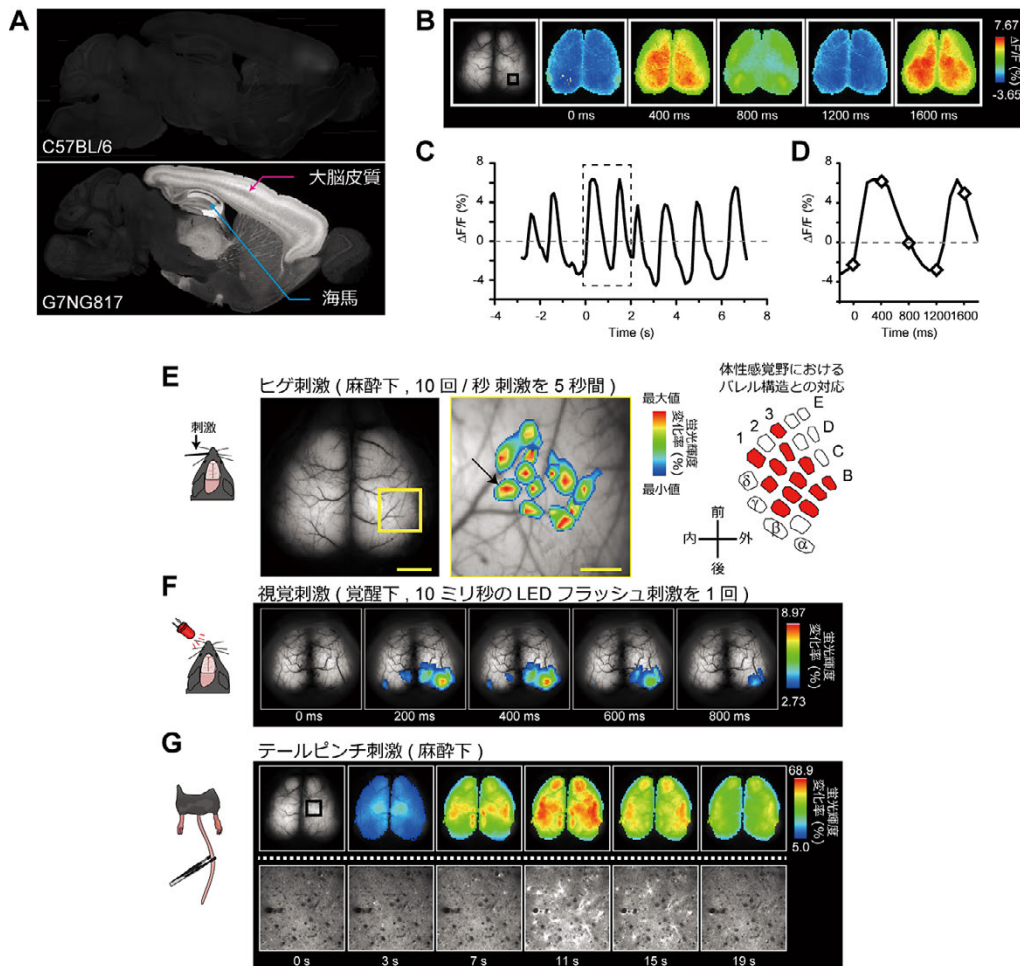


バイオイメージング

第26回学術集会ベストイメージング賞・浜ホト賞受賞



「BAC-GLT-1-G-CaMP7 #817系統 (G7NG817) 遺伝子改変マウスによる
経頭蓋マクロイメージング」

正直品質。

お客様の抱える不安や不満、世の中の「不」を何とか解消したい。

その一心で生まれた「無添加化粧品」から、ファンケルはスタートしました。

「不」の解消。それは、私たちの原点であり、これからも続く挑戦です。

だから、私たちはつねに自らに問いかけます。その商品は、お客様に喜んでいただけるか。

安心して使っていただけるか。責任を持ってお届けできるか。

だから私たちは、自ら研究し、検証し、生産します。

そして何より、お客様の声ひとつひとつに耳を傾け、考えます。

どうすればその想いに応えられるか、を。

時間もかかるし、お金もかかる。少し不器用かもしれませんが。

でもそれが、ファンケルなのです。



F030 サプリメントが身体の中で適切に働くよう、「体内効率」を自社で研究しています。



F012 全工場で製造現場にクリーンルームを完備。医薬品がつくれるレベルの環境で安全性・高い品質を守ります。



F067 薬とサプリメントの飲み合わせを日本で初めてデータベース化。お電話一本で調べます。

◎「正直品質。」を裏づける「ファンケル100の事実」。WEBでは、その全てを公開中です! www.fancl.jp/fact100 ➡

お問合せ【お電話】お客様センター ☎0120-153-222 (月～土/朝9時～夕方5時 日・祝日/休み)

*SNSでもファンケルの情報を随時配信しています。    株式会社ファンケル 〒231-8528 横浜市中区山下町89-1



BAC-GLT-1-G-CaMP7 #817 系統 (G7NG817) 遺伝子改変マウスによる 経頭蓋マクロイメージング*

毛内 拓^{1,2}、岩井 陽一²、平瀬 肇²

¹お茶の水女子大学 理学部生物学科、²理学研究所 脳神経科学研究センター

E-mail: monai.hiromu@ocha.ac.jp

脳を構成する要素として神経細胞（ニューロン）と血管はよく知られているが、実は他にグリア細胞と呼ばれる脳細胞がある。グリア細胞の一種であるアストロサイトは脳内で、ニューロンと血管のインターフェースとして働いており、脳内環境の維持や、ニューロンへの栄養供給などサポート的な役割を果たしている。また近年、アストロサイトが、特に生体脳において、シナプス可塑性を調節している傍証がいくつも見つかってきている。

アストロサイトは、ニューロンと異なり活動電位を発生しない。そのため、従来の電気生理学的測定法では、その活動が見逃されてきた可能性がある。一方、アストロサイトは、活動に応じて細胞内 Ca^{2+} 濃度を大きく変動させることが報告されている。アストロサイトの Ca^{2+} 上昇は、アセチルコリンやノルアドレナリンなどの神経修飾物質によって誘起され、長時間・広範囲に渡って神経活動の調節を行なっている可能性がある。

我々は、生体脳においてアストロサイトの Ca^{2+} 上昇を、広範囲・長期間に渡って可視化するために、細胞内 Ca^{2+} 濃度に応答して蛍光を発するタンパク質（G-CaMP7）をグルタミン酸トランスポーター1（GLT-1）の下流に発現させることを試みた。試行錯誤の結果、817 系統において G-CaMP7 の強い発現を得たが、アストロサイトのみならず一部の興奮性ニューロンにも異所的な発現が認められた（BAC-GLT-1-G-CaMP7 #817 系統遺伝子改変マウス, RIKEN BioResource Center より入手可能。Resource ID : RBRC0965）。当初、このマウスは失敗作と思われたが、大脳皮質における蛍光タンパク質の発現が非常に強いため、蛍光実体顕微鏡下で、**頭蓋骨を薄く削ることなく**、大脳皮質全域の活動を可視化できることが明らかとなった（経頭蓋マクロイメージング）。我々はこのマウスを **G7NG817 マウス** と名付けた。G7NG817 マウスは、頭蓋骨越しに脳の活動が見えることから、脳機能マッピングに有効である。例えば、ヒゲ一本一本に対応するバレル皮質のニューロン活動など高時間・高空間分解能で可視化することができる。また、尾をつねる刺激に対しては、アストロサイト由来のゆっくりとした非常に明るい Ca^{2+} 上昇が大脳皮質全域で同期して生じることが分かった。この方法を用いて、これまで我々は、**経頭蓋直流電気刺激法 (tDCS)** によって誘導されるシナプス可塑性にアストロサイトの Ca^{2+} 上昇が重要な役割を果たしていることを報告してきた (Monai et al., *Nat. Commun.* 7:11100 (2016))。

(A) マウス固定脳における蛍光の発現パターンの矢状面（左右に分ける面）の断面図

上：比較用の野生型 (C57BL/6) マウス脳。下：作製した G7NG817 マウス脳。大脳皮質と海馬の一部に強い G-CaMP7 の発現がみられる。この強い発現のために、蛍光変化を頭蓋骨越しに測定することができる。

(B-D) 経頭蓋マクロイメージングによる深い麻酔下の G7NG817 マウスにおける自発的な Ca^{2+} 振動の可視化

視覚野 (B の黒い四角内) における蛍光輝度変化率 ($\Delta F/F$) を (C) にプロットした。振動の周波数はおよそ 0.5 から 2 Hz であり、これは麻酔下のげっ歯類で測定される局所電場電位 (LFP) の徐波に対応するものである。画像は一秒あたり 10 枚取得した。(D) では、(C) における点線部を拡大して表示した。ひし形で示された時間に対応する画像を (B) で表示した。

(E-G) G7NG81 マウスの経頭蓋イメージングによる大脳皮質カルシウム動態の機能マッピング

(E) 麻酔をかけた状態で、5 秒間に 50 回ずつヒゲ 1 本 1 本を刺激した。そのときのバレル野 (左画像の黄色枠内) におけるカルシウム応答の蛍光輝度の変化率を、疑似カラー表示し重ねて表示した (中央画像)。これは、右図に示す既知のバレル皮質のヒゲ-バレル野の対応と一致している。スケールバーは左画像が 1mm、中央画像が 250 マイクロメートル (μm 、1 μm は 1000 分の 1mm)。

(F) 目が覚めている状態で、10 ミリ秒の LED フラッシュ刺激を左目に与えた。そのときの視覚皮質のカルシウム応答の蛍光輝度の変化率を疑似カラーで表示した。応答は、1 秒以下という非常に短いものであった。

(G) 麻酔をかけた状態でテールピンチ刺激に対する応答。上段は、経頭蓋イメージングによる結果。B の視覚刺激と比較して約 10 倍程度蛍光輝度の変化率が大きく、時間も 20 秒間程度続く、ゆっくりとしたものであった。下段は、体性感覚野 (上段左端の黒色枠内) の一部において、二光子顕微鏡を用いた詳しい観察の結果 (ただし、上段とは異なる個体)。上段と同様の時間経過をたどる白く明るい細胞は、「アストロサイト」であった。一視野の大きさは一辺が 400 μm 程度。

■ 目 次 ■

第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会	1 5
ご案内	1 7
第 27 回学術集会プログラム	2 7
要旨	4 5
発表者索引	1 4 3
総会資料	1 5 1
学会定款	1 6 4

■ 第27回日本バイオイメージング学会学術集会 ■

主催：日本バイオイメージング学会

共催：国立研究開発法人産業技術総合研究所

共催：科学研究費補助金 新学術領域研究「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読」

会期：平成26年9月2日（日）～9月4日（火）

◆公開講座：9月2日（日）12:00～18:30（受付11:30～）

◆学術講演会：9月3日（月）8:50（受付8:00～）～9月4日（火）18:20

会場：産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂（茨城県つくば市東1-1-1）

（https://www.aist.go.jp/aist_j/guidemap/tsukuba/center/tsukuba_map_c.html を参照）

大会長：加藤 薫（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、
新学術領域研究「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読」計画班員）

学術集会ホームページ：<http://j-bioimaging.org/bioimaging2018/>

参加費：公開講座（無料）

学術集会

一般（会員・協賛学会員：6,000円、非会員：8,000円）

大学院生（会員：2,000円、非会員：3,000円）

学部学生 無料（発表する場合は大学院生に準ずる）

協賛学会（五十音順）

応用物理学会

日本化学会

化学工学会

可視化情報学会

日本顕微鏡学会

日本磁気共鳴医学会

日本細胞生物学会

日本神経化学会

日本生物物理学会

日本生理学会

日本組織細胞化学会

日本農芸化学会

日本物理学会

日本分光学会

日本分子生物学会

日本分析化学会

日本免疫学会

日本薬学会

日本薬理学会

日本蛋白質科学会

日本分子イメージング学会

■ 第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会運営委員会 ■

◆日本バイオイメージング学会

大会長：加藤 薫（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、
新学術領域研究「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読」計画班員）
副大会長・事務局：佐々木 章（産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門）

船津 高志（東京大学大学院薬学系研究科）
太田 善浩（東京農工大学大学院工学府生命工学専攻）
岡 浩太郎（慶應義塾大学理工学部生命情報学科）
岡部 弘基（東京大学大学院薬学系研究科）
朽津 和幸（東京理科大学理工学部 応用生物科学科）（印刷情報）
鈴木 亮（帝京大学薬学部）（次期大会長）
曾我 公平（東京理科大学基礎工学部 材料工学科）（分子イメージング連携）
中村 岳史（東京理科大学生命医科学研究所）

◆産業技術総合研究所

近江谷克裕（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 部門長）
小椋 俊彦（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門）

■ ご案内 ■

1. 受付・参加費

- (1) 大会受付にて、領収書とネームカードをお受け取りください。先着 80 名（無料聴講者除く）に企業合同セミナーの弁当引換券を配布いたします。当日受付の方は、参加費を納入（現金のみ）の上、領収書とネームカードをお受け取りください。

参加費（一般）：会員・協賛学会員 6,000 円、非会員 8,000 円

参加費（大学院生）：会員 2,000 円、非会員 3,000 円

参加費（学部学生）：聴講 無料、発表する場合 大学院生に準ずる
講演要旨集：2,000 円

- (2) 学術集会会期中はネームカードを必ず着用してください。
- (3) 依頼講演を除き、登壇者は日本バイオイメーキング学会会員に限ります。
(本年に限り、産業技術総合研究所共催なので、産総研の職員、契約職員、ポスドク、テクニカルスタッフ、連携大学院生は、共催機関の所属者として、非会員でも発表可能です。)
- (4) 9月3日（月）の受付は混雑が予想されますので、お早めに受付にお越しくください。受付開始時間は 8 時 00 分です。
- (5) 会場ではコインロッカーが使用可能です。公開講座ではトランク等大きい荷物の預かりサービスはございません。学術集会にて荷物がロッカーに入らない場合は受付に声をかけてください。

2. 発表者へのご案内

(1) 特別講演、シンポジウム

- ・講演時間は時間厳守にてお願いいたします。また、演者の方はシンポジウムの枠 15 分前までに試写をお願いいたします。バッテリー切れに備えて、電源アダプタをご持参ください。また、発表中はスクリーンセーバーや省電力モードにならないよう、設定をお願いします。
- ・講堂のプロジェクタとパソコンとの接続は、D-sub15 ピン端子（別名：アナログ RGB 端子・VGA 端子）を使用します。Mac 等の一部のノートパソコンは、別途コネクタが必要な場合がありますので、必ずご持参下さい。

(2) ポスター討論

- ・ポスターサマリー発表用には、Windows 10、Microsoft Power Point 2013 搭載のパソコンを用意します。

- ・ポスターサマリー発表は1件2分です。集会のスムーズな進行のため、時間厳守でお願いします。奇数番号のサマリー発表およびポスター討論は9月3日（月）、偶数番号のサマリー発表およびポスター討論は9月4日（火）です。
- ・ポスター討論の時間には、発表者はパネルの前にいてください。
- ・ポスターサイズはW 84 cm × H 119 cm（A0判）の大きさです。各パネルの左肩に演題番号が貼ってありますので、所定のパネルに展示して下さい。貼り付けに必要な押しピンは、ポスター会場に用意しています。
- ・ポスターは遅くともポスター討論に間に合うように掲示してください。
- ・ポスターの撤去は9月4日（火）17時10分以降に行ってください。撤去時間を過ぎ、取り外されていないポスターは原則、廃棄いたしますのでご注意ください。

3. ベストイメージング賞

ベストイメージング・浜ホト賞（浜松ホトニクス株式会社提供）、ニコン賞（株式会社ニコンインステック提供）、カールツァイス賞（カールツァイス株式会社提供）、OLYMPUS賞（オリンパス株式会社提供）という4つの賞が予定されています。参加者全員による投票により、ポスター発表の中から決定いたします。

- ・受付時に審査用紙をお渡しいたします。
- ・9月4日（火）17時10分までに投票をお願いいたします。
- ・受賞者の発表と表彰は9月4日（火）18時10分より講堂にて行います。

4. 企業合同セミナー（ランチョン形式）

9月3日（月）11:40-13:00に、出展企業による合同説明会を中会議室で行います。1社5分と短時間の説明になりますが、各企業の展示コンセプトと展示内容をご理解の上、ブースへも積極的にお越しいただけますと幸いです。なお、弁当引換券と引き換えに事務局より簡単なお弁当をご用意いたします。席数に限り（80席）がありますので、お弁当の無い方は立ち見となりますが、聴講は可能です。

5. 事務局主催ランチョンセミナー

9月4日（火）13:15-14:15に、ランチョンセミナーを中会議室で行います。弁当引換券と引き換えに事務局より簡単なお弁当をご用意いたします。席数に限り（80席）がありますので、お弁当の無い方は立ち見となりますが、聴講は可能です。

6. 理事会、評議員会、総会

理事会	9月2日（日）18:30-20:00	小会議室
評議員会	9月3日（月）11:40-13:00	小会議室
総会	9月4日（火）12:30-13:10	講堂

7. 眞島利和博士追悼講演

9月3日（月）13:05–13:40 講堂

8. 奨励賞受賞者講演

9月4日（火）17:40–18:10 講堂

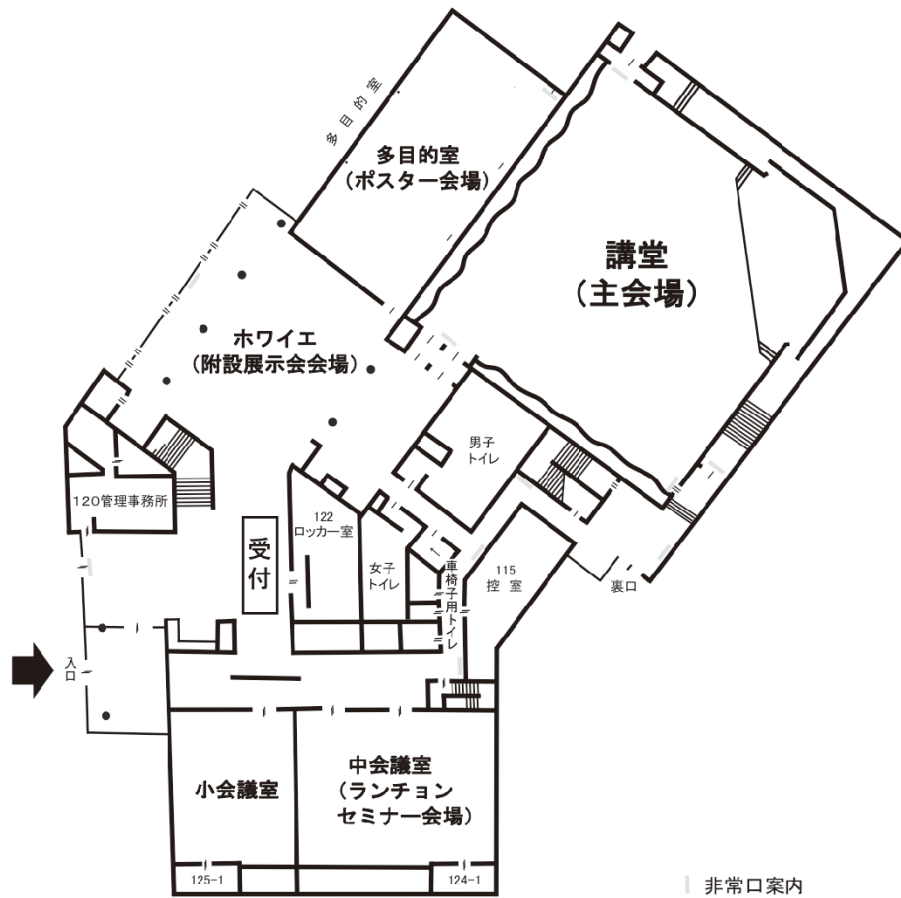
9. インターネットの利用について

共用講堂では無線 LAN（aist-open-wifi）によるインターネット接続が可能です。パスワード等は現地にてお知らせします。

10. 産総研グッズの販売

産総研グッズ（チョコレート、プラモデル、ハンカチ等）が共用講堂向かいの厚生棟2階のファミリーマートにて販売されています。ぜひお買い求めください。また、ファミリーマート、食堂は日曜定休となっております。ご了承ください。

■ 会場のご案内 ■



共用講堂 1階見取り図

総合受付・ロッカー：共用講堂入り口

特別講演・シンポジウム・ポスターサマリー：講堂

ポスター討論：多目的室

企業展示：ホワイエ

企業合同セミナー：中会議室

懇親会：カフェピクニック

理事会・評議員会：小会議室

総会：講堂

コンビニエンスストア：厚生棟2階

食堂：カフェピクニック（食堂）、厚生棟2階レストラン

※厚生棟1階の大食堂はプリペイドカードのみの支払いとなりますので、上記2箇所（現金会計可能）かコンビニエンスストアの利用をおすすめいたします。

■ 交通案内 ■

【会場】

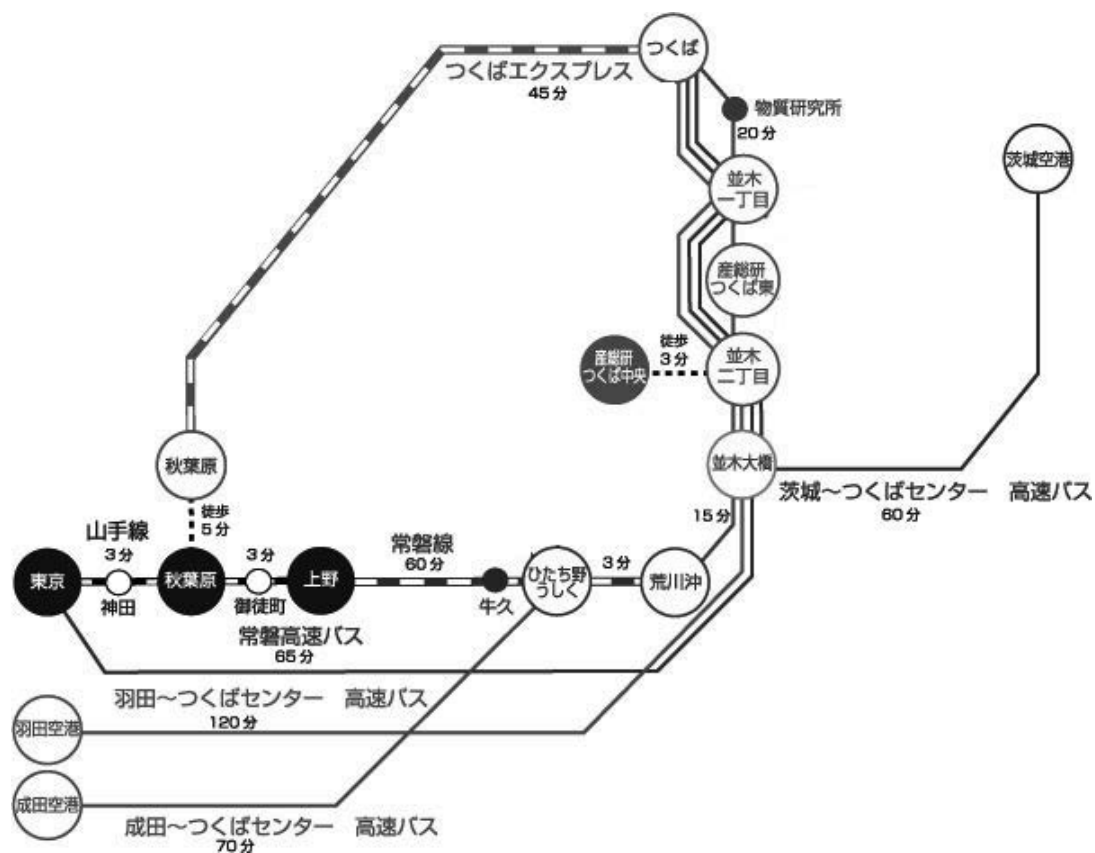
産業技術総合研究所つくばセンター（つくば中央） 共同講堂

〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1



産総研つくばセンター 共用講堂周辺マップ

【交通アクセス】



公共交通機関でのアクセス【電車＋バス】

つくばエクスプレス『つくば駅』より、関東鉄道バス『荒川沖駅行』『学園南循環(右回り)』『桜ニュータウン行』、あるいは産総研の『連絡バス(無料、平日のみ)』のいずれかに乗車し、20分。「並木二丁目」下車。

JR常磐線『荒川沖駅』より、関東鉄道バス『筑波大学中央行』または、『つくばセンター行(並木経由)』に乗車。「並木二丁目」下車。

【高速バス】

『東京駅八重洲口』より高速バス『筑波大学/つくばセンター行』で65分、「並木二丁目」下車。

『羽田空港』より高速バス『つくばセンター行』で120分、「並木二丁目」下車。

『成田空港』より高速バス『つくばセンター行』で70分、「並木二丁目」下車。

『茨城空港』より高速バス『つくばセンター行』で60分、「並木二丁目」下車。

自家用車でのアクセス

自家用車での来所は可能な限り避けて下さい。(駐車場に限りがあるため)

■ 展示企業一覧 ■

展示の御協力に厚く御礼を申し上げます

☆9月3日に企業合同セミナー（ランチョン形式）を行います

株式会社アートレイ

アンドール・テクノロジー Ltd

ケイエルブイ株式会社

コーンズテクノロジー株式会社

株式会社生体分子計測研究所

セブンシックス

東京化成工業株式会社

株式会社東陽テクニカ

株式会社東レリサーチセンター

株式会社ナノシード

浜松ホトニクス株式会社

株式会社ビジコムジャパン

横河電機株式会社

株式会社ライトストーン

平成30年8月27日 現在

*五十音順、敬称略

第27回バイオイメージング学会学術集会
ベストイメージング賞スポンサーよりのメッセージ

OLYMPUS 賞



オリンパス株式会社

オリンパス株式会社は日本で最初に顕微鏡を商品化した会社として、長年に渡ってバイオイメージングの研究を支えてきました。本学会におきましても、皆様のご研究を支えていくために、毎年 OLYMPUS 賞として賞品を提供しております。

ニコン賞



ニコンは、優れた顕微鏡画像を通じ人々に新鮮な驚きや感動を与えるとともに、最先端の科学技術の重要性を伝えてきました。優れた顕微鏡画像を通じ、新たな感動を与えてくださる研究者とその画像に対し、ニコン賞を贈呈いたします。

株式会社 **ニコン** インステック

Carl Zeiss 賞

カールツァイス株式会社

1846年に創業した弊社は、革新的な顕微鏡システムを世に送り出し続けてきました。そこには研究者の方々の飽くなき探求心と情熱があったからこそです。本学会においては、次世代を担う若手研究者の方々に、ツァイス賞を贈呈したいと思います。



浜ホト賞

浜松ホトニクス株式会社

世界で初めてテレビに「イ」の字が映し出されてから約80年。光技術は目覚ましく進歩し、21世紀を「光の世紀」と呼ばしめるまでになりました。これまで、そしてこれからも、浜松ホトニクスは光と共に人類未知未踏の技術を追い求めて発展を続けていきます。

我々は“女神の前髪を掴む”様な研究を応援しています。

HAMAMATSU
PHOTON IS OUR BUSINESS

(掲載は順不同です)

■ プログラム ■

■プログラム■					
第27回日本バイオイメージング学会学術集会 日程表					
9月2日(日)		9月3日(月)		9月4日(火)	
		8:00	受付 8:00~	8:00	受付 8:00~
		8:50	開会	8:50	シンポジウム3 「細胞を見る、測る」
		9:00	シンポジウム1-a 「分子を見る-1」		
		10:15	休憩		
		10:20	ポスターサマリー講演1 ポスター奇数番号		
11:00	受付 11:00~	11:35	休憩	11:05	休憩
		11:40	企業合同セミナー (ランチョン形式) 80名限定 【中会議室】	11:10	ポスターサマリー講演2 ポスター偶数番号
			評議 委員会 【小会議室】	12:25	総会
12:00		13:00	休憩	13:10	休憩
		13:05	眞島先生追悼講演	13:15	事務局主催セミナー (ランチョン形式) 80名限定 【中会議室】
		13:35	休憩		
		13:40	シンポジウム1-b 「分子を見る-2」	14:15	休憩
				14:20	シンポジウム4 「医療と人体の イメージング」 (分子イメージング学会 との合同シンポジウム)
	12:00-18:30 公開講座 【共用講堂】	15:15	ポスター討論 ポスター奇数番号 【多目的室】	16:00	ポスター討論 ポスター偶数番号 【多目的室】
		16:25	シンポジウム2 「プローブと個体の イメージング」	17:10	特別講演(学術交流講演)
		18:05	移動	17:40	奨励賞講演
18:30	理事会 【小会議室】	18:20	懇親会 【ピクニック食堂】	18:10	ベストイメージング賞授与式、 閉会
20:00		20:00		18:20	

第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会プログラム

◎公開講座プログラム (参加無料)

日時： 2018 年 9 月 2 日 (日) 12:00～18:30 (受付 11:00～)

会場：産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂

『顕微鏡イメージングを学ぶ』

12:00～14:10

開会あいさつ

船津高志

東京大学大学院薬学系研究科

【光学顕微鏡の基礎】

座長：船津高志 (東京大学大学院薬学系研究科)

佐々木章 (産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門)

K-1. 光学顕微鏡で見る世界

加藤薫

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

K-2. 顕微鏡透過観察-明視野、位相差、微分干渉を中心に

三宅範夫

株式会社ニコン

K-3. 蛍光顕微鏡

幸村心元

オリンパス株式会社

K-4. 蛍光顕微鏡イメージングで使用される高感度カメラ

伊東克秀

浜松ホトニクス株式会社

K-5. 一分子生理学

船津高志

東京大学大学院薬学系研究科

14:10～14:20 <休憩>

14:20～16:00

K-6. 共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡

幸村心元

オリンパス株式会社

K-7. 光学顕微鏡の分解能と超解像顕微鏡

加藤薫

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

K-8. ピンホールを越えた Airyscan 検出器

関川明生

カールツァイス株式会社

K-9. 超解像顕微鏡 SIM について

大原大典

株式会社ニコン

K-10. STED 超解像顕微鏡 最新イメージング

長利卓

ライカマイクロシステムズ株式会社

16:00～16:20 <休憩>

16:20～18:30

【光学顕微鏡の応用】

座長：岡浩太郎（慶應義塾大学理工学部）

加藤薫（産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門）

K-11. 生きたままの脳をみる —2 光子顕微鏡

根本知己

北海道大学電子科学研究所

K-12. 揺らぎ解析の基礎と応用

金城政孝

北海道大学大学院先端生命科学研究院 先端細胞機能科学分野

K-13. ホタルの光でみる細胞の世界

近江谷克裕

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

K-14. バイオイメージングに関わる学際的技術開発

宮脇敦史^{1,2}

¹ 国立研究開発法人理化学研究所 脳神経科学研究センター

² 国立研究開発法人理化学研究所 光量子工学研究センター

閉会あいさつ

近江谷克裕

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

※公開講座 『顕微鏡イメージングを学ぶ』について オーガナイザー：加藤 薫（産総研）

【受講方法】

公開講座は無料です。当日、受付で名刺と引き替えに入場用のカードをお渡しします。
名刺のない方は申込書に記入頂きます。

【公開講座のねらい】

バイオイメージングの裾野を広げ、学会に参加する可能性がある人の層を広げるために
行います。バイオイメージングを学びたい人なら、学会参加は問わず、歓迎します。
なお、無料の公開講座ですが、講義内容に妥協はありません。

【受講対象者】

バイオイメージングを研究のツールとして使う可能性がある方、興味がある方など、入
門者が対象。ベテランの参加も歓迎です。平易な解説に努めますが、大学院修士程度の
内容です。

【テキストについて】

希望者に実費で配布します。カラーレーザープリンターでの印刷で、
『光学顕微鏡の基礎』に、使用した PPT を中心に、6 スライドを 1 ページに縮小印刷し
たものです。100-200 ページ程度を予定しています。HP で 8 月上旬に申込受け付けます。

◎学術集会プログラム

日時：9月3日（月）8:50～9月4日（火）18:20

会場：産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂（茨城県つくば市東1-1-1）

9月3日（月）

8:50

【開会】

第27回学術集会大会長 加藤 薫

9:00～10:15

【シンポジウム 1-a】 「分子をみる 1 (NMR ほか)」

座長：飯塚怜（東京大学）

矢木宏和（名古屋市立大学）

S1a-1. NMR と計算科学の統合による糖鎖の3次元構造ダイナミクスの解析

○矢木宏和¹、鈴木達哉^{1,2}、谷中冴子^{1,2}、山口拓実^{1,3}、加藤晃一^{1,2}

¹名古屋市立大学大学院薬学研究科、²自然科学研究機構生命創成探究センター、³北陸先端大マテリアルサイエンス系

S1a-2. X線結晶構造解析に基づいた構造生物学の統合アプローチ

○宮川拓也¹、田之倉優¹

¹東京大学大学院農学生命科学研究科

S1a-3. クライオ蛍光顕微鏡で分子をみると

藤芳 暁（東京工業大学理学院）

10:15～10:20 <休憩>

10:20～11:35

【ポスターサマリー講演 1】

座長：洲崎悦子（就実大学）

松村義隆（東京薬科大学）

P1. 深部微細構造を鮮明かつ定量的にイメージングする自動球面収差補正システム

○毛内 拡^{1,2}、上 喜裕³、樋口 香織³、西脇 大介³、田島 鉄也³、岡咲 賢哉³、濱 裕²、平瀬 肇²、宮脇 敦史^{2,3}

¹お茶の水女子大学 理学部 生物学科、²理化学研究所 脳神経科学研究センター（理研 CBS）、³理研 CBS-オリンパス連携センター（BOCC）

P3. 位相変調型空間光変調器を用いた3次元多点二光子刺激顕微鏡の開発

○瀧口 優¹、Yi Xue²、Peter T.C. So²、豊田晴義¹

¹浜松ホトニクス株式会社中央研究所、²Massachusetts Institute of Technology

- P5. 高速 AFM による 2 つの異なる転移活性ドメインを有する糖転移酵素の動的構造解析**
 ○吉田早希¹、矢木宏和¹、渡辺大輝²、小財稔矢²、守島 健³、杉山正明³、内橋貴之^{2,4}、加藤晃一^{1,4}
¹名古屋市立大学薬学部、²名古屋大学大学院理学研究科、³京都大学複合原子力科学研究所、⁴自然科学研究機構生命創成探究センター
- P7. PCNA の核内集積を指標にした青色レーザー光照射が生細胞に与える影響**
 ○高橋圭介¹、金丸直弘¹、松山哲也¹、和田健司¹、岡本晃一¹、川喜多愛²、村田香織²、杉本憲治²
¹大阪府立大学工学研究科、²大阪府立大学生命環境科学研究科
- P9. 量子ドットを用いた移植幹細胞・免疫細胞間 interaction 蛍光イメージング**
 ○北村晃大¹、湯川博²、佐藤 和秀³、有本 知子¹、小野島 大介^{1,4}、石川 哲也³、馬場 嘉信^{1,2,4,5}
¹名古屋大学大学院 工学研究科、²先端ナノバイオ研究センター、³医学系研究科、⁴未来社会創造機構、⁵産業技術総合研究所 健康工学研究部門
- P11. 2光子励起顕微鏡を用いたインフルエンザウイルス感染マウスにおける肺の生体イメージング**
 ○植木紘史¹、I-Hsuan Wang¹、福山聡¹、桂廣亮¹、Lopes TJS^{1,2}、Gabriele Neumann²、河岡義裕^{1,2}
¹東大医科研・ウイルス感染分野
- P13. 細胞内タンパク質を迅速に発蛍光ラベル化する化学プローブの開発**
 ○Gao Jingchi¹、堀雄一郎^{1,2}、菊地和也^{1,2}
¹大阪大学大学院工学研究科、²大阪大学免疫学フロンティア研究センター
- P15. 多点走査型 2 光子顕微鏡への偏光分離光学系の導入と生体イメージングへの応用**
 ○後藤亜衣^{1,2}、大友康平^{1,2}、根本知己^{1,2}
¹北海道大学情報科学研究科、²北海道大学電子科学研究所
- P17. 共焦点蛍光顕微鏡画像の定量評価に向けた画像ベース蛍光相関法の開発**
 ○佐々木章¹、Michael Halter²、John T. Elliott²
¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²アメリカ国立標準技術研究所
- P19. ジャイアントベシクル内での微生物培養のリアルタイム観察**
 ○森田雅宗、加藤薫、野田尚宏
 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門
- P21. 光ファイバ型蛍光相関分光装置の開発と実証**
 ○山本条太郎¹
¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

- P23. 赤外・ラマン分光による硬骨魚類ウロコの構造解析**
 ○奈良雅之、丸山雄介、服部淳彦
 東京医科歯科大学教養部
- P25. エクソソームマイクロ RNA のプロファイリングに基づく疾病診断システムの開発**
 ○飯塚 怜^{1,2}、土屋 章一²、利岡 文美²、船津 高志¹、一木 隆範^{2,3}
¹東京大学 大学院薬学系研究科、²ナノ医療イノベーションセンター、
³東京大学 大学院工学研究科
- P27. X線1分子追跡法による線虫1分子動態の観察**
 ○倉持昌弘^{1,2,3}、関口博史⁴、青山光輝⁴、戸井基道²、三尾和弘^{2,3}、
 津田栄^{2,3}、佐々木裕次^{1,3,4}
¹東京大、²産総研、³産総研・東大 OIL、⁴SPRING-8/JASRI
- P29. 超解像イメージングにより明らかとなった新たな染色体構造**
 ○高田英昭¹、Rawin Poonperm²、加藤薫¹、松田厚志³、平岡泰⁴、福井希一²
¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²大阪大学大学院工学研究科、³情報通信研究機構未来 ICT 研究所、⁴大阪大学大学院生命機能研究科
- P31. 心筋梗塞部位を標的とした薬物デリバリーキャリアの開発**
 ○鈴木 亮¹、Dasa Siva²、丸山一雄¹、Brent French²、Kimberly Kelly²、
 Alexander Klibanov²
¹帝京大学薬学部、²University of Virginia, Cardiovascular Research Center
- P33. 肺内での炎症誘導にともなう T リンパ球の浸潤様式の解析**
 ○長谷川明洋¹、荻野英賢¹、中山俊憲²
¹山口大学大学院医学系研究科、²千葉大学大学院医学研究院
- P35. 金ナノ粒子を利用した単一細胞内の局所的加熱法の開発**
 ○本多孝明¹、岡部弘基¹、船津高志¹
¹東京大学大学院薬学系研究科
- P37. *In Vivo* Temperature Imaging for Deeper Abdominal Region of Mice Using Ratiometric Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Rare-Earth-Doped NaYF₄ Nanothermometer**
 ○Shota Sekiyama¹、Masakazu Umezawa^{1,2}、Shuhei Kuraoka¹、Takuji Ube¹、Masao Kamimura^{1,2}、and Kohei Soga^{1,2}
¹Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology, Tokyo University of Science; ²Imaging Frontier Center, RIST, Tokyo University of Science
- P39. FE-SEM 及び EDS による胆石成分の分析**
 ○水本朔¹、李黎明¹
¹千歳科学技術大学大学院 光科学研究科

P41. 超解像顕微鏡を用いた哺乳類大脳発生時のクロマチン構造変化の観察と機能解明

○平野和己¹、波平昌一¹、田中みなみ¹、加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

P43. マウス脳スライス細胞の温度イメージング

○岡部弘基¹、星雄高¹、池谷裕二¹、小山隆太¹、船津高志¹

¹東京大学大学院薬学系研究科

P45. 溶液中 FM-AFM を用いた有機・生体分子材料表面の水和構造イメージング

○平田芳樹¹、木南裕昭²、小林圭²、山田啓文²、田中睦生³、黒澤茂¹

¹産業技術総合研究所健康工学研究部門、²京都大学工学研究科、³埼玉工業大学工学部

P47. 骨格筋ミトコンドリア構造の共焦点顕微鏡解析と筋萎縮による影響

○武田紘平¹、石山静葉²、加藤薫²、武政徹¹

¹筑波大学体育系、²産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

P49. 成長円錐ラメリポディア領域のアクチンの束化タンパク質ファシンの機能解析

○田中みなみ^{1,2}、藤井裕紀³、平野和己¹、石川良樹⁴、岡嶋孝治³、加藤薫¹

¹産総研バイオメディカル、²筑波大院生命環境、³北大院、情報科学、⁴群馬県立健康科学大

11:35～11:40 <休憩・移動>

11:40～13:00

【企業合同セミナー（ランチョン形式）】

評議委員会

場所：中会議室

場所：小会議室

13:00～13:05 <休憩>

13:05～13:35

【眞島利和博士追悼講演】

座長：鈴木和男（帝京大学）

加藤薫（産業技術総合研究所）

眞島利和博士と筋収縮分子機構

石渡信一

早稲田大学理工学術院

13:35～13:40 <休憩>

13:40～15:15

【シンポジウム 1-b】 「分子をみる 2 (電子顕微鏡)」

座長：小椋俊彦 (産業技術総合研究所)

宮川拓也 (東京大学)

S1b-1. 三次元光電子相関顕微鏡法(3D-CLEM)で見るミトコンドリアダイナミクス

太田啓介^{1,2}

¹久留米大学医学部先端イメージング研究センター、²久留米大学医学部解剖学講座

S1b-2. Structural changes in actin filaments induced by repetitive interaction with myosin II have an important role to inhibit cofilin binding and severing to actin filaments, as demonstrated by high speed AFM

Kien Xuan NGO

Nano Life Science Institute (WPI-NanoLSI), Kanazawa University,

S1b-3. 走査電子誘電率顕微鏡による水溶液中の生物試料の高分解能観察

○小椋俊彦¹、岡田知子¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

S1b-4. 最先端電顕イメージング法

岩崎憲治

大阪大学蛋白質研究所

15:15～16:25

【ポスター討論 1 ポスター奇数番号】

16:25～18:05

【シンポジウム 2】 「プローブと個体のイメージング」

座長：曾我公平 (東京理科大学)

樋口ゆり子 (京都大学)

S2-1. マルチモダル多光子顕微鏡のバイオイメージングへの応用

塗谷睦生

慶応大学医学部

S2-2. 量子ナノ材料による iPS 細胞イメージングと再生医療への貢献

湯川博

名古屋大学大学院工学研究科

S2-3. 植物イメージングにおける超耐光性近赤外蛍光色素の利用

○佐藤良勝¹、多喜正泰¹

¹名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所

S2-4. Bioluminescent technology for visualization of biological functions

Takeharu Nagai

The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka university.

