

生細胞に投与した薬剤のアルキン標識・増強ラマンイメージング

Alkyne-tag enhanced Raman imaging of drug administrated in live cells

阪大院工¹, 理研², AMED-CREST, AMED³, ○安藤 潤^{1,2,3}, 関谷 拓正¹, Ka Den¹, 山越 博幸²,

どど孝介^{2,3}, 袖岡 幹子^{2,3}, 河田 聡¹, 藤田 克昌^{1,3}

Osaka Univ.¹, RIKEN², AMED-CREST, AMED³, ○Jun Ando^{1,2,3}, Takumasa Sekiya¹, Den Ka¹,

Hiroyuki Yamakoshi², Kosuke Dodo^{2,3}, Mikiko Sodeoka^{2,3}, Satoshi Kawata¹, Katsumasa Fujita^{1,3}

E-mail: fujita@ap.eng.osaka-u.ac.jp

ラマン散乱顕微鏡は、分子振動情報を元に、検体分子を直接同定し、その空間分布を取得できる。生体内に投与された薬剤の計測にラマン顕微鏡を応用できれば、広く医学・生物学研究に貢献できる。しかしながら、細胞内分子のラマン散乱が背景光となること、ラマン分光法の感度が低いことが問題となり、実用化が困難であった。今回我々は、アルキン標識と金属ナノ粒子を用いることで、生体内に導入した薬剤を高感度・高選択的に検出する手法を開発した。アルキンは、炭素-炭素3重結合からなる微小構造を有し、生体分子が通常ピークを示さないラマン-サイレント領域に特徴的なピークを示す。このアルキンをタグに用い、薬剤を修飾すれば、細胞内分子由来の背景光に埋もれる事無く、薬剤を特異的に検出できる¹。アルキンのラマン散乱を高感度に検出するため、我々は金属ナノ粒子を利用した²。金属ナノ粒子は、入射光と相互作用することで、表面近傍に存在する分子のラマン散乱光を増大させる。この金属ナノ粒子を細胞内に導入すれば、薬剤のラマン散乱光を高感度に検出することができる。

今回我々は、50 nm の金ナノ粒子をプローブに用い、アルキン標識した薬剤を生きた HeLa 細胞に投与して、増強ラマンイメージングを行った。金ナノ粒子はエンドサイトーシスにより細胞内に導入した。導入された粒子は細胞の輸送・集積機能によって細胞器官のリソソームへ集積される。ラマンイメージングにはスリット走査ラマン顕微鏡を用いた³。発振波長 676 nm の CW チタンサファイアレーザーを励起光源に用い、ライン状に成形したレーザー光を試料へ照射した。ガルバノメータミラーでレーザー光を1次元的に走査してラマン像を取得した。図 A-C に、観察を行った HeLa 細胞の明視野像と増強ラマン像を示す。増強ラマン像は、主に細胞内の生体分子に由来する 1200-2500 cm⁻¹ のラマン強度の平均値(図 B)と、アルキンに由来する 2000 cm⁻¹ のラマン強度(図 C)により構築した。図 B において、細胞内に複数の増強ラマン散乱のホットスポットが観察されているのに対し、図 C では限られたスポットからのみアルキン由来の増強ラマン散乱が得られた。細胞内で、薬剤が到達した金ナノ粒子からのみ、増強ラマン散乱が検出されたと考えられる。

[参考文献]

[1] H. Yamakoshi, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 20681 (2012).

[2] J. Ando, *J. Am. Chem. Soc.*, **138**, 13901 (2016).

[3] A. Palonpon, *Nat. Protoc.*, **8**, 677 (2013).

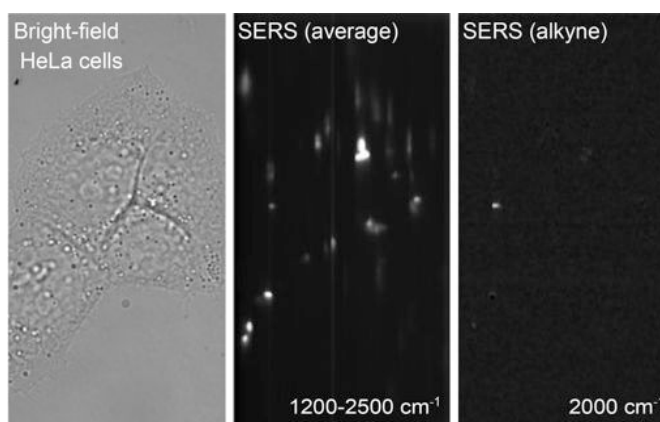


Figure (A) Bright field image of HeLa cells cultured with 50 nm gold nanoparticles and treated with alkyne-tagged drug. (B, C) Enhanced Raman images of same cells reconstructed with averaged intensity at 1200-2500 cm⁻¹ and alkyne's peak intensity at 2000 cm⁻¹. The image size is 40 x 80 μm.