

## 分子科学の細胞内への展開

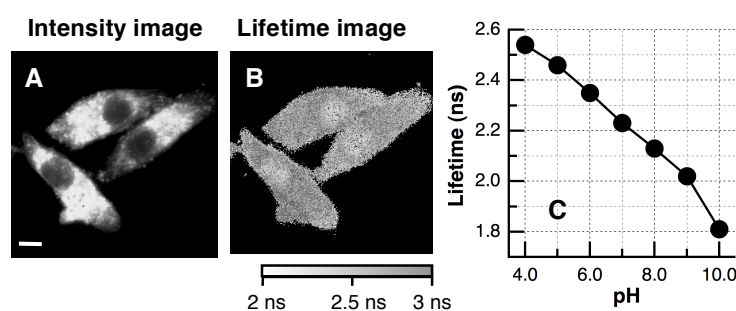
(東北大学大学院薬学研究科) 中林孝和

e-mail: takan@m.tohoku.ac.jp

分子科学・分子分光学的手法を生命科学へ展開することを目指し、蛍光寿命を画像化する蛍光寿命イメージング(FLIM)を用いた細胞内環境計測を行ってきた<sup>1-5</sup>。蛍光強度は蛍光分子の濃度のみではなく、励起光強度・光学系などの実験条件に依存するのに対し、蛍光寿命の値は光退色や励起光強度などに依存しない。そのために強度測定に比べて定量性が大きく増加し、細胞内の蛍光分子の環境変化などを高感度に検出できる。また時間分解測定から細胞内の光励起ダイナミクスを直接測定することができ、"蛍光寿命"というパラメーターから、細胞内の様々な現象を明らかにすることができる。

我々は、フェムト秒レーザーと共焦点蛍光顕微鏡を用いて FLIM システムを製作し、細胞の活性状態、細胞内 pH、アポトーシス、がん細胞のその場計測などを検討してきた。また、細胞内環境によって蛍光寿命が変化する分子機構についても検討を行っている。一例として、細胞内に元から存在する自家蛍光物質である補酵素 NADH の FLIM を用いて、細胞内 pH の無染色計測を行った結果を Fig. 1 に示す。培養細胞内の NADH の蛍光強度画像と対応する蛍光寿命画像を示している。蛍光強度画像では、強く光っている領域がミトコンドリア、強度が弱い円形の領域が核に対応する。蛍光寿命画像では、細胞内 pH が大きくなるにつれて蛍光寿命の値が短くなり、Fig. 1C のような NADH の自家蛍光寿命と細胞内 pH との検量線を作成することによって、細胞内 pH を色素で染色することなく定量測定が行えることを示した<sup>6</sup>。NADH とタンパク質との静電的相互作用の pH 変化を観測していると考えられ、寿命の変化量から NADH 周囲の局所電場の変化量が見積もれることを提案した<sup>7</sup>。

本講演では、(1) 蛍光タンパク質、(2) 自家蛍光物質、(3) 色素小分子に分けて、我々の FLIM の結果を概説する。さらに、外部電場の印加による細胞内環境制御、光解離のモデルである SNO 基からの NO の光解離を利用したタンパク質・細胞制御などの話も紹介する。分光学的研究者が持つ様々な手法・知識の生命科学への応用について、話題提供ができることを目指す。



**Fig. 1** Fluorescence intensity (A) and lifetime (B) images of NADH in HeLa cells at the intracellular pH of 6.0. (C) Plots of the fluorescence lifetime of NADH in mitochondria as a function of intracellular pH.<sup>6</sup> Reprinted with permission from ref. 6. Copyright 2011 American Chemical Society.

1. T. Nakabayashi, and N. Ohta, *Anal. Sci.* 31 (2015) 275.
2. N. Ohta and T. Nakabayashi, *Natural Biomarkers for Cellular Metabolism* (CRC press) (2014) 41.
3. 中林, 太田, *生物物理* 53 (2013) 166.
4. 中林, 太田, *光化学* 42 (2011) 52.
5. 中林, 太田, *日本レーザー医学会誌* 30 (2010) 441.
6. S. Ogikubo et al., *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 10385.
7. T. Nakabayashi et al., *Chem. Phys. Lett.* 595-596 (2014) 25.