

がん細胞の代謝「指紋」を提供する細胞内の酸素濃度を測定する新しい技術

Elizabeth Illy, Johan Tornmalm, Thiemo Spielmann and Jerker Widengren

生物学の分野では、癌細胞は対応する健康な細胞よりも他の代謝経路を使用することが多く、そのため酸素消費量が少ないというのが一般的なコンセンサスです。蛍光顕微鏡によって細胞の酸素レベルを測定することができれば、臨床癌診断における将来のツールとして活用できる可能性があります。ただし、生細胞の酸素濃度を測定することは簡単ではありません。従来の蛍光色素の励起状態寿命(ナノ秒)は短すぎて、通常はマイクロ秒の時間範囲で起こる酸素分子の衝突による影響を大きく受けることはできません。

O₂ モニター用の TRAST

過渡状態イメージング(TRAST)と呼ばれる新しい技術は、蛍光色素分子の暗最低三重項状態(T1)への遷移とそこからの遷移を利用して、細胞の酸素濃度を測定する方法を変えることを目的としています(1)。T1は、光によって誘発される長寿命の非蛍光状態であり、本質的にすべての蛍光分子に見られます。蛍光顕微観察と変調レーザー源を組み合わせ、変調特性を系統的に変化させることで、T1状態に関する速度論的な情報を抽出することが可能です。T1状態の寿命は酸素濃度に比例します。レーザー変調に応じて蛍光強度がどのように変化するかを画像化することで、蛍光色素分子の周囲の局所的な酸素濃度に関する直接的な情報を得ることができます。TRASTは、(蛍光の読み出しによる)高い検出感度と(分析された暗状態の長い寿命からの)高い環境感度を組み合わせており、広範囲の蛍光団で実現可能です。発光が弱い自家蛍光化合物でも使用できます(2,3)。

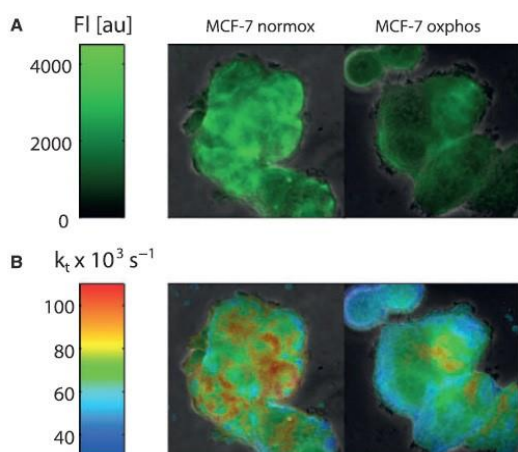


図 1: (A)がん細胞に特異的な代謝(左)と正常な細胞代謝(右)を受けている細胞の蛍光強度画像。(B)細胞内の T1 減衰率を示す、対応する TRAST 画像。代謝が正常な細胞では崩壊率が低く、局所酸素濃度が低く、酸素消費量が多いことを示しています。

がんの特異的な細胞代謝

高トリプレット収率色素エオシン Y を使用して、TRAST イメージングがさまざまな乳がん細胞株と線維芽細胞株に由来する細胞に適用されました(1)。乳がん細胞株 MCF-7 に由来する細胞はさまざまな培地で培養され、細胞を癌細胞特有の代謝、または正常細胞に典型的な代謝のいずれかに誘導しました。異なる方法で培養した細胞を TRAST で画像化し、酸素消費速度の違いを確認しました。図 1 はこれらの結果を示しており、正常な細胞代謝を受けている MCF-7 細胞は、がん細胞特異的な代謝を受けている細胞よりも多くの酸素を消費することを示しています。

