光熱変換顕微鏡によるミトコンドリアダイナミクスの無標識イメージング

Label-free imaging of mitochondria dynamics with photothermal microscopy

和歌山大システム工[1]，○宮崎　淳[1]，石川 祐哉[1]

Wakayama Univ.[1],

E-mail:jmiya@sys.wakayama-u.ac.jp

光を用いた顕微イメージング法は、生体の微小器官や細胞内部、また工業材料の微細構造を可視化する方法として、広く用いられてきた。一方で近年、生物組織を色素などで染色・標識しないで（無標識）、自然な状態なまま観察する方法の実現を目指し、光技術を駆使した様々なイメージング法が研究されている.

我々は、光吸収性の分子を高感度・高空間分解で３次元可視化・組成分析する光熱変換顕微鏡の研究を行っている。光熱変換顕微鏡では、試料に光（ポンプ光）を入射した際の熱発生にともなう微弱な屈折率変化を、もう一つ光（プローブ光）により測定する。そのため光を吸収するが蛍光を放出せず、光励起エネルギーを主に熱として放出する無蛍光性分子を単一分子レベルの高感度で観察できる。無蛍光性分子は、化学的にも安定で光褪色の影響が少ない。また、生体内でミトコンドリア等に含まれるシトクロムなど、代謝を司る色素蛋白質等を無標識で観察できる。

一方で、光熱変換顕微鏡では、光や熱による生物組織へのダメージを抑え、また測定速度を向上させるための高感度化が課題となっている。今までに信号雑音比の向上させるための新しい光検出法（空間分割バランス検出法）の導入や低雑音光検出器の作成により，熱ダメージを抑えながらも生物組織を高感度でかつ高速に測定できるようになった[1].

本講演では製作した光熱変換顕微鏡を用いた生細胞の無標識イメージングについて発表する．図に波長 520 ,640 nm の 2 色のポンプ光により観察したヒト子宮頸癌細胞（HeLa 細胞）の光熱像を示す．黒い影となっている細胞核の周りに細長く枝分かれしたミトコンドリアが分布していることが確認できる．さらにミトコンドリアの近傍に赤色の点状の器官が存在する。この器官は 640nm の光をミトコンドリアより強く吸収するため，２色イメージングにより識別できる．この器官は，異常なミトコンドリアなど細胞内の老廃物や不要物を取り込んで分解するオートファーゴソーム，またはオートリソソームであると推測される．さらにタイムラプスイメージングや実時間イメージングにより、ミトコンドリアと点状の器官が配置や形態を時々刻々と変化させる様子を捉えることにも成功した．ミトコンドリアのダイナミクスは細胞機能や疾患と深く関係すると言われており，本測定法はその生理的な意味の解明に貢献すると期待される。

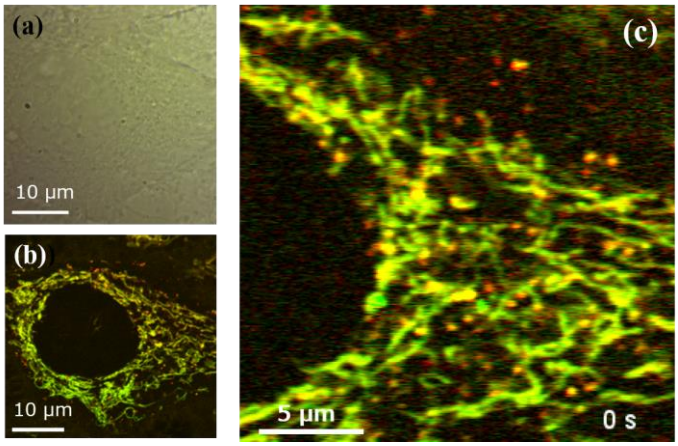

図　明視野透過像（a）と光熱変換顕微鏡（b,c）による生細胞(HeLa)の無標識イメージング

【参考文献】

[1] 宮崎淳，小林孝嘉，分光研究 **67**，73-85 (2018).