

発光寿命測定による細胞内 ATP・酸素濃度同時イメージング

(東京科学大学¹) ○尾台 俊亮¹・藤原 優也¹・伊藤 栄紘¹・蒲池 利章¹

Simultaneous imaging of intracellular ATP and oxygen concentration by FLIM/PLIM measurement (¹*Institute of Science Tokyo*) ○Shunsuke Odai,¹ Yuya Fujihara,¹ Hidehiro Ito,¹ Toshiaki Kamachi¹

Measurement of ATP and oxygen dynamics in living cells facilitates the understanding of cellular energy metabolism. Here, we report a simultaneous imaging system detecting ATP and oxygen in living cells. This system visualizes the intracellular ATP and oxygen concentrations using the fluorescence lifetime of ATP sensor protein, QUEEN-37C, and the phosphorescence lifetime of platinum porphyrin, respectively. In this study, simultaneous imaging of intracellular ATP and oxygen concentrations was achieved from FLIM/PLIM measurements of QUEEN-37C-expressing HeLa cells stained with platinum porphyrin. Furthermore, we observed intracellular ATP and oxygen dynamics after addition of 2-deoxy-D-glucose, a glycolytic inhibitor.

Keywords : FLIM/PLIM; ATP dynamics; Oxygen dynamics; QUEEN-37C

生体のエネルギー物質である ATP は、主にミトコンドリアでの酸化的リン酸化により酸素消費を伴って産生される。一方で、がん細胞など一部の細胞は、好氣的条件下においても解糖系により ATP を産生している。このように ATP と酸素は細胞内で複雑に関わっており、細胞のエネルギー産生を理解するためには、ATP と酸素の動態を同時に調べることが重要である。

そこで、我々がこれまでに開発したリン光寿命イメージング顕微鏡(PLIM)による細胞内酸素濃度イメージングシステム¹と、岡田らが開発した ATP センサー蛍光タンパク質 QUEEN-37C²を組み合わせることで、酸素と ATP を同時にイメージング可能なシステムを構想した。QUEEN-37C は ATP 非結合と結合状態で構造が変化し、発色団の環境も影響を受けることで最適励起波長や蛍光寿命が変化する。そのため、蛍光寿命イメージング顕微鏡(FLIM)を用いることで、QUEEN-37C による細胞内 ATP 濃度イメージングが可能となる。本研究では、リン光性白金ポルフィリン PtTCPP で染色した QUEEN-37C 発現 HeLa 細胞の FLIM/PLIM 同時測定から、細胞内 ATP・酸素濃度同時イメージングを達成した。さらに、解糖系阻害剤 2-deoxy-D-glucose 添加後の細胞内 ATP・酸素動態を観察した。

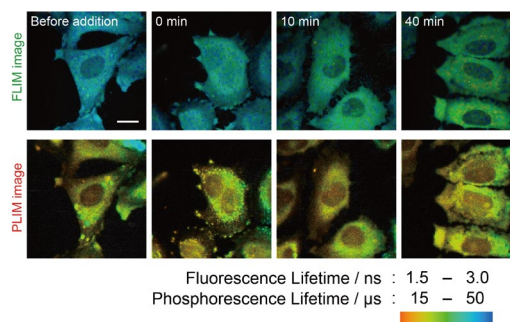


Figure FLIM and PLIM images of QUEEN-37C expressed HeLa cells stained with Pt-porphyrin, PtTCPP, before and after addition of 2-deoxy-D-glucose.

- (1) Kurokawa, H.; Ito, H.; Inoue, M.; Tabata, K.; Sato, Y.; Yamagata, K.; Kizaka-Kondoh, S.; Kadonosono, T.; Yano, S.; Inoue, M.; Kamachi, T., *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 10657.
- (2) Yaginuma, H.; Okada, Y., *bioRxiv* October 9, **2021**, p 2021.10.08.463131.