18:05～18:20 <移動>

18:20～20:00

【懇親会】

場所：カフェピクニック（食堂）

9月4日（火）

8:50～11:05

【シンポジウム3】「細胞を見る、測る」

座長：太田善浩（東京農工大学）

岡部弘基（東京大学）

S3-1. 超解像光学顕微鏡による繊維状アクチンのイメージング

○田中みなみ^{1,2}、加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²筑波大学大学院生命環境科学研究科

S3-2. 高速超解像スピニングディスク共焦点顕微鏡の開発

○景虹之¹、東拓哉¹

¹横河電機株式会社 ライフイノベーション事業本部 バイオソリューションセンター

S3-3. 細胞内温度のイメージング観察と操作による温度生物学

○岡部弘基¹、船津高志¹

¹東京大学大学院薬学系研究科

S3-4. オルガネラの形態制御法 iCOM の開発

○宮本崇史¹、島野仁¹

¹筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科

S3-5. Split-GFP を用いたオルガネラコンタクトサイトの可視化と解析

田村康

山形大学理学部理学科

S3-6. 細胞核・クロマチン動態の生細胞イメージング

木村宏

東京工業大学科学技術創成研究院細胞制御工学研究センター

11:05～11:10 <休憩>

11:10~12:30

【ポスターサマリー講演2】

座長：橋本香保子（千葉工業大学）

朽津和幸（東京理科大学）

P2. 物理化学と計算科学によるアガリクス由来βグルカンの立体構造解析

○松村義隆¹、井上広大¹、墨野倉誠¹、久保美香子¹、出村茉莉子¹、市岡隆幸¹、森本康幹¹、田代充²、石橋健一³、大野尚仁³、小島正樹¹

¹東薬大・生命,³薬,²明星大・理工

P4. 磁性ナノプローブによるカルシウム応答型 fMRI

○岡田智¹、Benjamin B. Bartelle²、Nan Li²、Vincent Breton-Provencher^{3,4}、Jiyoung J. Lee²、Elisenda Rodriguez²、James Melican²、Mriganka Sur^{3,4}、Alan Jasanoff^{2,3,5}

¹産業技術総合研究所健康工学研究部門、²MIT 生物工学科、³MIT 脳認知科学科、⁴MIT ピカワー学習記憶研究所、⁵MIT 原子力工学科

P6. 真菌由来 β グルカン 3 量体の立体構造解析

○坂田喬亮、中村百花、寺林杏理、沖歩、松村義隆、小島正樹
東薬大・生命

P8. 単一ミトコンドリアイメージングによるクリステ構造安定化機構の研究

○米田真由¹、柴田貴弘¹、大澤郁朗²、太田善浩¹

¹東農工大・院工・生命工、²都健康長寿医療センター研・生体調節機能

P10. Intracellular Ca²⁺ dynamics in guinea pig-pulmonary vein cardiomyocytes

○Yusuke Tanaka, Tamano Ohmori, Shogo Hamaguchi, Iyuki Namekata, Hikaru Tanaka

Department of Pharmacology, Toho University Faculty of Pharmaceutical Sciences

P12. Green-Red 蛍光タンパク質を用いた二光子 FRET イメージング条件の最適化

○杉澤元徳^{1,2}、竹内公平^{1,3}、田中響¹、須田亮^{2,3}、中村岳史^{1,3}

¹東京理科大・生命研、²東京理科大・理工・物理、³東京理科大・IFC、

P14. ゼニゴケをモデルとした植物の長距離シグナル伝達のイメージング解析

○橋本研志¹、進藤大輝²、板橋武²、溝江暉²、長谷川実咲²、朽津和幸^{1,2}

¹東京理科大学イメージングフロンティアセンター、²東京理科大学理工学部
応用生物科学科

P16. 小胞体移行性CEPIAを用いた膵臓β細胞株INS-1の小胞体Ca²⁺の可視化：

高脂肪酸環境が小胞体-細胞質間のCa²⁺動態に与える影響

川久保愛美¹、田中光²、○田中直子¹

¹大妻女子大・食物、²東邦大・薬

- P18. がんスフェロイド解析のためのイメージングセルピッカーと形態情報解析の開発**
 ○加藤 寛人¹、渋田 真結¹、日下部 涼子²、蟹江 慧¹、松井 裕史²、柳沢 真澄³、金森 敏幸⁴、杉浦 慎治⁴、加藤 竜司¹
¹名大院・創薬科学,²筑波大・医,³ESCO,⁴産総研・創薬基盤
- P20. イネ葯タペト層のプログラム細胞死・花粉成熟における活性酸素種(ROS)生成・オートファジーの動態解析とその役割**
 ○朽津和幸^{1,2}、澤田隼平¹、福永任吾¹、花俣繁^{2,3}、小野聖二郎⁴、小川和准¹、賀屋秀隆^{1,5,6}、土岐精一⁶、野々村賢一⁴、来須孝光^{2,7}
¹東京理科大学工学部応用生物科学科、²東京理科大学イメージングフロンティアセンター、³新潟大学自然科学系(農)、⁴国立遺伝学研究所実験圃場、⁵農研機構・生物機能利用部門、⁶愛媛大学農学部、⁷公立諏訪東京理科大学工学部
- P22. 円順列変異体の組合せにより Rab11 センサーのダイナミックレンジの拡大を図る**
 ○松井真優、照井翔、金光(藤田)明音、中村岳史
 東京理科大学生命医科学研究所
- P24. 量子ドットによる完全透明化組織内移植幹細胞イメージング**
 ○水巻登志樹¹、湯川 博¹、小野島大介¹、洲崎悦夫²、上田泰己²、馬場嘉信¹
¹名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻、²東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻
- P26. 植物の発生・形態形成における活性酸素種(ROS)の役割-ゼニゴケの ROS 生成酵素欠損変異体の形態形成異常のイメージング解析-**
 ○萩原雄樹¹、橋本研志²、宮本大輔¹、高川智弘¹、浅井卓也³、小関泰之^{2,3}、朽津和幸^{1,2}
¹東京理科大学工学部応用生物科学科、²東京理科大学イメージングフロンティアセンター
- P28. X線1分子追跡法による TRPV1 チャンネルの3次元運動**
 ○藤村章子¹、三尾和弘¹、倉持昌弘²、関口博史³、三尾宗代¹、久保泰¹、佐々木裕次^{1,2,3}
¹産総研・東大先端オペランド計測技術 OIL、²東京大学大学院新領域創成科学研究科、³高輝度光科学研究センター SPring-8
- P30. pH感受性蛍光プローブによる破骨細胞プロトンポンプ動態の in vivo 観察**
 ○蓑島維文¹⁾、大森雄太¹⁾、菊地和也^{1,2)}
¹⁾大阪大学大学院工学研究科、²⁾大阪大学免疫学フロンティア研究センター

- P32. 様々なマーカーを用いた植物細胞内のアクチンフィラメントのライブイメージング**
 ○貴嶋紗久¹、長崎晃²、光田展隆¹、上田太郎³
¹産業技術総合研究所生物プロセス研究部門、²産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、³早稲田大学先進理工学部
- P34. Toward Automated Identification and Analysis of Cell Differentiation Stages using Bright Field Microscope Image by Artificial Intelligence**
 Archana Bajpai¹, ○Toutai Mitsuyama¹
¹National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)
- P36. 多点走査型2光子顕微鏡による4重標識生細胞の3次元経時観察**
 ○鎌田恭史^{1,2}、大友康平^{1,2}、村田隆^{3,4}、長谷部光泰^{3,4}、根本知己^{1,2}
¹北海道大学・大学院情報科学研究科、²北海道大学・電子科学研究所、³基礎生物学研究所・生物進化研究部門、⁴総合研究大学院大学・生命科学研究所
- P38. マイクロバブルと超音波を用いた脳標的薬物デリバリーに関する基礎的検討**
 ○小俣大樹¹、鈴木 亮¹、萩原芙美子¹、Johan Unga¹、宗像理紗¹、島 忠光¹、影山沙織¹、丸山一雄¹
¹帝京大学 薬学部
- P40. レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた植物細胞表層の粘弾性特性の解析: 活性酸素種を介した植物細胞の先端成長と細胞壁の力学的特性の制御機構**
 ○森作俊紀¹、大貫仁碧²、橋本研志³、朽津和幸^{3,4}、由井宏治^{1,2}
¹東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 ウォーターフロンティアサイエンス&テクノロジー研究センター、²東京理科大学 理学部第一部 化学科、³東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 イメージングフロンティアセンター、⁴東京理科大学 理工学部 応用生物科学科
- P42. マクロファージ細胞のファゴサイトーシスにおけるLPSのアジュバント作用**
 ○大友 拓也¹、橋本 香保子^{1,2}
¹千葉工業大学工学研究科生命環境科学専攻、²千葉工業大学先進工学部生命科学科、
- P44. OTN近赤外蛍光イメージングシステムを用いた胆汁排泄のライブイメージング**
 ○梅澤雅和^{1,2}、吉田萌¹、上村真生^{1,2}、曾我公平^{1,2}
¹東京理科大学基礎工学部材料工学科、²東京理科大学総合研究院 IFC
- P46. 組織透明化技術による皮膚内部構造の3Dイメージングと構造解析**
 ○西澤志乃¹、東ヶ崎健¹、石渡潮路¹、松熊祥子¹
¹株式会社ファンケル総合研究所

P48. 単一光子で分光可能な超伝導転移端センサ (TES) のイメージング応用

○丹羽一樹、服部香里、福田大治

産業技術総合研究所物理計測標準研究部門

P50. 細胞内局所でのマグネシウムイオンの FRET イメージング

○新藤豊¹、山中龍¹、鈴木孝治²、堀田耕司¹、岡浩太郎¹

¹慶大理工生命情報、²慶大理工応化

12:30～13:10

【総会】

13:10～13:15 <休憩・移動>

13:15～14:15

【事務局主催ランチョンセミナー】

場所：中会議室

座長：佐々木章（産業技術総合研究所）

中村岳史（東京理科大学）

LS2-1. 4D イメージングで迫る積荷タンパク質のゴルジ体内輸送機構

○黒川量雄、宮代大輔、中野明彦

理化学研究所光量子工学研究センター

LS2-2. 計算科学による酵素活性制御分子の解析

○加藤有介¹、伊藤吹夕²、高橋和浩³、菅又龍一²、黒沢すみれ¹、頼田和子¹、鈴木章一²、山本友子²、河内正治²、三牧正和³、鈴木和男²、福井清¹

¹徳島大学 先端酵素学研究所、²帝京大学 アジア国際感染症制御研究所、³帝京大学医学部 小児科学講座

LS2-3. pH 感受性蛍光プローブによる破骨細胞プロトンポンプ動態の in vivo 観察

○藪島維文¹、大森雄太¹、菊地和也^{1,2}

¹大阪大学大学院工学研究科、²大阪大学免疫学フロンティア研究センター

LS2-4. 細胞内マグネシウムイオンイメージング

○新藤豊¹、山中龍¹、鈴木孝治²、堀田耕司¹、岡浩太郎¹

¹慶大理工生命情報、²慶大理工応化

14:15～14:20 <休憩・移動>

14:20～16:00

【シンポジウム 4】「医療と人体のイメージング」

(分子イメージング学会合同シンポジウム)

座長：高松哲郎（京都府立医科大学）

久下裕司（北海道大学）

S4-1. 医療におけるフォトニクスの進歩 -手術支援システムへの応用-

高松哲郎

京都府立医科大学医学フォトニクス講座

S4-2. 機能性ナノ粒子を用いたがん抗体医薬の薬効イメージング

○権田幸祐¹、徳永正之¹、古澤直子²、中野寧²

¹東北大学大学院医学系研究科、²ユニカミノルタ(株)開発統括本部バイオ要素技術開発室

S4-3. PET による生体イメージング

岡沢秀彦

福井大学高エネルギー医学研究センター 生体機能解析学部門

S4-4. MRI を用いた機能イメージングのトピックス

原田雅史

徳島大学医歯薬学研究部放射線医学分野

16:00～17:10

【ポスター討論 1 ポスター偶数番号】

17:10～17:40

【特別講演（学術交流講演）】

座長：永井健治（大阪大学）

最新化学に基づく新たなイメージング・振動技術の創製

浦野 泰照

東京大学大学院薬学系研究科、同医学系研究科

17:40～18:10

【奨励賞受賞講演】

座長：賞選考委員会

イメージングを基軸としたタンパク質の機能解析および探索

飯塚怜

東京大学大学院薬学系研究科

18:10～18:20

【ベストイメージング賞授与式・閉会】

◎本学術集会についての問い合わせ先

第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会事務局

E-mail : bioimage2018@aist.go.jp

(できるだけ電子メールでの連絡をお願い申し上げます)

URL: <http://j-bioimaging.org/bioimaging2018/>

〒305-8566

茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6

産業技術総合研究所

バイオメディカル研究部門

加藤 薫 方

TEL : 029-861-5555 / FAX : 029-861-6407

■ 学術講演会 要旨 ■

特別講演

奨励賞受賞講演

眞島利和博士追悼講演

シンポジウム 1-a 「分子をみる 1 (NMR ほか) 」

シンポジウム 1-b 「分子をみる 2 (電子顕微鏡、AFM) 」

シンポジウム 2 「プローブと個体のイメージング」

シンポジウム 3 「細胞を見る、測る」

シンポジウム 4 「医療と人体のイメージング」

事務局主催セミナー

最新化学に基づく新たなイメージング・摂動技術の創製

Development of chemistry-based state-of-the-art imaging and perturbation technologies

○浦野泰照^{1,2,3}

¹ 東京大学大学院薬学系研究科 薬品代謝化学、² 同医学系研究科 生体情報学、³ AMED CREST

○Yasuteru Urano^{1,2,3}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences and ² Medicine, The University of Tokyo, ³ CREST AMED

蛍光イメージング技法は、生きている細胞や動物体内における各種生体応答を、リアルタイムかつ高感度に捉えることが可能であるため、現代の医学・生物学領域研究に必須の手法となっている。実際、2008年のノーベル化学賞が下村脩先生らによる「緑色蛍光タンパク質(GFP)の発見と開発」に、2014年のノーベル化学賞が「超解像度の蛍光顕微鏡の開発」に与えられたことから、近年の蛍光イメージング技術の重要性が伺える。

蛍光イメージングの実現には、蛍光顕微鏡などの光学技術と観測対象分子を可視化する蛍光プローブの両者が重要な要素技術となる。前者に関しては、共焦点顕微鏡、二(多)光子顕微鏡、蛍光寿命顕微鏡、全反射照明顕微鏡、超解像顕微鏡など様々な革新的光学技術が開発され、実用化に至っている。後者に関しても、GFP技術やFITCといった蛍光タグとしてのプローブだけでなく、Fluo-3やCameleonなどのカルシウムイオンプローブをはじめとする、数多くの蛍光特性変化型イメージングプローブが開発されてきている。筆者らはこの中で、特に有機小分子蛍光プローブの論理的精密設計を可能とする、励起状態分子の発蛍光性の精密制御に関する光物理有機化学研究を鋭意行い、全く新たな蛍光プローブ分子設計法を複数確立し、新規蛍光プローブの開発と新たなイメージングの実現に成功してきた(Kenmoku S, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2007; Kamiya M, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2011; Sakabe M, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2013; Uno S, et al., *Nat. Chem.* 2014; Umezawa K, et al., *Nat. Chem.* 2017)。さらに同原理に基づき、励起状態からの発蛍光以外の緩和過程を精密に制御することで、activatable型生物発光プローブ・光増感プローブや可視光励起ケージド化合物などの新たな観測・摂動技術の創製にも成功してきた(Takakura H, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2015; Ichikawa Y, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014; Umeda N, et al., *ACS Chem. Biol.* 2014)。

本講演では、化学的な発想を駆使することで誕生する最新高機能イメージング・摂動プローブ開発事例と、それらを活用したイメージング例などをまず概観する。さらに筆者らが近年鋭意遂行している、外科・内視鏡手術によってがん部位を精確に摘出し、がんの取り残しによる再発を激減させることを目指した新たな蛍光プローブの開発事例に関しても紹介する(Urano Y, et al., *Nat. Med.* 2009; Urano Y, et al., *Sci. Transl. Med.* 2011; Asanuma D, et al., *Nat. Commun.* 2015; Ueo H, et al., *Sci. Rep.* 2015; Shinden Y, et al., *Sci. Rep.* 2016)。本アプローチは、単に既存のバイオマーカー可視化に基づく診断プローブの開発だけでなく、筆者らの持つ数百種類の蛍光プローブから成るライブラリーを新鮮臨床検体へと適用してライブイメージングを行うことで、新たなバイオマーカーの発見をも可能とするものであり(Onoyama H, et al., *Sci. Rep.* 2016)、さらに同一バイオマーカーを活用した診断と治療の一体化も実現するものである(Chiba M, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017)。本講演では、これらのがん診断と治療に関する最新の成果も紹介する。

イメージングを基軸としたタンパク質の機能解析および探索
Functional analysis and exploration of proteins based on imaging

○飯塚 怜¹

¹ 東京大学 大学院薬学系研究科

○Ryo Iizuka¹

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

演者はこれまで、X線結晶構造解析法^[1,9,11,16]、X線小角散乱法^[2,6,17]、核磁気共鳴法^[10]、電子顕微鏡法^[5-7,12,17,18,21]、蛍光顕微鏡法^[3-5,8,13-15,19-23]などのイメージング手法を駆使し、タンパク質の機能・構造解析に取り組んできた。また最近は、蛍光イメージングに基づく機能性生体分子の探索法を開発し、その実践に努めてきた^[24]。本講演では、下記の研究を中心に紹介する。

全反射蛍光顕微鏡法では、溶液中に存在する蛍光標識分子が数十 nM になると、エバネッセント場に常に蛍光標識分子が存在することになり、1分子イメージングが困難となる。この限界を打破する方法として、ナノ開口基板を用いた1分子蛍光イメージング法に取り組んできた。ナノ開口基板は、石英ガラスに蒸着したアルミニウム薄膜上に、可視光の波長よりも小さな開口が多数配列した基板である。開口の下側から光を照射すると、近傍のみに非常に局在化したエバネッセント場が発生する。これを励起光とすることで、 μM 濃度の蛍光標識分子を溶液中に存在させながらも1分子蛍光イメージングが可能となる。これを利用し、大腸菌のシャペロニン GroELの機能的な反応中間体の直接観察に成功した^[20]。この発見が契機となり、生化学・細胞生物学の教科書にも記載されるほど有名な GroELの反応モデルの見直しが迫られるようになった。

環境中の99%以上の微生物は、現在の技術では培養が困難な微生物（難培養性微生物）とされている。難培養性微生物が産生する酵素は、新たな酵素資源として非常に大きな可能性を秘めている。これらに効率的にアクセスする方法として「油中水滴を利用した微生物酵素遺伝子探索法」を開発した。この方法ではまず、標的とする酵素に対する発蛍光性基質とともに、環境中の微生物をシングルセル単位で油中水滴に封入する。標的酵素を発現する微生物が存在すれば、微生物が蛍光を放つようになる。次に、蛍光性の微生物が封入された油中水滴を蛍光顕微鏡下で回収し、シングルセル単位で微生物の全ゲノム増幅を行う。得られたゲノム情報を利用し、標的酵素遺伝子を取得する。この方法の実践により、海水中の未培養バクテリア由来新規 β -グルコシダーゼ遺伝子を多数同定することに成功した^[24]。

[1] *J. Mol. Biol.* **335**, 1265–1278 (2004) [2] *J. Biol. Chem.* **279**, 18834–18839 (2004) [3] *J. Biol. Chem.* **279**, 31788–31795 (2004) [4] *FEBS Lett.* **579**, 3718–3724 (2005) [5] *J. Biol. Chem.* **280**, 32586–32593 (2005) [6] *J. Biol. Chem.* **280**, 40375–40383 (2005) [7] *Extremophiles* **11**, 225–235 (2007) [8] *J. Lumin.* **127**, 192–197 (2007) [9] *Proteins* **70**, 1167–1174 (2008) [10] *Proteins* **70**, 1257–1263 (2008) [11] *J. Mol. Biol.* **376**, 1130–1141 (2008) [12] *Proteins* **71**, 771–782 (2008) [13] *Nucleic Acids Res.* **36**, e70 (2008) [14] *J. Biol. Chem.* **283**, 23765–23773 (2008) [15] *J. Biol. Chem.* **283**, 23931–23939 (2008) [16] *J. Mol. Biol.* **383**, 465–474 (2008) [17] *J. Biol. Chem.* **283**, 34773–34784 (2008) [18] *Proteins* **74**, 6–17 (2009) [19] *Biochem. J.* **427**, 247–254 (2010) [20] *J. Biol. Chem.* **285**, 23159–23164 (2010) [21] *PLoS ONE* **6**, e22253 (2011) [22] *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 4881–4885 (2012) [23] *J. Biol. Chem.* **287**, 41118–41125 (2012) [24] *Sci. Rep.* **6**, 22259 (2016)

眞島利和博士と筋収縮分子機構

Dr. Toshikazu Majima and the Molecular Mechanism of Muscle Contraction

○石渡信一¹

¹ 早稲田大学・理工学術院

○Shin'ichi Ishiwata¹

¹ Waseda University, Faculty of Science and Engineering

眞島利和博士は、阪大・基礎工・生物工学科時代の単細胞生物の行動に始まり、生体膜を経て、密着型軟 X 線顕微鏡を活用した生体構造、とくに細胞構造の研究という挑戦的な研究をされたことで知られています。その彼が、いわば最後の仕事として、筋収縮分子機構に関する独自の説を公表されたこと、それに心血を注がれたことは、あまり知られていないだろうと思います。眞島博士がこの論文作成に力を注がれたことについては、その前に私の研究グループが発表した論文 (Ref. 1, 2) がキッカケの一つになっており、その論文を完成させる上で、*BIOPHYSICS* 誌の編集委員長をしていた私も議論する機会があったことから、眞島さんの最後のお仕事 (Ref. 3) を通して、眞島さんの研究者としての業績の一端をご紹介します。

眞島さんは生物工学科の 1 期生ですが、大学院で宮本宏さん、佐治真理さんと同期入学です。その頃私は、名大・理・物理学科の博士課程にいましたが、この元気の良いトリオのことは存じ上げていました。少々研究テーマが異なることから、その後研究上の交流はあまりなかったのですが、眞島さんが筋収縮分子機構に関して強い興味をもたれたことから、思いもよらない研究交流ができたのでした。

ガラス基板上に吸着したミオシン分子の上を一本のアクチンフィラメントが滑り運動する *In vitro* 滑り運動系という実験系が導入されたことで、私たちはかねてから気になっていた、滑り運動に伴ってアクチンフィラメントはその長軸の周りを回転しないか、言い方を変えれば、ミオシン分子モーターが発生する滑り力は、アクチンフィラメントの長軸に沿う滑り運動力に加えて、フィラメントを回転させるようなトルク成分を含まないか、という問いに答えられる実験系を工夫しました。その結果、そのトルクの存在によって、アクチンフィラメントが振れ、超らせんを形成するという思いがけない発見をすることができました (Ref. 1)。眞島さんはこの論文に強い興味を持たれ、ミオシン分子モーターの発生力に含まれるトルク成分の意味を深く考察し、全く新しい収縮分子モデルを構想されることになりました (Ref. 3)。当日はこの論文を中心に眞島さんの業績をご紹介します、2 年前に亡くなられた眞島さんを偲びたいと思います。

[参考文献]

1) Nishizaka, T., Yagi, T., Tanaka, Y. and Ishiwata, S. "Right-handed rotation of an actin filament in an *in vitro* motile system." *Nature*, **361**, 269-271. (1993). 2) Tanaka, Y., Ishijima, A. and Ishiwata, S. "Super helix formation of actin filaments in an *in vitro* motile system." *Biochim. Biophys. Acta*, **1159**, 94-98. (1992). 3) Majima, T. "Load-dependent sliding direction change of a myosin head on an actin molecule and its energetic aspects: Energy borrowing model of a cross-bridge cycle." *BIOPHYSICS*, **5**, 11-24. (2009).

NMR と計算科学の統合による糖鎖の3次元構造ダイナミクスの解析

Conformational analysis of oligosaccharides using NMR-validated MD simulation

○矢木宏和¹、鈴木達哉^{1,2}、谷中冴子^{1,2}、山口拓実^{1,3}、加藤晃一^{1,2}

¹名古屋市立大学大学院薬学研究科、²自然科学研究機構生命創成探究センター、³北陸先端大マテリアルサイエンス系

○Hirokazu Yagi¹, Tatsuya Suzuki^{1,2}, Saeko Yanaka^{1,2}, Takumi Yamaguchi^{1,3}, Koichi Kato^{1,2}

¹Graduated School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, ²Explatory Research Center on Life and Living Systems, National Institutes of Natural Sciences, ³School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology.

糖鎖修飾は主要な翻訳後修飾であり、生体内に存在するおよそ50%のタンパク質が糖鎖による修飾を受けているとされている。糖鎖の機能の発現は、糖鎖を認識するタンパク質（レクチン）との相互作用を契機としている。例えば、小胞体内において、新生タンパク質の運命は、フォールディング、輸送、分解などをつかさどる様々な細胞内レクチンとの糖鎖を介した相互作用を通じて決定されている。一般に、糖鎖は柔軟なグリコシド結合を持つために内部運動の自由度が非常に高く、溶液中では一定の3次元構造をとっていない。つまりレクチンは本来、こうしたダイナミックな糖鎖を認識標的としているものと考えられている。したがって、糖鎖とタンパク質の相互作用のエンジェティクスを定量的に理解するためには、タンパク質に認識・捕捉された状態の糖鎖の構造だけでなく、遊離状態にある糖鎖の3次元構造についてその揺らぎも含めて明らかにすることが必要である。

こうした状況のもと、我々は常磁性効果を利用したNMR分光法と計算科学を組み合わせた糖鎖の動的構造解析手法の開発に力を注いできた。常磁性NMR法は、常磁性プローブを糖鎖還元末端に導入することにより、構成原子の空間配置に依存したNMRピークの化学シフト変化を誘起し、複雑なスペクトルの単純化をもたらすと同時に、糖鎖全域をカバーする遠距離情報を一網に収集することができる。こうして実験的に得られた糖鎖の構造情報を使って、分子動力学計算で得られる構造のアンサンブルを評価することで、遊離状態にある糖鎖の3次元構造を明らかにすることが可能となっている。

本発表ではこうした糖鎖の構造解析を紹介するとともに、糖鎖とレクチンとの相互作用に関して考察したい。

X線結晶構造解析に基づいた構造生物学の統合アプローチ

Integrative approach for structural biology based on X-ray crystallography

○宮川拓也¹、田之倉優¹

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科

○Takuya Miyakawa¹, Masaru Tanokura¹

¹ Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

生命現象を構築する化学反応と分子間相互作用を原子レベルで理解する「構造生物学」において、X線結晶構造解析は生命現象を担うタンパク質や核酸、それらに結合して機能する多様な生体分子や薬剤の作用構造を解析するための最も有効な手法の一つである。Spring-8 や Photon Factory などの大型放射光施設のビームラインの開発が進み、X線結晶構造解析が適用可能な対象は膜タンパク質をはじめとして益々拡大している。X線結晶構造解析では、解析対象とする分子の結晶を必要とするが、現在では数ミクロンの微結晶からでもX線回折像を収集して解析できるほどビームラインとデータ収集の技術が発達している。X線結晶構造解析によって視覚化された生体分子の3次元構造は、多くの場合に化学反応と分子間相互作用を説明するための主要な構造基盤を示唆してくれる。しかしながら、分子の組み合わせによっては、微結晶すら得られないことがあり、限られた分子状態のスナップショットだけでは理解が困難な作動機構に関する情報を補完するためには、他の手法と組み合わせた統合的なアプローチによる解析が重要となる。

最近、我々は、X線結晶構造解析により得られた構造情報に対して、X線小角散乱 (SAXS)、分子動力学 (MD) シミュレーション、さらにケミカルバイオロジーの手法を組み合わせることにより、異なるタイプの細胞内タンパク質の作動機構の解析を試みた。本講演では以下に示すような我々の研究結果について紹介したい。

Ca²⁺依存的な構造遷移の SAXS 解析：カラクシンは精子の鞭毛に存在する Ca²⁺結合タンパク質であり、精子が卵に向かって遊走するための鞭毛運動を Ca²⁺依存的に制御する。X線結晶構造解析により得られた Ca²⁺結合型・非結合型の結晶構造では、いずれも2種類の構造（開構造及び閉構造）が同時に観測された。これら構造の理論散乱曲線と SAXS データとの比較解析により、Ca²⁺結合は開構造から閉構造へとカラクシンの構造遷移を誘導することが示唆された。

転写因子の塩基配列認識機構の MD 解析：植物のブラシノステロイド (BR) 情報伝達のマスター転写因子である BIL1/BZR1 は bHLH 転写因子と同じアミノ酸残基を用いて G-box 配列 (CACGTG) を認識する一方、CA 配列に対する認識が緩いことで BR 特異的な転写制御を可能にしている。結晶構造を用いた MD 解析の結果、CA 配列とそれを認識するアミノ酸残基の親和性を低下させる BIL1/BZR1 独自の相互作用ネットワークの形成が示唆された。

アゴニスト化合物の利用による植物ホルモン受容体の作動機構の解析：植物のストリゴラクトン (SL) 受容体 D14 は SL 依存的に標的の転写制御因子 D53 及び SLR1 と相互作用することで、SL 情報伝達を活性化する。D14 に作用するアゴニスト化合物を利用した解析によって、D14 が SL を加水分解することで生じた反応産物が D14 と D53 及び SLR1 との相互作用を誘導する作動機構が示唆された。

クライオ蛍光顕微鏡で分子を見ると

Observation of individual molecules with cryogenic fluorescence microscope

○藤芳 暁

東京工業大学 理学院 物理学系

○Satoru Fujiyoshi

Department of Physics, Tokyo Institute of Technology

たった一つの生命現象を発現させるためにも、細胞中では無数の分子が働いている。しかも、これらの分子は単独ではなく、ネットワークを作り機能している。このような複雑系の実体を知るには、その現場を正確に画像化することが肝要である。このような目標に対して、生体試料のための電子顕微鏡は、目覚ましく発展している。例えば、細胞外であれば、結晶化せずに生体分子複合体の原子モデルが手に入るようになってきている。一方、分解能に弱点があった光学顕微鏡も分解能の改善が見られ、これまで見えなかった微細な細胞内構造が観測されてきている。しかし、どちらの方法でも、細胞内部を分子レベルでイメージングすることはできない。そこで我々は、凍結固定した試料からの蛍光観察するための反射型顕微鏡（クライオ反射型蛍光顕微鏡）を独自開発することで、蛍光顕微鏡の解像度を分子レベルに引き上げることに成功した[1-3]。講演では、東工大着任以来取り組んできたクライオ反射型蛍光顕微鏡の開発について述べた後、最新の実験結果について紹介する。

[1] S. Fujiyoshi et al.; Phys. Rev. Lett. 100, 168101 (2008).

[2] S. Fujiyoshi et al.; Phys. Rev. Lett. 106, 078101 (2011).

[3] T. Furubayashi et al.; J. Am. Chem. Soc. 139, 8990 (2017).

三次元光電子相関顕微鏡法（3D-CLEM）で見るミトコンドリアダイナミクス
Visualization of mitochondrial dynamics using 3D-correlative observation between light
microscopic live imaging and FIB-SEM tomography method.

○太田啓介^{1,2}

¹久留米大学医学部先端イメージング研究センター、²久留米大学医学部解剖学講座

○Keisuke Ohta^{1,2}

¹ Advanced Imaging Res. Center, Kurume Univ. Sch. Med., ² Dept. Anat, Kurume Univ. Sch. Med.

