

マルチプレックスコヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)

顕微鏡を用いたプラズマ誘起生体反応機構の解明

Elucidation of plasma induced reaction mechanism for living cells
using multiplex coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy○古田 凌¹, 野村 多加博², 橋爪 博司¹, 竹田 圭吾¹, 近藤 博基¹, 石川 健治¹,太田 貴之², 伊藤 昌文², 関根 誠¹, 堀 勝¹ (1. 名大工, 2. 名城大)○Ryo Furuta¹, Takahiro Nomura², Hiroshi Hashizume¹, Keigo Takeda¹, Hiroki Kondo¹, Kenji Ishikawa¹,
Takayuki Ohta², Masafumi Ito², Makoto Sekine¹, Masaru Hori¹ (1. Nagoya Univ., 2. Meijo Univ.)

E-mail : furuta.ryou@j.mbox.nagoya-u.ac.jp

はじめに 近年、大気圧プラズマの医療応用例が多数報告されているにも関わらず、大気圧プラズマの生体組織との相互反応メカニズムは未解明な点が多い。我々は、真核細胞モデルとして出芽酵母に焦点をあて、大気圧プラズマとの相互作用の解明を目指している。今回、空間分布の高速測定が可能なマルチプレックスコヒーレントアンチストークスラマン散乱 (マルチプレックス CARS) 顕微鏡を用いて、大気圧プラズマ処理した出芽酵母の分子振動情報から細胞内の生体物質を二次元マッピングし、そのプラズマ照射による変化を検出できることが分かったので報告する。本研究では、ラマン分光において“生命のラマン分光指標”^[1]と呼ばれる 1602 cm^{-1} の強度変化に特に着目した。

実験方法 出芽酵母 (W303a) をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に懸濁させ、6 ウェルプレートに 3 ml を取り出し、照射距離 13 mm として大気圧 Ar プラズマ (60 Hz, 7 kV, 5 slm) を 30 分間照射した。ポンプ光 (1064 nm) をピコ秒ファイバーレーザ、ストークス励起光 (1100-1650 nm) を広帯域スーパーコンティニューム光 (SC 光) とするマルチプレックス CARS 顕微鏡を用いて、プラズマ処理前後の出芽酵母の状態を観察した。

実験結果 図 1 に 1602 cm^{-1} と 2850 cm^{-1} でのラマン散乱強度分布 (二次元マッピング) を示す。前者はミトコンドリア由来、後者は脂質由来の C-H 伸縮振動に起因する信号である。図 2 に細胞内のラマンスペクトルを示す。プラズマ処理前 (青線)

に見られた $1440, 1602, 1655\text{ cm}^{-1}$ のピークは、プラズマ処理により強度が減少した。これらのピークの由来から細胞壁や細胞膜が破壊され、細胞死に到ったことが示唆される。講演では、ピーク強度とマッピングの変化から大気圧プラズマの出芽酵母に対する影響について詳細に議論する。

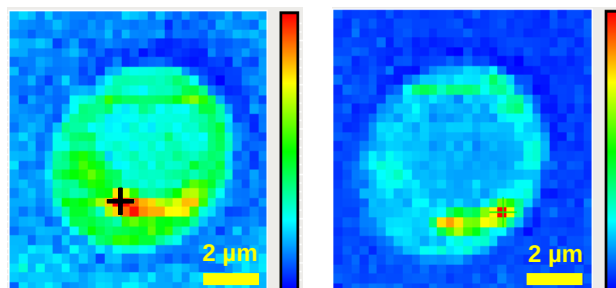


Fig.1 Mapping of spectral intensity at 1602 cm^{-1} (left) and 2850 cm^{-1} (right) arisen from budding yeast.

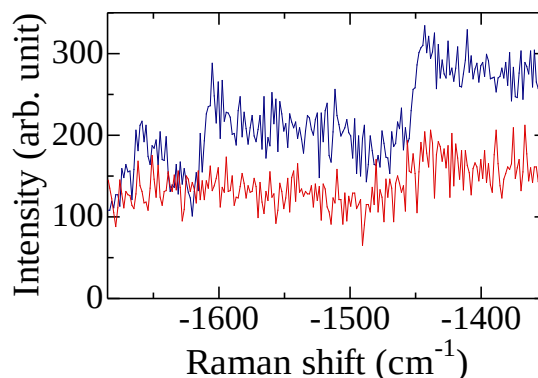


Fig.2 CARS spectra of budding yeast before (upper blue line) and after (lower red line) plasma treatment.

参考文献 [1]Y. Huang *et al.*, Biochemist 44 (2005) 10009-10019.