

## 光熱変換顕微鏡による動物細胞の無標識オートファジー計測

### Label-free photothermal imaging of mammalian cells in autophagy

和歌山大シスエ<sup>1</sup>, 阪大生命機能<sup>2</sup> ◯宮崎 淳<sup>1</sup>, 岡本 浩二<sup>2</sup>

Wakayama Univ.<sup>1</sup>, Osaka Univ.<sup>2</sup>, ◯Jun Miyazaki<sup>1</sup>, Koji Okamoto<sup>2</sup>

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

オートファジーとは細胞内の不要な分子がリソソームとよばれる細胞小器官に運ばれ、分解・再利用される細胞内浄化・再生システムである。現在、動物細胞のオートファジー計測では、蛍光分子を標識に用いた蛍光イメージングが活用されている。しかし、蛍光標識法により可視化できるのは、複数の経路があるオートファジーの一部などの問題がある。その仕組みの深い理解や、生体などより広い対象・条件での計測に向けて新しい計測法の確立が望まれている。

光熱変換顕微鏡とは、光吸収性の分子を高感度・高空間分解で3次元可視化・組成分析する光学顕微イメージング法である[1]。細胞内に元来含まれている微量色素を検出することで、リソソームやミトコンドリアの動態を、標識分子を用いずにイメージングできる[2]。本講演では光熱変換顕微鏡を用いた、生きている動物細胞を対象としたオートファジー計測について発表する。

図1にヒト子宮頸癌細胞 (HeLa 細胞) のオートファジーを、光熱変換顕微鏡により無標識で観察した結果を示す。細胞を低栄養状態にしてオートファジーを誘導すると、リソソームの信号強度が増大する。ミトコンドリアに対するリソソームの信号強度比を指標として計算すると、オートファジー誘導前後でその値は平均 3.5 倍増加した。また同時に測定した屈折率分布画像から、リソソームの密度・体積が増加すること分かった。これはオートファジーが活性化され、リソソーム内に分解される物質が多く取り込まれたためと考えられる。既存の蛍光標識法との比較や、光熱変換顕微鏡で可視化されるオートファジーの経路について検証した結果等は講演で報告する。

**参考文献** [1] S. Adhikari *et al.*, ACS Nano **14**, 16414-16445 (2020). [2] J. Miyazaki and Y. Toumon, Biomed. Opt. Express. **10**, 5852-5861 (2019).

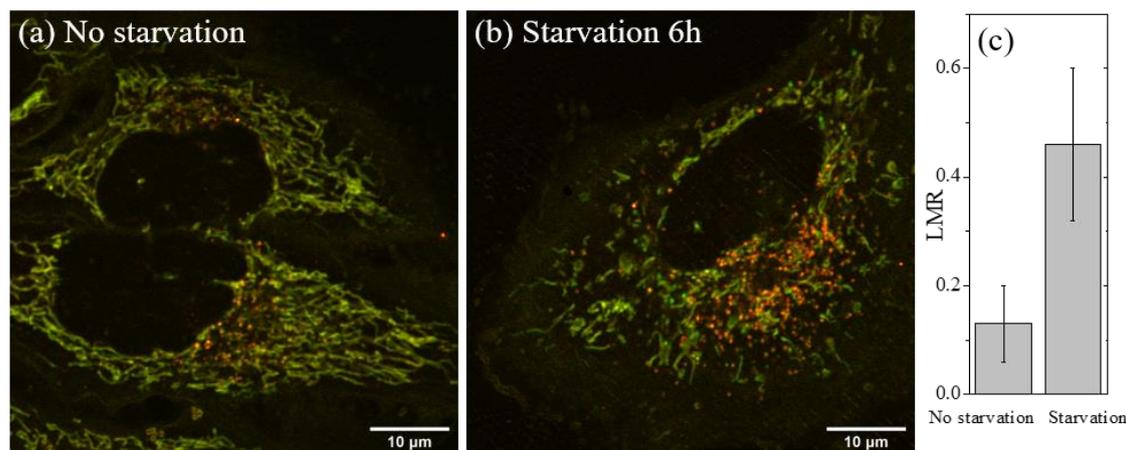


Fig. 1. Photothermal images of live HeLa cells (a) without and (b) with starvation. The green and orange structures are mitochondria and lysosomes, respectively. (c) PT signal ratio of lysosomes to mitochondria (LMR) without and with starvation.