ミトコンドリアは独自の遺伝子と合成系を持ち、細胞内で時々刻々とその姿を変化しながら細胞内のエネルギー供給、脂質やカルシウムの代謝を行っている。ミトコンドリアの形態は、細胞種や細胞の状態により大きく異なるため、その形態と機能の関係性は古くから検討されてきたが、現在も明確な結論は出ていない。ミトコンドリアの形態変化で最も研究されているのが分裂・融合の過程であり、分裂・融合頻度の変化がミトコンドリアの長さを規定すると考えられている。一般に機能を失ったミトコンドリアは断片化し、その一部がマイトファジーによって分解されることで、細胞全体としての機能維持・品質管理に寄与していると考えられている。これらの過程の多くは生化学的および光学顕微鏡を用いた経時的解析により進められ、また特定の段階については電子顕微鏡による一断面観察により、さらに詳細な構造が検討されてきた。

しかし生命現象を光学顕微鏡と電子顕微鏡両方で捉えようとした場合、両者の分解能が大きく違うこと、電子顕微鏡では一連の過程のスナップショットしか観察できないことなどから、本当に同じ現象を捉えているのかどうか、特に頻度の低い現象を観察する際にはその解釈自体が困難になる場合が多かった。この問題を解決するため、光学顕微鏡で観察したものと同一試料、同一場所を電子顕微鏡で観察する光-電子相関顕微鏡法（correlative light electron microscopy; CLEM 法）が用いられてきた。この CLEM 法で得られるデータはもちろん両者のギャップを埋めるものであるが、試料調整や抗原性の保持など、実現するには技術的に困難であることが多い手技であった。

今回我々は、より簡便で、且つ情報量の多い 3D-CLEM 法を開発し、ミトコンドリアのダイナミクスについて解析した。例えば脱共役剤により膜電位を失ったミトコンドリアは急激に断片化しリング状構造へ変化することが知られている。実際光学顕微鏡下に CCCP を投与するとミトコンドリアは数分内にリング状となった。今回この過程を、光学顕微鏡レベルの Live-imaging により動的に観察し、そのミトコンドリア自身を FIB-SEM tomography により電顕レベルの三次元構造として相関的に解析した。その結果、従来の見解とは異なり、機能不全ミトコンドリアは実質的に断片化することなく光学顕微鏡下にリング状になること、しかし電子顕微鏡下には実際に穴は存在せず、その多くがくぼみを持った壺状の構造を取ることが明らかとなった。この過程は、高い比表面積を持つ小胞が表面張力のみに従って形態変化する際に見られる物理的膜動態現象と極めて類似しており、ミトコンドリアの機能不全と形態変化をつなぐ新しいメカニズムの存在を示唆するものであった¹。本手法には FIB-SEM 装置が必要ではあるが、手順自体は簡便である。そこで我々の事例を紹介しつつその手技について解説し、その有効性と課題について議論を試みる。

1. Miyazono Y, Sci Rep. 2018;8(1):350.

Structural changes in actin filaments induced by repetitive interaction with myosin II have an important role to inhibit cofilin binding and severing to actin filaments, as demonstrated by high speed AFM

Kien Xuan NGO

Nano Life Science Institute (WPI-NanoLSI), Kanazawa University, Kanazawa, Japan

Email: ngoxuankien@staff.kanazawa-u.ac.jp / Tel: 076-234-4571

Abstract

Actin filaments are helical polymers with intrinsically changeable structures (polymorphism). Their changeable structures are affected by bound nucleotides (i.e. ATP, ADP) and specific actin binding proteins (ABPs). Indeed, actin filaments interact with over a hundred different ABPs in cells to perform various functions, and the interaction of actin filaments with different ABPs should affect the atomic structure of actin protomers in filaments differently. Thus, polymorphic structures of actin filaments may play a crucial role to regulate the binding, localization and functions of different ABPs in cells. For instances, cofilin is an actin regulatory protein that binds and severs actin filaments locating in the front of motile cells while myosin II is enriched at the rear and utilizes actin filaments and ATP for contraction. Our recent results support that these two major ABPs utilize very different actin structures to bind, localize and function. Indeed, most of the motile cells utilize “actin polymerization” and “actomyosin contraction” as the basic cell’s engines to migrate. In these two migration modes, actin filaments play distinct roles, “expansion” and “contraction”, respectively. Understanding the molecular mechanism of how polymorphic structures of actin filaments are regulated and how they utilize their polymorphic structures to control the binding and functions of different ABPs will provide critical information for understanding how, for example, amoeboid cells can switch between two modes of migration, “polymerization-driven mode” and “bleb-driven mode”. Previously, we demonstrated that supertwisted helical pitches of actin filaments induced by cofilin are unidirectionally propagated to neighboring actin protomers in the same filament (cooperativity) and cofilin preferentially binds to supertwisted actin [1, 2]. Contrarily, myosin II (S1 motor) repetitively binds to actin filaments during many ATP hydrolysis cycles. These repetitive bindings untwist helical pitches of actin filaments. We now understand that the mutually exclusive binding of cofilin and myosin II to actin filaments [3] is a consequence of different cooperative conformational changes in actin induced by these ABPs.

References

- [1] [Kien Xuan Ngo, Noriyuki Kodera, et al.](#), Cofilin-Induced Unidirectional Cooperative Conformational Changes of Actin Filaments Revealed by High-Speed AFM. *eLife*, 4, e04806 (2015).
- [2] Taro QP Uyeda, [Kien Xuan Ngo](#), et al., “Uni-directional Propagation of Structural Changes in Actin Filaments.” *The Role of Water in ATP Hydrolysis Energy Transduction by Protein Machinery*. Springer, Singapore, Page 157-177, Print ISBN: 978-981-10-8459-1 (2018).
- [3] [Kien Xuan Ngo](#), et al., Allosteric Regulation by Cooperative Conformational Changes of Actin Filaments Drives Mutually Exclusive Binding with Cofilin and Myosin. *Scientific Reports*, 6(35449), 1-11 (2016).

走査電子誘電率顕微鏡による水溶液中の生物試料の高分解能観察
Nanoscale imaging of biological specimens in water using
a scanning-electron assisted dielectric microscopy

○小椋俊彦¹、岡田知子¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Toshihiko Ogura¹, Tomoko Okada¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

生物における生命現象を解明する上で、生物試料を水溶液中のままの状態を高分解能観察することは極めて重要である。しかし、従来の光学顕微鏡では、光の回折限界のため 200 nm の分解能に制限され、ナノレベルでの観察は難しい。一方、一般的な電子顕微鏡では、顕微鏡内部を真空にする必要があり、溶液中のサンプルをそのまま観察することは困難である。そのため、1970年代から溶液中のサンプルを電子顕微鏡で観察するための大気圧ホルダーの開発が進められて来た。こうした方法の多くは、耐圧性の高い酸化シリコンや窒化シリコン薄膜を用いて溶液中のサンプルを封入・密封し、電子線を直接照射することで、サンプルからの反射電子や透過電子により観察を行う。そのため、電子線によるサンプルへのダメージが大きく、コントラストが極めて低い問題があった。

我々はこれまで、電子線を一旦金属薄膜に吸収させ、そこから生じる 2 次的な物理線を試料へ間接的に照射することで、生物試料への電子線ダメージを大幅に低減させ、高コントラストでの観察を可能にする方法を開発して来た。最近新たに開発した走査電子誘電率顕微鏡(SE-ADM)では、溶液中の生物試料を耐圧性の高い 50 nm 厚の窒化シリコン薄膜 2 枚により密封する。この薄膜上部には、10 nm 厚のタングステンの金属層を形成し、ここに低加速の集束した電子線を照射することで、電子線を金属層に散乱・吸収させる。これにより電子線の照射部位に局所的な電位変化が生じ、この電位変化を水溶液中の生物試料を透過させて下面の金属端子により検出する。電位変化の透過性は、物質の誘電率やインピーダンスにより規定され、水は比誘電率が 80 と高いため電位変化をよく透過する。一方、生物試料を構成するタンパク質は比誘電率が 2~3 程度と低いいため透過が阻害される。これにより、電子線を直接生物試料に照射することなく、高コントラストでの観察ができる (図 1)。本研究では、この新規誘電率顕微鏡を用いて、水溶液中のままの状態のバクテリアや培養細胞、牛乳等の観察を行った。その結果、非染色・非固定状態においても高いコントラストで高分解能観察が可能であった。

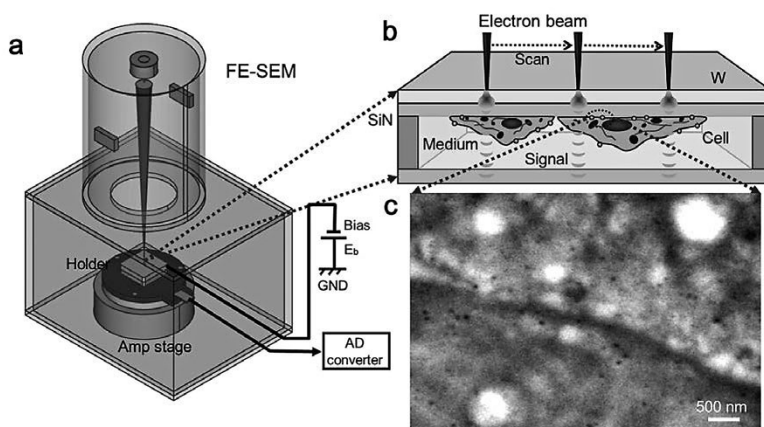


図1 走査電子誘電率顕微鏡(SE-ADM)の概要
a) SE-ADM装置の概略. b) 観察ホルダーの概要.
c) 細胞の観察結果 (Sci. Rep.,2017,7:43025)

最先端電顕イメージング法 Cutting-edge EM imaging technology

○岩崎憲治

大阪大学・蛋白質研究所

○Kenji Iwasaki

Institute for Protein Research (IPR), Osaka University

電子顕微鏡の誕生から 80 年以上たった 2013 年 12 月の Nature 誌に小さな膜蛋白質 TRPV1 の近原子分解能解析が 2 報、報告された。それ以来、クライオ電子顕微鏡による生体分子の原子モデル解明は爆発的な勢いで行われている。こうした技術の基盤を築いた 3 人に 2017 年のノーベル化学賞は授けられた。水和した試料を真空の電子顕微鏡の中で観察する手法の開発、精製した生体分子の電子顕微鏡画像のみから二次元構造、三次元構造を得る方法（単粒子解析法と国内では呼ばれることが多い）の開発、クライオ電子顕微鏡技術の基盤技術の完成、それらが受賞理由に含まれた。しかし、このクライオ電子顕微鏡技術の近年の劇的な進展は、ノーベル賞の内容からもう一段階進んだ革新的技術の登場があったからである。これを成し遂げた要因として 3 つの技術革新が挙げられるだろう。一つは、電子直接検出カメラの登場である。電子直接検出カメラが登場するまでは、電子をシンチレーターで一旦光子に変換して CCD で検出するカメラが高分解能用には一般的だった。このため、画像がボケる、読み出しスピードが遅いという大きな欠点があった。電子直接検出カメラはこの欠点を改善しただけでなく、Beam-induced movement というクライオ電子顕微鏡観察における大きな問題を解決したのである。さらに Relion という優れた画像解析ソフトの登場があげられる。新しい解析方法であるというだけでなく、専門家以外にも使えるよう洗練された仕様となっており、充実した手引き書と合わせた配布は、近原子分解能解析量産を支えている主役の一つであることは間違いない。3 つ目はクライオ電子顕微鏡観察に特化した高性能の電顕の登場である。これら全ての環境を整えた最先端の設備が AMED の事業 PDIS を通して 2016 年度から大阪大学・蛋白質研究所で稼働し、2017 年度からは同じく AMED の事業 BINDS へと引き継がれ、全国の施設利用希望者へ供している。2015 年にアメリカ国立衛生研究所のグループが Science で報告した β -ガラクトシダーゼに結合した水分子の可視化にも成功し、その性能は世界のフロントラインと同じであることが示された。2018 年度からは 200kV のクライオ電子顕微鏡 Talos Arctica が新たに稼働を始めた。本講演では、こうした技術進展の解説と、それによって得られた私どもの成果の紹介を行う。

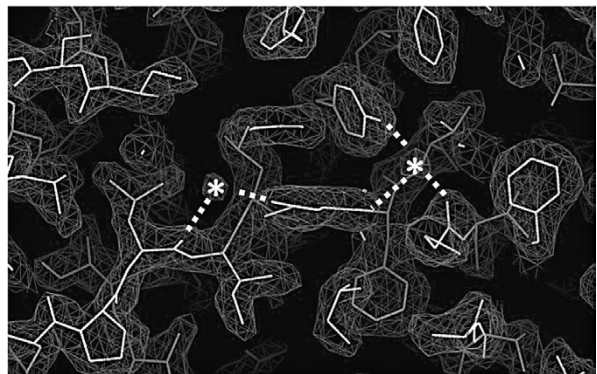


図 蛋白質研究所で解析された β ガラクトシダーゼ。水分子(*)が見える。

マルチモダル多光子顕微鏡のバイオイメージングへの応用 Application of multimodal multiphoton microscopy for bioimaging

○塗谷睦生^{1,2,3}

¹慶應義塾大学医学部薬理学教室、²横浜国立大学環境情報学院、³JST さきがけ

○Mutsuo Nuriya^{1,2,3}

¹ Department of Pharmacology, Keio University School of Medicine, ² Graduate School of Environment and Information Sciences, Yokohama National University, ³ JST PRESTO

複雑に絡み合った生命科学現象を、本来の細胞・組織構造を維持したままの試料において解析することは生命科学研究において非常に重要である。しかし、複雑な構造を持つ細胞が密に詰まり、侵襲的な操作に対して脆弱な細胞や組織においてこれは困難な課題であり、特に脳組織ではそれが顕著である。ここで、組織透過性が高い近赤外光を用い、非線形効果により3次的に高い空間分解能を実現する多光子顕微鏡は、このような組織内での生命現象の可視化解析に非常に有用であることが明らかとなった。中でも蛍光分子の2光子励起を利用した多光子励起顕微鏡技術は生命科学研究、特に脳科学研究への応用が精力的に試みられ、多くのブレークスルーをもたらして来た。しかし、色素やタンパク質の蛍光観測においては、スペクトルの重複などから同時に可視化できる現象に限りがあり、多面的な解析にも限界がある。このような制約は、蛍光以外の光学現象を利用することにより乗り越えられる可能性がある。実際、多光子顕微鏡において用いられる超短パルスレーザーの照射により蛍光以外にも複数の非線形光学現象を起こし、それらの同時観察によるマルチモダル多光子顕微鏡観測が可能となる。しかし、このような蛍光分子の励起以外の現象の生命科学研究への応用はまだ非常に限られている。

この現状を打開し非線形光学顕微鏡の生命科学研究への更なる応用可能性を切り拓くため、我々はこれまで2光子蛍光励起以外の非線形光学現象の生命科学、特に脳科学研究への応用可能性を模索してきた。2光子蛍光励起に加え、ケージド化合物のアンケーシング、蛍光褪色回復、そして光第二高調波発生 (Second Harmonic Generation, SHG) などを総合的に利用し、細胞内外における分子の動態や細胞の生理学的応答などの計測を試みてきた。また近年、非線形ラマン顕微鏡である CARS (Coherent Anti-Stokes Raman Scattering) を用いた水分子の非ラベル可視化を試み、通常の分散培養したクローン細胞に始まり、3次元培養した細胞集団においても水の透過を可視化することに成功してきた。現在、これを更に発展させ、細胞、そして細胞外空間の構造を維持した脳組織において水分子の動きを捉えることを試みている。本講演では、これらの近年の試みも併せ、バイオイメージング研究へのマルチモダル多光子顕微鏡の応用の試みについてご紹介する。

量子ナノ材料による iPS 細胞イメージングと再生医療への貢献**Imaging of iPS cells using quantum-nano materials for regenerative medicine**○湯川 博^{1,2}¹名古屋大学 大学院工学研究科 生命分子工学専攻、²名古屋大学 先端ナノバイオデバイス研究センター○Hiroshi Yukawa^{1,2}¹ Department of Biomolecular Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University² Research Center for Advanced Nanobiodevices, Nagoya University

再生医療の安全性を担保し、治療効果を最大限に引き出すためには、移植後の幹細胞や再生細胞の生体内動態を正確に把握・診断する必要がある。しかし、これまでに臨床応用されている画像診断技術は組織・臓器を対象としたものがほとんどであり、細胞を対象としたイメージング診断技術の確立が急務の課題となっている。

我々は、量子サイズ効果に基づく非常に優れた光学特性（超高精細、超高感度、超長寿命、省エネ、低コスト）から通信・映像（4K・8K ディスプレイ）分野において既に実用化されている量子ドット（Quantum Dots: QDs）や既に肝臓の MRI 造影剤として臨床応用されている優れた磁気特性を有する磁性ナノ粒子（Magnetic Nanoparticles）等の量子ナノ材料に注目し、再生医療における移植幹細胞 *in vivo* イメージングに取り組んできた¹⁻⁴⁾。本手法は、幹細胞や再生細胞を移植する再生医療の数多くの領域に応用展開が可能であり、これまで不明であった移植後の幹細胞・再生細胞の生体内動態を明らかにしつつある⁵⁻⁷⁾。

本シンポジウムでは、これまで確立してきた量子ナノ材料による iPS 細胞イメージング技術に加え、最新の成果として、AMED からの支援による再生医療実現拠点ネットワークプログラム技術開発個別課題において取り組んできた、再生医療の臨床研究を進める先生方との共同研究成果についても紹介する心算である。

【参考文献】

- 1) Yukawa H. *et al.*, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2015; 95: 2-14.
- 2) Yukawa H. *et al.*, *Anal. Chem.*, 2017; 89: 2671-2681.
- 3) Yukawa H. *et al.*, *Anal. Sci.*, 2018; 34(5): 525-532
- 4) Yukawa H. *et al.*, *Nanoscale*. 2016; 8(10): 5435-5440.
- 5) Yukawa H. *et al.*, *Sci. Rep.*, 2017; 7: 40047.
- 6) Yukawa H. *et al.*, *Sci. Rep.*, 2017; 7(1): 8447
- 7) Yukawa H. *et al.*, *J. Surg. Res.*, 2018; 227: 17-27.

植物イメージングにおける超耐光性近赤外蛍光色素の利用 Application of super-photostable near Infrared dye for plant imaging

○佐藤良勝¹、多喜正泰¹

¹名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所

○Yoshikatsu Sato¹, Masayasu Taki¹

¹ Institute of Transformative Bio-Molecules (WPI-ITbM), Nagoya University

植物地上部の多くの細胞は、緑色植物特有のオルガネラである葉緑体を含む。植物細胞を材料とした蛍光イメージングでは、葉緑体内の光合成色素（クロロフィル）はしばしば厄介な存在になる。クロロフィルは可視光領域すべての波長で励起され、670-680 nm 付近をピークに強い蛍光を放つからである。クロロフィルと標的蛍光分子との分離については、適切な蛍光フィルターにより紫外線から緑色光で励起される蛍光色素に関しては、標的蛍光分子のみの検出が概ね可能である。しかし、動物細胞の蛍光イメージングで汎用される赤色光で励起される色素は、単純にバリアフィルターだけで標的分子のみの蛍光を取得することは困難であり、クロロフィル蛍光との分離にはスペクトルイメージング機能を有する高価な顕微鏡システムが必要であった。近年では、生細胞内でのクロロフィルの蛍光寿命の短さを利用して、パルス励起後に一定の遅延時間を設けてから蛍光シグナルを取得するタイムゲートイメージング法を用いて標的分子の蛍光を効率良く抽出することも可能になったが、この方法もごく一部の顕微鏡システムでしか達成できない。一方我々は、研究者が低コストで入手可能であり、蛍光イメージングに機能性と拡張性をもたらす蛍光分子の開発に取り組んでいる。これまでに超解像イメージングに必須な強い励起光に耐える超耐光性蛍光色素（PB430）などを開発し、ごく最近、深部イメージングを可能にする超耐光性近赤外蛍光色素（PREX 710）の開発にも成功し報告した^{1,2)}。これらの研究過程で我々は、PREX 710 が植物蛍光イメージングにも非常に有効であることに気づいた。PREX 710 の吸収ピーク波長はクロロフィルによる吸収がほとんどない近赤外領域にあるため、適切な蛍光フィルターセット1つでクロロフィル蛍光との分離を実現できるのである。また、PREX 710 は植物イメージングにおけるマルチカラーイメージングの幅を拡張させるだけでなく、生体透過性の高い波長の励起光を用いるため光毒性の問題を本質的に回避できる。さらに、PREX 710 の圧倒的な耐光性は、成長速度が遅いゆえに長時間観察が求められる植物の蛍光ライブイメージングを可能にすると期待される。本講演では、主に超耐光性近赤外蛍光色素（PREX 710）の植物イメージングへの有効性について植物細胞壁染色を例に紹介する。

- 1) Chenguang Wang, Masayasu Taki*, Yoshikatsu Sato*, Aiko Fukazawa*, Tetsuya Higashiyama, Shigehiro Yamaguchi* (2017) A Super-Photostable Phosphole-Based Dye for Multiple-Acquisition STED Imaging *J. Am. Chem. Soc.*, 139, 10374-10381.
- 2) Marek Grzybowski, Masayasu Taki*, Kieko Senda, Yoshikatsu Sato, Tetsuro Ariyoshi, Yasushi Okada, Ryosuke Kawakami, Takeshi Imamura, and Shigehiro Yamaguchi* (2018) A Highly Photostable Near-infrared Labeling Agent Based on a Phospha-rhodamine Enables Long-term and Deep Imaging. *Angew. Chem. Int. Ed. in press.*

Bioluminescent technology for visualization of biological functions

○Takeharu Nagai¹

¹The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka university.

Fluorescent proteins are an indispensable tool for live imaging of cells and cell structures. But the requirement for external illumination definitely precludes its universal application because it can induce problems including photobleaching, photodamage and the unintended activation of other light-responsive proteins. Bioluminescence caused by chemical reaction by luciferase is an alternative to fluorescence because it does not require an excitation light. One big problem in the application of luciferase to bioimaging was dim brightness and lack of color variation. To overcome this drawback, my laboratory developed bright bioluminescent proteins (Nano-lantern series) by hybrid of a luciferase with various color variant of fluorescent proteins with very efficient BRET (bioluminescence resonance energy transfer), enabling six colors bioluminescence imaging of subcellular structures as well as single biomolecular complex such as clathrin coated pit in living cells. In addition, we developed Ca^{2+} , cAMP, ATP and membrane voltage indicators, thereby we could perform imaging not only long-term and fast Ca^{2+} dynamics in cardiomyocyte without any physiological perturbations but also ATP production and consumption in chloroplast of plant (*Arabidopsis thaliana*) leaf where conducting fluorescence imaging is difficult because of photosensitivity. One notable application of this imaging modality is simultaneous use with multi-color optogenetics to control protein and cellular functions with light, which is now essential technique for biology. Furthermore, we recently succeeded to develop a bimodal bioluminescent indicator which is useful for spatiotemporally-scalable imaging. The bioluminescent probes will revolutionize conventional bioimaging by allowing visualization of biological phenomena not seen before at the single-cell, organ, and whole-body level.

References

1. Inagaki S et al. *In vivo* brain activity imaging of interactively locomoting mice. *bioRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/203422>
2. Suzuki K and Nagai T. Recent progress in expanding the chemiluminescent toolbox for bioimaging. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 48, 135-141, 2017.
3. Inagaki S, et al. Genetically encoded bioluminescent voltage indicator for multi-purpose use in wide range of bioimaging. *Sci. Rep.*, 7, 42398, 2017.
4. Suzuki K. et al. Five colour variants of bright luminescent protein for real-time multicolour bioimaging. *Nat. Commun.*, 7, 13718, 2016.
5. Takai A. et al. Expanded palette of Nano-lantern for real-time multi-color luminescence imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, 4352-4356, 2015
6. Saito K. et al.. Luminescent protein for high-speed single-cell and whole-body imaging. *Nat. Commun.*, 3, 1262, 2012

超解像光学顕微鏡による繊維状アクチンのイメージング Filamentous actin observed with superresolution microscopy.

○田中みなみ^{1,2}、加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²筑波大学大学院生命環境科学研究科

○Minami Tanaka,^{1,2} Kaoru Katoh¹

¹ Bio Med. Res. Inst., AIST, ² Grad. Sch. Life & Env. Sci., Univ. Tsukuba

光学顕微鏡の分解能は 200nm 程度であり、光とレンズだけでは、この壁を越えることは理論的に不可能である。ところが、光とレンズに、さらに別の要素（「光の照明パターン」「画像処理」、「蛍光色素の性質」「特殊な光学系」等）を加えると分解能の限界を超えることができる（超解像）。現在では、光の波長以下の数十 nm の構造が観察可能になり、バイオメディカル分野への広がり期待されている。

繊維状アクチンは非常に細かな線維である。数本の束でも、光学顕微鏡での観察は難しく、電子顕微鏡観察が必須とされてきた。特に、ラメリポーディア領域のアクチンの網目は、電子顕微鏡でなければ見えないとされてきた。ところが、超解像顕微鏡が実用化された結果、これまでよりも容易に、生きたままで、アクチン線維が観察できるようになった。この講演では、神経成長円錐等を例に、従来の顕微鏡と超解像でのアクチンの観察について述べる。SIM では分解能は 120-130nm 程度だが、動態観察が可能であり、STED では固定試料になるが、50nm 以下の分解能での観察ができた。そこで、2 カメラタイプの SIM を使用して、アクチンとアクチン関連タンパク質（ファシン）の動的な共局在の変化を、10nm 以下の精度で完全に同時刻に記録し、動画で検討した。その結果、外液への薬物投与により、ファシンがリン酸化されると、アクチンから解離し、それに伴ってアクチン線維の方向が変わることを見いだした。2 カメラ SIM の分解能の限界のために、ファシンの解離後のアクチン繊維の方向を正確に見積もることが難しかった。そこで、ファシン解離後に固定し、STED で繊維の方向を観察し、確かにファシンの解離により、繊維の方向が変わることを確認した。このように、薬物投与により、ファシンを解離させ、アクチン束を選択的に壊すことができるようになった。

次に、アクチン束が、細胞の弾性に関係すると考え、ファシンを解離させアクチン束の消失させる前後で、AFM によるヤング率の計測を行った。その結果、ファシンにより作られるアクチン束は、細胞のヤング率に 30% 程度寄与していることが分かった。

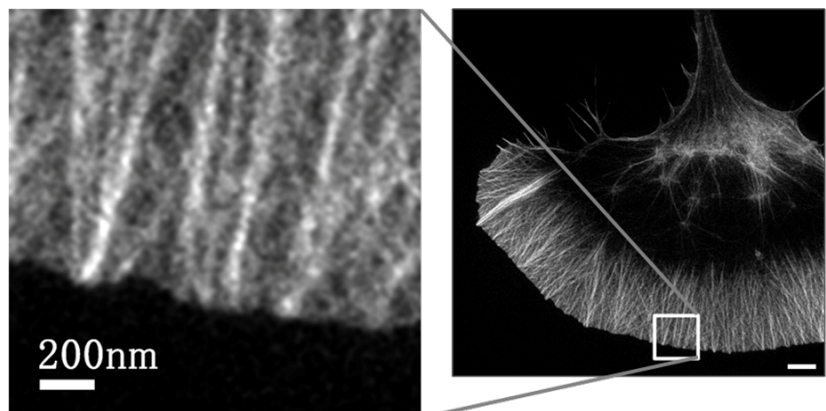


図 STED 観察した神経成長円錐のアクチンの網目

高速超解像スピニングディスク共焦点顕微鏡の開発

Development of a High-speed Super-resolution Spinning-disk Confocal Microscope

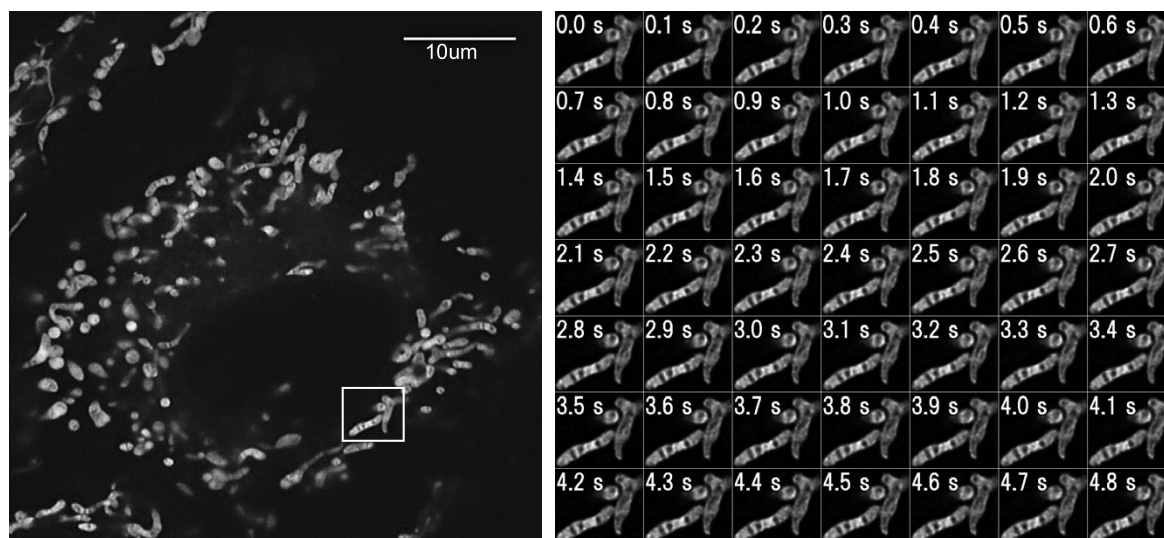
○景虹之¹、東拓哉¹

¹ 横河電機株式会社 ライフイノベーション事業本部 バイオソリューションセンター

○Kei Takayuki¹, Takuya Azuma¹

¹ Bio Solution Center, Life Innovation Business Headquarters, Yokogawa Electric Corporation

従来、物理的な限界と考えられていた光学顕微鏡の空間分解能の限界を打ち破る超解像顕微鏡技術が開発され、様々な分野の先端研究において利用されている。しかし、既存の超解像顕微鏡技術は、時間分解能が低い・光ダメージが大きいといった課題があり、生細胞の動態を捉えることが困難であった。また、試料や色素の制約があり簡便に使用できないため、広範な利用が困難であった。そのため、生細胞の微細構造を高時間分解能で観察でき、かつ汎用性の高い超解像顕微鏡技術が望まれていた。当社は、従来から生細胞観察のスタンダードツールとして広く利用されているスピニングディスク方式共焦点スキャナをベースに、高時間分解能で汎用性の高い超解像顕微鏡技術を開発した。本日はその技術と応用例について紹介する。



ミトコンドリアの高速ライブ撮影例

(撮影ご協力： 産業技術総研究所 バイオメディカル研究部門 脳遺伝子研究グループ
主任研究員 加藤薫先生)

細胞内温度のイメージング観察と操作による温度生物学**Imaging and manipulation of temperature in single living cells for thermal biology**○岡部弘基¹、船津高志¹¹ 東京大学大学院薬学系研究科○Kohki Okabe¹ and Takashi Funatsu¹¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

温度は、代謝やリズムといった生理機能に重大な影響を与えている。細胞レベルで温度と関連する現象としては、傷害性高温に対するヒートショック応答や細胞外部の温度変化を細胞内部へ情報伝達する温度感受性チャネル (TRP チャネル) が知られているが、これまで細胞内部の温度の変動やその意義については未知であった。これまでに我々は生細胞内に適応可能な蛍光性ポリマー温度センサー (Fluorescent polymeric thermometer, FPT) を開発し、この応答を定量的蛍光イメージング法により検出することで生細胞内の温度測定や生細胞の温度イメージングを達成した。本研究で用いる FPT は、ポリアクリルアミドを骨格としており、温度変化に伴い相転移現象を示す。さらに水分子感受性蛍光団を組み込むことにより、センサーの温度依存的な構造変化を鋭敏な蛍光特性の変化として出力することで、生細胞内の約 0.2 °C というわずかな温度変化を検出可能である。本法を用いた検討により、刺激に応答した細胞内温度の上昇や、定常状態における細胞内温度の不均一な分布を発見した。細胞内温度変化が細胞小器官の機能や細胞イベントと深く関連することから、温度が細胞の機能や活性に深く関与する因子として注目を集めている一方で、細胞内温度変化のメカニズムと意義は不明であった。

細胞内温度変化により誘起される細胞応答を解明するため、細胞温度の操作法として赤外 (IR) レーザー照射による細胞内水分子の直接加熱法を導入した。培養中の生細胞内に集光させた IR レーザーを照射することにより、細胞内温度を定量的かつ一過的に上昇させることが可能である。本法を用いて細胞内局所における発熱の生理機能を解明するため、細胞がストレスを受けた際に RNA がストレス顆粒を形成する現象に応用した。この検討では、IR レーザーを用いた細胞内局所の加熱により、内在性 RNA が速やかに顆粒形成することを発見した。また、ストレス顆粒形成時の温度イメージング等の結果と合わせると、細胞内局所の発熱が mRNA の一過的凝集を誘起している事を見出した。このストレス顆粒形成は特定の mRNA の一時的翻訳調節を担っており、細胞のストレス応答機構に非障害性温度変化による情報伝達「温度シグナリング」が存在する事が示唆された。温度は種々の生体高分子に遍く影響を与えることから、温度シグナリングは細胞機能発現に広範に貢献する新規概念であるかもしれない。今後、細胞内温度が細胞の状態や機能を反映するパラメータとして発展することが期待される。

オルガネラの形態制御法 iCOM の開発 Designing Organelle Morphology at will

○宮本崇史¹、島野仁¹

¹筑波大学 医学医療系 内分泌代謝・糖尿病内科

○Takafumi Miyamoto¹, Hitoshi Shimano¹

¹ Department of Internal Medicine (Endocrinology and Metabolism), University of Tsukuba

オルガネラは細胞内に複雑な空間を作り出したり、様々なシグナル伝達系のプラットフォームとして機能したりすることが知られている。このオルガネラの形態は固定化したものではなく、細胞がおかれた条件に応答してその形態はダイナミックに変化している。したがってオルガネラの形態はそれ自体に何かしらの情報がコードされているのではないかと考えられている。しかし、なぜオルガネラは状況に応じて多彩な形態をとる必要があるのか、また各オルガネラ形態の意義についてはほとんど明らかにされていない。

従来、オルガネラの形態に関する研究は、対象とするオルガネラの形態に影響を与える遺伝子の発現制御を通して行われてきた。しかしこの場合、オルガネラの形態変化が実際に起きた時点から観察時点までに空白期間が生じてしまう。オルガネラの形態自体に情報がコードされているという仮説のもとに研究を行う場合、この空白期間にも何かしらの情報の伝達が細胞内で行われている可能性を考慮する必要がある。したがって、こうした空白期間を生じさせることなく解析を行う必要があるが、技術的な困難さが課題となっていた。

そこで我々は Protein-based Synthetic Biocomputing Devices (SBDs pro)を用いてオルガネラの形態を自在に変化させることができるツール iCOM (inducible Counter Organelle Morphology)の開発を進めている。SBDs pro は actuator となるタンパク質の局在や発現レベルを制御することで、秒から分のオーダーでデザインしたアウトプットを実行させるシステムであり、iCOM は SBDs pro の中において、オルガネラの形態操作に特化したシステムである。こうしたツールの開発は、オルガネラの形態自体がコードしている情報を解読していくうえで非常に有用である。今回は iCOM の現状と今後の展開についてご紹介させていただきたいと考えている。

Split-GFP を用いたオルガネラコンタクトサイトの可視化と解析

○田村康

山形大学理学部理学科

○Yasushi Tamura

Faculty of Science, Yamagata University

真核細胞に発達したオルガネラと呼ばれる膜構造は、これまで独立して存在し機能すると考えられてきたが、近年の研究により異なるオルガネラ同士が、直接相互作用して機能することがわかってきた。例えば、出芽酵母細胞のミトコンドリア外膜と小胞体膜を結合する ERMES (ER-mitochondria encounter structure) が、その代表例である。ERMES 複合体はこれらのオルガネラ間が接するコンタクトサイトにおいて、リン脂質の輸送を直接仲介する重要な役割を果たすことが最近の研究によって明らかになりつつある。このような発見により細胞内にはどのような組み合わせのオルガネラコンタクトサイトが存在するのか、その結合因子や生理的役割は何か、といった新しい疑問が浮上した。これらの疑問を解明するためにはまず、オルガネラ膜間コンタクトを検出する実験系が必須である。しかしながら、これまでにオルガネラ間の相互作用を生細胞内で検出する実験系は存在しなかった。本研究では、Split GFP を用いてオルガネラ膜間近接を生細胞内で検出する事を着想し、実験系の構築に取り組んだ。

酵母細胞において、Split GFP をミトコンドリア外膜タンパク質と小胞体膜タンパク質に融合し、これらオルガネラ膜全体に発現させたところ、ドット状の GFP 蛍光が検出された。この Split GFP の蛍光シグナルが、ミトコンドリアと小胞体上に局在すること、さらには ERMES 複合体と共局在することから、Split GFP が既存のコンタクトサイトを可視化可能であることがわかった。そこで実際に、ミトコンドリア、小胞体に加え、液胞、ペルオキシソーム、脂肪滴の間にオルガネラ近接領域があるか検討したところ、全ての組み合わせでドット状の GFP シグナルが検出された。これらの結果は、オルガネラは異なる複数のオルガネラと同時にコンタクトサイトを形成しながら機能することを示唆する。本公演では、これらの知見を元に、オルガネラ間コンタクトサイトの数を制御する分子機構についての最新知見を紹介したい。

細胞核・クロマチン動態の生細胞イメージング
Imaging nuclear and chromatin dynamics in living cells

○木村 宏¹

¹ 東京工業大学科学技術創成研究院細胞制御工学研究センター

○Hiroshi Kimura¹

¹ Cell Biology Center, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

ゲノム上の遺伝情報が、どのように維持、複製、発現するのか、という問題を解明することは、生命現象の根源を理解する上で非常に重要である。真核生物では、細胞核のゲノム DNA はヒストン蛋白質との複合体であるヌクレオソームを基本単位としたクロマチンとして収納されており、ゲノム機能の発現制御にはクロマチン構造が大きく影響する。特に、クロマチンの主要な構成成分であるヒストンの翻訳後修飾は、遺伝子発現制御やゲノム維持に重要な役割を果たしており、発生や分化、細胞周期、外部刺激などに応じてダイナミックに変化する。

我々は、クロマチンによる遺伝子発現制御を明らかにするために、ヒストンや RNA ポリメラーゼ II の翻訳後修飾特異的モノクローナル抗体を作製し、その抗体由来のプロープを用いて、生きた細胞で翻訳後修飾を可視化・計測する系を開発した。可視化プロープのひとつは、蛍光標識した抗原結合断片 (Fab) であり、細胞や受精卵に導入することで、2-3 日間のイメージングが可能となる。もうひとつの可視化プロープは、遺伝子コード型の一本鎖可変領域抗体であり、蛍光蛋白質と融合した修飾特異的一本鎖可変領域抗体を Mintbody (modification-specific intracellular antibody) と名づけた。Mintbody を発現させることで、より長期間のイメージングや生物個体のイメージングが可能となる。この手法を用いて、ステロイドホルモンによる転写活性化の際のクロマチン修飾動態を解析し、ヒストンのアセチル化の役割を明らかにした。さらに、熱ストレスや胚性ゲノム活性化におけるクロマチン修飾の生細胞動態のイメージングを進めており、これらの結果について発表する。一方、クロマチンの全体的な動態は、蛍光蛋白質と融合したヒストンを用いて解析できるが、超解像顕微鏡を用いた観察例についても紹介したい。

医療におけるフォトニクスの進歩 -手術支援システムへの応用-

Recent advances in photonics for image-guided surgery

○高松哲郎

京都府立医科大学医学フォトニクス講座

○Tetsuro Takamatsu

Department of Medical Photonics, Kyoto Prefectural University of Medicine

新しい技術革新が起きると、それまでの概念や価値観が革命的に変わってしまう、いわゆるパラダイムシフトが起きることはよく知られた事象であり、ライフサイエンスにおいては、生体で機能する分子をターゲットとするセンシング技術がその一つである。

1980年代初頭から開発された共焦点レーザー走査顕微鏡を皮切りとして、レーザーやカメラに代表される見るテクノロジーと GFP に代表される分子特異的標識プローブのテクノロジーが両輪となって、様々な光学顕微鏡による分子イメージングが発達してきた。最近では近赤外超短パルスレーザーを用いた非線形光学による細胞機能制御や光の回折限界を超えた超高解像顕微鏡などを用いたバイオフィotonicsの研究が展開している。

近年著しい発展を遂げた光イメージングの技術が医療に応用されつつあるが、人体に直接使える標識プローブが少ないことや生体深部が見えないことなどの問題が存在し、十分利用できていないとは言えない。我々は、診断に利用できる蛍光イメージングの開発の他、標識を必要としない分子イメージングや生体深部をみるイメージングの開発など革新的な光テクノロジーを統合することによって、医療に応用できる技術の構築を目指してきた。本講演では、これまで取り組んできた研究を基盤に、最近の生体イメージングの進歩を医療の視点から述べる。つまり、ヘルスサイエンス分野への適用を目的とした先端的なセンシングシステムを構築することによって可能となった微小癌や転移巣の検出や標識を必要としない分子イメージングなど、最近取り組んでいる低侵襲高度手術支援診断システムを目指した光学医療機器の開発について紹介する。また、今後の方向性についても議論したい。

機能性ナノ粒子を用いたがん抗体医薬の薬効イメージング

Imaging of efficacy of antibody drug for cancer treatment using functional nanoparticles

○権田幸祐¹、徳永正之¹、古澤直子²、中野寧²

¹ 東北大学大学院医学系研究科、² コニカミノルタ(株)開発統括本部バイオ要素技術開発室

○Kohsuke Gonda¹, Masayuki Tokunaga^{1,2}, Naoko Furusawa², Yasushi Nakano²

¹ Graduate School of Medicine, Tohoku University,

² Bio Advanced Technology Division, Corporate R&D Headquarters, KONICAMINOLTA. INC.

