネルギーで励起され、その結果、明るく、コントラストが高く、解像度の良いバイオイメージングが可能になることを世界で初めて示しました(図1参照)。図1ではNIH3T3細胞<sup>4)</sup>がナノ粒子によって蛍光マーキングされています。本研究ではまた、ナノ粒子の濃度に対する細胞生存率を計測することで細胞毒性を調べ、本研究で開発したナノ粒子は細胞に対し非常に低毒性であることも示されました。このような成果は、図2に示すような「コア・ダブルシェル型」蛍光体を創製したことによるものです。以下に作製方法を示します。

- ・コアを結晶化シリコンの粒子とする
- ・コア表面を炭化水素基で化学修飾する(内殻の形成)
- ・炭化水素基で構成された内殻表面をプルロニック系界面活性剤<sup>5)</sup>で覆い外殻を形成する。

コアシリコンを覆うダブルシェルは内殻と外殻でそれぞれ異なる役割があります。

- ・内殻である炭化水素基は、コア内部で光励起により発生した電子-正孔キャリアが効率良く再結合し、高効率発光を促す役割を担います。それゆえナノ粒子は30—48%と高い絶対発光量子収率を示します。
- ・外殻であるプルロニック系界面活性剤は疎水基を内殻へ向け結合するため、外殻最表面は親水性で覆われます。それゆえ高い水溶性が付与されます。外殻を構成する分子の端は官能基変換できるので、適切な官能基変換により、マーカリングに生体分子識別機能を付与することが可能となります。
- ・750—800nmの近赤外波長域のレーザーを用いて、コアであるシリコンナノ結晶粒子を光励起すると、二光子励起プロセスを経て、高い量子収率で近赤外光を放射します。これは、近赤外波長シリコンナノ結晶が光励起極大を360—400nmの波長域に有するという一般的な化合物半導体とは大きく異なった電子構造的特徴を有しているために起こります。

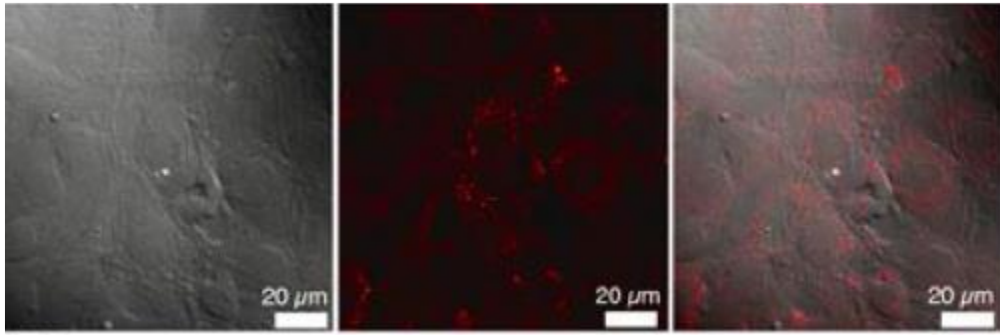


図1. NIH3T3 細胞の微分干渉顕微鏡像<sup>6)</sup> (左)、共焦点蛍光顕微鏡像(右)、両顕微鏡像を重ね合わせた像(中央)

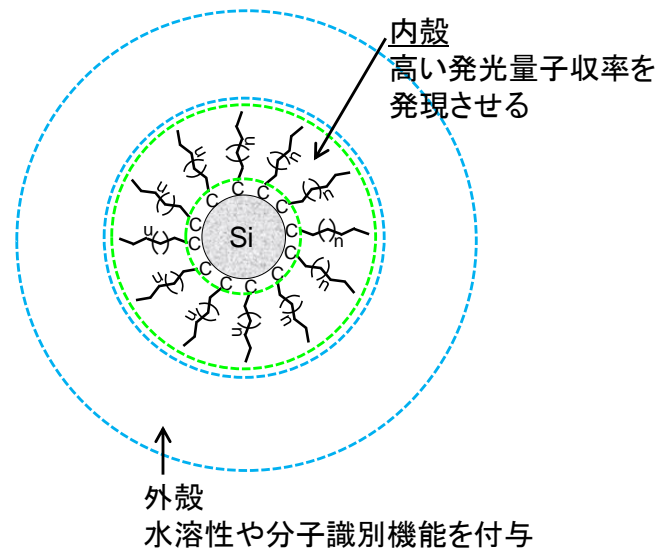


図2. コア・ダブルシェル構造を有するナノ粒子

### 今後の展開

本研究で開発した水溶性ナノ粒子は、近赤外光で二光子励起して近赤外光を放射するため、生体透明性の高い波長域での蛍光イメージングに適しています。さらに、二光子励起技術を利用することで高い発光量子収率をもつ発光を活用することができます。これらの特性を巧く利用して、生体深部の蛍光イメージングへ研究を展開させます。

### 掲載論文

題目：Functional Double-Shelled Silicon Nanocrystals for Two-Photon Fluorescence Cell Imaging: Spectral Evolution and Tuning

著者：Sourov Chandra, Batu Ghosh, Grégory Beaune, Usharani Nagarajan, Takao Yasui, Jin Nakamura, Tohru Tsuruoka, Yoshinobu Baba, Naoto Shirahata, and Françoise M. Winnik

雑誌：イギリス王立化学会 Nanoscale 誌に掲載

掲載日時：2016年

## 用語解説

### 1) 蛍光体

物質に光を照射した時、照射した光とは別の波長の光を放射する物質の総称。

### 2) 二光子励起

本来、一つの光子しか占有しない準位に、二つの光子が同時に吸収され、励起を起こす現象。それゆえ、原理的には、二つの光子から元の光子の2倍の光子エネルギーを持った一つの光子が生まれ、高い光子エネルギー（波長は二分の一）で物質を光励起することができる。

### 3) 発光量子収率

発光体が吸収した光子のうち、発光として放射される光子の割合を表す。発光量子収率が高いほど発光効率が良く発光強度が強い。

### 4) NIH3T3 細胞

マウスの胎児皮膚から分離した培養細胞。

### 5) プルロニック系界面活性剤

ポリエチレンオキシドとポリプロピレンオキシドのトリブロック共重合体。毒性が低く、生体適合性に優れている。

### 6) 微分干渉顕微鏡

観察試料の屈折率が周辺と違うことを利用して、通常の透過光観察では見えない構造を可視化する顕微鏡。

## 本件に関するお問い合わせ先

(研究内容に関すること)

国立研究開発法人 物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点

独立研究者 白幡直人 (しらはたなおと)

E-mail SHIRAHATA.Naoto@nims.go.jp (常時)

TEL: 029-859-2743 (6/30 まで不通)

国立研究開発法人 物質・材料研究機構

博士研究員 中村仁 (なかむらじん)

E-mail: NAKAMURA.Jin@nims.go.jp

TEL: 029-851-3354 (内線 3947) 常時

(報道・広報に関すること)

国立研究開発法人 物質・材料研究機構 経営企画部門 広報室

〒305-0047 茨城県つくば市千現 1-2-1

TEL: 029-859-2026, FAX: 029-859-2017

E-mail: pressrelease@ml.nims.go.jp