

## 3P065

### 銀ナノ微粒子のレーザートラッピングを用いた酵母細胞の高感度測定

(関西学院大院理工\*, 産業技術総合研究所\*)

○林 宏彰\*, 北濱 康孝\*, 伊藤 民武\*\*, 尾崎 幸洋\*

#### Sensitive detection from yeast cells by optically-trapped silver nanoparticle

(Kwansei Gakuin University\*, Advanced Industrial Science and Technology\*\*)

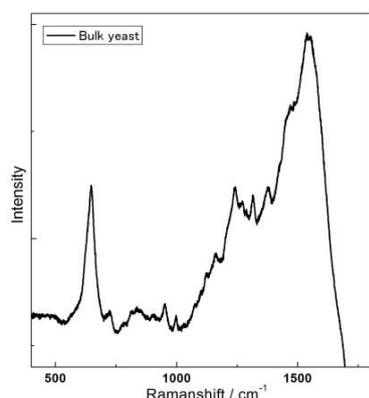
○Hiroaki Hayashi\*, Yasutaka Kitahama\*, Tamitake Itoh\*\*, Yukihiro Ozaki\*

【序論】酵母細胞とヒト細胞は共に細胞内に核を持つ構造を持つ。このため、酵母細胞を研究することで人体構造の解明に繋がると考えられている。酵母細胞を研究する際に、ラマン散乱を用いることで、細胞内の部位についての成分の違いをスペクトルとして観察することができる。しかし、ラマン散乱は非常に感度が低いという欠点を持っている。近年、金属ナノ粒子を用いて感度を大きく増強できる表面増強ラマン散乱(SERS)が注目されている。また、レーザートラッピング法と呼ばれる近赤外の光を用いて金属を補足し任意の位置に移動できる技術がある。これらの技術を用いて、細胞内の部位による違いや異なるレーザー照射時間にすることで、酵母細胞について研究を行った。

【実験】酵母細胞と濃縮した銀ナノコロイド分散液を混合したバルク状態のサンプルに、514nmのレーザーを照射することで SERS スペクトル測定を行った。次に、この装置ではレーザートラッピングを行えないため、当研究室では 1064 nm の近赤外光によるレーザートラップ機能を持つ暗視野顕微分光システム(励起光波長: 532 nm)を利用した装置を作製した。この装置を用いて、異なる部分からの酵母細胞の SERS 測定を行った。さらに、酵母内の近い部位からの短時間近赤外光を照射したものと、長時間近赤外光を照射したものの SERS スペクトルの比較も行った。また、酵母細胞からの近赤外光のみを用いた表面増強ハイパーラマン散乱(SEHRS)の測定を行ったが、シグナルを検出できなかった。このため、酵母細胞に色素分子であるクリスタルバイオレットを吸着させるグラム染色法を用いて、単一色素分子と比較を行うことで酵母細胞と色素分子の関係についての考察を行った。

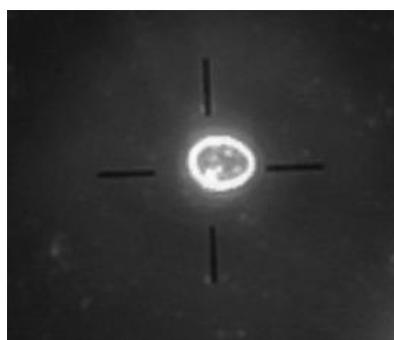
【結果と考察】バルク状態である酵母細胞からの SERS スペクトルを Fig.1 に示す。次に、近赤外光で酵母細胞に銀ナノ粒子をトラップしている状態を Fig.2 に示す。この図の中心の十字の部分に近赤外光が照射されており、銀ナノ粒子を捕捉することができている。銀ナノ粒子が吸着した異なる位置から SERS スペクトルの測定を行った。ある部分における近赤外光を短時間照射したものと長時間照射したものの差分スペクトルを Fig.3 に示す。過去に報告された酵母上の単一銀ナノ粒子からの SERS スペクトル[1]とこれらのスペクトルを比較したが、バンドの位置は異なるという結果が得られた。また、近赤外光を長時間照射することで、スペクトルの S/N が良くなったと言える。近赤外光を照射し続けることで、細胞膜に銀ナノ微粒子を動かす力が加わり続け

る。この力によって、銀ナノ粒子が細胞膜を破って酵母内に押し込まれたと考えた。銀ナノ粒子が細胞内に入ることによって細胞内の成分も観測されたことから S/N が向上したと考えられる。



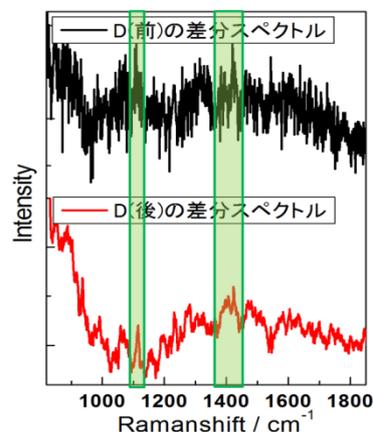
**Figure 1**

バルク状態の酵母細胞から得られた SERS スペクトル



**Figure 2**

酵母細胞に銀ナノ粒子をトラップしている状態

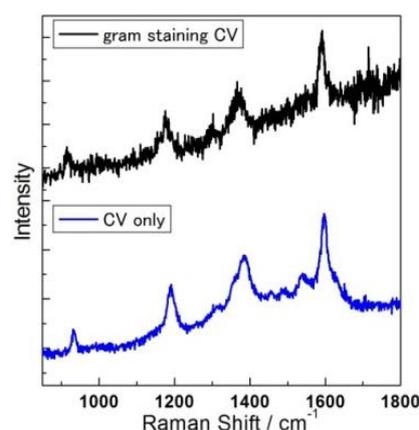


**Figure 3**

近赤外光の照射時間の違いによる差分スペクトル

グラム染色法を用いた酵母細胞と単一色素分子を比較したスペクトルを Fig.4 に示し、ピーク位置を Table 1 に示す。グラム染色を行うことで、バンドのピーク位置に変化が起こった。これは、酵母細胞と色素分子の間で相互作用が起きていると考えている。現在、どのような相互作用が起きているか分かっておらず、同様に相互作用が起きた原因についてもわかっていない。今後は、これについて考察していく。

本研究は JSPS 科研費 25410029 の助成を受けたものです。



**Figure 4**

グラム染色した酵母細胞と単一色素の比較

**Table 1** ピーク位置変化

Raman Shift / cm <sup>-1</sup>	
グラム染色(CV)	色素のみ(CV)
915	934.8±0.9
1176	1190.8±3.3
1366	1380.6±3.0
1592	1595.6±3.9

#### 参考文献

[1] A. Sujit, T. Itoh, H. Abe, K. Yoshida, M. S. Kiran, V. Biju, M. Ishikawa, *Anal. Bioanal. Chem.*, **394**, 1803–1809 (2009)