1990年代から抗体の抗がん剤応用が始まり、2017年の時点で約60種の抗体医薬品が存在し、世界の市場規模は9兆円を超えている。現在も新たな抗体医薬の開発が進んでおり、治験中の総数は730種類以上にのぼる。よって抗体医薬に対し、「薬効メカニズムの可視化」や「薬効の患者層別の可視化」を行うイメージングは、創薬や精密医療への応用技術として期待されており、ニーズが極めて高い。本講演では、すでに臨床応用されているがん抗体医薬として、(1)血管内皮増殖因子(VEGF)の抗体医薬 Bevacizumab と(2)ヒト上皮性増殖因子受容体タイプ2(HER2)の抗体医薬 Trastuzumab をモデル抗体医薬として行った薬効イメージングの研究成果について紹介する。

Bevacizumab は抗血管新生療法の重要な抗がん剤として注目を集めているが、単剤療法では効果が限定されており、多剤併用療法が主に行われている。この背景として、Bevacizumab に対する耐性機構が提唱されているが、その詳細はよく分かっていなかった。この機構の解明が進めば、Bevacizumab のみならず、新たな抗血管新生薬剤開発の推進が期待できる。我々は、独自の金ナノ粒子[1]を造影剤に用いた高分解能 X 線 CT イメージングによって、非侵襲かつ3次元的に Bevacizumab を投与した担がんマウスの腫瘍血管構造の変化を詳細に調べた。その結果、抗 VEGF 薬に対する耐性機構の一端を明らかにすることに成功した。

近年、乳がんでは、術前に生検でがん組織の一部を採取し、その組織の診断データをもとに術前に薬物療法を行い、がんを小さくしてから手術を行ったり、がんに対する抗がん剤の効果を確かめながら治療を行う方法が施行されている。Trastuzumab は、生検の結果 HER2 陽性であった患者に対し、術前薬物療法の薬として使用されている。この治療法では、Trastuzumab 適応対象となった患者において、効果が認められる患者と認められない患者がおり、患者の薬効を事前に正確に予測できないことが課題となっていた。我々は、市販量子ドットの100倍以上の明るさと数百倍以上の感度を持つ高輝度蛍光ナノ粒子(PIDs: Phosphor-Integrated Dots)を開発し、ヒト乳がん組織の HER2 発現量の免疫染色法に応用することで、術前薬物療法の予測診断法の開発を試みた。その結果、本方法は既存の方法では予測が困難であった患者の Trastuzumab 奏効性を高確度で層別することに成功した [2-4]。

[1] Nakagawa, T., Gonda, K., *et al. Sci. Technol. Adv. Mater.* **17**, 387-397 (2016)

[2] Gonda, K., *et al. Sci. Rep.* **5**, 14322 (2015).

[3] Miyashita, M., Gonda, K., *et al. Cancer Med.* **5**, 2813-2824 (2016).

[4] Gonda, K., *et al. Sci. Rep.* **7**, 7509 (2017).

PET による生体イメージング Functional imaging using PET

○岡沢秀彦

福井大学高エネルギー医学研究センター 生体機能解析学部門

○Hidehiko Okazawa

University of Fukui, Biomedical Imaging Research Center (BIRC), Medical Imaging Division

ポジトロン CT (PET) は 1970 年代中頃に開発され、他の画像検査と比べて定量性に優れた生体機能画像を得ることが可能なツールとして、主に脳や心臓の研究に用いられてきた。しかし、1990 年代に全身撮像用 PET 装置が開発されると、 ^{18}F fluorodeoxyglucose (FDG) によるブドウ糖代謝画像が、がんのスクリーニングやステージングを目的とする臨床検査として利用可能となり、徐々に普及しはじめた。1990 年代後半に FDG-PET の保険診療が認められると、PET を導入する施設は飛躍的に増え、現在国内にある約 400 の PET 施設では FDG-PET/CT を中心に、主にがん診療のための検査として利用されている。このような経緯から、一般的には PET 検査というと FDG-PET/CT 検査のことを指すといった認識があるが、近年分子イメージングの発展により、他にも診断に役立つ様々な化合物が開発され、臨床応用可能であることも徐々に理解されるようになった。がん診療に利用できる PET 薬剤としては、タンパク合成能を反映するとされる ^{11}C methionine や、核酸代謝やチミジンキナーゼ (TK1) 活性を反映し、増殖の指標になるとされる ^{18}F fluorothymidine (FLT) など、腫瘍増殖能を反映するトレーサーが一般的であるが、その他にも、治療抵抗性低酸素部位を描出する ^{18}F fluoromisonidazole (FMISO)、 ^{64}Cu ATSM などが次世代の PET 薬剤として期待されている。また、高い感度を活かした受容体画像等も核医学が得意な分野であり、腫瘍 PET ではエストロゲン受容体イメージング剤として用いられる ^{18}F fluoroestradiol (FES) や前立腺特異的タンパク質抗原のイメージング剤である ^{68}Ga 標識 prostate specific membrane antigen (PMSA) などが注目されている。一方、PET 開発当初から主要なターゲットとされてきた脳イメージングでは、国内で最初に保険適応となった ^{15}O 標識の水や二酸化炭素、酸素等による脳血流・酸素代謝 PET のほか、近年はアミロイドイメージングやタウイメージングといった、認知症の病理像を反映する分子イメージングが既に一般化しつつある。本講演では、そうした PET 分子イメージングを概説するとともに、臨床導入後間もない最新型 PET/MRI 一体型装置とそれを用いた臨床研究についても触れる予定である。

MRI を用いた機能イメージングのトピックス Topics of Functional Imaging using MRI

○原田雅史¹

¹ 徳島大学医歯薬学研究部放射線医学分野

○Masafumi Harada¹

¹ Department of Radiology, Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University

本文

MRI を用いた機能イメージングとしては、以前から血流に関連する酸素代謝をベースにした functional MRI (fMRI) や生化学的な代謝物を評価する MR spectroscopy (MRS) があり、拡散情報を利用した diffusion tensor imaging (DTI) が代表的である。

fMRI は神経血管カップリングに基づく機能的な血流変化を、デオキシヘモグロビン濃度の変化に伴う信号変化として測定することによって、脳機能の局在を評価する手法である。最近では安静時の血流同期を検出することで関連するネットワークを評価する手法が話題となっている。これを用いたアルツハイマー病や統合失調症等の診断有用性の報告があるが、最近では各ネットワークの結合度の変化や結合パターンから神経機能を評価する試みが行われている。

MRS では、神経伝達物質であるグルタミン酸や γ -アミノ酪酸を定量することができ、神経密度を評価する n-acetyl aspartate やグリア増生を反映する myo-inositol とともに脳組織代謝の定量的なマーカーとして使用することができる。最近では、化学飽和移動法 (CEST) を用いたアミド蛋白評価やグルコースの評価も可能となっており、様々な代謝評価として利用することができる。しかし、他の手法とくらべて感度が低いことが欠点の一つであり、その解決法の一つとして超偏極の技術を応用することができる。

さらに、DTI 等の拡散情報は水拡散に関係する組織のコンパートメントや細胞内の局在環境を反映する情報を取得できると期待されており、画像の物理的な分解能を超えた微小環境の評価も可能となると考えられている。

以上のような代表的な技術を中心に MRI を用いた機能画像の今後の発展と課題について紹介する予定である。

4D イメージングで迫る積荷タンパク質のゴルジ体内輸送機構 4D imaging of secretory cargo transport within the Golgi apparatus

○黒川量雄、宮代大輔、中野明彦

理化学研究所光量子工学研究センター

○Kazuo Kurokawa, Daisuke Miyashiro, Akihiko Nakano

RIKEN Center for Advanced Photonics

生物の基本単位である細胞が生命活動を維持するためには、多種多様なタンパク質がそれぞれ働くべき場所に運ばれ、機能することが必要です。細胞内で新たに作られるタンパク質の約3分の1は、小胞体で合成され、ゴルジ体へと輸送されます。積荷タンパク質と呼ばれるこれらのタンパク質は、ゴルジ体で種々の修飾を受けた後に、それぞれが働くべき場所であるオルガネラなどに選別輸送されます。一方で、一度目的の場所へと運ばれた積荷タンパク質も時々刻々とその局在を変化させ、細胞の生命機能の発揮に関与しています。この一連のタンパク質輸送を担う機構が、膜交通（小胞輸送とも呼ばれる）です。膜交通は小胞などの微小な膜構造を介して細胞内を縦横に結び、細胞内のタンパク質局在を時間的かつ空間的に制御しています。この膜交通の乱れは、積荷タンパク質の輸送の混乱や阻害をもたらし、その結果、細胞の生命活動の破綻へと繋がり、多細胞生物であるヒトにおいては重大な疾患の原因となります。

現在までに、遺伝学的または生化学的なアプローチで膜交通の基本的な機構の多くが明らかになり、全ての真核生物に共通の膜交通機構の存在が示されてきました。しかしながら、生きた細胞内で小胞などの微小な膜構造を介して積荷を輸送する膜交通の真の理解のためには、可視化によるアプローチが必須です。そこで我々は、高速、高感度、高解像度（超解像）かつ多色で蛍光画像の取得が可能な顕微鏡システム SCLIM (Super-resolution Confocal Live Imaging Microscopy) を開発し、これを用いて様々な生物種の生きた細胞内の膜交通機構で働くタンパク質や積荷タンパク質の動態を多色 4D (3D+時間) で捉えるライブイメージングに取り組んでいます。膜交通機構の中心的なオルガネラであるゴルジ体は多数の槽からなり、積荷タンパク質はそれらの槽間を順序良く輸送される必要があります。しかしながら、どのように積荷タンパク質がゴルジ体内を輸送されるのか、その実体は不明でした。本講演では、SCLIM で明らかにした出芽酵母の積荷タンパク質ゴルジ体内輸送を紹介するとともに、現在開発をすすめている次世代 SCLIM (SCLIM2M) を用いたイメージング例も紹介いたします。

計算科学による酵素活性制御分子の解析

Computational analyses of regulatory molecules for enzymes

○加藤有介¹、伊藤吹夕²、高橋和浩³、菅又龍一²、黒沢すみれ¹、頼田和子¹、鈴木章一²、
山本友子²、河内正治²、三牧正和³、鈴木和男²、福井清¹

¹徳島大学 先端酵素学研究所、²帝京大学 アジア国際感染症制御研究所、
³帝京大学医学部 小児科学講座

○Yusuke Kato¹, Fuyu Ito², Kazuhiro Takahashi³, Ryuichi Sugamata², Sumire Kurosawa¹, Kazuko Yorita¹,
Syoichi Suzuki², Tomoko Yamamoto², Shoji Kawachi², Masakazu Mimaki³, Kazuo Suzuki², Kiyoshi
Fukui¹

¹The Institute for Enzyme Research, Tokushima University, ²Asia International Institute of Infectious
Disease Control, Teikyo Univ, ³Department of Pediatrics, Teikyo University School of Medicine

計算科学による酵素関連研究の取り組みとして、D-アミノ酸酸化酵素 (DAO) の活性制御因子である G72 タンパク質の構造機能予測ならびに B 型インフルエンザ由来ノイラミニダーゼ (BNA)-タミフル (OTV) 複合体に対する薬剤耐性変異の影響を解析した。

DAO は、D-セリンなどの D-アミノ酸を酸化的に分解する酵素であり、FAD を補酵素として持つ。D-セリンは NMDA 型グルタミン酸受容体のコアゴニストの 1 種でもあることから、DAO による D-セリン量の調節が中枢神経系の活動に影響を与えていると考えられている。統合失調症患者の脳内における D-セリン量の減少および DAO の発現量の増大が報告されている。一方で G72 タンパク質は DAO と結合することでその活性を調節し、その調節での異常が統合失調症の発症に関係すると考えられている。そこで、既知構造とのアミノ酸相同性に依存しない手法である *ab initio* モデリングあるいは *threading* に基づいた複数のプログラムにより G72 の各ドメインの構造を予測した。各手法により予測された構造に共通するフォールドが見出されたため、それを予測構造として提示した。得られた構造から機能予測を行ったところ、これまで報告された G72 の機能を説明するものであった。さらに、新規阻害薬物による DAO の阻害機構を計算科学的手法等により解明する課題にも取り組んでいる。

一方 BNA 関連の取り組みとしては、2015 年下半期以降帝京大学医学部附属病院を受診した小児患者から採取したサンプルを用いて BNA の塩基配列解析を行い、OTV 投与による解熱効果がほぼ示されなかった患者サンプルに特徴的なアミノ酸レベルでの変異に着目した。これまで報告された OTV 感受性株との配列比較から、5カ所のアミノ酸残基が新規変異であることが明らかとなった。BNA-OTV 複合体の安定性が高いことが OTV の薬効発揮のためには重要である。そこで、各変異による OTV 耐性に対する影響を評価する目的で、結晶構造を参照して作成した変異 BNA-OTV 複合体構造モデルの分子動力学計算を実行し、各トラジェクトリを MM/PBSA 法により評価することで各変異体の OTV に対するアフィニティーを予測した。その結果、上記変異箇所のうち 2カ所について、顕著なアフィニティーの低下がみられた。意外なことにこれらの変異箇所は OTV 結合部位からかなり離れた位置であった。現在、各変異によるアフィニティー低下機構の解明に取り組んでいる。

pH 感受性蛍光プローブによる破骨細胞プロトンポンプ動態の in vivo 観察
In vivo Observation of Dynamics of Osteoclast Proton Pump Using pH-activatable
Fluorescent Probe

○ 蓑島維文¹⁾、大森雄太¹⁾、菊地和也^{1,2)}

¹⁾ 大阪大学大学院工学研究科、²⁾ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター

○ Masafumi Minoshima¹⁾, Yuta Omori¹⁾, Kazuya Kikuchi^{1,2)}

¹⁾ Graduate School of Engineering, ²⁾ Immunology Frontier Research Center, Osaka University

骨組織では破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が繰り返され、再構築されることで恒常性が維持されている。破骨細胞活性の亢進はこのバランスを崩し、骨粗鬆症、関節リウマチ等の骨疾患の発症につながることから、その機能を解明することは重要であると考えられる。我々のグループでは、破骨細胞が骨を溶かすときに形成する低 pH 領域に着目し、骨組織上における低 pH 領域を可視化できる蛍光プローブの開発に取り組んできた^{1,2)}。これまでに開発したプローブをマウスに投与し、生きたまま細胞動態を観察できる二光子励起顕微鏡を用いてイメージングを行うことで、破骨細胞が活性化する様子を観察することに成功している。

さらに骨吸収機構の詳細を調べるために、我々は破骨細胞における ATP 駆動型プロトンポンプの動態に着目した。骨吸収の際に放出される酸はプロトンポンプによって行われていると考えられており、これまでの破骨細胞プロトンポンプのイメージング結果からは、細胞ごとにその局在が異なる様子が観察されている³⁾。しかしながら、いつ、どこで酸を放出しているかの情報が欠如しており、酸性領域形成との関連性が不明であった。

そこで本発表では、pH 感受性蛍光プローブを用いてプロトンポンプ動態と低 pH 領域との関係をイメージングすることとした。以前までに開発した pH 感受性蛍光プローブではプロトンポンプの標識に用いている緑色蛍光タンパク質と波長が重なっていたため、新たに赤色領域に蛍光を示す pH 感受性プローブを設計・合成し、その性質について評価した。その結果、適切な pH 領域で応答が可能な赤色蛍光プローブ “Red-pHocas” を開発した。このプローブには骨組織へ強く結合するビスホスホネート基が導入されているため、投与後は骨組織に特異的に送達、滞留することができる。Red-pHocas を破骨細胞プロトンポンプが標識されたマウスモデルに投与し、二光子励起顕微鏡を用いて骨組織のイメージングを行った。プロトンポンプの局在と骨組織表面での pH 環境の変化を長時間にわたり追跡することで、破骨細胞プロトンポンプの動きに伴った酸性領域の形成をリアルタイムで捉えることに成功した。

1) T. Kowada, J. Kikuta, A. Kubo, M. Ishii, H. Maeda, S. Mizukami, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17772.

2) H. Maeda, T. Kowada, J. Kikuta, M. Furuya, M. Shirazaki, S. Mizukami, M. Ishii, K. Kikuchi, *Nat. Chem. Biol.* **2016**, *12*, 579.

3) J. Kikuta, Y. Wada, T. Kowada, Z. Wang, G. H. Sun-Wada, I. Nishiyama, S. Mizukami, N. Maiya, H. Yasuda, A. Kumanogoh, K. Kikuchi, R. N. Germain, M. Ishii, *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 866.

細胞内マグネシウムイオンイメージング**Fluorescence imaging of intracellular Magnesium ion concentration changes**○新藤豊¹、山中龍¹、鈴木孝治²、堀田耕司¹、岡浩太郎¹¹ 慶大理工生命情報、² 慶大理工応化○Yutaka Shindo¹, Ryu Yamanaka¹, Koji Suzuki², Kohji Hotta¹, Kotaro Oka¹¹ Department of Bioscience and Informatics, Keio University² Department of Applied Chemistry, Keio University

マグネシウムイオン (Mg^{2+}) はカルシウムイオン (Ca^{2+}) と並び、生体内に存在する主要な 2 価陽イオンである。 Ca^{2+} は細胞内シグナルとしてその濃度変化が重要な意味を持っていることが広く知られている一方で、 Mg^{2+} の細胞内濃度変化はあまり注目されてこなかった。 Mg^{2+} は ATP 産生や消費および数多くの酵素の活性の調節、タンパク質や脂質膜の安定化、細胞周期や細胞増殖、分化の制御などにかかわることが報告されており、細胞機能にとって必要不可欠な要素であることは広く認識されている。ただ、細胞内には常に十分量の Mg^{2+} があるため、その濃度が大きく変動することはなく、結果として細胞内シグナルとして重要な役割を担ってはいないのではないかと考えられてきた。また、細胞内 Ca^{2+} シグナルと切り分けて Mg^{2+} だけを選択的に測定できるプローブが市販されていないこともこのイオンの役割を明らかにすることを遅らせている原因の一つであると考えられる。我々のグループは Mg^{2+} 選択性の高い蛍光プローブ、KMG シリーズを開発し、蛍光イメージングにより今まで注目されてこなかったこのイオンが、どのようなときにどのようなメカニズムで濃度を変化させ、それにどのような意味があるのかを探ってきた。その結果、様々な細胞種で細胞内 Mg^{2+} 濃度の変動が観察され、それぞれが重要な役割を担っている可能性が示された。

今回は、市販のケミカルプローブ、KMG シリーズ、近年発表された遺伝子コード型プローブそれぞれの特徴を紹介する。また、それらを用いた実際のイメージングの結果を示し、細胞内 Mg^{2+} 濃度がどのように変動するのか、またそれらの担う役割について議論したい。我々のこれまでの研究では、ミトコンドリアが細胞内の Mg^{2+} 貯蔵庫であり、細胞質中の濃度変化と密接に関係していることが明らかにした。神経細胞ではいくつかの神経伝達物質の受容を受けてミトコンドリア内から細胞質に Mg^{2+} が放出され、細胞質中の Mg^{2+} 濃度を変動させることがわかってきている。

これまであまり注目されてこなかったこのイオンの動態や役割について少しでも関心を持っていただければと思う。

■ 一般演題（ポスター） ■

深部微細構造を鮮明かつ定量的にイメージングする自動球面収差補正システム

A spherical aberration-free microscopy system for live brain imaging

○毛内 拓^{1,2}, 上 喜裕³, 樋口 香織³, 西脇 大介³, 田島 鉄也³,

岡咲 賢哉³, 濱 裕², 平瀬 肇², 宮脇 敦史^{2,3}

¹お茶の水女子大学 理学部 生物学科、

²理化学研究所 脳神経科学研究センター(理研 CBS)、³理研 CBS-オリンパス連携センター (BOCC)

○Hiromu Monai^{1,2}, Yoshihiro Ue³, Kaori Higuchi³, Daisuke Nishiwaki³, Tetsuya Tajima³,

Kenya Okazaki³, Hiroshi Hama², Hajime Hirase², Atsushi Miyawakai^{2,3}

¹Ochanomizu Univ., ²RIKEN CBS, ³RIKEN BOCC

生体組織のように屈折率が高く厚みのある標本を、光学顕微鏡を用いて観察する際、対物レンズから出射された光は焦点面にずれを生じ、観察像が不鮮明なことが知られています(球面収差)。球面収差は、観察位置が深くなるにつれて増大するため、深部観察を行う場合には無視できない現象であり、解決すべき課題です。

我々はこの課題を解決するために、「自動球面収差補正システム(Deep-C)」を開発しました(下図)。Deep-C をマウス生体脳イメージングに適用した結果、特に大脳皮質深部において、光学的収差の少ないより鮮明な画像が得られることを見いだしました。Deep-C を搭載した TruResolution 対物レンズ(オリンパス株式会社)は、2018年1月より実用化しています。

本研究により、学習や記憶の神経基盤と考えられている神経棘突起の形態変化のより定量的で再現性の高い精密な計測が期待されます。

ポスター発表では、我々が開発した自動球面収差補正システムの構成について、in vivo イメージングに適応した例を交えながらの詳細に解説する予定です。

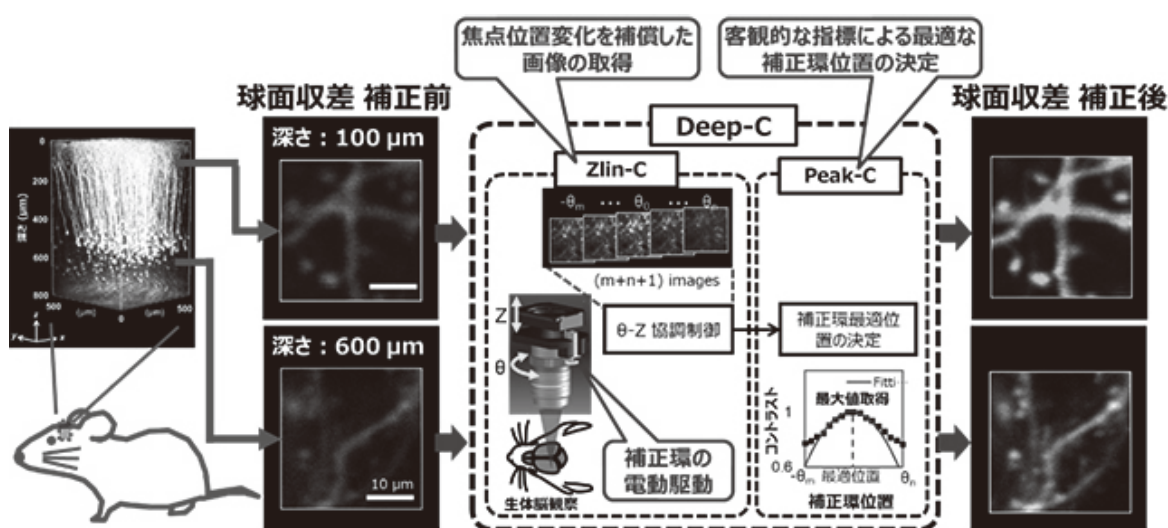


図 自動球面収差補正システム(Deep-C)の概要

参考文献: Ue and Monai et al., *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(2), 236-241

物理化学と計算科学によるアガリクス由来βグルカンの立体構造解析
Three-dimensional structure analysis of β-glucans from *Agaricus brasiliensis*
Physicochemical and Computational science method

○松村義隆¹, 井上広大¹, 墨野倉誠¹, 久保美香子¹, 出村茉莉子¹, 市岡隆幸¹, 森本康幹¹, 田代充², 石橋健一³, 大野尚仁³, 小島正樹¹

¹東薬大・生命,³薬,²明星大・理工

○Yoshitaka Matsumura¹, Kodai Inoue¹, Makoto Suminokura¹, Mikako Kubo¹, Mariko Demura¹, Takayuki Ichioka¹, Yasumasa Morimoto¹, Mitsuru Tashiro², Ken-ichi Ishibashi³, Naohito Ohno³ and Masaki Kojima¹

¹Sch. of Life Sci. and ³Sch. of Pharm., Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci.

²Dept. of Chem., Coll. of Sci. and Tech., Meisei Univ.

βグルカンは病原性真菌細胞壁の主要構成多糖である。βグルカンはキャンディン系抗真菌薬のターゲット分子であることから、抗菌薬の構造活性相関の観点から重要な分子である。さらに、深在性真菌症患者血中からβグルカンが検出されることから早期診断に汎用されている。また、βグルカンに対する受容体として *dectin-1* 等が見出されており、感染免疫ならびに自然免疫の観点からも重要な分子に位置づけられている。しかしながら、スエヒロタケ由来のシゾフィランを除いて、一般にβグルカンは水に溶けにくく揺らぎが大きいため結晶化が困難であり、溶液状態の天然立体構造はあまり研究がなされていない。

我々は X 線溶液散乱 (SAXS)、原子間力顕微鏡 (AFM)、NMR 等の物理化学的手法と、分子動力学法による計算機シミュレーションを組み合わせ、*Agaricus brasiliensis* 由来のβグルカンの立体構造の解析を行った。その結果、βグルカンは水溶液中で多分散で三量体または単量体として存在すること、分子の形状は球状で、β-1,6 結合の主鎖とβ-1,3 結合の側鎖 (10%以下) から成ること、単量体は螺旋構造を形成していること、が明らかとなった。こうした知見は、他のβグルカンを含む従来の研究報告と矛盾しなかった。今回の手法は、水に溶けにくいβグルカンの高次構造解析に広く応用できることが期待される。今後はβグルカンだけでなく、難溶性のものや立体構造解析が困難なものも扱っていきたい。

位相変調型空間光変調器を用いた3次元多点二光子刺激顕微鏡の開発

Development of three-dimensional multi-spot two-photon stimulation microscope using phase-only spatial light modulator

○瀧口 優¹、Yi Xue²、Peter T.C. So²、豊田晴義¹

¹浜松ホトニクス株式会社中央研究所、²Massachusetts Institute of Technology

○Yu Takiguchi¹、Yi Xue²、Peter T.C. So²、Haruyoshi Toyoda¹

¹Hamamatsu Photonics K.K., ²Massachusetts Institute of Technology

光遺伝学と組み合わせた二光子励起を用いた脳機能計測は、光刺激によって生じた信号伝達を計測することを主とした手法で、(1)マウスなどに生きたまま適用可能、(2)細胞レベルでかつマイクロからミリ秒オーダーの神経活動の活性化や抑制により特定の神経活動のみの制御が可能、といった特長を有しているため、哺乳類など動物における脳神経系における情報処理を *in-vivo* のミリ秒単位の時間的精度で理解することが期待されている。ただし、このような神経細胞レベルにおける情報処理を理解する場合、1つの神経細胞あたり数万個有しているとされている情報伝達のためのシナプス接触構造をミリ秒単位で同時に計測・制御しなくてはならず、顕微鏡下で光刺激する領域を時間的・空間的に制御する要求が高まっている。そのため本研究では、脳深部へ光を到達させつつ、複数のサイトを同時・個別刺激のために有効なフェムト秒レーザーを光源として採用し、ホログラムを用いた回折限界スポットで刺激可能な二光子・3次元多点同時光制御装置を検討した (Figure 1)。3次元複数ビームを生成するためのホログラムの設計法はこれまで数多く提案されてきているが、ここでは3次元高速フーリエ変換を用いた重み付き反復フーリエ変換法をベースとしたアルゴリズムを採用した。従来は複数の奥行間を逐次的な波動伝搬計算を行っていたため、1計算あたり数10分の時間を要していたが、本手法は3次元FFTを利用した重み付き繰返法であるため、数10秒程度と大幅な時間短縮に成功した。開発した顕微光学系の評価はPhalloidin - Rhodamineで染色した *in vitro* のマウス脳細胞中アクチンを、1030nmの超短パルス光を用いた二光子励起することで行い、効率的に500点以上の同時励起を確認することができた。

Figure 1: 開発した3次元多点二光子刺激顕微鏡の概念図。コリメートされた超短パルス光を位相変調型空間光変調器に照射し、再生されたホログラム情報を対物レンズ瞳に転送することで、サンプル内で3次元多点生成が実現できる。

磁性ナノプローブによるカルシウム応答型 fMRI

Calcium-dependent fMRI using a magnetic nanoprobe

○岡田智¹、Benjamin B. Bartelle²、Nan Li²、Vincent Breton-Provencher^{3,4}、Jiyoung J. Lee²、
Elisenda Rodriguez²、James Melican²、Mriganka Sur^{3,4}、Alan Jasanoff^{2,3,5}

¹産業技術総合研究所健康工学研究部門、²MIT 生物工学科、³MIT 脳認知科学科、
⁴MIT ヒカワー学習記憶研究所、⁵MIT 原子力工学科

○Satoshi Okada¹、Benjamin B. Bartelle²、Nan Li²、Vincent Breton-Provencher^{3,4}、Jiyoung J. Lee²、
Elisenda Rodriguez²、James Melican²、Mriganka Sur^{3,4}、Alan Jasanoff^{2,3,5}

¹Health Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,

²Department of Biological Engineering, ³Brain & Cognitive Sciences, ⁴Picower Institute for Learning
& Memory, ⁵Nuclear Science & Engineering, Massachusetts Institute of Technology

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、細胞内外において様々な情報伝達に関与するセカンドメッセンジャーである。神経伝達物質の放出時には、電位依存性カルシウムチャンネルを介して細胞外から内へと Ca^{2+} が流入する。よって、細胞外 Ca^{2+} 動態は、血液動態を基にする従来の functional MRI (fMRI) に代わる神経活動イメージングの直接的な指標となり得る。しかし、光学的技術による観察手法が確立されている細胞内 Ca^{2+} とは異なり、細胞外 Ca^{2+} の観察手法は限られている。

そこで細胞外 Ca^{2+} プローブとして、リン脂質で表面修飾した超常磁性酸化鉄ナノ粒子 (SPIO) とカルシウム結合タンパク質であるシナプトタグミンを混合した、magnetic calcium-responsive nanoparticle (MaCaReNa) を開発した。本プローブは、細胞外 Ca^{2+} の濃度変動範囲で、シナプトタグミンがリン脂質を介して SPIO をクラスター化するように設計されている。SPIO は凝集すると、近傍に存在する水分子の ¹H-NMR 横緩和を促進するため、MaCaReNa プローブによって細胞外 Ca^{2+} 動態を T_2 強調 MRI でトラッキング可能となる。人工脳脊髄液中での機能評価の結果、MaCaReNa プローブは、細胞外 Ca^{2+} の検出に適した親和性を有していることがわかった。

次に、プローブを生きたラット脳線条体に投与した後、同部位を塩化カリウムで脱分極刺激し Ca^{2+} 応答型 fMRI を試みた。刺激開始後、刺激部位周辺の信号強度は約 20% 上昇し、刺激停止から約 5 分でベースラインへと戻った。刺激を複数回繰り返しても同様の変化が見られたことから、プローブが脳内でも可逆的に機能することがわかった。一方で、ネガティブコントロールプローブと偽刺激では信号変化は観察されなかった。また、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の投与においても、塩化カリウム刺激と同様の信号変化が観察された。さらに、報酬系回路である内側前脳束を電極刺激した際の線条体の神経発火を、秒レベルで計測することも可能であった。

以上、MaCaReNa プローブを用いて、モデル動物の脳内で Ca^{2+} 応答型 fMRI に初めて成功した。本プローブを用いた脳機能イメージングにより、今後の神経科学研究が大いに進展する事が期待される。また本プローブは、生きた脳内で機能する初めての SPIO プローブであり、今後のイメージング材料の設計開発において重要な道標となり得る。

高速 AFM による 2 つの異なる転移活性ドメインを有する糖転移酵素の動的構造解析
Dynamical structural analysis for glycosyltransferase with two active sites using
high-speed AFM

○吉田早希¹、矢木宏和¹、渡辺大輝²、小財稔矢²、守島 健³、杉山正明³、内橋貴之^{2,4}、加藤
 晃一^{1,4}

¹名古屋市立大学薬学部、²名古屋大学大学院理学研究科、³京都大学複合原子力科学研究所、⁴自
 然科学研究機構生命創成探究センター

○Saki Yoshida¹, Hirokazu Yagi¹, Hiroki Watanabe², Toshiya Kozai², Ken Morishima³, Masaaki
 Sugiyama³, Takayuki Uchihashi², and Koichi Kato^{1,4}

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, ²Faculty of Science, Nagoya University,
³Institute for Integrated Radiation and Nuclear Science, Kyoto University, ⁴Explatory
 Research Center on Life and Living Systems, National Institutes of Natural Sciences

糖鎖はタンパク質や脂質を修飾し、様々な生命機能を制御している。糖鎖はゲノムに直接制御
 されておらず、その生合成を担っているのが糖転移酵素である。例えば、ヒトでは 200 種類近く
 の糖転移酵素が同定されているが、その多くが単一の触媒ドメインを有する 2 型膜タンパク質で
 ある。これらの酵素が合成する糖鎖の種類に応じて特異な酵素複合体を形成し、効率の良い糖鎖
 合成を担っていることが考えられている。一方で、2 糖の繰り返し構造を合成する糖転移酵素の中
 には単一種類の酵素で 2 つの糖転移活性部位を有する “バイファンクショナル” な酵素が稀では
 あるが存在しているが、こうしたユニークな酵素による糖鎖伸長の詳細なメカニズムは明らかに
 されていない。

大腸菌の莢膜の構成成分であるコンドロイチンはグルクロン酸 (GlcA) と *N*-アセチルガラクト
 サミン (GlcNAc) の 2 糖繰り返し構造を有しており、2 つの転移活性を有するコンドロイチン合
 成酵素によって生合成が担われている。そこで本研究では大腸菌の K4 菌種由来のコンドロイチ
 ン合成酵素である K4CP に着目し、本酵素による糖鎖の伸長メカニズムを解明するため、高速原
 子間力顕微鏡 (AFM) を用いた動的構造解析を行った。

超遠心分析により溶液中の K4CP は 0.2 mg/mL 以上では 2 量体を形成するものの、AFM の測定
 濃度である 0.05 mg/mL では単量体を形成することが明らかとなった。K4CP の高速 AFM による
 測定では、各ドメインに対応していると考えられる輝点 2 つが近接している像が観測され、これ
 らの輝点が揺動している様子を観察することに成功した。こうした 2 輝点が揺動しているダンベ
 ル型の K4CP 分子群に加えて、それよりも幅が狭く動きが殆どない楕円型の分子群も観察された。
 さらに、糖供与体とコンドロイチン 6 糖を基質として加えることで、伸長した糖鎖と考えられる
 ヒモ状の構造体を確認することができた。また、基質の添加によりダンベル型の分子の割合が増
 加したことから基質との結合が K4CP のコンフォメーションに影響を及ぼすことが明らかになっ
 た。

以上より、水溶液中の K4CP は 2 つのドメインが接近と解離を繰り返すことで、2 つの活性部
 位が空間的に接近し、糖鎖のリピート構造の伸長が効率的に行われている可能性が考えられる。

真菌由来βグルカン 3 量体の立体構造解析**Conformational analyses of trimer form of β-glucans from fungus**

○坂田喬亮, 中村百花, 寺林杏理, 沖歩, 松村義隆, 小島正樹

東薬大・生命

○Kyosuke Sakata, Momoka Nakamura, Anri Terabayashi, Ayumu Oki, Yoshitaka Matsumura and Masaki

Kojima

Sch. of Life Sci., Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci.

