

Long-range SPR 法を利用した高感度・高深度な生細胞可視化法の開発 Detection of living cell reactions by means of long-range SPR

¹ 広 大 医、² 九 大 理、[○] 柳 瀬 雄 輝¹、川 口 智 子¹、玉 田 薫²、秀 道 広¹

¹Hiroshima Univ., ²Kyushu Univ.

Yuhki Yanase¹, Tomoko Kawaguchi¹, Kaoru Tamada², Michihiro Hide¹

E-mail: yyanase@hiroshima-u.ac.jp

【目的】

生きた細胞の挙動をインタクトな状態で検出する技術は、基礎研究分野、臨床分野において強く求められている。我々はこれまでに、表面プラズモン共鳴 (SPR) 現象を利用することで、生きた細胞の刺激応答を非標識、かつリアルタイムに検出できることを示してきた。さらに、我々が開発した、SPR イメージング技術を利用することで、1 細胞毎、さらには細胞局所での応答をリアルタイムにイメージングできることを報告してきた。しかしながら、従来技術では、応答の弱い細胞の検出が困難、焦点の合う領域が狭い、検出深度が浅いために細胞の付着面近傍の屈折率変化のみを検出しているなどの問題点があった。そこで本研究では、Long-range SPR (LRSPR) 技術と、入射光として近赤外光を組み合わせることにより、従来の SPR イメージング法よりも、さらに高感度で、検出深度の深いイメージング技術を開発する。

【方法】

生細胞としてラットマスト細胞株 (RBL-2H3) を使用した。SPR イメージングセンサチップは高屈折ガラス (RI=1.72) に 50nm の金薄膜を蒸着したものを使用した。Long-range SPR イメージングセンサチップは高屈折ガラスに 1000nm の透明樹脂 (Cytop) を成膜し、その上に 30nm の金薄膜を蒸着したものを使用した。光源には、可視光源として赤色 LED (640nm)、近赤外光源として白色 LED (バンドパスフィルタを入れて 800nm としたもの) を使用した。各 SPR センサチップの検出長は Winspall (MPIP, Mainz, Germany) により計算した。

【結果】

今回開発した LRSPR イメージングセンサにより、センサチップ上の生細胞応答をリアルタイムに可視化することができた。また、従来法よりも入射角度を浅く、共鳴曲線のディップをよりシャープにすることに成功した。さらに、センサチップ上の検出長シミュレーションの結果より、LRSPR と近赤外光を組み合わせることで、従来の SPR イメージング法よりも生細胞深部の状態を可視化できることが示された。

【考察】

本研究により、LRSPR イメージングチップと近赤外光を組み合わせることで、従来の SPR イメージング法よりも高感度、かつ細胞深部の状態をイメージングできることが示された。さらに LRSPR チップの樹脂・金膜厚と入射光波長の組み合わせを変えることにより、異なる深度の細胞状態の観察も可能となる。今後、様々な深度における細胞内領域の屈折率変化をイメージングすることにより、これまでの SPR イメージングや他の手法では知り得なかった新しい細胞のダイナミクスの解明につながると期待される。

【謝辞】

本研究の一部は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の助成により行われた。