

1A10

単一金ナノ粒子の顕微光散乱分光と細胞イメージングへの応用

(阪大院工) 朝日剛、宇和田貴之、田中 豪、山口 敦、増原 宏

[序] 金ナノ粒子は、可視域に局在表面プラズモン共鳴に由来する強い吸収、光散乱を示し、その分光スペクトルが媒体屈折率や分子吸着に応答して敏感に変化することが知られている。近年、こうした金ナノ粒子のユニークな光学特性を利用した、DNA センシングや細胞イメージングなどの生体関連分野への応用が盛んに研究されている。これまで我々は、顕微光散乱分光法により金ナノ粒子のレイリー散乱スペクトル単一粒子レベルで測定し、プラズモン共鳴のサイズ依存性や局所環境効果を詳細に議論できることを報告してきた。また最近では、共焦点顕微イメージング法と組み合わせることにより、媒質中の金ナノ粒子の分光測定をサブミクロンの空間分解能で3次元空間分解して測定できることを示している。本発表では、金ナノ粒子を取り込ませたマウス NIH-3T3 単一細胞の結果を示し、金ナノ粒子をプローブとした細胞・組織の分光イメージングの有効性について議論する。

[実験] Fig. 1 に共焦点光散乱顕微分光装置の概略図を示す。光源には、フェムト秒 Ti:sapphire レーザー(76 MHz, 100 fs, 780 nm)の基本波をフォトニック結晶ファイバー(コア系 1.8 μm , 長さ 100 cm, ゼロ分散波長 750 nm)に導入し発生させた白色光(500~750 nm)を用いた。白色光を倒立方顕微鏡の対物レンズ(100倍, N.A. 0.7)を通して試料表面に集光し試料からの後方散乱光を同じ対物レンズで集め、イメージングピンホールを通した後に ICCD 分光器に導いた。試料はピエゾステージ上に置き、ステージを走査させながら各位置での散乱光強度スペクトルを測定した。ピエゾステージの稼動範囲は面内方向にそれぞれ 100 μm 、光軸方向に対して 100 μm である。

[結果と考察] 装置の空間分解能を評価するためにインデックスマッチングオイルで被ったガラス基板表面に単一金ナノ粒子(粒子径100nm)の分光測定を行った。その結果、空間分解能は面内方向で約300nm、光軸方向に約800nmであった。これらの値は、回折限界にほぼ一致するものである。一方、実測の散乱スペクトルの形状は球形金ナノ粒子の表面プラズモン共鳴光散乱スペクトルとよく一致し、本装置を用いて光散乱スペクトルを定量的に評価できることを確認した。

Fig2.に培養液中に平均粒径100nm の金ナノ粒子コロイドを添加した後、数時間後に測定したマウス NIH-3T3 生細胞の共焦点顕微光散乱像を示す。細胞組織からの散乱に加えて、いくつかの明るいスポットが、細胞膜近傍と思われる箇所から観測された。これらの輝点の光散乱スペクトルの多くは、Fig 3(a)に示すような表面プラズモン共鳴に特有の600nm 付近にピークを持つブロードなスペクトルを示し、金ナノ粒子からの散乱であると考えられる。輝点によっては Fig 3(b)に示すような、ナノ粒子ダイマーと考えられるスペクトルも観測された。一方細胞組織からと考えられる弱い散乱のスペクトルは、観測波長域(500~750nm)でフラットなスペクトル形状であった。また、3次元空間分解イメージから、いくつかの金ナノ粒子が細胞内に取り込まれていることを確認した。このように、広

帯域の光散乱スペクトルを 3 次元空間分解測定することによって、細胞内の金ナノ粒子の位置だけでなくその分散・凝集状態を議論できることを示した。当日は、金ナノ粒子をプローブに用いた、細胞・生体イメージングの研究例も紹介し、蛍光分光法との比較下、その特徴と将来展望について考察する予定である。