βグルカンはグルコースがβグリコシド結合でつながった多糖であり、キノコなど真菌類の細胞壁を構成している。その免疫作用を介して、抗腫瘍効果などの生理活性を示し、健康増進のうえでも有用な物質である。例えば、スエヒロタケ由来のβグルカンであるシゾフィランは抗がん剤ソニフィランとして認可されている。

真菌によってβグルカンの一次構造は様々であり、シゾフィランはβ-1,3 結合の主鎖にグルコース単糖がβ-1,6 結合で枝分かれしており、ハラタケ属の一種であるアガリクス (*Agaricus*) 由来のβグルカンはβ-1,6 結合の主鎖にβ-1,3 結合の分枝を有する。またシゾフィランは水溶性で 3 量体を形成してらせん構造をとることが X 線結晶解析により解明されている[1]が、他の真菌のβグルカンは一般に難溶性で立体構造も不明な点が多い。さらにシゾフィランは単量体で生理活性を有するという報告もあり、他の真菌βグルカン (レンチナン、カードラン) も単量体でらせん構造を形成することが固体 NMR により示唆されている。

我々はこれまでにアガリクスβグルカンに対して、X 線溶液散乱 (SAXS)、NMR、分子動力学シミュレーションにより、その一次構造がβ-1,6 結合の主鎖とβ-1,3 結合の分枝から成り、水溶液中で 3 量体または単量体として存在することを明らかにした[2]。またアガリクスβグルカンやカンジダグルカンは、平衡状態において単量体でらせん構造を形成することも示された。本研究では結晶構造[3]を基に、種々のβグルカンを 3 量体で分子動力学シミュレーションを行い、その立体構造や諸物性を予測して、単量体との比較解析を行った。

[1] Kony et al., *Biophys. J.* **93**, 442 (2007)

[2] 松村、小島「βグルカンの基礎研究と応用・利用の動向 第 5 章」(シーエムシー出版) 2018

[3] Deslandes et al., *Macromolecules* **13**, 1466 (1980)

PCNA の核内集積を指標にした青色レーザー光照射が生細胞に与える影響

Live cell imaging of PCNA accumulation in living cell nucleus irradiated with blue laser light

○高橋圭介¹, 金丸直弘¹, 松山哲也¹, 和田健司¹, 岡本晃一¹,
川喜多愛², 村田香織², 杉本憲治²

¹大阪府立大学工学研究科、²大阪府立大学生命環境科学研究科

○Keisuke Takahashi¹, Naohiro Kanamaru¹, Tetsuya Matsuyama¹, Kenji Wada¹, Koichi Okamoto¹,
Ai Kawakita², Kaori Murata², Kenji Sugimoto²

¹ Graduate School of Engineering, Osaka Prefecture University

² Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

1. はじめに 近年、青色光網膜障害など青色光による人体への影響が問題となっており、生細胞における光毒性発生機構の解明が望まれている。本研究では、青色レーザー光照射が生細胞に与える影響について、DNA複製や修復に関与する増殖細胞核抗原 (Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA) の核内への集積を指標にライブセルイメージングにより解析した結果を報告する。

2. 実験方法 悪性黒色腫由来細胞 (MDA-MB-435S) を用い、細胞核を赤色蛍光タンパク質 mPlum (励起/蛍光波長: 560 nm/650 nm)、PCNA を EGFP (励起/蛍光波長 484 nm/520 nm) で可視化した。光学系を Fig. 1 に示す。白色 LED からそれぞれの蛍光タンパク質の励起に必要な波長の光を励起フィルターにより取り出した後、ダイクロイックミラーで反射させ、対物レンズで集光し細胞に照射した。LED の前方に配置したカバーガラスによって、側方より半導体レーザー光を入射させ、細胞の特定部位に照射した。細胞のタイムラプス画像は EMCCD カメラによって取得した。

3. 結果 波長 450 nm、照射強度 100 W/cm² のレーザー光を細胞核中心に 5 分間照射したとき (30 kJ/cm²)、レーザー光照射前後で観測された PCNA の蛍光画像の例を Fig. 2 に示す。レーザー光照射前(a)の細胞核内の PCNA の状態から、対象の細胞は S 期中期であることがわかる。レーザー光照射後はレーザー光照射位置に PCNA が集積し、約 10 分後にはその蛍光強度が最大となった(b)が、2 時間後に観察した際には PCNA は元の状態(a)に戻った。波長 450 nm の光照射での細胞生存率 50%となる照射エネルギーは 96 kJ/cm² であるため、損傷を受けた DNA は光照射後 2 時間内に修復されたと思われる。また、照射エネルギーを 96 kJ/cm² 以上に高めた場合は、PCNA が集積した状態で細胞死に至ることも観測した。

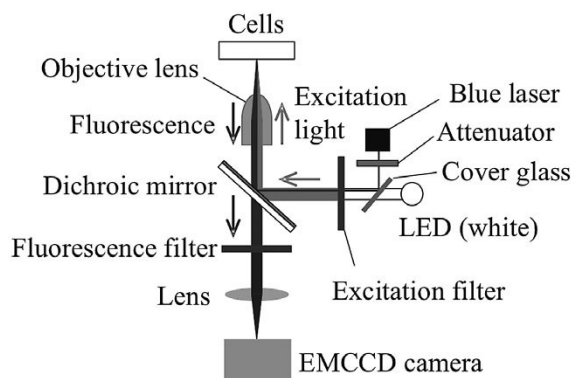


Fig. 1 Configuration of fluorescent microscope.

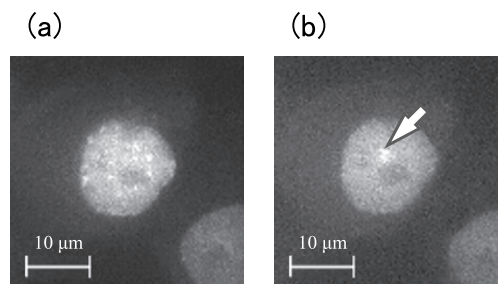


Fig. 2 Fluorescent images of PCNA (a) before and (b) after irradiating 450 nm laser

単一ミトコンドリアイメージングによるクリステ構造安定化機構の研究 Stability of the Mitochondrial Cristae Structure: Single Mitochondrion Imaging

○米田真由¹、柴田貴弘¹、大澤郁朗²、太田善浩¹

¹東農工大・院工・生命工、²都健康長寿医療センター研・生体調節機能

○Mayu Yoneda¹, Takahiro Shibata¹, Ikuroh Ohsawa², Yoshihiro Ohta¹

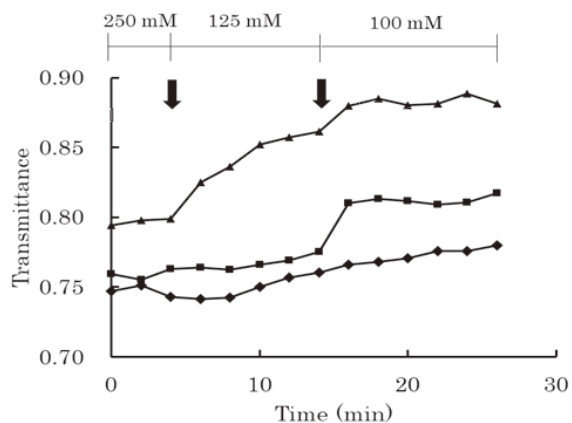
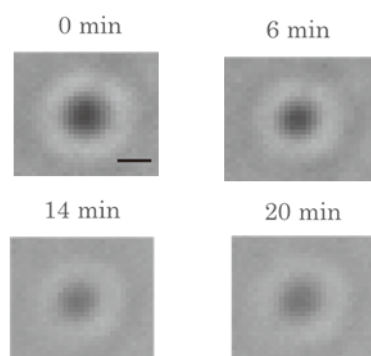
¹ Tokyo University of Agriculture and Technology, Division of Biotechnology and Life Sciences

² Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Biological Process of Aging

ミトコンドリアは外膜と内膜の2枚の膜から作られた、ATPの合成や細胞死において重要な働きをする細胞内器官である。内膜はひだ状に折りたたまれたクリステと呼ばれるダイナミックな構造をいくつも保持しており、その構造はミトコンドリアの機能と密接な関係があることが知られている。しかし、そのダイナミクスを直接計測することができなかつたため、クリステ構造の調節機構や安定化機構は解明されていない。このため、クリステ構造の変化によりもたらされるミトコンドリアの活性調節の仕組みは不明である。

本研究では、個々のミトコンドリアのクリステ構造の変化を光学顕微鏡のもとで検出し、クリステを安定化させている因子を見出すことを目的とした。ミトコンドリアはクリステが失われることで、内部の体積が増大することが知られている。そこで、ミトコンドリア周囲の浸透圧を下げることによって、ミトコンドリアの体積増加を誘導しクリステの損失を引き起こした。また、ミトコンドリア周囲の環境をコントロールするために、単離ミトコンドリアを対象として計測した。単離過程で損傷を受けたミトコンドリアを計測から除くため、活性が高く密度が大きいミトコンドリアを光学顕微鏡のもとで選択し計測した。クリステの構造変化は、個々のミトコンドリアの透過率の上昇、および、STED顕微鏡により得られた蛍光画像から検出した。

ミトコンドリアを低浸透圧の溶液にさらすと、透過率が上昇しミトコンドリアの膨潤が確認できた（下図左）。また、段階的に浸透圧を下げると透過率の段階的な上昇が観察され（下図右）、クリステが段階的に失われていると考えられた。STED顕微鏡により内膜構造を観察すると、低浸透圧にさらすことによりクリステの一部が失われていることが観察された。ポスター発表では、クリステ構造の損失を伴うミトコンドリアの膨潤の起こりやすさと、ミトコンドリアの活性の関係を述べ、クリステ構造の安定性について議論する。



＜量子ドットを用いた移植幹細胞・免疫細胞間 interaction 蛍光イメージング＞
＜Fluorescence imaging of transplanted stem cells to immune cells
interaction using quantum dots＞

○北村晃大¹, 湯川博^{1,2}, 佐藤 和秀³, 有本 知子¹, 小野島 大介^{1,4}, 石川 哲也³, 馬場 嘉信^{1,2,4,5}
¹名古屋大学大学院 工学研究科, ²先端ナノデバイス研究センター, ³医学系研究科, ⁴未来社会創造機構, ⁵
産業技術総合研究所 健康工学研究部門

○Koudai Kitamura¹, Hiroshi Yukawa², Kazuhide Sato³, Tomoko Arimoto¹, Daisuke Onoshima^{1,4},
Tetsuya Ishikawa³, Yoshinobu Baba^{1,2,4,5}

¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Advanced Nanobiodevice Research Center, ³Graduate School of Medicine, ⁴Future Society
Creation Organization, ⁵National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Health Engineering Research Division

本文

【目的】再生医療は炎症状態の患者を対象に実施されることが多く、再生医療の安全性や治療効果向上に向けて、炎症に関与するがん細胞や免疫細胞が移植幹細胞に及ぼす細胞間 interaction を理解することが極めて重要である。我々は、これまでに最先端蛍光ナノ材料の量子ドット(QDs)を用いて脂肪由来幹細胞 mASCs のラベル化手法及び移植後の *in vivo* イメージング技術を開発してきた。本研究では、新たに QDs によるがん細胞と免疫細胞のラベリング手法、及び *in vivo* 蛍光イメージング技術を構築し、細胞間 interaction の解明に取り組んだ。

【方法】ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞 A549 細胞と BALB/c マウスより採集したマクロファージを QDs ラベリングし、共焦点顕微鏡による観察とラベリング効率の評価を行った。また、QDs ラベル化 A549 細胞を BALB/c-nu ノードマウス♀6 週齢に皮下接種して担癌マウスを作製した。その後、QDs ラベル化マクロファージを接種し、*in vivo* 蛍光イメージング装置(IVIS Lumina K)で観察することで、A549 細胞とマクロファージ間の相互作用を評価した。さらに A549 細胞とマクロファージの共培養、C57BL/6J マウスから採取した mASCs とマクロファージの共培養をガラスボトム上で行い、蛍光イメージングによる細胞間 interaction の評価を行った。

【結果】QDs を R8 と最適比で混合することで、A549 細胞、マクロファージに高効率に導入されることを共焦点顕微鏡で観察し、高効率ラベリングが可能であることを確認した。また、QDs ラベル化 A549 細胞、マクロファージのマウス生体における *in vivo* 蛍光イメージングに成功した。さらに、がん細胞・免疫細胞間と幹細胞・免疫細胞間の細胞間 interaction を *in vitro* で蛍光イメージングすることに成功した。これにより量子ドットイメージング技術を用いて 1 細胞レベルの interaction 蛍光イメージング手法を構築した。本研究を基に、*in vivo* における細胞間 interaction の評価を進める。

Intracellular Ca²⁺ dynamics in guinea pig-pulmonary vein cardiomyocytes

○Yusuke Tanaka, Tamano Ohmori, Shogo Hamaguchi, Iyuki Namekata, Hikaru Tanaka

Department of Pharmacology, Toho University Faculty of Pharmaceutical Sciences

The pulmonary vein contains a myocardial layer which has automaticity, the ability to generate spontaneous action potentials. The action potential originating in the pulmonary vein, when propagated to the adjacent atrial myocardium, can be the trigger for atrial fibrillation. Thus, the pulmonary vein myocardium is receiving attention as a therapeutic target for atrial fibrillation. Electrophysiological and pharmacological studies in our laboratory have shown that the reduced repolarizing membrane currents of pulmonary vein cardiomyocytes play a permissive role in the generation of action potentials (Tsuneoka et al., 2017). Further, inhibition of spontaneous activity by ryanodine and SEA0400, agents which inhibit Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum and transsarcolemmal Ca²⁺ extrusion by the Na⁺-Ca²⁺ exchanger, respectively, suggested the intracellular Ca²⁺-dependence of the automaticity. We also found that neurohumoral influence such as noradrenaline and angiotensin II enhances automaticity (Irie et al., 2017)

In the present study, the intracellular Ca²⁺ dynamics of guinea pig pulmonary vein cardiomyocytes were visualized with confocal microscopy. Isolated pulmonary vein cardiomyocytes were loaded with the Ca²⁺ sensitive fluoprobes fluo-4 and imaged at millisecond intervals with Nikon AIR. The pulmonary vein cardiomyocytes were about 100μm in length and 15μm in width. Most of the cardiomyocytes lacked a T-tubular system. About one third of the cells showed spontaneous Ca²⁺ transients, a uniform elevation of Ca²⁺ throughout the cytoplasm triggered by action potentials. The elevation of Ca²⁺ began at the subsarcolemmal region and propagated transversely toward the cell center. Ca²⁺ in the cell nucleus followed the changes in the cytoplasm. Most of the cardiomyocytes showed spontaneous Ca²⁺ sparks, a non-propagating local rise in Ca²⁺ concentration which lasted for about 40msec. Application of angiotensin II markedly increased the number and amplitude of Ca²⁺ sparks; in some cases, Ca²⁺ waves, a propagating local increase in Ca²⁺ concentration, were induced. Induction of Ca²⁺ waves and Ca²⁺ sparks by angiotensin II was followed by generation of Ca²⁺ transients. Ryanodine inhibited all three Ca²⁺ types of Ca²⁺ movements: Ca²⁺ sparks, Ca²⁺ waves and Ca²⁺ transients. In contrast, SEA0400 inhibited Ca²⁺ transients but affected neither Ca²⁺ sparks nor Ca²⁺ waves. These results indicate that angiotensin II enhances the automaticity of pulmonary vein cardiomyocytes through intracellular Ca²⁺-dependent mechanisms. Further understanding of such mechanisms may lead to a therapeutic means for atrial fibrillation.

2 光子励起顕微鏡を用いたインフルエンザウイルス感染マウスにおける 肺の生体イメージング

In vivo imaging of the pathophysiological changes and dynamics of immune cells in influenza
virus-infected mouse lung

○植木紘史¹, I-Hsuan Wang¹, 福山聡¹, 桂廣亮¹, Lopes TJS^{1,2},

Gabriele Neumann², 河岡義裕^{1,2}

¹東大医科研・ウイルス感染分野

²Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin-Madison

○Hiroshi Ueki¹, I-Hsuan Wang¹, Satoshi Fukuyama¹, Hiroaki Katsura¹, Lopes TJS^{1,2},

Gabriele Neumann², Yoshihiro Kawaoka^{1,2}

¹Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology, Institute of Medical Science,
University of Tokyo

²Department of Pathobiological Sciences, University of Wisconsin-Madison

インフルエンザは、時として致死性の肺組織障害を引き起こす、医学・獣医学上の対策が必須な人獣共通感染症である。インフルエンザウイルスの病原性には、宿主応答によって惹起された肺の炎症が関与すると考えられているが、その詳細については明らかでない。インフルエンザウイルスに感染した肺の生理的な環境での観測は、宿主応答メカニズムを解析するための基本となる情報となる。本研究では、生体イメージング法を用いてウイルスに感染した肺を可視化することで、インフルエンザウイルスに対する宿主応答について新たな知見を得る。

我々は2光子励起顕微鏡を用いた生体イメージングシステムを構築し、肺吸引保定装置を開発することで、感染したマウス肺の観察を可能とした。感染細胞を可視化するために、レポーターインフルエンザウイルス(Color-flu)を用いて蛍光標識した。また、肺の血流と免疫細胞は蛍光標識された Dextran と抗体を静脈投与して可視化した。得られた動画データは画像解析ソフトを用いて解析した。

本研究では、血液の漏出や血流速度、免疫細胞の移動速度などの病態生理学的な変化を観測し定量化解析した。インフルエンザウイルスの感染によって、肺の血流速度や免疫細胞の移動速度が低下することが明らかとなった。さらに、高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染したマウスの肺では顕著な血液の漏出が認められた。本研究で確立した感染肺の生体イメージング法は、インフルエンザにおける宿主応答メカニズムの解明に役立つものと考えられる。

Green-Red 蛍光タンパク質を用いた二光子 FRET イメージング条件の最適化 Optimization of observation conditions for two-photon FRET imaging using Green-Red fluorescent protein pair

○杉澤元徳^{1,2}、竹内公平^{1,3}、田中響¹、須田亮^{2,3}、中村岳史^{1,3}

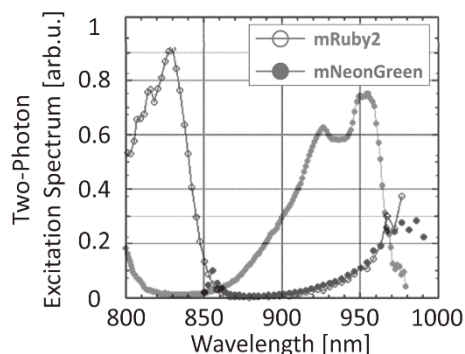
¹東京理科大・生命研、²東京理科大・理工・物理、³東京理科大・IFC、

○Motonori Sugizawa^{1,2}, Kohei Takeuchi^{1,3}, Kyo Tanaka¹, Akira Suda^{2,3}, Takeshi Nakamura^{1,3}

¹ RIBS, ² Dep Physics, Fac Sci Tech, ³ IFC, Tokyo University of Science

二光子 FRET イメージングは生体深部のイベントを観察する有力な手法として使用されはじめている。一方で二光子 FRET 観察に様々な困難があるのも事実である。まず交叉励起の問題が挙げられる。一般に蛍光タンパク質の二光子励起スペクトルは一光子励起スペクトルとは異なる。一光子励起の際に用いていた蛍光分子のペアをそのまま二光子観察に用いると、ドナーのみならずアクセプターまで強く励起されることがある。これは CFP と Venus のペアでもよく知られている。さらには、蛍光タンパク質の蛍光強度が可逆的に低下する「暗状態への遷移」も制御の難しい課題であり、光物理学的なアプローチで研究されている。

私たちのグループは、広く使用されている CFP-YFP のペアよりも交叉励起が小さいと期待される Green-Red のペアを用いることで二光子励起に適した FRET センサーを開発することを試み、これまで本学会で発表してきた。具体的には、緑色蛍光タンパク質として mNeonGreen 及び mClover を、赤色蛍光タンパク質として mRuby2 を選んだ。励起光強度を高くすると、アクセプター/ドナーの蛍光強度比に影響が現れるが、この影響をできる限り小さくする、あるいはコントロールできるようにすることがこの開発全体の大きな狙いである。前回大会では、明るい画像を得ることを重視して、多少は交叉励起をするがドナーの励起効率が良い 930 nm を選択した場合について重点を置いて報告し、今回はさらにその フォローアップを行った。



mNeonGreen と mRuby2 の
二光子励起スペクトル

本研究では多光子顕微鏡 FVMPE-RS(Olympus)を用いて培養細胞を対象とした二光子タイムラプスイメージングをモデル系として行った。その際に Z 軸方向に焦点がドリフトする実験上の問題を経験した。このドリフトは私たちの系では、10-20 分の周期で上下 1 μm 程度起きることが多かった。これはマクロな観察ではほぼ無視できる量だが、細胞レベルのイメージングでは問題となり得る。現在、DeepFocus モード(焦点深度を深くする機能)を用いてドリフトの影響を軽減させることを試みている。これについても予備的な結果を紹介したい。

細胞内タンパク質を迅速に発蛍光ラベル化する化学プローブの開発

Development of a chemical probe for rapid fluorogenic labeling of intracellular proteins

○Gao Jingchi¹、堀雄一郎^{1,2}、菊地和也^{1,2}¹大阪大学大学院工学研究科、²大阪大学免疫学フロンティア研究センター○Jingchi Gao¹, Yuichiro Hori^{1,2}, Kazuya Kikuchi^{1,2}¹ Graduate School of Engineering, Osaka University, ² Immunology Frontier Research Center, Osaka University

タンパク質の蛍光ラベル化法は、標的タンパク質の局在や挙動を生きた細胞において可視化できる有力な研究手法である。これまでにタンパク質の蛍光ラベル化には主に蛍光タンパク質が用いられてきた。一方、近年、合成蛍光プローブを用いたタンパク質ラベル化技術は注目を集めている。特に、遊離状態では非蛍光性でラベル化反応に伴い蛍光性となる「発蛍光プローブ」は、細胞の洗浄操作なしで高いコントラストで細胞内タンパク質をイメージングできる有用な化学ツールである。

演者らは、Photoactive yellow protein (PYP) をタグとして、PYP タグをラベル化する発蛍光プローブを開発してきた。PYP タグは蛍光タンパク質の半分程度の小さなタンパク質であり、桂皮酸やクマリンの誘導体と共有結合を形成する。演者らはこれまでに、PYP タグをラベル化する

プローブとして、環境応答性蛍光色素であるジメチルアミノクマリン (DMAC) をリガンドとしたプローブ CMBDMA2 を開発してきた (図 1)。遊離の CMBDMA2 は細胞内において極性が高い水環境下に存在し、その蛍光が抑制される。一方、プローブが PYP タグと反応するに伴い、DMAC リガンドは PYP タグの疎水性ポケットに入り、その蛍光が回復する。このように、遊離プローブの洗浄除去操作が不要なイメージングが可能となる。しかしながら、DMAC 型プローブの問題点として、その励起波長が短く、蛍光顕微鏡に広く用いられる 473 nm と 488 nm の青色レーザーでは十分に励起できないことがあげられる。また、プローブと PYP タグとの反応速度の更なる向上が求められる。

そこで本研究では、クマリンの分光学的性質に着目し、吸収・蛍光波長が長波長化した新たなクマリンリガンドを設計し、さらに、プローブと PYP タグとの静電相互作用に着目してプローブの構造を改変し、新たなクマリン型プローブを開発した。新規プローブは汎用的な青色レーザー光源による励起に適した吸収波長を有し、さらに、DMAC 型プローブと比較して新規プローブと PYP タグとの反応速度が大きく向上した。新規プローブを用いて、生きた細胞内のタンパク質を迅速に可視化することに成功した。

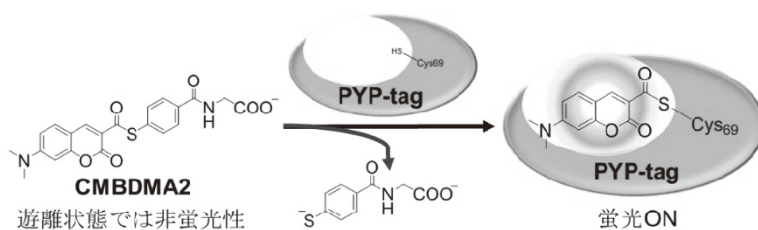


図 1. CMBDMA2 による PYP タグの発蛍光ラベ

ゼニゴケをモデルとした植物の長距離シグナル伝達のイメージング解析

Imaging analysis of long distance signaling using a model plant *Marchantia polymorpha*

○橋本研志¹、進藤大輝²、板橋武²、溝江暉²、長谷川実咲²、朽津和幸^{1,2}

¹東京理科大学イメージングフロンティアセンター、²東京理科大学工学部応用生物科学科

○Kenji Hashimoto¹, Hiroki Shindo², Takeru Itabashi², Hikaru Mizoe², Misaki Hasegawa²,

Kazuyuki Kuchitsu^{1,2}

¹Imaging Frontier Center and ²Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science

植物は各細胞の自律的な応答性に基づく分散型の情報処理により個体全体を統御するシステムを進化させて来た。植物は神経系を持たないが、環境ストレスなどにさらされると、その刺激を直接受けた部位における局所的応答とともに、長距離にわたる細胞間シグナルの伝達を介して全身的な応答を誘導する。この長距離シグナル伝達には、電気的シグナル、活性酸素種(ROS)、Ca²⁺などが関与することが知られているが、その分子機構は未解明の点が多い。陸上植物の基部に位置付けられる苔類ゼニゴケは、ROS生成酵素やCa²⁺チャネルの候補遺伝子数が被子植物に比べ極めて少ないため、植物が様々な環境ストレス応答においてどのように長距離シグナル伝達を実現しているかを分子レベルで解明する上で良いモデルになると期待される。これまでに我々は、蛍光性Ca²⁺センサータンパク質GCaMPを用いたライブイメージング解析から、ゼニゴケの葉状体に様々なストレスを与えたとき、刺激部位から離れた場所において一過的な細胞質Ca²⁺濃度の上昇が起きること、つまり迅速な長距離シグナル伝達系を持つことを見出している。さらに興味深いことに、異なるストレス刺激を与えたときには、細胞質Ca²⁺濃度変化のパターンにも違いが認められ、それぞれで別のCa²⁺チャネルが働いていることが示唆された。現在、ゼニゴケの長距離シグナル伝達系に関与する因子の同定を目的として、ゲノム編集による候補遺伝子の欠損株の作出とCa²⁺イメージング解析を進めている。

多点走査型 2 光子顕微鏡への偏光分離光学系の導入と生体イメージングへの応用
Development of multi-point scanning two-photon microscopy utilizing polarizing optics
and its application for intravital imaging

○後藤亜衣^{1,2}、大友康平^{1,2}、根本知己^{1,2}

¹北海道大学情報科学研究科、²北海道大学電子科学研究所

○Ai Goto¹, Kohei Otomo^{1,2}, Tomomi Nemoto^{1,2}

¹ Graduate School of information Science and Technology, Hokkaido University,

² Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University

スピニングディスクを用いた多点走査型 2 光子顕微鏡 (CSU-MP) は、近赤外超短光パルスレーザー光ビームを多点ビームに分割し同時照射を行うことで、100 fps を越える極めて高い時間分解能で、生体内部の蛍光断層イメージングを可能である (Otomo, *et al.*, *Anal. Sci.*, 2015)。また、2 光子顕微鏡では生体サンプル内で生じる超短光パルスレーザー光の第二次高調波発生 (SHG) を用いた生体標本のイメージングが可能である。SHG シグナルは主としてポリペプチド 3 重螺旋構造を有する生体コラーゲン分子からなる繊維で発生する。最近我々は、皮膚などの生体組織において高いコントラストでコラーゲン線維の 3 次元的な分布を *in vivo* で可視化することに成功した (Ipponjima, *et al.*, *PLoS ONE*, 2015)。そこで本研究では、CSU-MP を用いて、生体組織内のコラーゲンの分子配向を高速で *in vivo* イメージングを実施するための手法の開発を目指した。まず、CSU-MP では単点走査方式に比べると 1 点あたりの励起強度が低下するため、通常使用されるチタンサファイア (Ti:Sa) レーザーを光源とした場合、広視野観察が困難であった。そこで我々は、新たに、Ti:Sa レーザーの同一波長発振強度と比べ 16 倍のピークパワーを有する ytterbium (Yb)-レーザー (FemtoTrain, SpectraPhysics, 波長 1042 nm、パワー 4.0 W、パルス幅 300 fs) を導入し、高速かつ広視野で蛍光観察をすることに成功した。次に、我々は偏光ビームスプリッターを搭載したイメージング光学系を検出カメラに前置し、SHG 信号を偏光方向で分解し画像取得することを可能とした。マウス固定皮膚標本試料を観察し、真皮コラーゲン線維由来の SHG 信号を取得したところ、SHG 光の信号強度は、コラーゲン分子の濃度だけではなく、入射の偏向方向と分子の配向方向にも依存することが確認できた。そこで組織中のコラーゲン分子の配向情報を抽出するために、SHG 信号強度の入射偏光依存性を検証した。具体的には同一のカメラで、垂直方向および水平方向に分解した SHG イメージを同時取得した結果、コラーゲン分子配向方向を反映した明らかな局在を高速に可視化することに成功した。本研究により構築した光学系は、生きた動物中におけるコラーゲン線維の局在を可視化できるのみならず、偏光分解検知による分子配向イメージングに展開できることが明らかとなった。今後は、本法の応用により、高次構造情報を含むコラーゲン分子の分布や動態の解析のみならず、蛍光標識した生体分子の蛍光偏光を検出し、生細胞内での分子配向変化を捉える事が可能となると期待される。

小胞体移行性CEPIAを用いた膵臓β細胞株INS-1の小胞体Ca²⁺の可視化：
高脂肪酸環境が小胞体-細胞質間のCa²⁺動態に与える影響

Visualization of endoplasmic reticulum Ca²⁺ in rat pancreatic INS-1 cells
by using CEPIA: Free fatty acids induce disruption of Ca²⁺ flux.

川久保愛美¹、田中光²、○田中直子¹

¹大妻女子大・食物、²東邦大・薬

Megumi Kawakubo¹, Hikaru Tanaka², ○Naoko Iida-Tanaka¹

¹ Dept. Food Sci., Otsuma Women's Univ.,

² Dept. Pharmacol., Toho Univ. Faculty of Pharmaceutical Sci.

【目的】小胞体はタンパク質の生合成および品質管理を行う場であるとともに、細胞内情報伝達に重要なCa²⁺の貯蔵の役割も担っている。膵臓β細胞では、インスリン顆粒の細胞膜への移動・融合・開口放出という一連の過程に細胞質内のCa²⁺濃度のオシレーションが重要なシグナルとなることが知られており、小胞体はCa²⁺の取込み・放出を通して、インスリン分泌機能の調節を行っている。一方、小胞体はストレスを受けやすい細胞内小器官の1つでもある。特に膵臓β細胞を始めとするタンパク質の合成がさかんな分泌系細胞では、小胞体に異常タンパク質が蓄積する「小胞体ストレス」の状態が起こりやすいことが知られている。

本研究では、高脂肪酸環境下でのストレスが小胞体Ca²⁺の動態およびインスリン分泌に与える影響を、バイオイメーキングの手法を用いて調べることを目的とした。

【方法】細胞はラット膵臓β細胞由来のINS-1細胞を用いた。小胞体内のCa²⁺濃度の可視化には赤色蛍光タンパク質R-CEPIAを細胞に遺伝子導入し、細胞内Ca²⁺の観察には蛍光色素Fluo-4を、インスリン開口放出の可視化には蛍光色素FM1-43を用いた。パルミチン酸(PA)またはオレイン酸(OA)を0~200μM含む培地中で6日間培養したINS-1細胞について、グルコース刺激後の小胞体および細胞内Ca²⁺の濃度変化、インスリン開口放出を蛍光観察し、また、小胞体ストレス関連タンパク質のmRNA発現量を定量した。

【結果および考察】INS-1細胞の小胞体Ca²⁺濃度はグルコース刺激後に速やかに減少するが、PA処理およびOA処理細胞ではその減少量がcontrol細胞の1/2以下であり、高脂肪酸環境下での培養によって、グルコース刺激後の小胞体からのCa²⁺放出が低下していることがうかがえた。小胞体ストレスマーカータンパク質であるHSP90B1のmRNA発現量は、OA処理、PA処理とともに上昇していたが、同HSPA5、Ddit3の発現量はOA処理では上昇せず、PA処理でのみ上昇していた。PAとOAがそれぞれ異なる機序で、小胞体にストレスを与えている可能性が示唆された。

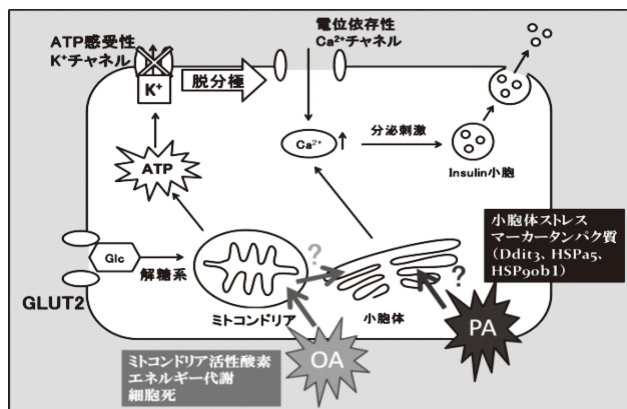


図.パルミチン酸(PA)とオレイン酸(OA)の毒性の違い

共焦点蛍光顕微鏡画像の定量評価に向けた画像ベース蛍光相関法の開発
Toward quantitative confocal imaging: Development of a system for image-based
fluorescence correlation spectroscopy

○佐々木章¹、Michael Halter²、John T. Elliott²

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²アメリカ国立標準技術研究所

○Akira Sasaki¹、Michael Halter²、John T. Elliott²

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ² National Institute of Standards and Technology (NIST)

定量生物学の発展とともに、(共焦点) 蛍光顕微鏡画像から定量的な情報を引き出すことの重要性が高まっている。通常、蛍光顕微鏡画像は測定局所における輝度によって画像を構築するが、その輝度を比較する際、「昨日と今日の輝度は同じか」、「違う機器で取得した画像の輝度は比較できるか」といった問題に直面する。一般的な生化学的測定においては、基準となる試料(性質が明らかで安定な「標準物質」)を測定し、検量線を引くことでこのような問題を解決することができる。しかしながら、蛍光輝度は、励起光の強度、集光率のような励起側のパラメータと、光路上での蛍光のロスと検出器感度のような検出側のパラメータ両方によって支配されるため、単純な基準試料では解決しきれない点に難しさがある。本研究では、画像の蛍光輝度を「蛍光分子の数」に変換することで蛍光画像を絶対的な計測値として表現することを目指している。そのための手法として本研究では、一分子レベルでの拡散計測法の一つである、蛍光相関分光法(Fluorescence correlation spectroscopy; FCS)の原理を汎用的なスピニングディスク共焦点顕微鏡の画像測定に応用し、蛍光画像の局所においてどれだけの蛍光分子が存在するかを定量した。

通常のFCSは光電子増倍管やアバランシェフォトダイオードのようなシングルフォトンカウンティング可能な検出器を使用する。一方、スピニングディスク共焦点顕微鏡で用いられるのはEMCCDカメラやsCMOSカメラであり、これらは近年著しく高感度化が達成されているものの、シングルフォトンカウンティングが可能なほどの感度は達成されていない。したがって、FCSの分野ではより明るく、かつ動きの遅い分子の検出に限定されているのが現状である。我々は、実際にFCS測定を行うためにはどの程度の“一分子の明るさ”が必要か、裏を返せば検出器にどのくらいの感度が必要か見積もることを試みている。

蛍光相関分光法は、画像(試料)内に含まれる蛍光分子の濃度を定量することができる手法であると同時に、顕微鏡システムそのものを評価することが可能な手法である。具体的には、対物レンズや検出器、光路の調整ならびに超解像効果の評価への利用が考えられ、顕微鏡システムならびに構成要素のベンチマーク方法として、FCSが今後威力を発揮することが期待される。本発表では、顕微鏡のベンチマークや標準化に資する標準試料や方法論についても議論したい。

がんスフェロイド解析のためのイメージングセルピッカーと形態情報解析の開発 Morphology-based Imaging Cell Picker for Cancer Spheroid Analysis

○加藤 寛人¹、渋田 真結¹、日下部 涼子²、蟹江 慧¹、
松井 裕史²、柳沢 真澄³、金森 敏幸⁴、杉浦 慎治⁴、加藤 竜司¹

¹名大院・創薬科学,²筑波大・医,³ESCO,⁴産総研・創薬基盤

○Hirohito Kato¹, Mayu Shibuta¹, Ryoko Kusakabe², Kei Kanie¹, Yuji Matsui²,
Masumi Yanagisawa³, Toshiyuki Kanamori⁴, Shinji Sugiura⁴, Ryuji Kato¹

¹ Grad. Sch. Pharmaceutical Sciences, Nagoya Univ., ² Faculty of Med., Univ. of Tsukuba,

³ Engineering System Co., Ltd., ⁴ National Institute of Advanced Industrial Science and
Technology (AIST)

がんは今や日本人の死因の割合を大きく占める、いわば国民病というべき重大疾患である。現在までに学術研究や創薬研究において、がん化プロセスにおけるメカニズム解明や腫瘍形成の再発、遠隔転移などを防ぐための新規薬剤開発など、広く研究対象とされてきた。近年、特に腫瘍組織内には様々な性質の異なる細胞集団が存在していることが報告され、がん細胞集団内のヘテロ性（不均質性）が薬剤耐性獲得やがん細胞の特性に大きく関わっていることが明らかとなっている。既存のセルベースアッセイにおいても FACS (Flowcytometry analysis and cell sorting system) など生物学的にヘテロ性を評価するための手法は用いられているが、蛍光染色画像を用いる画像解析は既知のマーカールによる解析に限定されてしまうため、複雑な腫瘍由来細胞集団の理解においては効果を十分に発揮できない現状がある。

本研究では、がん細胞の機能性評価に重要な 3 次元スフェロイド培養と培養ゲルからのスフェロイドの非破壊的回収を可能にする光分解性ゲルと、スフェロイドの非破壊的な形態情報変化を解析する細胞形態情報解析技術とを組み合わせ、シングルセル由来のスフェロイドの分離と解析を実現した Imaging Cell Picker の開発を行い、位相差顕微鏡画像を用いたスフェロイドの経時的形態情報解析について発表する。特に本研究では、画像処理によって得られるスフェロイドの形態特徴量の特徴およびロバスト性についても分析し、将来的な臨床検体由来のがん細胞集団の解析の可能性についても議論する。

ジャイアントベシクル内での微生物培養のリアルタイム観察 Real-time observation of bacterial culture inside giant vesicles

○森田雅宗、加藤薫、野田尚宏

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Masamune Morita, Kaoru Katoh, Naohiro Noda

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

微生物培養は、微生物の物理的特徴・生理学的機能の理解、微生物による代謝産物の獲得や物質生産において重要な手法である。近年、マイクロ流体技術を利用して、微小ウェル内に微生物を1細胞レベルでトラップし成長を解析する研究¹⁾、微小サイズの油中水滴内で微生物増殖を行う研究²⁾が報告され、微小区画内での微生物培養が注目されている。

脂質二重膜で形成されたカプセル状構造のジャイアントベシクル(GV)は、内部への物質封入が可能で、これまで細胞や微生物の封入^{3,4)}が報告されているが、内部での増殖・成長についての報告はされていない。GVは膜内外が水溶液で満たされており、膜組成の組み合わせを変えることで膜内外の溶液交換が可能であるという利点があり、微生物培養器としての利用が期待できる。

本発表では、GV内部で微生物を長時間・安定的に観察する手法の構築と微生物増殖のリアルタイム観察に成功したことを報告する(Figure 1)⁵⁾。モデル微生物である大腸菌を1細胞封入したGVの観察を開始、0.5時間後に2細胞、1時間後には4細胞に増殖、さらに3-4時間後には数えられない程に増殖した様子が観察された(Figure 1b)。さらに、本発表では、このシステムを用いた今後の展開についても議論する。

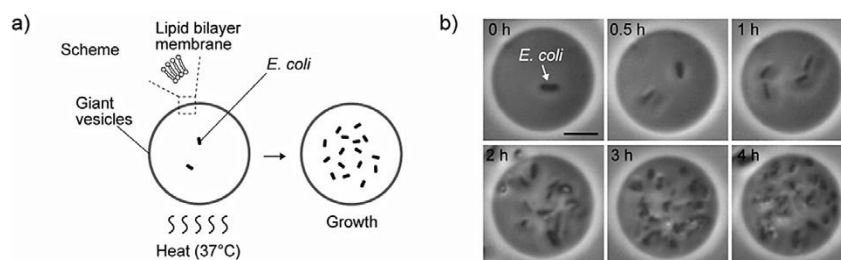


Figure 1. The construction of bacterial culture system within giant vesicles (GVs). a) The scheme of *E. coli* growth inside GV. b) Snap-shot images of *E. coli* growth inside a GV. Scale bar = 10 μ m

Reference.

