

生きた細胞に対する短波長可視光の毒性評価

Valuation of damage of living cells by short wavelength visible light

阪府大院・工¹, 阪府大院・生環² °難波慎太郎¹, 川原翔平¹,
松山哲也¹, 和田健司¹, 堀中博道¹, 川喜多愛², 村田香織², 杉本憲治²

Osaka Pref.Univ., ° S. Namba, S. Kawahara, T. Matsuyama, K. Wada, H. Horinaka,

A. Kawakita, K. Murata, K. Sugimoto

E-mail: nanba0228@pe.osakafu-u.ac.jp

はじめに ライブセルイメージングは、生細胞内の特定部位の蛍光ラベル化により、生命活動を可視化する技術であり、細胞に対する薬や食品の毒性を評価する目的で利用されている。ただし、観察用の励起光が細胞にダメージを与えることが問題となっている。本研究では、短波長可視光が生細胞に与える毒性の定量的評価を行ったので報告する。

実験装置 蛍光顕微鏡の光学系を図1に示す。白色または青色LEDから放出された光は、励起フィルターにより緑色光（560 nm）または青色光（455 nm）が抽出され、シャッター内の細胞に集光される。シャッター内の悪性黒色腫由来細胞は、その細胞核が Plum（赤色蛍光タンパク質：蛍光波長 650 nm）と CFP（青色蛍光タンパク質：蛍光波長 470 nm）によりラベル化されており、その蛍光は、蛍光フィルターにより励起光と分離され、EMCCDカメラにより検出される。

実験結果 青色光（パワー密度：0.2 W/cm²）のダメージにより細胞核が縮小する現象が観察されたため、その面積変化を光毒性の定量評価に用いた。C言語プログラムにより細胞核の輪郭を識別し、その面積を経時的に計測した。その際、光学シャッターの開閉時間を制御することにより照射時間を変化させ、細胞核の面積変化に及ぼす影響を調べた。結果を図2に示す。面積が、元の0.8倍まで縮むと、その後、回復せずアポトーシス（細胞死）することが多かったため、そこまで

の経過時間を指標とした。照射励起光量に応じて細胞にダメージが蓄積されることが確認できた。

まとめ LEDから放出された短波長可視光（455 nm, 560 nm）が生細胞に与えるダメージを細胞核の面積変化により評価した。光照射開始時から細胞核の面積が0.8倍に縮小するまでの時間は、照射励起光量に依存することが確認された。これより、励起光の毒性の評価法として、細胞核面積の数値化が有用であることがわかった。

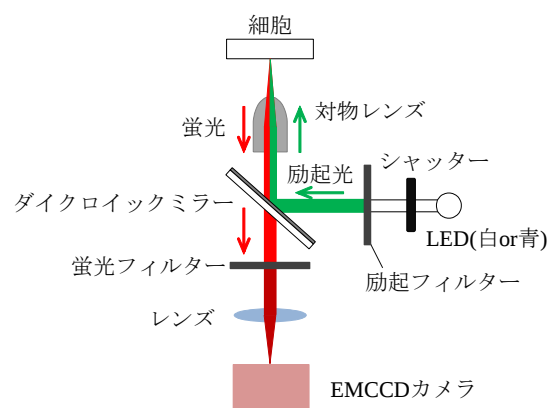


図1 蛍光顕微鏡の光学系

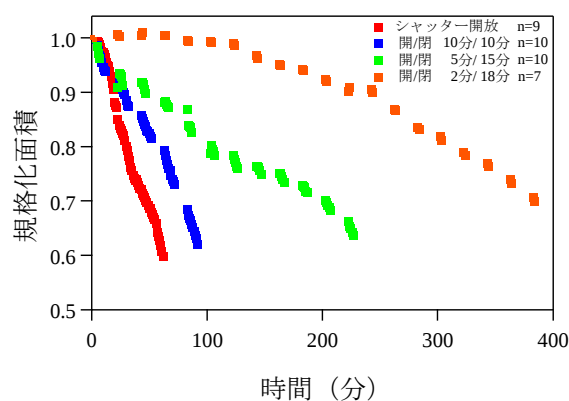


図2 励起光毒性の照射時間依存性