

金ナノロッドによる細胞の光破壊

(九大院工) ○新留康郎、高橋宏信、中嶋直敏、山田 淳

近年、金ナノ粒子など無機材料が機能性バイオマテリアルとして注目されている。特に金ナノロッド(NR)は近赤外域に強い吸収バンドを有するために新しい近赤外機能材料となりうる。我々は、既に、NRを用いて、近赤外パルス光によるプラスミドDNAの能動放出を報告した¹⁾。一方で、NRはカチオン性界面活性剤中で作製される。カチオン性界面活性剤は高い細胞毒性を有するため、NRをバイオサイエンスの分野で利用するためには、この界面活性剤を除去する必要がある。本研究ではフォスファチジルコリン(PC)で表面修飾した金ナノロッド(PC-NRs)を作製し、その細胞毒性とNRの光反応による細胞破壊について検討した。

実験には三菱マテリアル総合研究所から提供されたNRを用いた。PCを溶解させたクロロホルムとNR水溶液(カチオン性界面活性剤を含む)を混合し、クロロホルム相に界面活性剤を抽出した。NRは3回の抽出の後に、遠心分離して実験に用いた。

HeLa細胞用いて、細胞毒性を評価した結果、PC-NRsの細胞毒性は十分に低いことがわかった²⁾。Nd:YAGパルスレーザーの基本波(1064 nm, 10 ns, 250 mJ/pulse, 10 Hz, beam diameter: ~ 6 mm)をHela細胞に照射しても細胞死は誘起されない。図1に金ナノロッド共存下で特定の細胞にパルスレーザー光を照射した場合の光学顕微鏡像を示す。(a)の赤い円内に2 mJ/pulseの近赤外レーザー光(1064 nm)が2分間照射された結果、細胞の核の部分がトリパンブルー染色され、周囲の細胞には変化が無いことがわかる。このことから、レーザー光照射によって、照射された細胞のみ機能が失われていることがわかった(b-d)。金ナノロッド不在下ではレーザー光照射に伴う細胞破壊は一切起こらなかった。金ナノロッドの光吸収に伴う細胞破壊は極めて局所的に起こすことができることが明らかになった³⁾。

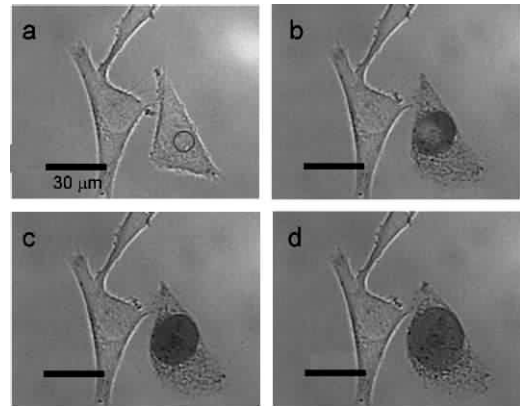


Fig. 1 Microscopic images of HeLa cells treated with PC-NRs before (a) and after (b–d) laser irradiation (several seconds (b), 1 min (c) and 2 min (d) after the laser irradiation). The medium in the dish consisted of a mixture of 25 μ L DMEM, 5 mL PC-NR solution (8 mM) and 10 mL Trypan blue solution. The final PC-NR concentration was about 1 mM. Fundamental light of a pulsed Nd:YAG laser (1064 nm, 2 mJ/pulse, 2 min) was passed through a 40 \times objective lens. The laser-irradiated spot is shown by the gray circle

96穴のガラス底プレートを用いて、MTTアッセイによってレーザー照射による細胞死を評価する実験を行った。Fig. 2に異なる濃度のPC-NRを含む培地を用いて近赤外レーザー光照射を行った際の細胞生存率を示す。NRを含まない培地にレーザー光照射を行っても、細胞死は全く誘起されなかった。一方、培地に0.8 mMのPC-NRを含む場合は2分のレーザー光照射で細胞がほぼ死滅した。0.4 mMのPC-NRを培地に添加した場合は、4分の照射で約40%の生存率になるが、その後は細胞死が誘起されないことがわかる。この時間はNRがレーザー光照射によって球状粒子に変換される時間と一致しており、NRを用いた細胞破壊はNRの形状変化によって自動的に停止することが明らかになった。形状変化によってNRに特有の近赤外表面プラズモンバンドが失われることが、この現象の原因である。

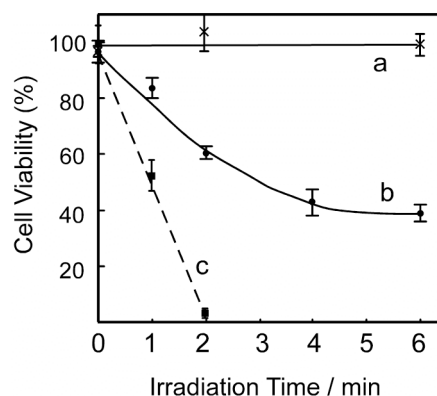


Fig. 2 Viabilities of HeLa cells following pulsed laser irradiation (1064 nm, 10 Hz, 250 mJ/pulse) without (a) and with (b, c) PC-NRs in medium. PC-NR concentrations in medium: (a) 0, (b) 0.4, (c) 0.8 mM (Au atoms).

近赤外に存在するNRの強い表面プラズモンバンドによって効率の良い光熱変換反応が起こり、照射部位に生成する熱によって細胞破壊が起こることが明らかになった。細胞死と同時にNRの球状粒子への形状変換が進行するので、NRを光増感剤に用いると過剰な細胞死を抑制することが可能である。

参考文献

1. H. Takahashi, Y. Niidome, and S. Yamada, *Chem Commun*, 2247 (2005)
2. H. Takahashi, Y. Niidome, T. Niidome, K. Kaneko, H. Kawasaki, and S. Yamada, *Langmuir*, **22**, 2 (2006).
3. H. Takahashi, T. Niidome, A. Nariai, Y. Niidome, and S. Yamada, *Chem. Lett.*, **23**, 731 (2006).
4. H. Takahashi, T. Niidome, A. Nariai, Y. Niidome, and S. Yamada, *Nanotechnology*, revised manuscript has been submitted.