- [1] P. Wang, *et al.*, *Curr. Biol.* **2010**, *20*, 1099–1103, [2] J. Q. Boedicker, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5908–5911, [3] Y.-C. Tan, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5656–5658, [4] S. Chowdhuri, *et al.*, *ChemBioChem* **2016**, *17*, 886–889, [5] M. Morita, *et al.*, **2018** Submitted

イネ葯タペート層のプログラム細胞死・花粉成熟における
 活性酸素種(ROS)生成・オートファジーの動態解析とその役割

**Imaging and physiological significance of enzymatic ROS production and autophagy
 in the regulation of tapetal programmed cell death in rice**

○朽津和幸^{1,2}、澤田隼平¹、福永任吾¹、花俣繁^{2,3}、小野聖二郎⁴、
 小川和准¹、賀屋秀隆^{1,5,6}、土岐精一⁶、野々村賢一⁴、来須孝光^{2,7}

¹ 東京理科大学理工学部応用生物科学科、² 東京理科大学イメージングフロンティアセンター、
³ 新潟大学自然科学系（農）、⁴ 国立遺伝学研究所実験圃場、⁵ 農研機構・生物機能利用部門、
⁶ 愛媛大学農学部、⁷ 公立諏訪東京理科大学工学部

○Kazuyuki Kuchitsu^{1,2}, Jumpei Sawada¹, Togo Fukunaga¹, Shigeru Hanamata^{2,3}, Seijiro Ono⁴,
 Kazunori Ogawa¹, Hidetaka Kaya^{1,5,6}, Seiichi Toki⁶, Ken-ichi Nonomura⁴, Takamitsu Kurusu^{2,7}

¹ Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, ² Imaging Frontier Center,
 Tokyo University of Science, ³ Graduate School of Science and Technology, Niigata University,
⁴ Experimental Farm, National Institute of Genetics, ⁵ Institute of Agrobiological Sciences, National
 Agriculture and Food Research Organization, ⁶ Graduate School of Agriculture, Ehime University,
⁷ Faculty of Engineering, Suwa University of Science

真核生物の発生・分化や代謝制御、プログラム細胞死(PCD)過程に、オートファジーによる細胞成分の分解が重要な役割を果たす。植物の花粉成熟過程において、葯の最内層のタペート細胞に PCD が誘導され、花粉に表面構造や栄養が供給される。イネのオートファジー欠損変異体では、タペート細胞の PCD が遅延し、花粉成熟不良・雄性不稔となることから、PCD 制御におけるオートファジーの重要性が示唆される(Kurusu *et al.* *Autophagy* 2014; Kurusu *et al.* *Bioimages* 2016; Kurusu and Kuchitsu *J. Plant Res.* 2017)。組織特異的プロモーターを用いてオートファジー可視化マーカータンパク質を発現させて定量的蛍光イメージング系を構築し、解析したところ、PCD が開始される小孢子一核期のタペート細胞でオートファジーが急激に誘導されることが明らかとなった。

花粉発達過程で葯に活性酸素種(ROS)が蓄積することが示唆されているが、その分子機構や制御、また PCD 過程における意義は不明な点が多い。葯の各層の ROS の動態を複数の分子プローブを用いて可視化解析したところ、部位特異的な ROS の一過的蓄積が観察された。タペート細胞の PCD 制御に重要な役割を果たす転写因子 EAT1 変異体(*eat1*)および、葯に強く発現する ROS 生成酵素 NADPH oxidase/Rboh のゲノム編集による変異体(*rboh*)では、ROS 蓄積の低下やオートファジー動態に異常が見られた。さらに *rboh* はオートファジー欠損変異体と同様に、花粉壁の形成不良・タペート分解不全を伴う雄性不稔形質を示した。葯の発達、タペート細胞のオートファジーや PCD の制御における ROS 生成の意義とその制御機構、転写制御ネットワークとの関連等について議論する。

光ファイバ型蛍光相関分光装置の開発と実証 Fibre-optic fluorescence correlation spectroscopy

○山本条太郎¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Johtaro Yamamoto¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

【要旨】

溶液や細胞内における分子の拡散を計測可能な蛍光相関分光法（Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS）は、近年、生物学分野での応用が広がってきた。FCSは、蛍光標識した対象分子の並進拡散係数と濃度を計測可能であり、その情報から対象分子の大きさ、分子間相互作用の強さ、および多量体化の解析等を生細胞中でさえ可能にする。FCSの需要は年々高まっているが、一般的な市販FCS計測装置は共焦点蛍光顕微鏡のオプションとして供給され、巨大かつ高額になりがちであり、広く普及しているとは言い難い現状である。また、共焦点検出系を用いるため、計測開始前にピンホール位置や対物レンズ補正環のキャリブレーションが必要になり、若干の熟練が要求されることも、装置導入の障壁となっている。

本研究では、光源と検出器を除く全てを光ファイバ光学系で構築する全光ファイバ型蛍光相関分光装置（Fibre-optic fluorescence correlation spectroscopy, F-FCS）の開発と、その実証実験を行った。F-FCS装置の検出感度は従来のFCSに及ばないが、顕微鏡筐体、対物レンズおよびダイクロイックミラーを必要とせず、小型かつ操作が容易で安価である。

実験では、まず異なる大きさの蛍光ビーズを用いて粒子半径測定の実証を行い、更に蛍光ビーズ分散液の希釈系列の測定から、粒子濃度測定の実証も行った。この結果、十分な蛍光輝度を持つ粒子であれば、F-FCS測定が可能であることが実証された。最後に、ヒト母乳に含まれるエクソソームについて、エクソソーム特異的蛍光標識抗体を用いてF-FCS測定を行い、粒子半径と粒子数を得ることに成功した。エクソソームは血液や尿にも含まれ、がんの診断マーカーとなり得ることから近年研究が盛んである。小型かつ安価なF-FCS装置の普及によって、将来的にがん等疾患の診断が迅速・容易になり、早期発見に貢献することを期待する。

【謝辞】

本研究の一部は、高橋産業経済研究財団の研究助成を受けて行いました。また本研究の一部は、発表者が金城政孝教授の研究室（北海道大学）で行いました。本研究で用いたエクソソーム試料および蛍光標識抗体はコスモ・バイオ株式会社の山口氏を始めとする方々にご提供いただきました。皆様に深く感謝致します。

円順列変異体の組合せにより Rab11 センサーのダイナミックレンジの拡大を図る
Development of a broad dynamic-range FRET sensor for Rab11 activity based on the
circularly permuted mutants strategy

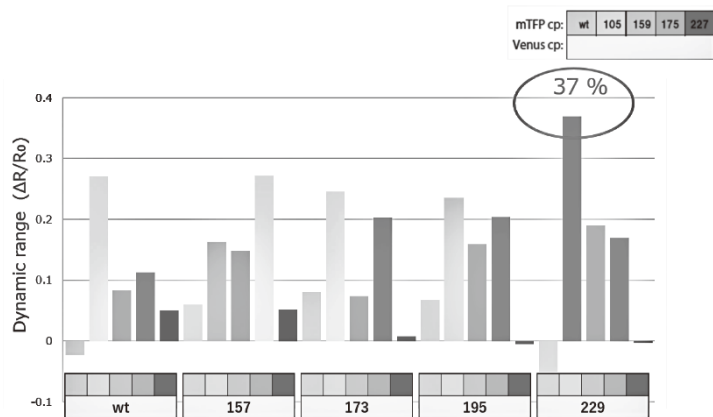
○松井真優、照井翔、金光（藤田）明音、中村岳史

東京理科大学生命医学研究所 RIBS, Tokyo University of Science

細胞内輸送経路の1つであるリサイクリング経路は、取り込まれたレセプターや接着因子のリサイクリングが主要な機能であるが、現在では、新規合成された蛋白質の膜提示や一部のオートファジーの起点となる等、多彩な生理的役割が明らかにされている。低分子量 G タンパク質である Rab11 はリサイクリング経路における主要な制御因子であり、この経路で起きる多様なイベント広く関わっていることが明らかにされている。私たちは、神経発生や神経再生の分野で、Rab11 がリサイクリング経路による細胞膜への膜付加を介して神経突起の伸展をどのように制御しているかに興味を持ち解析を行っている。本学会での以前の発表で、FRET の原理に基づく Rab11 センサーの開発について報告し、神経突起を移動する小胞での Rab11 活性の時空間変化について結果の一部を説明した。しかしながら、この小胞での Rab11 センサーの数は高々数十個と見積もられ、得られる FRET/CFP 比は非常にゆらぎが大きく、その解析でを使用した Rab11 センサーのダイナミックレンジでは十分信頼できる結果を出せていない可能性があった。そこで本研究では、蛍光タンパク質の円順列変異体の系統的な組合せによる改良法¹を適用することで、Rab11 センサーの改良を試みた。この改良法では、(1) 蛍光タンパク質間の二量体化傾向を回避するために異なる種由来の蛍光タンパク質を用いる、(2) 蛍光タンパク質間の相対的な位置関係を変えて活性状態での FRET 効率を上げるために、mTFP と Venus それぞれにおいて野生型と 4 種の円順列変異体合わせた計 5 種の組合せで 25 パターンのセンサーを検討する、という戦略をとっている。私たちは、この改良法を、27%のダイナミックレンジを持つ既存の Rab11 センサーに適用して性能の向上を図った。その結果、右下図に示すとおり、40%近いダイナミックレンジを持つ新たな Rab11 センサーを得ることができた。また、このセンサーは神経突起において mCherry-Rab11 と高い共局在を示

す。経験的にこのレベルのダイナミックレンジを持つ FRET センサーであれば、高精細な画像取得システムとの組み合わせで、比較的高い信頼性でのデータを得ることが期待できる。現在、神経突起伸展に関わるリサイクリング経路のいくつかの過程で新たなセンサーによる Rab11 活性の可視化を試みている。

1) Fritz et al. *Sci. Signal.* 6, rs12 (2013)



赤外・ラマン分光による硬骨魚類ウロコの構造解析

Structural analyses of goldfish and medaka scales by vibrational spectroscopy

○奈良雅之、丸山雄介、服部淳彦

東京医科歯科大学教養部

○Masayuki Nara, Yusuke Maruyama, Atsuhiko Hattori

College of Liberal Arts and Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

【はじめに】硬骨魚類のウロコは膜性骨に似た硬組織であり、コラーゲンが主成分である繊維層と、コラーゲンに hidroキシアパタイト (HAP) が沈着した骨質層とからできている。近年、硬骨魚類のウロコはヒトの骨と同様に、破骨細胞と骨芽細胞によって骨 (カルシウム) 代謝が調節されていることから、骨の代替となる研究対象として注目されている¹⁾²⁾。本研究ではキンギョ並びにメダカのウロコについて赤外・ラマン分光による構造解析を行った。

【結果と考察】全反射吸収 (ATR) 赤外分光を用いてキンギョのウロコのポケット側を測定したところ、表面は HAP によるバンドが 1013 cm^{-1} に観測され (図 1a)、裏面はコラーゲンによるアミド I ($\sim 1631\text{ cm}^{-1}$)、アミド II ($\sim 1550\text{ cm}^{-1}$)、アミド III ($\sim 1240\text{ cm}^{-1}$) バンドが観測された (図 1b)。また、顕微ラマン分光法を用いてウロコを調べると、HAP の PO_4^{3-} 対称伸縮振動に由来する 960 cm^{-1} のバンドは、隆起線上で強くなり、隆起線間では弱くなることがわかった。ウロコ表面には、HAP のバンドの他に、 870 cm^{-1} 付近に炭酸イオンに由来するバンドも観測されたので、HAP の他に炭酸アパタイトも含まれていることが示唆された。反射型赤外イメージングを用いて、ウロコ表面の HAP、炭酸イオンのバンド強度を調べたところ、これらの分布が重なっていることから、炭酸アパタイトが骨質層全体に分布することが示唆された。

メダカのウロコは、キンギョのウロコに比べて薄くて、しかもサイズが小さく隆起線が少ないため、硬骨魚類ウロコの簡単なモデルとして期待される。実際に、キンギョのウロコと同じように、赤外スペクトルには、 1000 cm^{-1} 付近に HAP 由来の強いバンドの他に、 870 cm^{-1} 付近に炭酸イオンに由来するバンドが観測された。また、ラマンスペクトルの 960 cm^{-1} のバンドは、隆起線で強くなり、隆起線間で弱くなることが確認できた。キンギョの通常ウロコの厚さが $100\text{ }\mu\text{m}$ 以上あるのに対して、メダカのウロコの厚さが $10\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ 程度あることから、深さ方向は裏側の繊維層のラマン強度もほとんど拾っていると考えられる。今回用いたメダカのウロコは、表皮側も無色 (白色) であることから、色素胞由来の蛍光を回避できることがわかり、表皮側を解析することが可能であることがわかった。

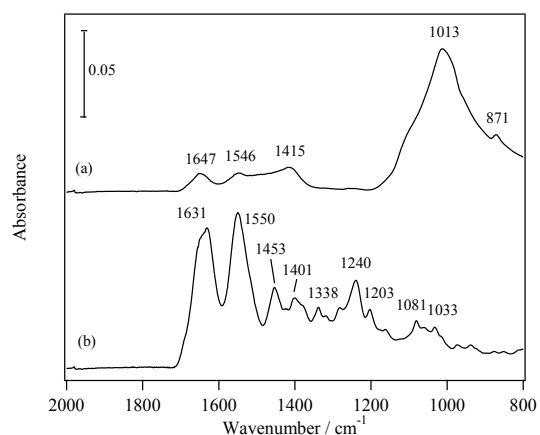


図1 キンギョのウロコの赤外スペクトル

1) Azuma K. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 362, 594-600 (2007).2) Yano S. et al., *Zool. Sci.*, 30, 217-223 (2013).

量子ドットによる完全透明化組織内移植幹細胞イメージング
Single cell imaging of transplanted stem cells
in the whole transparent tissue by quantum dots

○水巻登志樹¹、湯川 博¹、小野島大介¹、洲崎悦夫²、上田泰己²、馬場嘉信¹

¹名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻、²東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻

○Toshiki Mizumaki¹, Hiroshi Yukawa¹, Daisuke Onoshima¹, Etsuo Susaki², Hiroki Ueda², Yoshinobu Baba

1

¹ Graduate school of engineering, Nagoya university, ² Graduate school of medicine, Tokyo university

再生医療の安全性及び治療効果を最大限に引き出すためには、移植幹細胞が臓器・組織内のどの部位に集積し、生着して機能を発揮しているかを一細胞レベルで解明する必要がある。しかし、これまで生体内のすべての移植幹細胞を網羅的にイメージング診断できる技術は確立されていない。臓器や組織は光を吸収・散乱する様々な物質から構成されており、光の透過性が極めて低いため、二光子励起顕微鏡などを用いても表面上のしかも限られた視野での観察に留まっているのが現状である。本研究では、量子ドット (QDs) 蛍光イメージング技術と組織透明化技術 (CUBIC) を融合することで、急性肝不全モデルマウスにおける移植幹細胞の網羅的イメージングを可能にする革新的診断技術の確立に取り組んだ。

QDs655 を用いてラベル化した幹細胞を抗凝固薬であるヘパリンと共に、急性肝不全モデルマウスの尾静脈より移植したところ、*in vivo* 蛍光イメージング装置により移植幹細胞が主にマウスの肺と肝臓に集積していることを確認した。その後、組織透明化試薬 CUBIC を用いて摘出した肺と肝臓の透明化を行い、光シート蛍光顕微鏡により透明化した肺と肝臓内の移植幹細胞の 3D 網羅的イメージング診断を実現した。

以上より、量子ドット蛍光イメージング技術と組織透明化技術を融合することで、移植幹細胞の組織・臓器内網羅的イメージング診断が可能であることが示唆された。

エクソソームマイクロ RNA のプロファイリングに基づく疾病診断システムの開発**Development of a diagnostic system based on exosomal microRNA profiling**○飯塚 怜^{1,2}、土屋 章一²、利岡 文美²、船津 高志¹、一木 隆範^{2,3}¹東京大学 大学院薬学系研究科、²ナノ医療イノベーションセンター、³東京大学 大学院工学研究科○Ryo Iizuka^{1,2}, Shoichi Tsuchiya², Fumi Toshioka², Takashi Funatsu¹ and Takanori Ichiki^{2,4}¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo,²Innovation Center of NanoMedicine, ³Graduate School of Engineering, The University of Tokyo

血液や唾液、尿などの体液中に存在するマイクロ RNA (miRNA)、とりわけエクソソームに内包された miRNA は、がんをはじめとする様々な疾患の診断に利用できるバイオマーカーとして有望視されている。このため、迅速かつ簡便に miRNA のプロファイリングを実現するシステムが望まれている。我々は、体液を投入するとエクソソームマイクロ RNA のプロファイリング結果が出力される疾病診断システムの開発を行っている。

本システムは、装置本体、制御用パソコン、カートリッジ型デバイスにより構成される。試料・試薬を添加したデバイスを装置にセットすると、「体液中のエクソソームの単離」、「エクソソームからの miRNA の精製」、「マイクロアレイによる miRNA のプロファイリング解析」の一連の工程が全自動で行われる。装置には、流体制御機能とともに小型の蛍光顕微鏡が搭載されており、マイクロアレイの蛍光画像データが取得できる。画像データは制御ソフトウェア上で解析され、miRNA のプロファイリング結果が出力される。

既存のマイクロアレイ法は、miRNA の蛍光標識など煩雑な操作や、ハイブリダイゼーションに多大な時間を要することが問題となっている。そこで、これらの問題を解決するマイクロアレイ法 (Ligase-Assisted Sandwich Hybridization (LASH) 法) を開発した。LASH 法では、基板上に固定した C-probe および蛍光標識した D-probe を用いて標的 miRNA を捕捉し、T4 DNA ligase を用いて 3 者を連結させる。これにより、miRNA を直接蛍光標識することなく、迅速な miRNA の検出が可能となる。LASH 法を上記のシステム上で実践し、hsa-miR-143-3p を濃度依存的に検出できることを確認した。また 30 fmol hsa-miR-143-3p 存在下において、溶液の投入から 10 分で miRNA を定量的に検出することに成功した。現在、血漿より精製したエクソソームに内包される miRNA の検出を試みている。

以上の研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構の研究成果展開事業「センター・オブ・イノベーション (COI) プログラム」の支援を受けて行われた。

植物の発生・形態形成における活性酸素種(ROS)の役割

-ゼニゴケの ROS 生成酵素欠損変異体の形態形成異常のイメージング解析-

Physiological function of reactive oxygen species (ROS) in plant development and morphogenesis: Imaging analysis of abnormal development in a knockout mutant defective in ROS-producing NADPH oxidase in *Marchantia polymorpha*

○萩原雄樹¹、橋本研志²、宮本大輔¹、高川智弘¹、浅井卓也³、小関泰之^{2,3}、朽津和幸^{1,2}

¹東京理科大学理工学部応用生物科学科、²東京理科大学イメージングフロンティアセンター

○Yuki Hagiwara¹, Kenji Hashimoto², Daisuke Miyamoto¹, Tomohiro Takagawa¹, Takuya Asai³,
Yasuyuki Ozeki^{2,3}, Kazuyuki Kuchitsu^{1,2}

¹Department of Applied Biological Science and ²Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science,

³Department of Electrical Engineering and Information Systems, University of Tokyo

酸素呼吸や光合成の過程で不可避免的に生成される活性酸素種(ROS)の毒性が広く知られているが、細胞膜に存在する ROS 生成酵素 NADPH oxidase (Nox)/Respiratory burst oxidase homolog (Rboh) により細胞壁空間に積極的に生成される ROS と Ca²⁺とが、植物免疫、環境ストレス応答、先端成長・発生、プログラム細胞死など植物の高次機能の基盤となる細胞表層における情報統御系の根幹で重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。ROS の積極的生成は、細胞壁の強度調節、細胞内・細胞間シグナル伝達など、多様な生理機能に関わっていると考えられ、その意義、制御機構とその進化の解明を目指して、ROS 生成酵素 Nox/Rboh の機能解析を進めている。

冗長性の低い遺伝子構成が遺伝学的解析を有利にすることが期待される苔類ゼニゴケをモデルとした研究の中で、ある *Rboh* 遺伝子を欠損した変異体では植物体が小さく縮れた形態を示すことを見出した。本来ゼニゴケ植物体は二次元的に成長、展開される成長様式を示し、植物組織の形態形成プロセスを研究する上でも興味深いモデルになると考えられている植物である。そこでまず本研究では、*rboh* 欠損植物体に現れた異常を、組織・細胞レベルでの形態異常から詳しく解析することで現象理解を深めようとしている。例えば、組織の透明化と細胞壁の蛍光染色により個々の細胞を可視化した解析からは、成長を司る分裂組織周辺の細胞数、配列の仕方に異常が認められ、このことが植物体全体の形状に著しい変化をもたらしていることが示された。また一方で、この *rboh* 欠損植物体では表面を覆う脂質性のクチクラ層の形成に異常が認められており、誘導ラマン散乱顕微鏡を用いた脂質成分のイメージング解析を進めている。本発表では、それらの解析結果をもとに、Rboh 由来の ROS が植物の形態形成に重要な役割を担っている可能性について議論する。

X線1分子追跡法による線虫1分子動態の観察

Dynamic in vivo observation of single molecular motions in *C. elegans* by diffracted X-ray measurement

○倉持昌弘^{1,2,3}、関口博史⁴、青山光輝⁴、戸井基道²、三尾和弘^{2,3}、津田栄^{2,3}、佐々木裕次^{1,3,4}

¹東京大、²産総研、³産総研・東大 OIL、⁴SPring-8/JASRI

○M. Kuramochi^{1,2,3}, H. Sekiguchi⁴, K. Aoyama⁴, M. Doi², K. Mio^{2,3}, S. Tsuda^{2,3}, Y. C. Sasaki^{1,3,4}

¹Univ. of Tokyo, ²AIST, ³AIST-UTokyo OPERANDO OIL, ⁴SPring-8/JASRI

種々のタンパク質の分子機序の解明には、タンパク質1分子の内部運動取得が重要な意義をもつ。白色X線を利用した1分子追跡法(Diffracted X-ray Tracking: DXT)は目的のタンパク質にナノ結晶を標識し、ナノ結晶からのX線回折スポット(ラウエ法)の角度変化を観測することでタンパク質1分子の内部回転運動(θ , χ 方向)を高速高精度に測定する手法である(図1)。これまでに、安定な分子構造を持つDNAや膜タンパク質の分子動態をマイクロ秒、ミリラジアン(並進運動に換算してピコメートル)の位置決定精度で計測することに成功してきた。

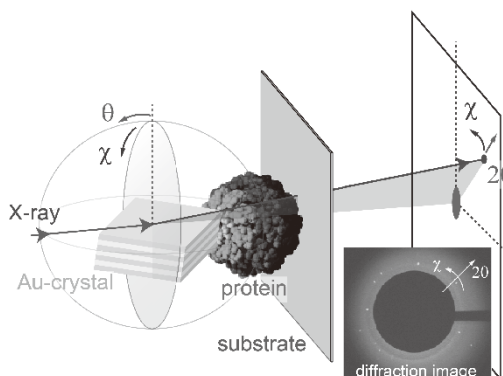


図1 X線1分子追跡法の概要

我々はこのDXT法を線虫に適用することで、生体内のタンパク質1分子動態を追跡する先駆的計測を試みている。今回、氷結晶成長阻害というユニークな特性をもつ不凍タンパク質(AntiFreeze Protein: AFP)に着目した。in vitro DXT計測から、AFP1分子は温度が下がっても、その分子内運動は低下せず、むしろ上昇を示すという興味深い結果が得られている。生体内においても同様の現象がみられるか調べるため、線虫AFPを金ナノ結晶で標識し、X線透過可能なPDMSに挿入後、in vivo測定した(図2左)。懸念されたX線照射ダメージだが、照射後の線虫の生存を確認でき、かつ正常な虫と同程度の運動能力を示した。また、線虫体内、体外で金結晶の回折輝点を検出することに成功し、生体内分子へのナノ結晶標識法の有効性も得られた。さらに、光学顕微鏡の併設により、X線照射位置の制御が可能となり、安定して回折輝点を取得できるようになった(図2右)。以上のように生体内DXT法確立に向けて、これまで予備的ではあるが良好な結果を得た。現在、温度制御下における線虫AFP1分子動態の測定・解析に取り組んでいる。

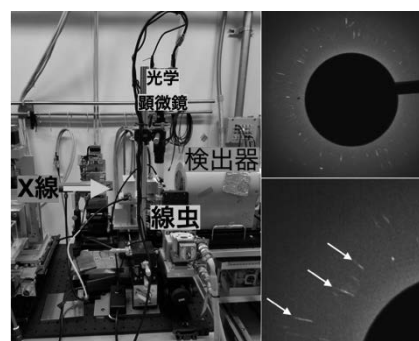


図2 線虫を用いた in vivo DXT システム(左)と線虫 AFP の回折スポット(右)

また、我々のグループでは単色X線を利用した1分子計測法(Diffracted X-ray Blinking: DXB)を考案し、ラボX線レベルの1分子計測も試みている。従来のDXTと比べてX線ドーズ量を1/1,000程度に抑えられるため、生体内計測に有効な手法である。現在、DXB法による線虫の1分子計測も試みており、本発表ではこれら最新の取り組みについても紹介したい。

X 線 1 分子追跡法による TRPV1 チャンネルの 3 次元運動 3D MOTION OF TRPV1 CATION CHANNEL DEPICTED BY DIFFRACTED X-RAY TRACKING METHOD

○藤村章子¹、三尾和弘¹、倉持昌弘²、関口博史³、三尾宗代¹、久保泰¹、佐々木裕次^{1,2,3}
¹産総研・東大先端オペランド計測技術 OIL、²東京大学大学院新領域創成科学研究科、²高輝度
 光科学研究センター SPring-8

○Shoko Fujimura¹, Kazuhiro Mio¹, Masahiro Kuramochi², Hiroshi Sekiguchi³, Muneyo Mio¹, Tai Kubo¹,
 Yuji C. Sasaki^{1,2,3}

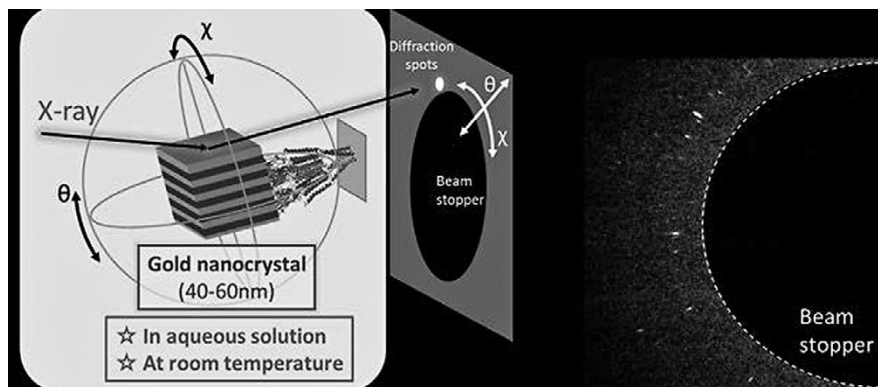
¹ AIST, ² Graduate School of Frontier Sciences, The Univ of Tokyo, ³ Japan Synchrotron Radiation
 Research Institute

Transient receptor potential (TRP) チャンネルは細胞膜に存在し内因性物質、化学物質、物理刺激などによって活性化されるセンサーである。TRP チャンネルの多くは身体のいたるところに存在し TRP vanilloid 1 (TRPV1) はカプサイシンや酸、熱刺激に応答する重要な働きを担っている。

今回 TRPV1 の作動機構を解明するために、Spring-8 にて白色 X 線を用いた X 線 1 分子追跡法 (DXT: Diffracted X-ray Tracking) を試みた (下図参照)。DXT ではタンパク質を金ナノ結晶で標識し、回折スポットの回転運動を傾斜角 θ 、回転角 χ としてリアルタイムに計測し分析を行った。時間分解能は $100 \mu\text{m}/\text{frame}$ 、角度精度はそれぞれ $\Delta\theta = 0.18 \text{ mrad}$ 、 $\Delta\chi = 0.74 \text{ mrad}$ である。

その結果、 χ 軸方向の回転運動は、カプサイシン用量依存的に増強された。また、TRPV1 のアンタゴニストを入れた場合の χ 軸方向の回転運動は、カプサイシンを入れた場合と比べて有意に抑えられていた。また、これらの運動は金ナノ結晶で標識する位置により異なることが確認できた。熱刺激に関しては、野生型 (WT) と熱応答性を欠損したトリプルミュータント (TRI: N629K/N653T/Y654T) の運動比較の結果、WT の χ 値は TRI と比較して有意に高いことが確認できた。さらに 50°C 、 $\Delta t = 2.0 \text{ msec}$ における χ は、WT はマイナス (-) 側に、TRI はプラス (+) 側に確率分布の偏りが確認できた。

TRPV1 を用いた X 線 1 分子追跡法の概念図



数 10 nm 程の金ナノ結晶を TRPV1 タンパク質に標識し、タンパク質分子の内部運動に連動したナノ結晶の動きを追跡する。

超解像イメージングにより明らかとなった新たな染色体構造

Super-resolution microscopy revealed a novel chromosome structure

○高田英昭¹、Rawin Poonperm²、加藤薫¹、松田厚志³、平岡泰⁴、福井希一²

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、²大阪大学大学院工学研究科、³情報通信研究機構未来 ICT 研究所、⁴大阪大学大学院生命機能研究科

○Hideaki Takata¹、Rawin Poonperm²、Kaoru Kato¹、Atsushi Matsuda³、Yasushi Hiraoka⁴、Kiichi Fukui¹

¹National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ²Osaka Univ. Grad. Sch. Eng., ³NICT, ⁴Osaka Univ. Grad. Sch. Biosci.

真核生物は、細胞分裂に際し遺伝情報を記録している DNA を染色体と呼ばれる構造にコンパクトに折り畳むことで安全かつ均等な遺伝情報の分配を達成している。もし、染色体構造が正しく構築されないと、細胞は染色体の分配異常を引き起こすこととなり、癌をはじめとする多くの疾患の原因となる。このため、DNA がどのようにして染色体へと折り畳まれるのかという点について、染色体構造の顕微鏡観察が古くから行われてきた。しかしながら、染色体は DNA とタンパク質が高密度で集合した動的構造体であるため、現在の顕微鏡技術をもってしても、その構造の全貌を解明するには至っていない。

本研究では、分裂期染色体を構築する上で重要な働きを持つ“染色体スキャフォールド構造”に焦点を当てた。染色体スキャフォールドは、染色体腕の中心に軸状に分布するタンパク質からなる構造で、DNA をループ状に束ねて整列させることで棒状の染色体を構築していると考えられており、まさに染色体の骨格とも呼べる構造である。しかしながら、この構造が染色体内でどのようにして形成されるのかは明らかとなっていない。染色体スキャフォールドを構成する蛋白質としては、コンデンシン複合体、Topoisomerase II α 、KIF4A などが知られている。本研究では、超解像度顕微鏡 (3D-SIM) と電子顕微鏡 (FIB/SEM) を利用することで、染色体内でのこれらの蛋白質の分布を詳細に観察した。その結果、通常の蛍光顕微鏡では、スキャフォールド蛋白質の分布は染色体腕の中心に 1 本の軸状の分布を示したが、3D-SIM および FIB/SEM を用いた観察により、1 本ではなく主に 2 本の軸状の分布であることが明らかとなった (図)。また、スキャフォールド蛋白質をノックダウンした後の構造を観察することにより、この 2 本鎖状の染色体スキャフォールド構造の構築には、コンデンシン複合体と Topoisomerase II α の寄与が大きいことも明らかとなった。さらに、この分裂期特異的なスキャフォールド構造の形成は、分裂期キナーゼである CDK1 依存的な KIF4A のリン酸化によって部分的に制御されていることも明らかとなった。

以上のように、本研究により染色体スキャフォールド構造が主に 2 本の軸から構成されることが分かってきたが、染色体は内部に複数の軸構造を持つことで、分裂期における染色体構造の揺らぎや動きを生み出しやすくしていると考えられる。

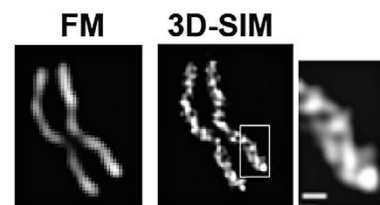


図. 蛍光顕微鏡 (FM) と超解像度顕微鏡 (3D-SIM) で観察した染色体スキャフォールド構造。Bar, 250 nm.

pH 感受性蛍光プローブによる破骨細胞プロトンポンプ動態の in vivo 観察
In vivo Observation of Dynamics of Osteoclast Proton Pump Using pH-activatable
Fluorescent Probe

○蓑島維文¹⁾、大森雄太¹⁾、菊地和也^{1,2)}

¹⁾ 大阪大学大学院工学研究科、²⁾ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター

○Masafumi Minoshima¹⁾, Yuta Omori¹⁾, Kazuya Kikuchi^{1,2)}

¹⁾ Graduate School of Engineering, ²⁾ Immunology Frontier Research Center, Osaka University

骨組織では破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が繰り返され、再構築されることで恒常性が維持されている。破骨細胞活性の亢進はこのバランスを崩し、骨粗鬆症、関節リウマチ等の骨疾患の発症につながることから、その機能を解明することは重要であると考えられる。我々のグループでは、破骨細胞が骨を溶かすときに形成する低 pH 領域に着目し、骨組織上における低 pH 領域を可視化できる蛍光プローブの開発に取り組んできた^{1,2)}。これまでに開発したプローブをマウスに投与し、生きたまま細胞動態を観察できる二光子励起顕微鏡を用いてイメージングを行うことで、破骨細胞が活性化する様子を観察することに成功している。

さらに骨吸収機構の詳細を調べるために、我々は破骨細胞における ATP 駆動型プロトンポンプの動態に着目した。骨吸収の際に放出される酸はプロトンポンプによって行われていると考えられており、これまでの破骨細胞プロトンポンプのイメージング結果からは、細胞ごとにその局在が異なる様子が観察されている³⁾。しかしながら、いつ、どこで酸を放出しているかの情報が欠如しており、酸性領域形成との関連性が不明であった。

そこで本発表では、pH 感受性蛍光プローブを用いてプロトンポンプ動態と低 pH 領域との関係をイメージングすることとした。以前までに開発した pH 感受性蛍光プローブではプロトンポンプの標識に用いている緑色蛍光タンパク質と波長が重なっていたため、新たに赤色領域に蛍光を示す pH 感受性プローブを設計・合成し、その性質について評価した。その結果、適切な pH 領域で応答が可能な赤色蛍光プローブ “Red-pHocas” を開発した。このプローブには骨組織へ強く結合するビスホスホネート基が導入されているため、投与後は骨組織に特異的に送達、滞留することができる。Red-pHocas を破骨細胞プロトンポンプが標識されたマウスモデルに投与し、二光子励起顕微鏡を用いて骨組織のイメージングを行った。プロトンポンプの局在と骨組織表面での pH 環境の変化を長時間にわたり追跡することで、破骨細胞プロトンポンプの動きに伴った酸性領域の形成をリアルタイムで捉えることに成功した。

1) T. Kowada, J. Kikuta, A. Kubo, M. Ishii, H. Maeda, S. Mizukami, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17772.

2) H. Maeda, T. Kowada, J. Kikuta, M. Furuya, M. Shirazaki, S. Mizukami, M. Ishii, K. Kikuchi, *Nat. Chem. Biol.* **2016**, *12*, 579.

3) J. Kikuta, Y. Wada, T. Kowada, Z. Wang, G. H. Sun-Wada, I. Nishiyama, S. Mizukami, N. Maiya, H. Yasuda, A. Kumanogoh, K. Kikuchi, R. N. Germain, M. Ishii, *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 866.

