

リン光寿命計測による細胞内酸素濃度イメージング

井上舞, 大倉一郎, 蒲池利章

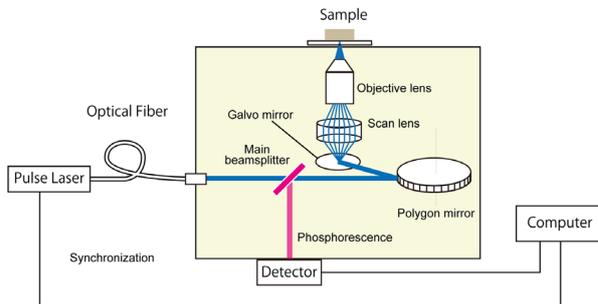
東京工業大学 大学院生命理工学研究科

酸素は、好気呼吸を行う生物において呼吸鎖の末端の電子受容体として機能する重要な分子であり、可視化による生体反応の機能解明が期待できる。様々な細胞組織内酸素濃度分布のイメージング法が開発されているが、これまでの方法ではリアルタイムのモニタリングや酸素濃度の測定が不可能であった。そこで、リン光性化合物のリン光寿命を利用した顕微鏡下での酸素イメージング法を確立した。リン光性化合物としては、Ptポリフィリンである Pt-tetrakis(4-carboxyphenyl) porphyrin (PtTCPP)を用いた。このイメージング法は、光励起三重項状態から基底状態に戻る際に発するリン光が酸素によって消光される光化学的な現象を利用している。これにより動物細胞内の酸素濃度分布の可視化に成功した。

本研究では細胞内酸素濃度分布の高空間分解能でのイメージングに向け、共焦点光学顕微鏡を用いた酸素濃度イメージングを行い(図1)、外部の酸素濃度変化による細胞内酸素濃度の変化を観察した。共焦点光学顕微鏡を用いた測定に比べ、空間分解能が向上した(図2)。また、細胞に PtTCPP を取り込ませたのち、培地を酸素、窒素、空気で10分間バブリングすることで外部環境を変化させた。細胞内 PtTCPP のリン光寿命への応答を観察した(図3)。

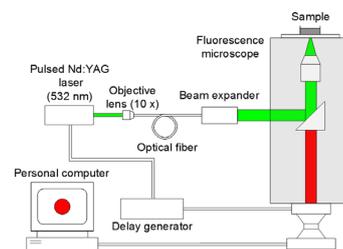
新規導入した共焦点顕微鏡により、高空間分解能での細胞内酸素濃度の観察が可能になった。今後は、共焦点光学系を用い、細胞組織内部の低酸素イメージングを行う。また、新規光増感剤の開発も併せて実施していく予定である。

◆新規導入した共焦点リン光寿命イメージングシステム



Becker&Hickl 製
ダイオードレーザー $\lambda=405\text{ nm}$
Repetition rate: 20, 50, 80 MHz
Z軸走査可能距離 100 μm

◆既存のリン光イメージングシステム



Hamamatsu Photonics 製
YAGレーザー $\lambda=532\text{ nm}$
Repetition rate: 0.2-10 kHz
—

図1 リン光寿命イメージングシステム

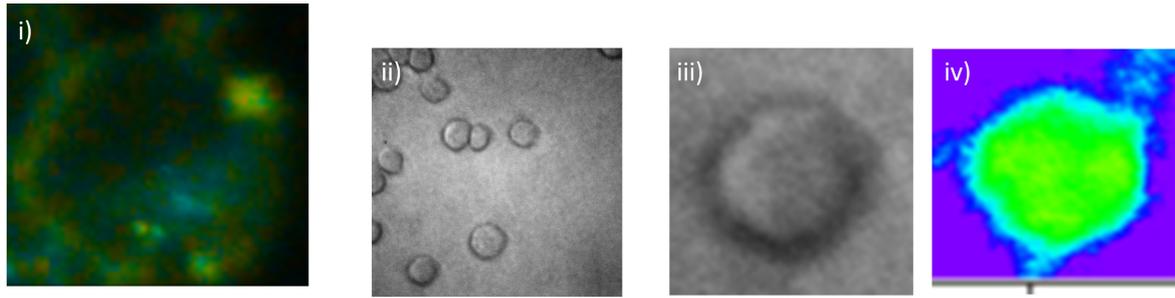


図 2 空間分解能の向上 ～単一細胞の撮影による比較～

i)共焦点顕微鏡による酸素濃度イメージング, ii-iii)明視野像, iv)既存の顕微鏡による酸素濃度イメージング

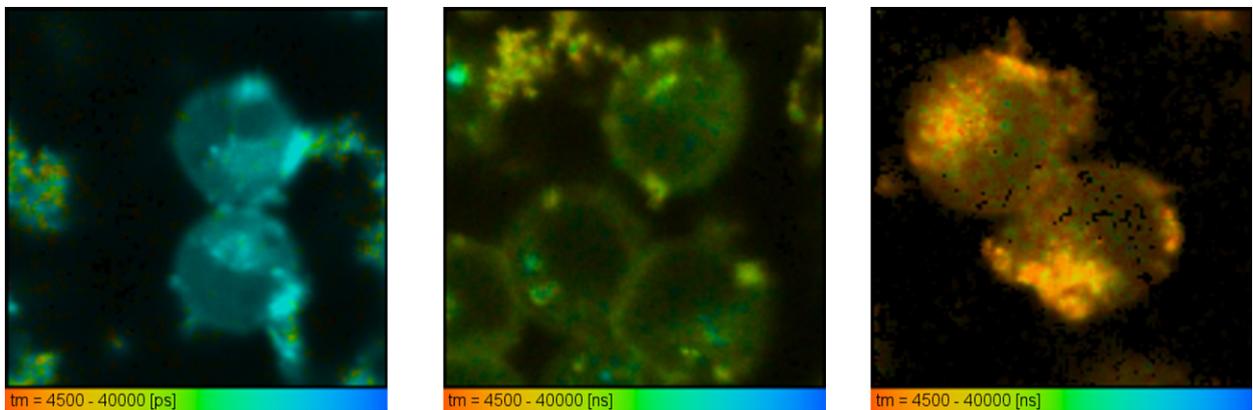


図 3 外部環境に応じた応答 ～単一細胞の撮影による比較～ 左から窒素, 空気, 酸素雰囲気での測定