

## 2P108

### Hela 細胞中の金ナノロッドの顕微分光イメージング

(阪大院工<sup>1</sup>、九大院工<sup>2</sup>) ○田中豪<sup>1</sup>、朝日剛<sup>1</sup>、宇和田貴之<sup>1</sup>、増原宏<sup>1</sup>、東元恵佑<sup>2</sup>、新留康郎<sup>2</sup>、新留琢郎<sup>2</sup>、中嶋直敏<sup>2</sup>、山田淳<sup>2</sup>

#### [序]

我々はこれまでに、顕微光散乱分光法により金ナノ粒子のような非発光性ナノ粒子の分光スペクトルを高い空間分解能で測定できることを示してきた。本発表では、金ナノロッド(NR)を取り込ませたHela細胞の結果について報告する。近年、近赤外域に強い吸収を示すNRの生体試料への応用が注目されており、NRを取り込ませたHela細胞に近赤外パルスレーザーを照射することによって、単一細胞を選択的に光破壊できるということが報告されている<sup>[1]</sup>。しかし、NRが細胞内のどの場所に存在するかについてはよくわかっていない。そこで本研究では、NRを取り込ませたHela細胞の顕微光散乱スペクトルをもとに、細胞内でのNRの分布や分散・凝集状態について考察した。

#### [実験]

実験装置の概略図を Fig.1 に示す。本装置は、通常の暗視野顕微分光と共焦点光散乱分光の二通りの測定が可能である。前者の場合は、ハロゲンランプからの白色光を暗視野コンデンサーレンズで試料に集光し、試料からの散乱光を対物レンズで集め、結像面においたピンホールで空間選択した後、CCD 分光器でスペクトルを測定した。暗視野像はデジタルカメラで撮影した。一方、後者の場合、フェムト秒レーザーをフォトニック結晶ファイバーに導入し発生した白色光を光源に用いた。白色光を対物レンズで 1  $\mu\text{m}$  以下のスポットに集光し、試料からの後方散乱光を同じ対物レンズで集めピンホールを通した後、CCD 分光器に導いた。ピエゾステージ上に置いた試料の位置を走査することによって、イメージングと同時に各位置での光散乱スペクトル測定を行う。

NR (長さ 約 65 nm、幅 約 11 nm) を細胞毒性の低いリン脂質phosphatidylcholine (PC)で保護したPC-NRを調整した<sup>[2]</sup>。PC-NRを添加した培養液中でHela細胞を一定期間培養した後、過剰なPC-NRは除去した。このようにしてNRを取り込ませたHela細胞をガラス基板上に固定した後、グリセロールを用いてプレパラートを作製し試料とした。

#### [結果と考察]

ハロゲンランプを照明光に用いて測定した暗視野像を Fig.2 に示す。Hela 細胞のみの暗視野像では、細胞内に暗い領域が観測された(Fig.2 a)。これは細胞の核に対応していると考えられる。一方、NR を取り込ませた Hela 細胞の暗視野像では、細胞全体が明るく観察された(Fig.2 b)。

細胞内の各位置で測定した散乱効率スペクトルを Fig.3 に示す。Hela 細胞のみ(Fig.3 A,C)の場合、短波長側にいくにしたがって散乱強度が単調に増加するスペクトルが得られた。細胞内での場所により強度は異なるが、スペクトル形状は類似していた。NR を取り込ませた Hela 細胞(Fig.3 B,D)の場合、細胞内で観測された輝点の散乱効率スペクトルは 500 nm 付近にブロードなピークを示した。一方、それ以外の位置では Hela 細胞のみの場合と同様のスペクトルが得られた。NR

とその凝集体は 500 nm 付近にブロードなピークを示すことから、この輝点は NR の凝集体による散乱と考えられ、NR は細胞内で均一には存在していないことが示唆された。このように、光散乱分光スペクトルから細胞内での NR の分布に関する知見を得ることができると考えられる。今後、共焦点光散乱顕微分光・イメージングを行い、発表当日は、細胞内での NR の分布や凝集状態についてより詳細に議論する予定である。

[1] H. Takahashi, Y. Niidome, T. Niidome, et al., Chem.Lett. 2006, 35, 500-501

[2] H. Takahashi, Y. Niidome, T. Niidome, et al., Langmuir 2006, 22, 2-5

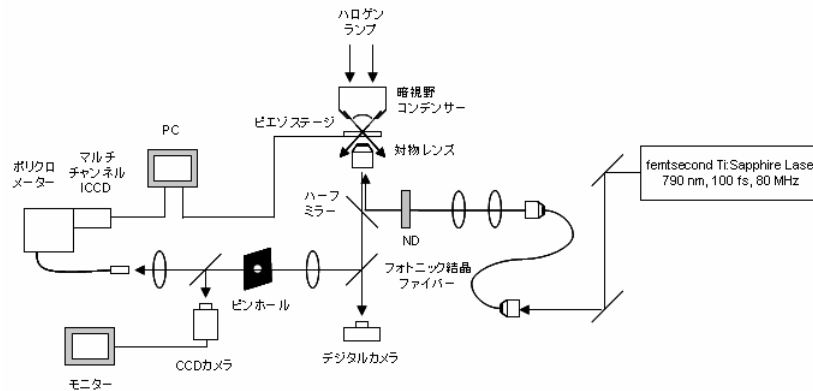


Figure 1 共焦点光散乱顕微分光・イメージング装置の概略図

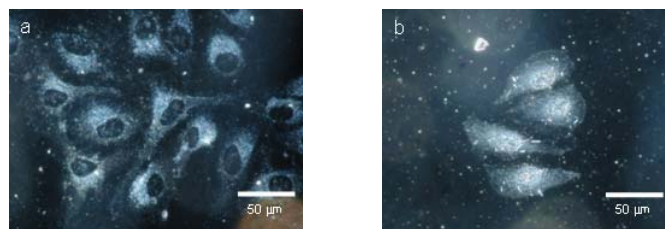


Figure 2 (a)Hela 細胞の暗視野像 (b)NR を取り込ませた Hela 細胞の暗視野像

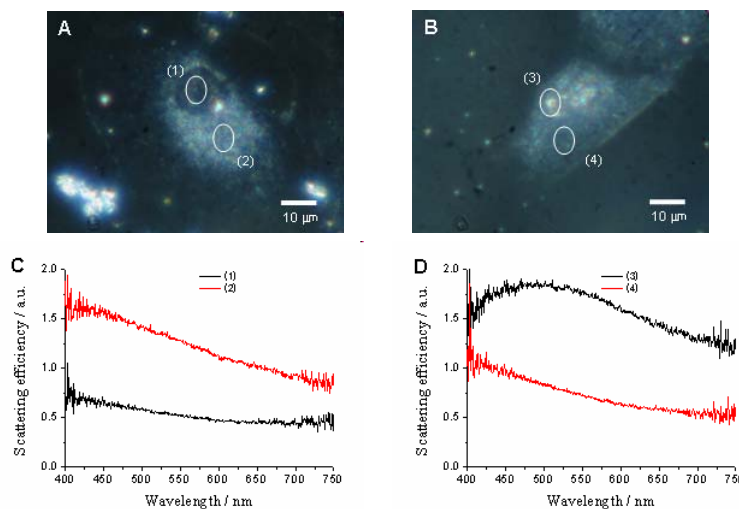


Figure 3 (A)Hela 細胞の暗視野像 (B)NR を取り込ませた Hela 細胞の暗視野像  
(C)(A)に示す範囲内の散乱効率スペクトル (D)(B)に示す範囲内の散乱効率スペクトル