心筋梗塞部位を標的とした薬物デリバリーキャリアの開発 Development of drug delivery carrier for myocardial infarction

○鈴木 亮¹、Dasa Siva²、丸山一雄¹

Brent French²、Kimberly Kelly²、Alexander Klibanov²

¹ 帝京大学薬学部、² University of Virginia, Cardiovascular Research Center

○Ryo Suzuki¹、Dasa Siva²、Kazuo Maruyama¹、Brent French²、Kimberly Kelly²、Alexander Klibanov²

¹ Teikyo Universitt, Pharma-Scinece, ²University of Virginia, Cardiovascular Research Center

【目的】

虚血再灌流後の心筋梗塞部位において、心筋細胞の保護薬や再生を促進する薬剤のデリバリーが重要とされている。しかし、心筋梗塞部位に効率よく薬物をデリバリーできる方法は確立されていない。これまでに我々は、リン脂質二分子膜の小胞であるリポソーム表面に抗体やペプチドを修飾することで標的部位特異的に薬物をデリバリー可能であることを示してきた。そこで本研究では、心筋梗塞部位への薬物デリバリーキャリアの開発を目的に、虚血再灌流後の心筋梗塞部位に集積するペプチドの探索を行うとともに、心筋梗塞部位に集積性を示すペプチドを修飾したリポソームの特性評価を行った。

【方法】

ファージディスプレイ法により虚血再灌流後の心筋梗塞部位に集積するペプチドのスクリーニングを行った。ここで得られたペプチドを、蛍光ラベルしたリポソームに修飾した。このペプチド修飾リポソームを心筋梗塞モデルマウスの尾静脈から投与し、心筋梗塞部位への集積性を *in vivo* 蛍光イメージング装置を用いて検討した。また、心臓の組織切片を作製し、組織内のリポソームの分布を確認した。

【結果・考察】

ファージディスプレイ法により、虚血再灌流後の心筋梗塞部位の血管内皮細胞、心筋細胞、筋線維芽細胞、心筋前駆細胞または細胞外マトリックスに結合する数種のペプチド見出すことができた。これらペプチドのうち、心筋細胞に結合するペプチドに着目し、リポソーム表面に修飾した。このペプチド修飾リポソームを蛍光でラベルし、心筋梗塞モデルマウスに投与したところ、このリポソームが心筋梗塞部位に集積することが明らかとなった。このことから、本リポソームが心筋梗塞部位の心筋細胞への薬物キャリアとして利用可能になるものと期待される。今後は、心筋細胞保護薬などを搭載したリポソームを調製し、心筋梗塞における心筋保護作用などについて検討を行う予定である。

【結論】

ファージディスプレイ法で見出した心筋細胞に結合するペプチドをリポソームに修飾することで、このリポソームが心筋梗塞モデルマウスの病変部位に集積することが明らかとなった。今後、本リポソームの心筋梗塞治療への応用が期待される。

様々なマーカーを用いた植物細胞内のアクチンフィラメントの ライブイメージング

Live imaging of actin filaments using various markers in plant cells

○貴嶋紗久¹、長崎晃²、光田展隆¹、上田太郎³

¹産業技術総合研究所生物プロセス研究部門、²産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門、
³早稲田大学先進理工学部

○Saku Kijima¹, Akira Nagasaki², Taro Uyeda³

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Bioproduction Research Institute, ² AIST, Biomedical Research Institute, ³ Waseda University, Faculty of Advanced Science and Engineering

アクチンは植物細胞内において、様々な重要な機能に関与している。細胞内におけるアクチンフィラメントの観察は、アクチン機能を理解する上でとても強力なツールである。植物細胞内におけるアクチンフィラメントのライブ観察には、アクチン結合タンパク質 (ABP) の一つであるタリンのアクチン結合ドメイン (ABD) と GFP を融合したものが初めて用いられた (Kost *et al.*, 1998)。それ以降、様々な ABP 由来の ABD と GFP を融合したアクチンフィラメントのマーカーが開発され、植物細胞内でのアクチンフィラメントの様子やダイナミクスが明らかとなってきている。その一方で、植物細胞ではアクチンと GFP を直接融合した GFP-actin に関する観察の報告はかなり少ない。最近、私達はリンカーの長さと GFP の融合位置を検討することによって、植物細胞内で GFP-actin のフィラメントを観察することに成功した (Kijima *et al.*, 2018)。この観察手法を用いてシロイヌナズナの異なるアクチンアイソフォームである ACT2 と ACT7 の局在を比較した結果、驚いたことに ACT2 と ACT7 は異なる形状のフィラメントに取り込まれていた。さらに興味深いことに、動植物で広く用いられているアクチンフィラメントのマーカーである Lifeact はほとんどの ACT7 のフィラメントをラベルした一方、ACT2 のフィラメントの多くをラベルしなかった。そこで私達は、GFP-actin と様々な ABP あるいは ABD を共発現させ、GFP-actin との局在やフィラメントの様子を観察した。具体的には、フィブリン、ビリン、ADF (actin depolymerization factor) などの ABP と ACT2、ACT7 を *Nicotiana benthamiana* の葉に一過的に発現させた。その結果、共発現する ABP と GFP-actin の組み合わせによって、GFP-actin のフィラメントの様子や ABP の結合の様子に違いが見られた。例えば、GFP-ACT2 と TagRFP-fABD2 を共発現した結果、fABD2 は ACT2 のフィラメントの一部をラベルした (Fig.)。これらの知見は植物細胞内のアクチンフィラメントと ABP の相互作用について理解を深めるとともに、植物細胞内のアクチンフィラメント観察のマーカーを選択する上で有用である。本会議では、これらの観察結果の詳細と GFP-actin を含めたそれぞれのマーカーの特徴について報告を行う。

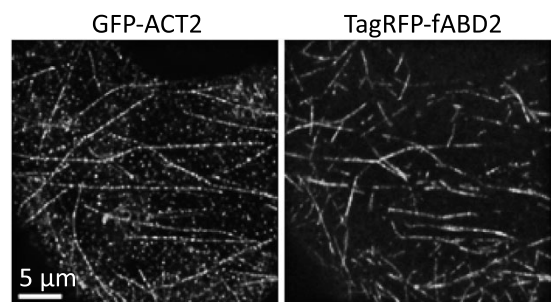


Fig. *N. benthamiana* の葉の表皮細胞における GFP-ACT2 と TagRFP-fimbrin second ABD (fABD2) の局在

肺内での炎症誘導にともなう T リンパ球の浸潤様式の解析 Color-coded cellular imaging of T lymphocyte accumulation in the lung

○長谷川明洋¹、荻野英賢¹、中山俊憲²

¹山口大学大学院医学系研究科、²千葉大学大学院医学研究院

○Akihiro Hasegawa¹, Hidetaka Ogino¹, Toshinori Nakayama²

¹ Yamaguchi University Graduate School of Medicine, ² Graduate School of Medicine, Chiba University

喘息や花粉症をはじめとするアレルギー性炎症疾患は、抗原感作により抗原特異的機能型ヘルパーT(Th)細胞が誘導され、再び抗原に暴露されることにより炎症反応が誘導される。しかしながら T 細胞は数の上では浸潤細胞の数パーセント程度であり、実際の肺の炎症の場でどのような機能を果たしているのか、特に浸潤するタイミングや浸潤の様式、浸潤した T 細胞のダイナミックな細胞動態は明らかになっていなかった。そこで炎症を起こしたマウスの肺で T 細胞の浸潤を定量的に解析するために独自に開発したリアルタイム可視化モニタリング系およびマウスが生きた状態のまま肺の内部をビデオ撮影するイメージングシステムを用いて細胞挙動の解析を行ってきた。その結果、マウス喘息モデルで抗原吸入後に起こる抗原特異的 Th2 細胞の肺への集積は抗原吸入後 6~20 時間でみられ、肺組織内で細胞の集団 (focus) を形成して、その後の好酸球浸潤や炎症巣の形成を制御していることがわかった。次に他の機能的 T 細胞サブセットについて抗原吸入後の肺への浸潤様式を比較したところ、Th1 細胞は明瞭な focus を形成せず、その種類によって肺組織内での集積様式が異なることが明らかになってきた。また別の肺炎モデルとして劇症型急性肺炎モデルを用いて免疫細胞の浸潤様式を解析したところ、集積してきた T 細胞や好中球は肺組織内に均一に集積して細胞集団を形成せず、炎症モデルにより肺組織内での細胞挙動が異なることがわかってきた。

そこで本研究では、細胞の種類や炎症モデルの違いによる細胞浸潤様式の違いを明らかにすることを目的として、Th2 細胞の集積と focus 形成を制御する因子の同定を進めた。その結果、抗 ICAM-1 抗体や抗 TNF α 抗体などを投与しておくことで喘息モデルにおける Th2 細胞の集積が抑制され、Th2 細胞集積に関与する分子が明らかとなってきた。Focus 形成の場を決める最初のきっかけは肺組織内に集積してきた抗原特異的 Th2 細胞のゆらぎによって生じる少数の細胞の集まりや抗原提示細胞との出会いであると考え抗原吸入後の樹状細胞の集積様式を検討したところ、Th2 細胞と同じ場所に focus を形成することが明らかとなり、focus 形成における役割が示唆された。また抗原特異的 Th1 細胞と Th2 細胞も同じ focus 領域に集積することがわかった。

Toward Automated Identification and Analysis of Cell Differentiation Stages using Bright Field Microscope Image by Artificial Intelligence

Archana Bajpai¹, ○Toutai Mitsuyama¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

Many researchers in the field of biology must deal with culturing cells which requires daily maintenance work that consumes substantial amount of time and cost. Whereas, bio-industries demand constant supply of many cultured cells for regenerative medicine and novel drug discovery. Having these backgrounds, we are developing an automated cell culturing system using LabDroid MAHOLO (Fig.1) which performs medium exchange and optic observation of cells. The latter requires an automated computational analyses of microscope images to identify conditions of



Fig. 1 LabDroid

cultured cells. We acquired cell differentiation time-lapse bright field images of cultured mouse myoblast cell line C2C12 (Fig. 2; every 8 hours from time 0 to 48 hours after differentiation initiation) and applied several artificial intelligence approaches to extract quantitative features to enable differentiation stage identification. Although C2C12 shows morphological changes along with the differentiation time, it is not an easy task for humans to identify differentiation stage prior to 48 hours. We evaluated three different algorithms for image feature extraction: wavelet, HLAC (higher-order local auto-correlation), BCF (blurred circle function). Our regression tests using these feature extractors and SVM (support vector machine) showed comparative performances while BCF scored the best among them. Fig.3 shows 3-fold cross-validation (CV) accuracies for the three extractors and their combo. Fig.4. shows box-whisker plots for regression tests using the combo feature where x-axis and y-axis represent correct labels and predictions, respectively.

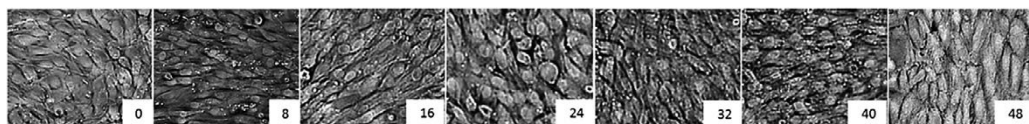


Fig. 2. C2C12 bright-field images (20X) with hours after differentiation

Our preliminary experiments show promising results to realize automated cultured cell condition identification which is an indispensable part of automated cell culturing system.

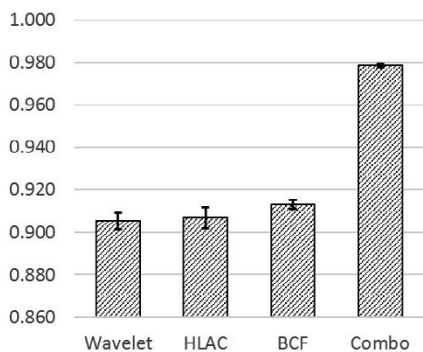


Fig. 3. Accuracies of regression tests for three features and their combo.

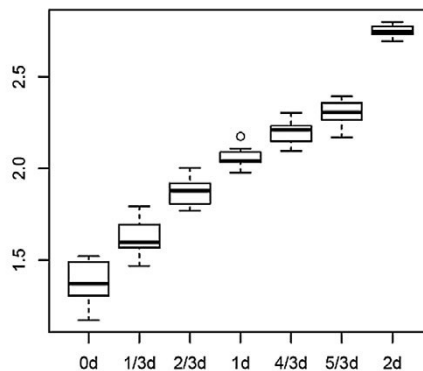


Fig. 4. Results of regression tests using the combo feature

金ナノ粒子を利用した単一細胞内の局所的加熱法の開発**Development of a method for local heating in a single cell using gold nanoparticles**○本多孝明¹、岡部弘基¹、船津高志¹¹ 東京大学大学院薬学系研究科○Takaaki Honda¹, Khoki Okabe¹, Takashi Funatsu¹¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo, Japan

温度は基本的な物理量の一つであり、生物の活動に大きく影響を与えている。また、温度は細胞内のあらゆる生化学反応を支配することから、細胞内温度は細胞の生理機能に影響を及ぼすと予想される。先行研究により、刺激によって細胞内温度が変化することや細胞内には不均一な温度分布が存在していることが明らかになっている。しかし、細胞内温度の計測が精力的に研究されているのとは対照的に、細胞内温度の細胞機能における役割については不明である。細胞内における局所的な発熱による細胞の応答を観察することにより、細胞内の熱産生や不均一な温度分布の役割を明らかにできると考えた。そこで、細胞内温度を局所的に制御することを試みた。

本研究では、金ナノ粒子を COS7 細胞内に導入して細胞を局所的に加熱した。金ナノ粒子が光を吸収して熱に変換する特性を利用して、レーザーを照射することで金ナノ粒子による加熱を行った。また、金ナノ粒子を用いた加熱による細胞内の温度変化は蛍光性ポリマー温度センサーを用いて測定した。金ナノ粒子の加熱により細胞内温度が上昇することが確認でき、定量的な制御を行うこともできた。さらに、金ナノ粒子の加熱領域の細胞内における局所性についても確認した。本手法による細胞応答の誘導としてストレス顆粒の形成の観察を行った。ストレス顆粒とは細胞質内の mRNA が凝集して形成される顆粒のことであり、細胞内温度の上昇により形成されることが明らかになっている。これらのことから細胞内のナノスケールでの温度上昇が細胞応答に貢献することを示せた。今後は、特定の細胞内分子を標的とするなど、より局所的に細胞内温度を制御し、細胞内温度の細胞機能における役割を理解することを目指す。

多点走査型 2 光子顕微鏡による 4 重標識生細胞の 3 次元経時観察
4-color, 3-dimensional time-lapse imaging of live cells by utilizing multi-point scanning
two-photon microscopy

○鎌田恭史^{1,2}、大友康平^{1,2}、村田隆^{3,4}、長谷部光泰^{3,4}、根本知己^{1,2}

¹北海道大学・大学院情報科学研究科、²北海道大学・電子科学研究所、

³基礎生物学研究所・生物進化研究部門、⁴総合研究大学院大学・生命科学研究所

○Takafumi Kamada^{1,2}, Kohei Otomo^{1,2}, Takashi Murata^{3,4}, Hasebe Mitsuyasu^{3,4}, Tomomi Nemoto^{1,2}

¹Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University,

²Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University,

³Division of Evolutionary Biology, National Institute for Basic Biology,

⁴Department of Basic Biology, School of Life Science, SOKENDAI

スピニングディスクを用いた共焦点走査装置は、励起光を分割して試料上を多点走査することで高速に蛍光像を取得可能である。我々は、近赤外域レーザー光に高い透過率を有するスピニングディスクを用いた多点走査型 2 光子励起蛍光顕微鏡 (TPLSM-SD) を構築し、高ピークパワーのレーザー光源を導入することで、高い時空間分解能での生体内部光学断層像の取得を可能とした (Otomo, *et al.*, *Anal. Sci.* 2015)。しかし、現状の TPLSM-SD の励起光学系は、単一レーザー光源の光パルス空間入射する仕様となっているため、2 光子励起といえども同時に励起可能な発色団の数には制限があった。一方で、多重標識標本の観察においては各蛍光発色団の励起・蛍光スペクトルの重なり由来するチャンネル間の蛍光信号の漏れ込みが原因となり、標識対象の判別が困難となる場合がある。特に、汎用性が高い蛍光タンパク質である GFP、YFP は、スペクトルが大きく重なっており、分離が困難であるため、同時標識は避けるのが一般的であった。我々は S C 光による 1 光子励起の多点走査型共焦点顕微鏡において励起スペクトラムの差異に着目したアンミキシング法が有効であることを示してきた (伊藤他、2011 年ベストイメージング賞賞馬賞)。本研究では、細胞内小器官、生体分子の相互作用、相対配置等を同時に可視化することを目指し、励起レーザーの同時使用による高速マルチカラーイメージング顕微鏡の開発を試みた。まず、チタン・サファイヤレーザー光パルス (Spectra Physics、Mai Tai eHP deepsee、波長 910 nm、パルス幅 70 fs) とイッテルビウムレーザー光パルス (Spectra Physics、Femto Train、波長 1042 nm、パルス幅 300 fs) を、ダイクロイックミラー (THORABS、DMSP-1000L) により合波し同一光路でスキャンニングユニット (横河電機、CSU-X1) へ導入した。この時、合波前にそれぞれ独立にシャッターユニット (シグマ光機、SSH-25RA) を設置し、この 2 つの励起レーザー光の高速切り替えを可能とした。さらに、イメージスプリッティング光学系 (浜松ホトニクス、W-VIEW GEMINI) を用いて撮像することで 4 チャンネルの高速撮像を実現した。本システムの有用性を検証するため、タバコ BY-2 培養細胞において、ヒストン、微小管、セントロメア、脂質二重膜をそれぞれ蛍光タンパク質 msGFP、mCitrine、mCherry と蛍光色素 FM1-43 で標識し、3 次元高速ライブイメージングを実施した。更に、励起及び蛍光のスペクトル特性の違いを利用しアンミキシングを行うことで、これら 4 つの蛍光発色団の明確な分離に成功した。その結果、細胞分裂の際の各細胞内小器官の挙動を、3 次元的に可視化し、高速追跡することに初めて成功した (z 範囲: 25 μ m、露光時間: 300 ms)。以上より、我々は高い時空間分解能で 4 色以上の蛍光発色団が同時観察可能な 2 光子励起蛍光顕微鏡を開発することに成功した。

***In Vivo* Temperature Imaging for Deeper Abdominal Region of Mice
Using Ratiometric Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent
Rare-Earth-Doped NaYF₄ Nanothermometer**

○Shota Sekiyama¹, Masakazu Umezawa^{1,2}, Shuhei Kuraoka¹, Takuji Ube¹,
Masao Kamimura^{1,2}, and Kohei Soga^{1,2}

¹ Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology,
Tokyo University of Science; ² Imaging Frontier Center, RIST, Tokyo University of Science

Nanosized materials have become popular in the field of nanomedicine as they provide new perspectives on imaging, diagnosis, and therapy. One of the applications of nanomaterials is luminescence nanothermometry, which has attracted much attention as a non-contact thermal sensing technique in the physiological temperature range. However, it is not widely explored for *in vivo* applications owing to the low transparency of tissues for the light to be used.

Our group has developed and reported the synthesis of a β -NaYF₄: Yb³⁺, Ho³⁺, Er³⁺ nanothermometer for ratiometric LNTh in the OTN-NIR region (Kamimura M. *et al.* 2017). The sensing is attributed to the change in the luminescence intensity ratio (LIR) of the Ho³⁺ emission (I_{Ho}) at 1150 nm to that of Er³⁺ emission (I_{Er}) at 1550 nm as a function of temperature under 980-nm laser excitation. This ratiometric temperature sensing is not affected by the concentration of the probe, thus reducing the dependency of sensing on measurement conditions. In this study, we performed *in vivo* temperature sensing using β -NaYF₄ nanoparticles co-doped with Yb³⁺, Ho³⁺, and Er³⁺ (NaYF₄: Yb³⁺, Ho³⁺, Er³⁺ NPs), which displayed two emission peaks at 1150 nm (Ho³⁺) and 1550 nm (Er³⁺) in the >1000 nm near-infrared wavelength region, where the scattering and absorption of light by biological tissues are at the minimum.

First, the Yb³⁺, Ho³⁺, and Er³⁺ concentrations were respectively fixed at 20, 3, and 0.5 mol% after several trials (Wortmann L. *et al.* 2017). Ho³⁺ emission increased with increasing temperature, whereas the Er³⁺ emission remained almost consistent in the physiological temperature range. The change in the luminescence intensity ratio of the emission peaks of Ho³⁺ and Er³⁺ ($I_{\text{Ho}}/I_{\text{Er}}$) in the NaYF₄: Yb³⁺, Ho³⁺, Er³⁺ nanothermometer differs corresponding to the thickness of the tissue. Therefore, the relationship between $I_{\text{Ho}}/I_{\text{Er}}$ ratio and temperature needs to be calibrated by the depth of the nanothermometer *in vivo*. Finally, the temperature-dependent change in the $I_{\text{Ho}}/I_{\text{Er}}$ was evident at the peritoneal cavity level, which is deeper than the subcutaneous tissue level. The designed experimental system for temperature imaging will open the window to novel luminescent nanothermometers for *in vivo* deep tissue temperature sensing.

References :

- Kamimura M. *et al.* *J. Mater. Chem. B* (2017) 5: 1917–1925.
Wortmann L. *et al.* *J. Lumin.* (2018) 198: 236–242.

マイクロバブルと超音波を用いた脳標的薬物デリバリーに関する基礎的検討 Evaluation of brain targeted drug delivery with microbubbles and ultrasound

○小俣大樹¹、鈴木 亮¹、萩原芙美子¹、Johan Unga¹、宗像理紗¹、
島 忠光¹、影山沙織¹、丸山一雄¹

¹ 帝京大学 薬学部

○Daiki Omata¹, Ryo Suzuki¹, Fumiko Hagiwara¹, Johan Unga¹, Lisa Munakata¹,
Tadamitsu Shima¹, Saori Kageyama¹, Kazuo Maruyama¹

¹ Faculty of Pharma-science, Teikyo University

【背景・目的】血液と脳実質間の物質移動を厳密に制御する血液脳関門 (Blood Brain Barrier, BBB) が存在するため、脂溶性の低分子物質以外は脳へ送達することが困難である。脳疾患の治療に向け、脳に対する様々な薬物送達法の研究が進められ、最近では超音波とマイクロバブルを用いた方法が注目されている。これは、超音波照射により生じるマイクロバブルの振動や圧壊 (キャビテーション) を利用し、BBB の透過性を亢進させる方法である。これまでに我々は、超音波を用いた診断・治療システムの構築を目指し、安定性の高いマイクロバブルの開発を進めてきた。このマイクロバブルを利用した脳薬物送達に関して、マイクロバブルと超音波を併用することで、超音波照射部位に依存したマウス脳への薬物送達が可能であることを確認している。本研究では、マイクロバブルと超音波を用いた血液脳関門の透過性亢進の特性について評価した。

【方法】分子量の異なる蛍光標識デキストラン (3、70、2000 kDa) とマイクロバブルの混合液を ddY マウスに静脈内投与した。直後にマウス脳の右半球に経頭蓋的に超音波 (周波数 3 MHz、照射強度 0.5 W/cm²、Duty サイクル 50%、繰返し周波数 10 Hz、照射時間 3 分) を照射した。血液灌流後、脳を取り出し、凍結切片を共焦点顕微鏡により観察することで、脳へ送達可能な物質の大きさについて評価した。次に、ddY マウスにマイクロバブルを静脈内投与し、直ちに脳右半球に対して超音波を照射した。その後、モデル薬物としてエバンスブルーを投与し、左右の脳への移行量を測定することで、血液脳関門の透過性持続時間について評価した。

【結果・考察】分子量の異なる蛍光標識デキストランを投与し脳冠状切片を観察した結果、超音波を照射した脳右半球において、いずれの分子量のデキストランを投与した場合においても蛍光が観察された。マイクロバブルと超音波の併用後にエバンスブルーを投与した結果、3 時間後にエバンスブルーを投与すると左右の脳への移行量に有意な差が認められなかった。これらの結果から、マイクロバブルと超音波を併用することで、2000 kDa の薬物を脳内へ送達できること、および血液脳関門の透過性亢進は可逆的であることが示唆された。今後、より詳細な特性を評価していくことで、安全性の高いマイクロバブルと超音波を利用した脳薬物送達法の構築につながると期待される。

【謝辞】本研究の一部は、JSPS 科研費 (JP15J10508, JP17H07119)、文部科学私立大学戦略的基盤形成事業 (平成 25 年~30 年)、AMED (JP16dm0107115) の助成を受けたものである。

FE-SEM 及び EDS による胆石成分の分析 Analysis of gallstone component using FE-SEM and EDS

○水本朔¹、李黎明¹

¹千歳科学技術大学大学院 光科学研究科

○Hajime Mizumoto¹, Liming Li¹

¹Graduate School of Photonic Science, Chitose Institute of Science and Technology (CIST)

日本人の胆石保有率は 10%であり、胆石症は加齢とともに増加する。胆石は最も痛い病の一つであり、胆石を保有していると、胆嚢癌や胆管癌になりやすい。胆石の治療法としては、胆石溶解剤による内服治療やレーザーアブレーションによる碎石等があるが、これらの治療法では、胆石を完全に破碎することができない。そこで、超短パルスレーザーを胆石破碎治療に用いることにより、胆石を分子レベルで破碎し、胆管などを傷付けないことが期待されている。本研究では、新たなレーザー胆石治療法を確立するための第一歩として、電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) を用いて、胆石の表面構造及び内部構造の観察を行った。また、エネルギー分散型 X 線分光器 (EDS) を用いて、胆石の表面構造及び内部構造について元素分析を行った。実験では、FE-SEM により顕微鏡画像を獲得し、表面構造及び内部構造の観察を行った。内部構造については、胆石を切断し、その端面の分析を行った。元素分析については、獲得した顕微鏡画像に対して EDS を用い測定を行い、主に無機成分について分析を行った。サンプルには、コレステロール結石、ビリルビン結石、黒色石の 3 種類の胆石を使用した。また、表面構造から胆石の成分を同定するために、標準物質の観察も行った。標準物質には、コレステロール及びビリルビンを使用した。胆石及び標準物質の顕微鏡画像を比較し、胆石形成の機序について考察した。実験結果としては、FE-SEM を用いた分析では、コレステロール結石の顕微鏡画像からは、コレステロールに起因するプレート状の構造を確認できた(Fig.1)。ビリルビン結石及び黒色石では、ビリルビンカルシウムを含む網目状の構造を確認できた (Fig.2)。また、標準物質であるコレステロールの顕微鏡画像からも、プレート状の構造を確認でき、ビリルビンからは網目状の構造を確認することができた。EDS を用いた分析では、コレステロール結石から、Ca、Na、S などの無機成分が検出された。また、ビリルビン結石及び黒色石では、Ca、Na、S、Al、P などの無機成分が検出された。

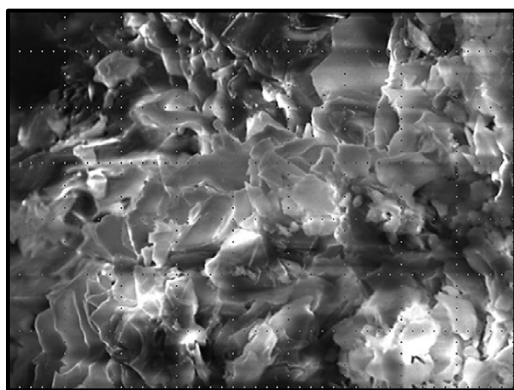


Fig.1 Microscopic image of cholesterol stone

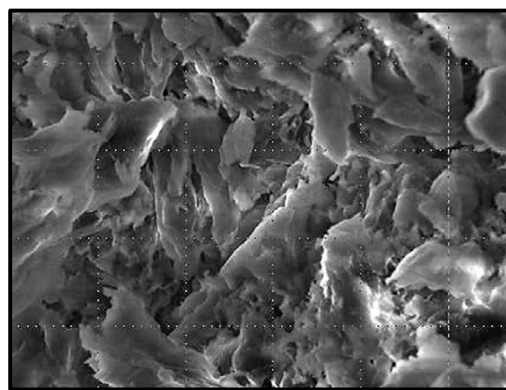


Fig.2 Microscopic image of bilirubin stone

**レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた植物細胞表層の粘弾性特性の解析：
活性酸素種を介した植物細胞の先端成長と細胞壁の力学的特性の制御機構**
**Analysis of viscoelastic properties of plant cell wall by the laser-induced surface
deformation microscope: Regulation of tip growth and mechanical properties
of the cell wall by reactive oxygen species in plant cells**

○森作俊紀¹、大貫仁碧²、橋本研志³、朽津和幸^{3,4}、由井宏治^{1,2}

¹東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 ウォーターフロンティアサイエンス&テクノロジー研究センター、²東京理科大学 理学部第一部 化学科、³東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 イメージングフロンティアセンター、⁴東京理科大学 理工学部 応用生物科学科

¹Water Frontier Science & Technology Research Center, Tokyo University of Science,

²Department of Chemistry, Tokyo University of Science, ³Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, ⁴Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science

植物は、最表層に数百 nm の厚みの細胞壁を発達させており、発生や環境応答の過程でその力学的性質を制御する。我々は、シロイヌナズナの根毛¹、花粉管²やモデル植物ゼニゴケの仮根の極性を持った先端成長に、活性酸素種(ROS)の積極的な生成が必要であることを明らかにした。これまでにレオメータ、AFM を用いて細胞壁の粘弾性が計測されている。しかし、レオメータを用いた計測では、組織または細胞 1 個における任意の位置での計測は不可能であり、AFM 計測では探針と表面との接触は試料に損傷を引き起こす可能性がある。また、これらの方法は特定の周波数に対する粘弾性情報しか得ることができない。一方、試料に加える周期的外力の周波数を変化させパワースペクトルを取得する動的粘弾性計測を細胞壁に適用すれば、信号の周波数依存性から細胞壁についての新たな粘弾性情報を得ることが期待できる。そこで本研究では、独自に開発した、 μm スケールの対象の動的粘弾性を非接触計測可能なレーザー誘起表面変位 (LISD) 顕微鏡^{3,4}を植物細胞に初めて応用し、ゼニゴケ仮根の先端成長時の細胞壁の粘弾性特性や、ROS の影響を解析し、成長と細胞壁の力学的特性との関係を明らかにすることを目的とした。

ポンプ光の試料表面への集光により、輻射圧が発生し、表面変形が誘起される。ポンプ光と同軸でプローブ光を照射し、ポンプ光の ON/OFF の周波数を掃引した。各周波数での反射プローブ光の光子密度変化から表面変位量を検出し、パワースペクトルを得た。ポンプ光として 800 nm の光を用いた。ゼニゴケの無性芽を培養し、1 日後に生えた仮根の先端部と側部を計測した。

先端部と側部のパワースペクトルの比較から、次の二つの周波数領域において特徴的な応答が観測された。一つは、信号強度がプラトーな領域、もう一つはある傾きをもって強度が減衰する周波数領域である。前者では、強度部は先端の方が大きかった。信号強度は、外力に対する細胞壁の変位の容易さを表すことから、仮根先端の方が低弾性であることを示すと考えられる。一方、後者の領域では、側部では、変曲点は観測されなかったが、先端部では変曲点が観測され、異なる傾きを持つ二つの周波数領域を観測したことから、先端部の細胞壁は粘弾性特性が異なる少なくとも二つの層を有する可能性が考えられる。本手法の植物細胞への応用の可能性と、ROS 代謝阻害剤の影響も含めた極性先端成長の制御について議論する。

[1] S. Takeda *et al.* *Science*, 319, 1241 (2008). [2] Kaya *et al.*, *Plant Cell* 26, 1069 (2014). [3] T. Morisaku and H. Yui, *Analyst*, 143, 2397 (2018). [4] T. Morisaku, *et al.* *Anal. Sci.*, in press.

超解像顕微鏡を用いた哺乳類大脳発生時のクロマチン構造変化の観察と機能解明
Super-resolution imaging by STED microscopy of the chromatin-structural changes in
developing cerebral cortex

○平野和己¹、波平昌一¹、田中みなみ¹、加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Kazumi Hirano¹, Masakazu Namihira¹, Minami Tanaka¹, Kaoru Kato¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

哺乳類の大脳皮質の多様な神経細胞（ニューロン）は、胎生期の神経幹細胞から発生段階依存的に産生される。この神経幹細胞からニューロンへの分化過程において、種々の遺伝子が特徴的な発現様式をとる。例えば、神経幹細胞に特異的に発現する遺伝子（*Sox2*、*Pax6* など）は分化過程で発現が低下し、一方、ニューロンで特異的に発現する遺伝子（*Dlx2* など）は分化過程で発現が増加する。このような遺伝子発現の制御には、ヒストン H3 タンパク質末端のメチル化やアセチル化修飾によるクロマチン構造変換が重要な役割を果たしていることが知られている。これまでの神経発生を制御するクロマチン構造変換に関する研究において、多数の細胞から得られた DNA やタンパク質を実験材料としたクロマチン免疫沈降法などの分子生物学的手法が解析の中心であった。従って、組織内の神経幹細胞の 1 細胞レベルでのヒストン修飾の動態については不明な点が多く、神経発生を担うクロマチン構造変換機構の詳細は明らかになっていない。そこで我々は、超解像蛍光顕微鏡（誘導放出抑制顕微鏡：STED）を用いて、マウス胎生期大脳皮質の神経幹細胞と未成熟ニューロンの 1 細胞レベルでの修飾ヒストンの観察を試みた。その結果、組織内の神経系細胞において、メチル化やアセチル化修飾が施されたヒストン H3 タンパク質の数十 nm の分解能での観察に成功した。さらに、転写活性制御に重要なエンハンサーやプロモーターと呼ばれる領域に集積する修飾ヒストンタンパク質（4 番目のリジン残基のメチル化（H3K4me1/3）および 27 番目のリジン残基のアセチル化（H3K27Ac））の核内局在領域を同定し、その領域が神経幹細胞と未成熟ニューロンでは異なっていることを明らかにした。この結果は、クロマチン構造変換が行われる核内領域は、神経幹細胞の分化に伴いダイナミックに変化していることを示唆している。現在、ヒストン修飾酵素群の核内局在の観察などを実施し、クロマチン構造変換機構について詳細に解析を進めている。

マクロファージ細胞のファゴサイトーシスにおける LPS のアジュバント作用 Adjuvant effect of LPS to Phagocytosis in macrophages.

○大友 拓也¹, 橋本 香保子^{1,2}

¹千葉工業大学工学研究科生命環境科学専攻, ²千葉工業大学先進工学部生命科学科,

○Takuya Otomo¹, Kahoko Hashimoto^{1,2}

¹Chiba Institute of Technology, Graduate School of Engineering, Department of Life and Environmental Sciences, ²Faculty of Advanced Engineering, Department of Life Science.

自然免疫反応の中心的役割として働くマクロファージは、抗原の取り込み・分解を行い、樹状細胞同様、T 細胞に対して抗原提示を行う。マクロファージは、細胞表面の PRR 分子 TLR4 (Toll Like Receptor 4) を介して Lipopolysaccharide (LPS) による刺激を受け、分解酵素である Lysozyme 産生が活発になる。アジュバントである LPS 処理を受けたマクロファージに、抗原のエンドサイトーシスから抗原提示への一連の反応の過程で、どのような変化がもたらされるか、またオートファジーによる抗原分解能について解析した。

LPS 刺激を受けたマクロファージに、抗原を取り込ませ解析を行ったところ、LPS による 24 時間刺激後の抗原の取り込みでは、蛍光標識した抗原を取り込んだ細胞数が明らかに減少し、その減少は 12 時間後から見られた。これらの LPS による刺激の時間依存的な変化は既往研究での報告と一致する。この抗原取り込み能の減少は、マクロファージの LPS による刺激の結果としての、抗原分解能の促進、あるいは取り込み能の低下に関与していると考えられる。またフローサイトメトリー解析により、LPS による刺激によって、より小さなサイズのマクロファージ集団が確認された。一部の細胞集団は、細胞内の小胞の増加など複雑さを増した (SSC 値の増加)。細胞サイズの減少は、抗原取り込みの過程で小胞の膜成分として細胞質膜が用いられたため、細胞膜面積に減少がみられたと考えられる。LPS 刺激は抗原の取り込み能を増大させる一方、抗原を投与せず LPS 刺激のみでも細胞サイズの減少と細胞内小胞の増加がみられたことから、細胞膜由来の小胞だけが原因ではないと考えた。また細胞の複雑さの増加は、細胞サイズの減少を伴った細胞膜由来の小胞の増加が原因であり、加えて LPS がオートファジーを誘導するという報告にみられるような、異物を取り込むオートファゴソームも増加したためと考える。

アジュバントである LPS によるマクロファージの活性化に関して、分子細胞学的な解析から、LPS が導くマクロファージの活性化は抗原提示能の変化にも影響を示すと予測し、抗原提示能を獲得したマクロファージと T 細胞との共培養を行った。T 細胞が産生するサイトカイン量の変動は抗原提示能の増減として評価した。

以上の解析から、LPS や IFN- γ (Interferon- γ) による抗原提示細胞の活性化は、抗原の取り込み、分解および T 細胞への抗原提示に対して影響を及ぼすことが明らかになった。これについてフローサイトメトリー、共焦点顕微鏡による解析を報告する。

マウス脳スライス細胞の温度イメージング

Imaging intracellular temperature of mouse brain slice

○岡部弘基¹、星雄高¹、池谷裕二¹、小山隆太¹、船津高志¹

¹ 東京大学大学院薬学系研究科

○Kohki Okabe¹, Yutaka Hoshi¹, Yuji Ikegaya¹, Ryuta Koyama¹, Takashi Funatsu¹

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

温度は、代謝やリズムといった生理機能に重大な影響を与えている。これまでに我々は生細胞内に適応可能な蛍光性ポリマー温度センサー (Fluorescent polymeric thermometer, FPT) を開発し、この応答を定量的蛍光イメージング法により検出することで生細胞内の温度測定や生細胞の温度イメージングを達成した。温度が細胞の機能や活性に深く関与する因子として注目を集めている一方で、細胞内温度変化の生理的意義は不明であった。

脳は解剖学的ならびに生理機能的に高度に特徴的な組織であり、神経細胞レベルにおいてもユニークな形態と機能を有する。さらに、脳には体温恒常性や行動性体温調節、情動といった環境温度と密接に関連する生理機能を有するだけでなく、熱性痙攣や心因性発熱など、発熱を特徴とする病理も知られていることから、神経細胞レベルで温度変動性や温度応答性を備えている可能性がある。そこで、本研究では細胞内温度変動の生理的意義を理解することを目的に、神経細胞における温度のイメージング解析に取り組んだ。

神経細胞としては、マウス海馬由来分散培養ニューロンとマウス脳急性スライスを用いた。また、温度センサーとしては、多数細胞内への導入が容易な細胞膜透過性 FPT を用いた。膜透過性 FPT はカチオンユニットを有しており、自発的に細胞内へ取り込まれる。FPT 導入や蛍光イメージングの条件を最適化することにより、神経細胞内における温度のイメージングが可能となった。神経細胞と脳スライス組織内における温度の検出には高精度な蛍光寿命イメージング法を用いることとした。神経細胞における温度イメージングの結果、神経細胞特異的な構造体における不均一な温度分布や刺激依存的な温度変化を発見した。また、脳スライスにおける温度分布イメージングでは、定常状態において特定の細胞や構造体が高温を示すこと、また神経活動依存的な温度変化を発見した。

次に、温度感受性 TRP チャンネルが関与する虚血性脳浮腫における神経細胞内温度変化の関与を調査した。虚血刺激により、TRPV4 依存的に脳組織片が膨張する。そこで、上述の方法により虚血刺激時の脳スライスの細胞内温度を計測した結果、虚血時間依存的に細胞内温度が上昇し、1 時間程度で細胞内温度は数度の上昇を示した。また、薬理的検討から、この虚血時の温度上昇は、神経活動依存的であることを発見した。以上の結果から、我々は虚血時において神経活動による神経細胞内の発熱が温度感受性 TRPV4 を活性化し、これが細胞内への水の流入を誘起し、脳浮腫へ進展するとの新規モデルを提示する。

本研究では、神経細胞内における温度イメージング法を開発し、神経活動や神経病理における細胞内温度変化の関与を発見した。この結果は、細胞内における温度変動が生理活動に貢献していることを強く支持しており、温度を指標とした新規の生理学・生物学の発展が期待される。

OTN 近赤外蛍光イメージングシステムを用いた胆汁排泄のライブイメージング Real-Time Imaging of Biliary Excretion Using Over-Thousand-Nanometer (OTN) Near-Infrared Fluorescence Imaging System

○梅澤雅和^{1,2}、吉田萌¹、上村真生^{1,2}、曾我公平^{1,2}

¹東京理科大学基礎工学部材料工学科、²東京理科大学総合研究院 IFC

○Masakazu Umezawa^{1,2}, Moe Yoshida¹, Masao Kamimura^{1,2}, Kohei Soga^{1,2}

¹ Dep. Mater. Sci. Technol., Fac. Ind. Sci. Technol., Tokyo Univ. Sci., ² IFC, RIST, Tokyo Univ. Sci.