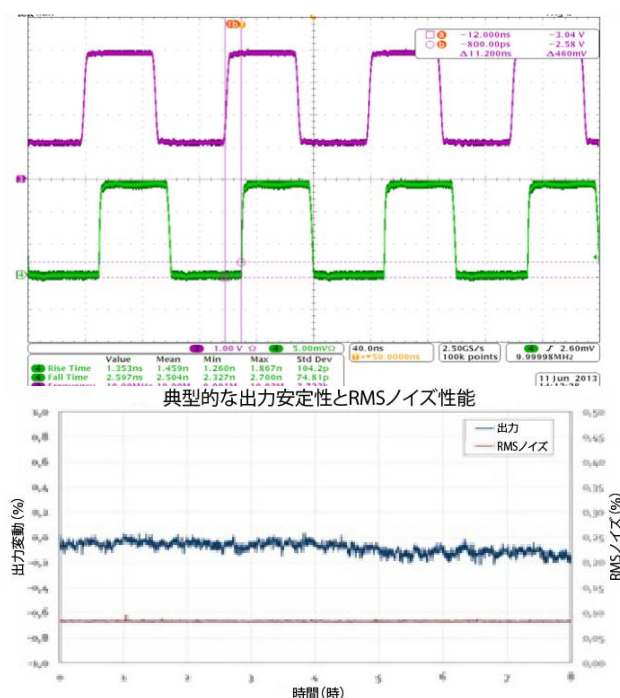


図 2: Cobolt 06-01 シリーズのレーザーの典型的な変調波形(A)とノイズ性能(B)

TRAST 及び蛍光顕微鏡用レーザー

TRAST 技術は、生細胞内の酸素濃度を測定する有望な方法です。さまざまな病気の細胞は代謝と酸素消費量の変化を示します。これにより、TRAST は、正常な細胞を、癌細胞などの病気の細胞や感染した細胞から区別する手段を提供できます。コンパクトでコスト効率の高いレーザーを使用できます。これにより、自然に機器が簡素化され、将来の使用に備えてがんの検出と分析のコストが削減されます。TRAST 用のレーザーは、出力と TEM00 ビームの安定性と品質の点で優れた性能特性を備え、信頼性が高く堅牢である必要があります。レーザーを直接変調できる場合も明らかに利点があります。これらの仕様はすべて、プラグアンドプレイの変調可能な CW レーザーの Cobolt06-01 シリーズで満たされ、最大 250mW の出力でフルスペクトルを提供するほか、統合 AOM を備えた Cobolt 変調 DPSS レーザーシリーズでも満たされます。

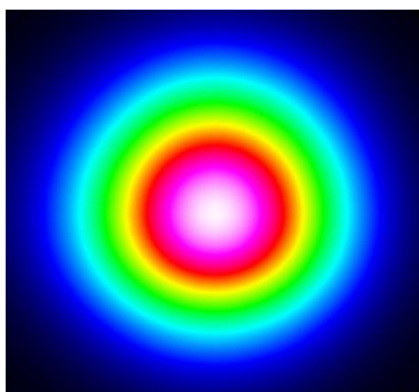


図 3: Cobolt06-MLD レーザー(上)、Cobol 06-MLD レーザー(下)の典型的なビームプロファイル

結論

TRAST 技術は、生細胞内の酸素濃度をモニタリングするための実行可能な方法であることが実証されています。

さらに、これは、特有の代謝特徴/フィンガープリントを介して、新しい高感度の方法で癌細胞を検出するための前駆体として使用できます。多種多様な Cobolt レーザーは、このような刺激的なアプリケーションに最適です。

著者について

Elizabeth Illy 博士、Cobolt AB、ストックホルム、スウェーデン。

Johan Tornmalm (修士)、KTH 応用物理学科、実験生体分子物理学グループ

Thiemo Spielmann 博士、KTH 応用物理学科実験生体分子物理学グループ博士

Jerker Widengren 教授、KTH 応用物理学科実験生体分子物理学グループ

参考:

- (1) Thiemo Spielmann, et al. 'Transient state microscopy probes patterns of altered oxygen consumption in cancer cells' *FEBS Journal* 281 (2014) 1317-1332
- (2) Hevekerl H, Tornmalm J, Widengren J "Fluorescence-based characterization of non-fluorescent transient states of tryptophan - prospects for protein conformation and interaction studies" *Scientific Reports* 6, 35052, 2016
- (3) Tornmalm J, Widengren J "Label-free monitoring of ambient oxygenation and redox conditions using the photodynamics of flavin compounds and transient state (TRAST) spectroscopy", *Methods*, in press 2018