

# 細胞内輸送される金属ナノ粒子による 増強ラマン散乱スペクトルの時間分解分析

## Analysis of time-resolved SERS spectra measured in dynamic imaging of intracellular transportation

畔堂 一樹 (P)<sup>1</sup>, 安藤 潤<sup>1</sup>, スミス ニコラス<sup>2</sup>, 藤田 克昌<sup>1</sup>, 河田 聡<sup>1</sup>

(1. 阪大工, 2. 阪大 IFRcC)

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

金属表面のラマン散乱の増強効果 (surface-enhanced Raman scattering, SERS) は高感度な分子分光技術に利用できると期待されている。特に、ナノサイズの金属微粒子による SERS は、細胞内部のような複雑な形状をもつ試料の観察にも適用できる[1]。細胞の飲食作用 (エンドサイトーシス) によって取り込まれた金属ナノ粒子は、内部を運搬される。それを追跡しながら SERS を分光計測することで、細胞内の輸送過程に係わる生体分子や細胞内環境の分析法が提案されている[2]。

今回、我々は細胞内部に取り込まれた金ナノ粒子を 3 次元的に追跡しながら、SERS を同時に取得するための顕微観察装置を開発した[3]。これにより、細胞内輸送や、試料内部の分光情報を高分解能で観察可能である。焦点面の異なる 2 つの暗視野像で金ナノ粒子を追跡することにより、ナノ粒子の位置情報を 3 次元空間で数十ナノメートルの精度で取得した。

Fig.1(a)は細胞の内部で 3 次元的に輸送されたナノ粒子の軌跡を示す。それぞれの色の違いは、平均移動量の違いから得られた異なる移動パターン(Segment)を示している。また、同時に 100 ミリ秒の時間分解能で SERS のスペクトルの取得にも成功した (Fig.1(b))。金属ナノ粒子が 3 次元的に輸送されるとともに、スペクトルに変化が確認された。このスペクトルの変化は、金ナノ粒子が様々な生体分子と逐次的に相互作用していることに起因すると考えられる。これらのスペクトルが示す分子情報を抽出するために、ナノ粒子の空間情報とスペクトル時間変化の情報とを元に、多変量解析を行った[4]。主成分分析(PCA)、および相互相関解析を行った結果、ナノ粒子動きと高い相関を示す複数の分子振動モードが見出された。Fig.1(c)に示すように、Fig.1(a)で示された Segment が主成分空間で明確に分離された。これらの解析結果より、得られた主成分および分子振動モードは細胞内輸送に関わる生体分子、もしくはナノ粒子周囲の環境を反映していると考えられる。

### Acknowledgements

This work was partly supported by JSPS KAKENHI Grant Number 26000011.

### Reference

[1] K. Fujita, S. Ishitobi, K. Hamada, N. I. Smith, A. Taguchi, Y. Inouye and S. Kawata, J. Biomed. Opt. 14, 024038 (2009) [2] J. Ando, K. Fujita, N. I. Smith and S. Kawata, Nano Lett. 11, 5344 (2011) [3] K. Huang, K. Bando, J. Ando, N. I. Smith, K. Fujita and S. Kawata, Methods 68, 348 (2014) [4] K. Bando, N. I. Smith, J. Ando, K. Fujita and S. Kawata, J. Opt. 17, 114023 (2015)

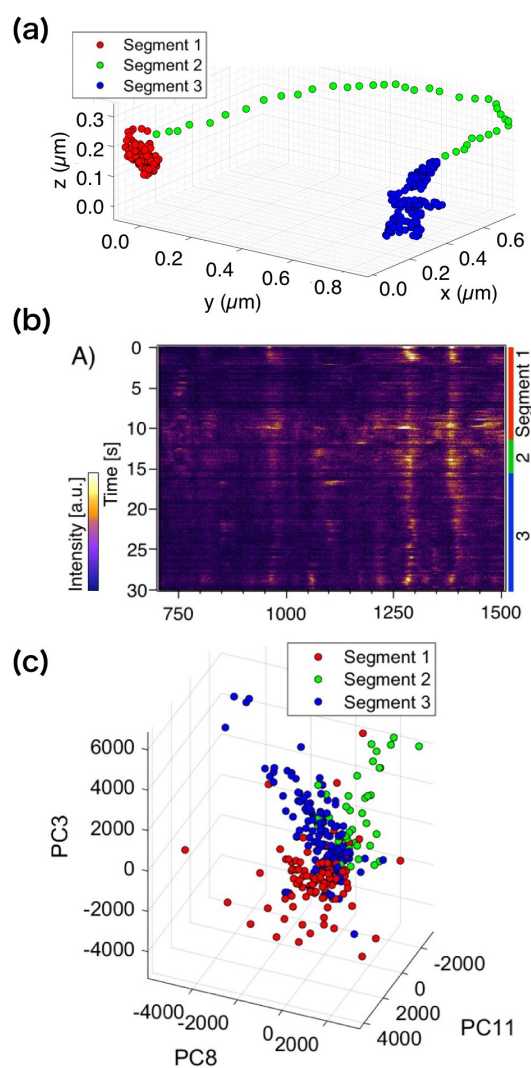


Figure 1 (a) 3D plots of the gold nanoparticle during the tracking measurement and colored with three segments by mean squared displacement analysis in intracellular space. (b) SERS intensity map during the measurement. (c) 3D score plot of PC3, PC8 and PC11 of PCA's result. Each color showed the score of the each segments shown in (a)(b). Ref. 4