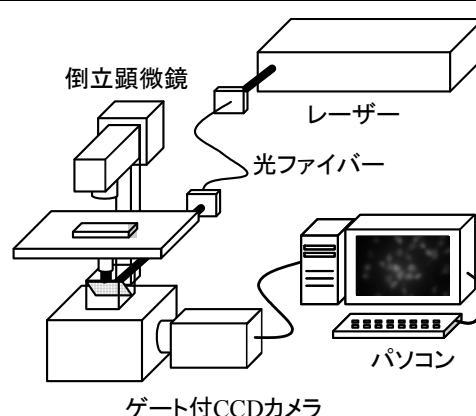


ディビジョン番号	10
ディビジョン名	分析化学

大項目	1. 分析化学
中項目	1-2. レーザー分光分析
小項目	1-2-5. 蛍光寿命イメージング

概要（200字以内）

蛍光寿命イメージング顕微鏡法は、細胞レベルの微小環境を評価する上で、非常に有効な手法である。蛍光寿命は比較対象を必要としない絶対的な値であり、蛍光物質の濃度等には依存しない。現在までに、色素の一分子検出や非標識アミノ酸残基の検出、またがんの腫瘍マーカーとなりうる抗体の検出などが行われている。今後、汎用性の高い装置や高性能な装置の開発、および本手法を用いた細胞や遺伝子の詳細な解析などが望まれる。



蛍光寿命イメージング顕微鏡の概略図

現状と最前線

細胞内の微小環境を測定する手法の一つとして、蛍光寿命イメージング顕微鏡法 (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy; FLIM) がある。蛍光寿命は蛍光物質の濃度や励起光強度などには依存せず、蛍光物質の周囲の微小環境に影響される。蛍光寿命イメージングにより、例えば細胞の膜電位や pH などの情報を得ることが可能である。蛍光寿命イメージを取得する手段として、高時間分解能・高空間分解能を有する共焦点 FLIM や二光子励起 FLIM、また測定時間の短い Time-domain FLIM などがある。

蛍光寿命イメージング装置の例を概略図に示す。蛍光寿命イメージを用いた最先端の研究として、励起光に紫外レーザーを用いる UV-FLIM により、石英ガラス表面に吸着した色素の一分子検出が報告されている。また同様に UV-FLIM を用いて、大腸菌 β ガラクトシダーゼ中の非標識トリプトファン残基の検出が行われた例や、がんの腫瘍マーカーとなりうる p53 抗体の検出と定量が行われた例が報告されている。さらに二光子励起 FLIM を用いた研究では、染色体中のヒトロメア 4 本鎖構造の存在する部位を可視化することに成功している。一方、蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence Resonance Energy Transfer; FRET) により蛍光寿命が変化することを利用して、蛍光寿命イメージにより細胞内の酵素活性部を可視化した例が報告されている。このように近年、蛍光寿命イメージングを用いて、微小領域の現象を視覚的に捉えることが可能になりつつある。しかし、蛍光寿命によるイメージングは蛍光強度によるそれと比較し

て広く用いられているとは言い難い。これは測定装置が複雑・高価であることなどが要因として挙げられる。しかしながら、蛍光寿命イメージを用いることにより蛍光強度イメージでは得られない重要な情報を得ることが可能であるため、より汎用性のある蛍光寿命イメージング装置の開発により、今後ますます利用されていくものと考えられる。また、高時間分解能または高空間分解能を有し、同時に短時間測定が可能な蛍光寿命イメージング装置の開発も望まれる。

蛍光イメージを用いる研究では、個々の細胞レベル、あるいは分子レベルでの解析が必要不可欠である。このような観点から、例えばがんなどの疾患の治療評価を、個々の細胞あるいは遺伝子レベルで行うための手段として蛍光寿命イメージング顕微鏡が用いられることが期待される。また別の応用例として、蛍光強度イメージおよび蛍光寿命イメージを用いた細胞内たんぱく質の評価と定量化などの研究も望まれる。また、同時に2波長の蛍光強度を測定し、その比を評価するレシオ測定に代わる手法としても注目される。これに関しては、多波長同時測定が可能な装置の開発により、細胞内の諸現象をより詳細に評価できるものと思われる。また蛍光寿命イメージングは、生体関連物質の解析手法としてだけでなく、高分子やナノテク材料の特性を評価する手法として用いることも可能であると考えられる。

参考文献：

Bernard Valeur, “Molecular Fluorescence: Principles and Applications”, Weinheim : Wiley-VCH (2002).

将来予測と方向性

- ・ 5年後までに解決・実現が望まれる課題
 - 汎用性のある簡易型蛍光寿命イメージング装置の開発
 - 蛍光寿命イメージを用いた細胞内たんぱく質の評価と定量化
 - 蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いた疾患の予防および治療評価法の確立

- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
 - 高時間分解能を有し、短時間測定が可能な蛍光寿命イメージング装置の開発
 - 高空間分解能を有し、短時間測定が可能な蛍光寿命イメージング装置の開発

キーワード

蛍光寿命イメージング顕微鏡法、FLIM、細胞、たんぱく質、疾患

(執筆者： 内村 智博)