

光圧下における神経細胞内分子動態の顕微ラマン分光解析

Raman Spectroscopic Analysis of Optical Trapping Dynamics of Molecules in Primary Cultured Neurons

阪公大院理 ○(M1)西村 和真, 増井 恭子, 細川 千絵

Osaka Metropolitan Univ. ○Kazuma Nishimura, Kyoko Masui, Chie Hosokawa

E-mail: sg22082v@st.omu.ac.jp

神経回路網では細胞間のシナプス結合を介して神経伝達が行われており、細胞内の神経伝達物質やその受容体などの分子数や分子動態の変化が細胞間の神経伝達効率に寄与している。我々は神経伝達過程を可逆的に制御する手段として、光圧により神経伝達物質受容体分子を捕捉し、操作する手法の開発を進めている [1]。これまでの研究では、蛍光標識した細胞内分子の光圧下における集合過程の評価が行われているが、蛍光物質が生体分子の分子動態に及ぼす影響や、長時間計測における蛍光褪色による影響が問題となっていた。そこで本研究では、非標識かつ低侵襲で分子固有の振動モードの情報を取得可能な顕微ラマン分光計測システムを構築し、光圧下における神経細胞内分子動態について検証した。

光捕捉用光源として波長 1064 nm の Nd:YVO₄ レーザーを、ラマン励起用光源として波長 532 nm の半導体励起固体レーザーを倒立顕微鏡に同軸で導入し、100 倍の油浸対物レンズ (N.A. 1.3) を用いて試料に集光し、ラマン散乱光を検出する光学系を構築した (Fig. 1)。培養 25 日目のラット海馬由来の初代培養神経細胞にラマン励起用レーザー (光強度 0.5 mW) を 60 秒間照射したところ、脂質分子の CH 対称伸縮振動モード、タンパク質の NH₂ 振動モードおよび脂質分子の CH₂ 対称伸縮振動モードに対応する細胞内生体分子由来のピーク (2818 – 3004 cm⁻¹) が検出された。神経細胞に光捕捉用レーザーを照射する前、照射中、照射後のラマンスペクトルをそれぞれ取得して生体分子由来のピーク強度を比較した結果、光捕捉用レーザー (光強度 500 mW) 照射時にピーク強度が増加し、照射後は減衰した (Fig. 2)。当日は、神経細胞内分子動態のレーザー光強度依存性をラマン分光により検証した結果について報告する。

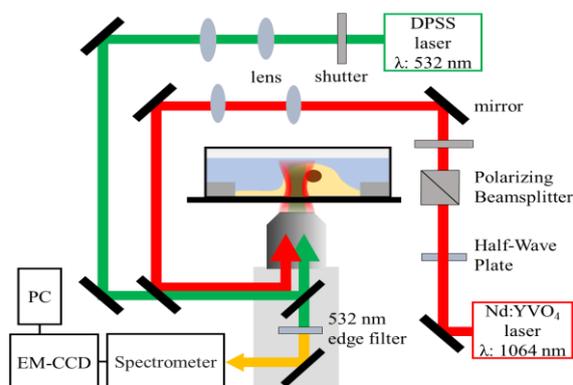


Fig. 1 Optical setup of optical trapping Raman spectroscopic system

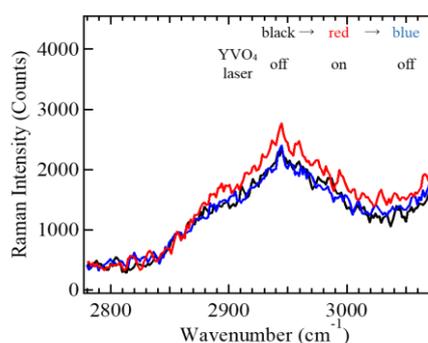


Fig. 2 Raman intensity changes with/without optical trapping laser irradiation acquired with an exposure time of 60 sec. Raman spectrum of 2818-3004 cm⁻¹ is derived from intracellular molecules.

[1] T. Kishimoto et al., *J. Photochem. Photobiol. A.*, **53**, 100554 (2022).