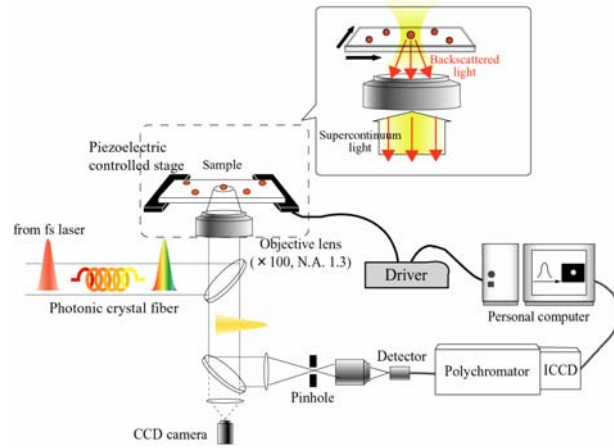


Figure 1 共焦点光散乱顕微分光装置の概略図。

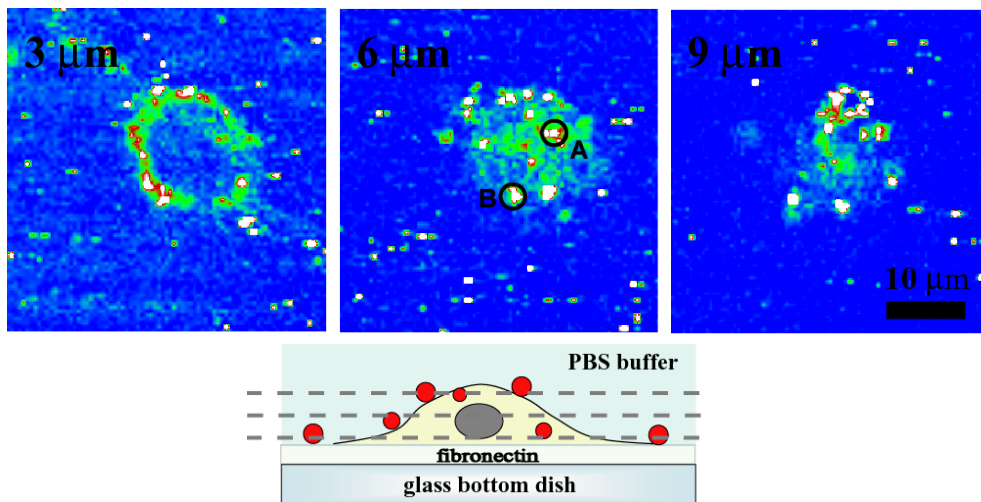


Figure 2 培地からそれぞれ3, 6, 9 μm の高さにおけるマウス NIH-3T3 生細胞の共焦点顕微光散乱像とイメージ図(下段)

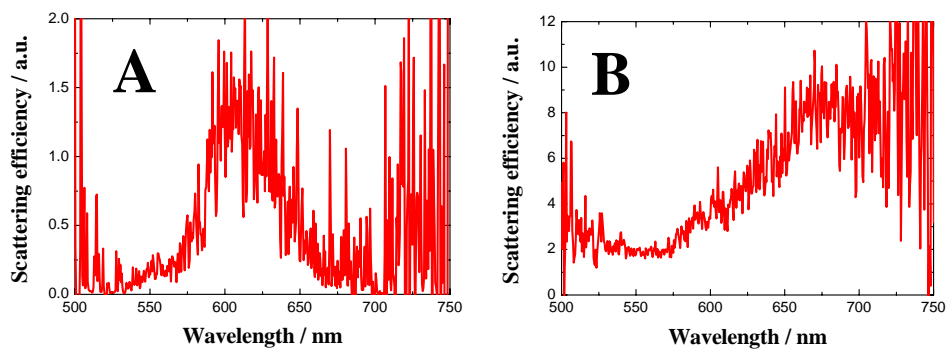


Figure 3 Fig2 中央の図中の A, B で示した箇所の光散乱スペクトル