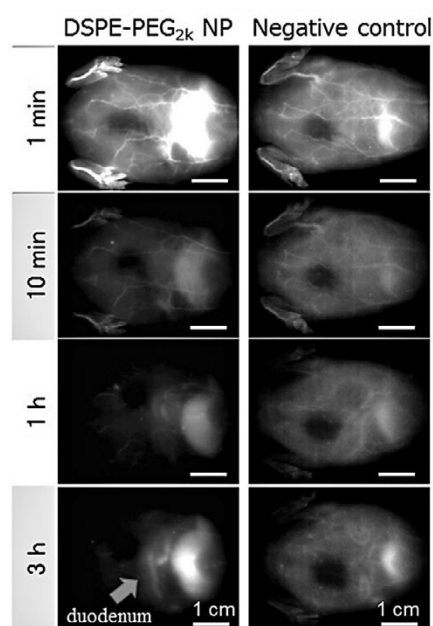
【背景・目的】 「排泄」は薬物をはじめとする物質の体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）の最後の過程であり、薬物送達 (DDS) 製剤を含む薬剤投与後の体内での残留を抑える上で重要な現象である。これまでに、DDS 応用を指向した種々のナノ粒子が開発され、その体内動態が検討されてきた。排泄の主要経路は血液から尿への腎排泄であるが、一般に直径 6 nm を超えるナノ粒子は腎排泄されない。体内の物質のもう一つの排泄経路に、肝臓から十二指腸に分泌される胆汁中への移行による「胆汁排泄」があり、先行研究においてこの経路によるナノ粒子の排泄が考察されてきた。しかし、ナノ粒子の胆管から消化管への排泄を確定的に捉えた先行研究は少なく、その排泄をリアルタイムで捉えた報告は皆無であった。本研究は、生体深部における物質動態をリアルタイムで動的に捉えられる波長 1000 nm 以上 (OTN) の近赤外蛍光イメージング技術により、マウス体内におけるナノ粒子の排泄に至るまでの体内動態の網羅的検討を目的として行った。

【実験方法】 ポリエチレングリコール (PEG) の片末端に疎水性セグメント 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DSPE) を有する両親媒性ポリマー DSPE-PEG_{2k} の水溶液中に、OTN 近赤外蛍光有機色素 IR-1061 のアセトニトリル溶液を滴下し、これを開放系で攪拌し、OTN 近赤外蛍光有機ナノ粒子 (OTN near-infrared organic nanoparticles: OTN-ONPs) を作製した¹⁾。OTN-ONPs を 6 週齢の ICR 系マウスに尾静脈投与し、蛍光体 (ex: 980 nm, em: 1110 nm) の体内動態を近赤外 *in vivo* イメージングシステム SAI-1000 (島津) を用いたライブイメージングにより観察した。

【結果・考察】 マウスに静脈内投与した OTN-ONPs は投与直後から 30 分後まで、全身の血管を明瞭に造影した。次いで 60 分後までに OTN-ONPs の蛍光は肝臓に集積した後、投与 90~180 分後に十二指腸への移行が捉えられた (図)。OTN-ONPs の蛍光分布像は腸の蠕動運動により細かく移動しており、この蛍光体が十二指腸への胆汁排泄を介して消化管に移行したことが確認された。

【結論】 OTN-ONPs の静脈内投与後における蛍光体の胆管から消化管への胆汁排泄が、リアルタイムかつ動的に捉えられた。さらなる機能化により DDS にも応用され得るこのナノ粒子は、効果的に胆汁排泄されるというメリットを持つと考えられる。本研究の結果はさらに、OTN 近赤外蛍光イメージングが物質の胆汁排泄のライブイメージングに有効であることも明らかにした。

【参考文献】 ¹⁾ Kamimura M. *et al.*, *Polym. J.*, 49: 799-803 (2017).



溶液中 FM-AFM を用いた有機・生体分子材料表面の水和構造イメージング Hydration structure imaging of organic and bio-material surface using FM-AFM

○平田芳樹¹、木南裕昭²、小林圭²、山田啓文²、田中睦生³、黒澤茂¹

¹産業技術総合研究所健康工学研究部門、²京都大学工学研究科、³埼玉工業大学工学部

○Yoshiki Hirata¹, Hiroaki Kominami², Kei Kobayashi², Hirofumi Yamada²,

Mutsuo Tanaka³, Shigeru Kurosawa¹

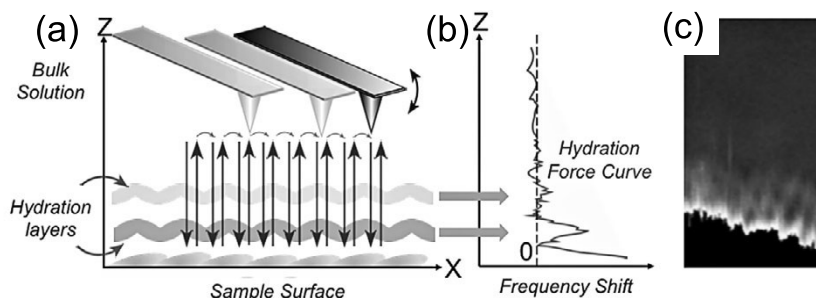
¹ National Institute of Advanced Industrial Science & Tech. (AIST), ² Dept. of Electronic Sci. & Eng.,
Kyoto Univ. ³ Dept. of Bio & Environment Sci., Saitama Institute of Technology

周波数変調型原子間力顕微鏡 (FM-AFM) の高精度化に伴って高い空間分解能と力感度が達成され、溶液中を含む様々な環境下での計測が可能になっている。FM-AFMは高い力感度を生かして、表面の微細形状のみならず固-液界面に生じた水分子の水和構造を可視化することが可能である。固-液界面は触媒・酵素反応や電極反応、生体分子の構造形成や機能発現など種々の現象が進行している場所であり、表面水和構造がこれらの反応・現象にどの様に関係しているか注目されている。我々はこのようなツールを用いて様々な試料の固-液界面においてどのような水和構造が生じているかイメージングを行い、機能と構造の相関を研究している。本発表では、

- ① 表面修飾剤で被覆した固体表面
- ② 機能性タンパク質表面

などの表面形状と水和構造について報告する。①は医療用機材のコーティングとして実用的な興味を持たれており、金単結晶上に形成した官能基を持つSAM膜をモデルとして計測を行っている。②については細胞膜を模した固体支持脂質2分子膜 (SLBs) 上に配列したタンパク質分子や脂質膜中の2次元結晶、細孔形成毒素(PFT)などを研究対象にしている。

本装置の動作原理は、機械的に微小な振幅で振動させているレバーを試料に接近させると、試料と探針の相互作用が働き、振動周波数とその相互作用力に応じて変調を受ける。この力を周波数差を変調・復調装置を通して検出し、周波数シフトが一定となるように試料-探針間距離を制御しながら試料表面を走査して表面プロファイルを得ている。また、水和構造のイメージングでは試料に鉛直方向に探針を動かして力測定を行い、試料表面に存在する水素結合でクラスタ化した水分子層を排除する際の力を記録し、各場所での力を濃淡像で表現している。



組織透明化技術による皮膚内部構造の 3D イメージングと構造解析

3D imaging and structure analysis of skin internal structure by tissue decolorization

○西澤志乃¹、東ヶ崎健¹、石渡潮路¹、松熊祥子¹

¹株式会社ファンケル総合研究所

○Shino Nishizawa¹, Takeshi Tohgasaki¹, Shioji Ishiwatari¹, Shoko Matsukuma¹

¹ FANCL Research Institute

【背景・目的】

生体組織の構造解析において従来より薄切組織切片によって 2 次元的に解析されているが、近年、組織の透明化技術により 3 次元的な組織構造解析が可能となった。そこで、我々は皮膚の老化による弾力性低下に関わる皮膚内部構造の解析を目的として、皮膚組織の透明化による 3 次元構造解析を検討した。

【方法】

皮膚組織は、BIOPREDIC International Inc. (France) より、美容整形手術時にインフォームドコンセントを取得して得た腹部皮膚（白人女性 20 代若齢、60 代若齢各 3 名）のホルマリン固定組織を倫理的な手続きを経て入手した。組織片より厚さ約 1 mm を切り出し、組織透明化試薬を用いて透明化した。基底膜及び弾性線維について蛍光免疫染色を行い、走査型共焦点レーザー顕微鏡（Olympus : FV-1000）にて観察を行った。観察では皮膚側面側から z 軸方向に 0.8 μm ピッチで深さ約 100 μm の画像を取得した。さらに 3 次元構造解析ソフト（JSOL:Simpleware）を用いて構造を定量化した。

【結果・考察】

組織透明化した皮膚について、弾性線維を構成する Elastin、Fibrillin-1、基底膜を構成する Laminin 332、Type IV collagen、Type VII collagen を免疫蛍光染色し、3 次元的に撮像し、若齢・老齢の組織の比較を行った。

その結果、弾性線維構造（Elastin、Fibrillin-1）は、若齢皮膚では老齢皮膚に比べて有意に長く、直線的である（図 1a）ことが定量的に認められた。また、Laminin 332、Type IV collagen は基底膜のみに発現が認められ、若齢と老齢で違いは見られなかった。Type VII collagen は、若齢皮膚では基底膜から真皮乳頭層に向かって線維状の構造が観察されたが、乳頭層が扁平化した老齢皮膚では、若齢皮膚に比較し短い線維状構造が観察された（図 1b）。

従来の薄切切片では立体構造が断片化されてしまい、構造同士の空間的つながりを捉えることは難しかったが、組織透明化による 3 次元解析により、皮膚の弾力性を保つ基底膜と弾性線維の構造的相互関係について解析することが可能と考えられた。

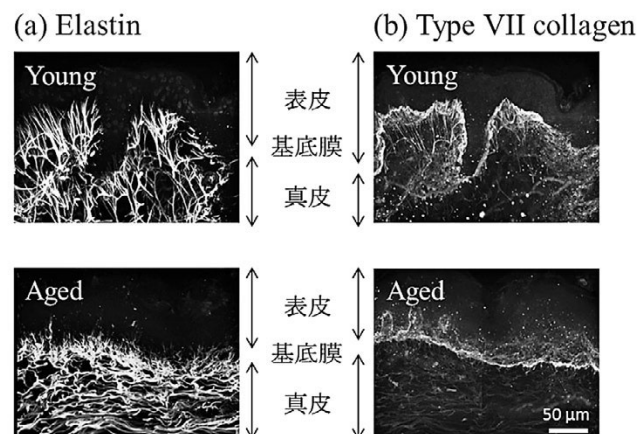


図1 ElastinとType VII collagenの観察像

骨格筋ミトコンドリア構造の共焦点顕微鏡解析と筋萎縮による影響
Confocal Microscopy Analysis for Mitochondrial Structure in Skeletal Muscle and
Effects of Atrophy

○武田紘平¹、石山静葉²、加藤薫²、武政徹¹

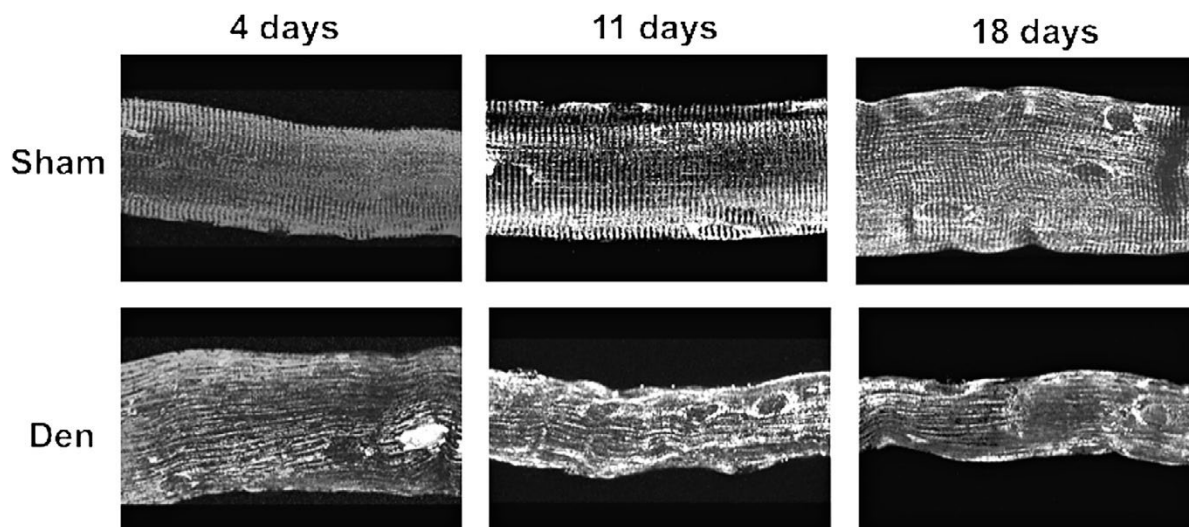
¹筑波大学体育系、²産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Kohei Takeda¹, Shizuha Ishiyama², Kaoru Katoh², Tohru Takemasa¹

¹ University of Tsukuba, ² National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

【背景と目的】骨格筋ミトコンドリアは刺激に応じ形態を変化させるが、生体内部の骨格筋でミトコンドリア構造がどう変化するか詳細な検証はされていない。そこで共焦点顕微鏡を用いて、単一筋線維内のミトコンドリア構造を可視化する手法を確立し、除神経に伴う筋萎縮で骨格筋ミトコンドリア構造がどのような適応を起こすか明らかにすることを狙った。【方法】C57BL/6 マウス（オス、6週齢）の片足に対し、座骨神経を切除する除神経手術（Den）を実施した。また、手術を行わない足は偽手術（Sham）とした。手術後、2、3、4、7、11、18日後に長趾伸筋を摘出し、単一筋線維を採取した。MitoTracker Red（MT）でミトコンドリアを標識し、共焦点顕微鏡を用いてミトコンドリア構造の3次元データを取得した。【結果と考察】Shamの骨格筋ではMTのシグナルが筋線維短軸方向（サルコメア周期）、長軸方向に確認され、核周辺ではこのシグナルが強いことを確認した。Denでは除神経手術3-4日後にShamで観察された筋線維短軸方向のMTのシグナルが消失したが、長軸方向のシグナルは残っていた。この筋線維長軸方向のMTシグナルは手術18日後まで残存していた。本研究より、筋線維内部のミトコンドリア構造を3次的に可視化する手法を確立した。また、骨格筋ミトコンドリアは除神経手術後数日で筋線維短軸方向の構造が崩壊することが明らかとなった。

単一筋線維ミトコンドリアの3次元画像



単一光子で分光可能な超伝導転移端センサ (TES) のイメージング応用
Imaging application of superconducting transition edge sensor (TES) that is
spectrometric at single photon level

○丹羽一樹、服部香里、福田大治

産業技術総合研究所物理計測標準研究部門

○Kazuki Niwa, Kaori Hattori, Daiji Fukuda

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

蛍光のようなブロードな光シグナルを分光計測する場合、通常は分光素子等を利用して光を波長ごとに分離し、光ディテクタにより測定する。しかし回折格子等の波長分散素子とアレイ型ディテクタを用いる場合、それぞれの個別のディテクタに届く光シグナルは波長ごとに分けられて減少する。フィルタ等の光学素子を用いる場合も、吸収、反射等により、やはり光シグナルは減衰する。そのため、分光素子等を利用することなく光シグナルの波長情報を得ることができれば、大幅な検出感度の改善が期待できる。

高感度な光検出器で代表的な光電子増倍管 (PMT) は、光の最小単位である光子を1つずつ計測することができ、フォトンカウンター用の検出器として広く利用されている。しかし PMT は検出した光子1つひとつの波長情報を測定することはできない。光子の波長は、式 $E=h\nu$ により、エネルギーと情報と相関がある。フォトンカウンティングする際に、光子のエネルギーを直接計測することができれば、究極に高感度な分光測定が実現できることになる。光子1個のエネルギーは、例えば波長 550 nm で 2.3 eV である。つまり、数エレクトロンボルトのエネルギーを計測する方法があれば、単一光子のエネルギーを直接計測することによる分光測定が可能になる。

このような微少なエネルギーの測定を可能にするのが、超伝導転移端センサ (TES; superconducting Transition Edge Sensor) である。超伝導体を冷却すると、超伝導転移端において常伝導状態から超伝導状態に急激に転移するが、その温度幅は数ミリケルビンである。そのため、超伝導体に1個の光子が照射され、その光子のエネルギーにより超伝導体の温度が上昇する際の抵抗値の変化を計測することで、単一光子のエネルギー情報を伴ったフォトンカウントを実現できる。また、光子は TES に吸収されて熱に変換されさえすれば波長情報を含め検出されるので、広い波長範囲にわたる高感度性能を実現できる。実際、2500 nm 程度の近赤外にも感度を有している。このように TES は、極めて感度の高い分光検出器として応用する可能性を持っている。

本発表では、TES による分光測定の実際と、分光イメージングへの応用試験について紹介する。

Niwa K, Numata T, Hattori K, Fukuda D, *Scientific Reports* 7:45660 (2017)

成長円錐ラメリポディア領域のアクチンの束化タンパク質ファシンの機能解析 Role of actin bundling protein, fascin, on lammelipodia of growth cone

○田中みなみ^{1,2}、藤井裕紀³、平野和巳¹、石川良樹⁴、岡嶋孝治³、加藤薫¹

¹産総研バイオメディカル、²筑波大院生命環境、³北大院情報科学、⁴群馬県立健康科学大

○Minami Tanaka^{1,2}, Yuuki Fujii³, Kazumi Hirano¹, Ryoki Ishikawa⁴, Koji Okajima³,
Kaoru Katoh¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ² Grad. Sch. Life & Env. Sci., Univ. Tsukuba, ³ Grad. Schl. Inform. Sci & Tech. Univ., Hokkaido ⁴ Gunma Pref. Coll. Health Sci

神経細胞の神経突起先端では成長円錐が形成される。成長円錐は軸索や樹状突起を伸長させ、伸長経路を探索し、ターゲットを認識する役割を担う。

成長円錐は、フィロポディアと、その間を埋めるラメリポディアという構造体からなり、どちらにも、特徴的なアクチン骨格が存在する。フィロポディアは、長く平行なアクチン線維の束もち、ラメリポディアは、比較的短いアクチン線維が様々な方向に配向した網目状構造をもつ。成長円錐の構造や運動を支えるのは、アクチン関連タンパク質である。我々が着目したファシンはアクチン繊維の束化タンパク質で、フィロポディアのアクチン線維の束化を担うことが知られている。また、ファシンの束化によるアクチン線維の束化は、フィロポディア形成において、アクチン繊維束が、膜を押し出すために必要な剛性に寄与している。

一方、ラメリポディア領域にも、ファシンは相当量存在するが、観察が難しく、役割は未解明であった。我々は、SIMを用いて、ラメリポディア領域のファシンの可視化に成功し、さらに、FRAPにより、ラメリポディア領域のファシンの動態を解析した。フィロポディアと同様にラメリポディアでも、ファシンは、リン酸化によりアクチン線維からの解離速度が速くなり、アクチン繊維から解離することを示した。また、2カメラSIM顕微鏡を用いて、生きた成長円錐のラメリポディアのファシンの、リン酸化によりアクチン繊維から解離する過程を超解像顕微鏡の動画として捉えた。ファシンの共局在の動的変化は、30nm以下の位置精度、かつ、各フレームは完全に同一時刻で記録した。薬物投与により、ファシンをリン酸化処理すると、20-30分で、ラメリポディアのファシンはアクチンのメッシュワークから乖離した。ラメリポディアのアクチンの網目から、ファシンの蛍光が消え、ファシンの少なくアクチン繊維を主体とする網目が形成された。また、この時にAFMによりラメリポディア領域の平均弾性率を計測したところ、ファシンの束化されたアクチン束の細胞の弾性率（ヤング率）への寄与は30%程度もあることが示唆された。

さらに、RNAiでファシンをノックダウンした細胞では、成長円錐の形成自体が阻害され、フィロポディア、ラメリポディアともに見られなくなった。これらの結果は、ファシンは、ラメリポディア領域でも、フィロポディアと同様にアクチン繊維を束化し、成長円錐の構造と形の維持に重要であることを示唆する。

細胞内局所でのマグネシウムイオンの FRET イメージング**FRET Imaging of local intracellular Magnesium ion concentration changes**○新藤豊¹、山中龍¹、鈴木孝治²、堀田耕司¹、岡浩太郎¹¹ 慶大理工生命情報、² 慶大理工応化○Yutaka Shindo¹, Ryu Yamanaka¹, Koji Suzuki², Kohji Hotta¹, Kotaro Oka¹¹ Department of Bioscience and Informatics, Keio University² Department of Applied Chemistry, Keio University

マグネシウムイオン (Mg^{2+}) は多くの細胞機能に必須の 2 価陽イオンであり、細胞内での酵素活性の調節、ミトコンドリアにおける ATP 産生や細胞内での ATP 消費、小胞体におけるタンパク質立体構造の安定化などに深く関わっている。また、細胞分裂の際に核内 Mg^{2+} 濃度が約 0.6 mM から約 0.9 mM へと一過的に上昇し、これが細胞分裂時のクロマチン凝縮に重要な役割を果たすことを、我々は最近報告した (Maeshima *et al.*, *Curr Biol*, 2018)。また、生理的な濃度範囲内での Mg^{2+} 濃度変化は細胞内シグナルにもかかわっている。これらのことは、細胞内、オルガネラ内での 1 mM 前後での Mg^{2+} 濃度の変動が細胞機能制御に大きな役割を果たしていることを示唆しており、細胞内局所の Mg^{2+} 濃度変動を調べることは細胞機能を理解するうえで重要である。そのためには選択制の高いプローブを細胞内の目的箇所に着在化させてイメージングを行う必要がある。我々のグループはこれまでに Mg^{2+} 選択性の高いケミカルプローブである KMG シリーズを開発してきた。中でも、KMG-104-AsH は、ペプチドタグの一種であるテトラシステイン (TC) タグに選択的に結合して機能する蛍光 Mg^{2+} プローブであり、細胞に発現させた TC タグ付きのタンパク質周辺の Mg^{2+} 濃度変化を測定することを可能とした (Fujii *et al.*, *J Am Chem Soc*, 2014)。

今回我々は KMG-104-AsH と FRET ペアとなる蛍光タンパク質を組み合わせ、これを細胞内で着在化させることで、細胞内局所で選択制の高いレシオイメージングを実現した。FRET ペアとして青色蛍光タンパク質である TagBFP を用い、その C'末端に TC タグを付加して KMG-104-AsH を結合させたところ、TagBFP を励起したときに FRET により KMG-104-AsH の蛍光が観察できた。このとき KMG-104-AsH の蛍光輝度は細胞内 Mg^{2+} 濃度に応じて変化し、TagBFP 蛍光をレファレンスとして用いたレシオメトリックな測定が可能となった。また、これを核内、ミトコンドリア周辺、細胞膜内側などに着在化させることでそれらの細胞内局所部位での Mg^{2+} 濃度変化を測定することに成功し、蛍光タンパク質とケミカルプローブの組み合わせによる細胞内局所での Mg^{2+} 選択的レシオイメージング系を確立できた。また、ペアとなる蛍光タンパク質を赤色蛍光タンパク質である mCherry に換えることで、KMG-104-AsH と mCherry 間の FRET による Mg^{2+} 濃度変化の測定も可能であった。また、TagBFP とのペア、mCherry とのペアを同時に用いることで細胞内の異なる 2 か所での Mg^{2+} 濃度変化を同時に測定することも可能である。

■ 公開講座 ■

「顕微鏡イメージングを学ぶ」

光学顕微鏡で見る世界

Microscopic world observed with optical microscopy

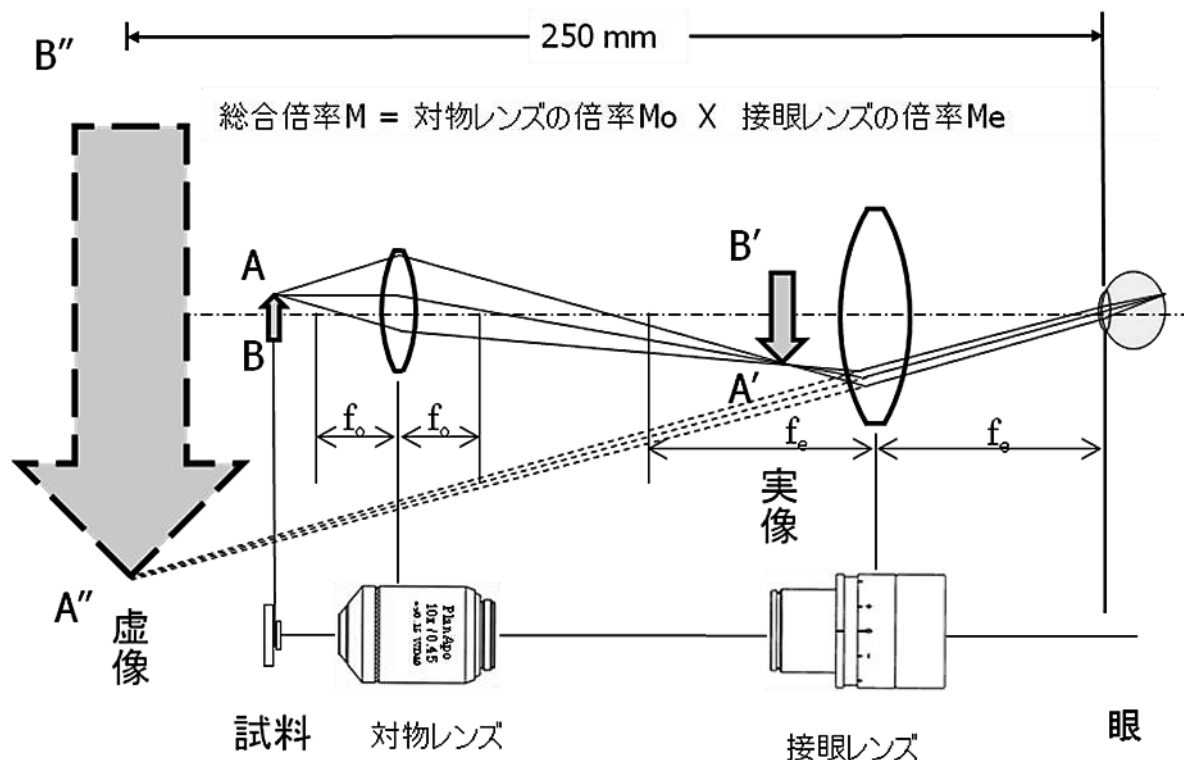
○加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Kaoru Katoh¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

光学顕微鏡は”マイクロ” スコープという名前の通り、マイクロメートルレベルの現象の観察に用いられる光学器械です。レンズ（対物レンズ）の焦点距離を f_o すると、 $f_o \sim 2 \times f_o$ の範囲に試料を置くと、拡大像（実像）が得られます。この像を接眼レンズを虫眼鏡のように使って拡大し観察するのが最も単純な顕微鏡です（下図）。このプレゼンは、後に続く講義のイントロダクションとして、最も単純なレンズ構成の顕微鏡（下図）を示したうえで、様々な種類の光学顕微鏡でどのようなサンプルが、どのように見えるのか、概説します。映像を見ることによって、この後に続く、各種の顕微鏡のイメージングに関する講義を理解しやすくすることを狙います。映像は、透過型の顕微鏡から、蛍光顕微鏡、共焦点、超解像までを含める予定です。画像は、井上信也先生が撮影した歴史的意義のある画像以外は、私自身の手で撮影した画像のみを使用します。



図：光学顕微鏡の模式図。

対物レンズで、試料を拡大した実像を作る。この実像を接眼レンズで拡大し観察する。

顕微鏡透過観察-明視野、位相差、微分干渉を中心に
Diascopic microscopy with focus on Bright field, Phase contrast and DIC

○三宅範夫

株式会社ニコン

○Norio Miyake

NIKON CORPORATION

顕微鏡透過観察のなかで主に明視野、位相差、微分干渉について紹介する。明視野は光学顕微鏡の基本であり、色やその明暗を調べる固定・染色した試料（吸収物体）の観察に適している。その基本構成であるケーラー照明の視野絞り、開口絞りによってコントラスト、分解能、明るさの調整が可能である。ケーラー照明は顕微鏡調整の基本ではあるが、必ずしも調整の必要性について認知されていないと思われるので、その意味や成功のコツなどについて解説する。

一方、明視野では透明な位相物体の観察には不向きで、位相差、微分干渉が用いられることが多い。それぞれの手法で位相物体を可視化する仕組みについて説明を行い、どのような試料に向いているのか、また観察時の注意点についても触れる。

蛍光顕微鏡

Fluorescence microscopy

幸村 心元

オリンパス株式会社

営業マーケティング部門 科学国内営業本部 ライフサイエンス営業部

Miyuki Koumura

OLYMPUS CORPORATION

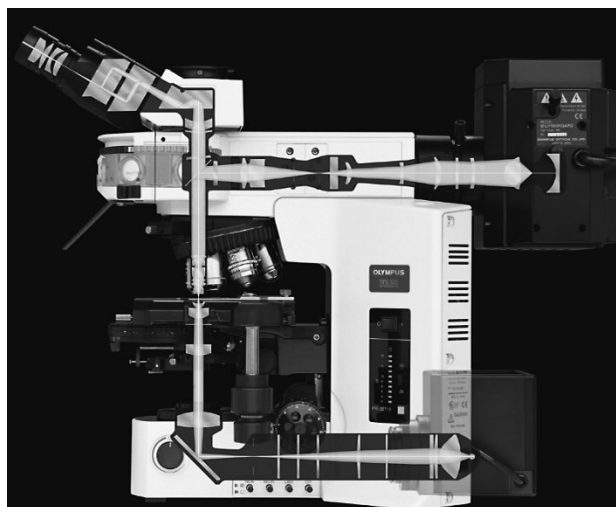
Lifescience Sales Dept. Japan Scientific Solutions Sales Division

標本内の見たいところだけを蛍光発光させて観察する場合、蛍光発光させるための特殊な色素による染色が必要になります。これを蛍光染色といいます。蛍光染色には、観察対象に蛍光色素が直接結合したり、内部に入り込んだり、あるいは溜め込まれたりするものと、蛍光色素で抗体などを標識して使う方法があります。また、生きている個体で起こっている生命現象を解析したいときには、蛍光タンパク質が利用されます。注目するタンパク質に蛍光タンパク質をつないで標識します。

このような各種手法により蛍光標識された観察対象は、蛍光顕微鏡を用いて蛍光観察します。蛍光顕微鏡は、蛍光色素が光のエネルギーを吸収して独自の波長の光（蛍光）を発光する特性を利用します。試料に蛍光を発光させるための光（励起光）を当てて、試料が発する蛍光を観察します。暗い視野の中に蛍光だけが光るため、検出能力が高く、検出したい部位が識別しやすいことが特徴となります。

光源には、水銀ランプ、キセノンランプやLEDランプなどを用います。フィルタは、波長選択性のよい励起フィルタ、ダイクロイックミラー、吸収フィルタを組み合わせ、対物レンズには高開口数で自家蛍光の少ない蛍光用対物レンズを使用します。

ここでは蛍光染色法から蛍光顕微鏡の基礎をご案内いたします。



蛍光顕微鏡イメージングで使用される高感度カメラ
High sensitive cameras for fluorescent microscopy imaging

○伊東克秀

浜松ホトニクス株式会社

○Katsuhide Ito

Hamamatsu Photonics K.K.

顕微鏡イメージングにおいては観察対象を拡大して観察するためカメラへ入射する光子密度は大きく減少する。さらに蛍光イメージングにおいては蛍光の退色・光毒性が懸念されるため観察対象から発せられる光子数は制限され、カメラへ入射する光子密度は極めて小さくなる。このため一般的に蛍光顕微鏡観察には高感度カメラが使用される。かつては人間の目で観察できる現象を記録する手段としてカメラが使用されることが多かったが、現在では位置情報、輝度情報、時間情報、および波長情報を正確に記録できる計測器としてカメラが使用されるケースが多い。さらに高感度カメラでは、人間の目では観察出来ない光子数個レベルの信号を、人間の目では観えない紫外線や赤外線を、人間の目では識別できない時間分解能で検出できるなど人間の目を遥かに超えた検出器としての性能を持っている。それに加えて近年ではコンピュータショナルイメージングと呼ばれる技術において高感度カメラで捉えた画像をコンピュータで再計算・再構築することで人間の目の性能を遥かに超えた新たな画像を作り出すことも行われている。本講演では蛍光顕微鏡イメージングで使用される高感度カメラの基礎およびトレンドを紹介する。

一分子生理学

Single-molecule Physiology

○船津高志

東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室

○Takashi Funatsu

Laboratory of Bioanalytical Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo

1981年に柳田充弘先生のグループが単一 DNA 分子のイメージングを、1984年に柳田敏雄先生のグループが単一アクチンフィラメントの滑り運動を論文発表し、蛍光顕微鏡が単一の超分子複合体を解析する強力なツールであることが示された。しかし、これらの研究では多数の蛍光色素を結合させる必要があったため、観察対象は超分子複合体に限られていた。1995年に私たちの研究チームが水溶液中における蛍光色素一分子の可視化に成功し、酵素反応やモータータンパク質の運動を一分子イメージングできることを報告した。これを契機に、蛍光顕微鏡による生体分子の一分子機能解析が大きく展開することとなった。この技術を使って溶液中だけでなく、生細胞内で一分子イメージングが行われ、細胞内で生体分子がどのような働きをしているのかが明らかになり、一分子生理学という研究領域が拓かれた。本発表では、まず、一分子蛍光イメージング法がどのように開発されたかを概説する。

続いて、一分子蛍光イメージングの例として、シャペロニン GroEL, GroES の分子メカニズムに関する研究を紹介する。細胞内におけるタンパク質の高次構造形成は、分子シャペロンと呼ばれる一群のタンパク質により介助されている。シャペロニンは、全ての細胞の生存に必須の分子シャペロンであり、変性タンパク質を捕捉し、ATP 依存的にその正常なフォールディングを介助する。シャペロニンがどのようにタンパク質のフォールディングを介助しているのか、その研究が最も進んでいるのが、大腸菌のシャペロニン GroEL である。従来の GroEL の反応モデルでは、二つの樽が交互に GroES に反応すると考えられていたが、我々は二つの樽が同時に GroES と結合する反応中間体が存在することを一分子イメージングによって明らかにした。GroEL が変性タンパク質濃度に応じて巧みに反応を切り替えるメカニズムとその生理的意義について解説する。

さらに、細胞内の一分子蛍光イメージングの例として、トロンボポエチン受容体 MPL の多量体形成のメカニズムを紹介する。MPL は一回膜貫通型の細胞膜受容体で、巨核球・血小板系の細胞に発現している。MPL 二量体化は、MPL リガンド刺激による細胞増殖や生存の制御に重要だとされるが、その動態はよく分かっていなかった。我々は、MPL の一分子イメージングを通して MPL 二量体のリアルタイム解析に成功し、細胞増殖や生存の制御への寄与を明らかにした。

一分子蛍光イメージング法は、我々の予想をはるかに超えて発展し、zero-mode waveguide を用いた一分子 DNA シークエンサーが実用化されたり、蛍光色素分子のナノメートル精度での位置計測と、それを応用した超解像蛍光顕微鏡技術も開発された (2014 年ノーベル化学賞)。最後に、一分子生理学の今後を展望する。

共焦点レーザー顕微鏡と多光子レーザー顕微鏡

Confocal Laser Scanning Microscope and Multi Photon Laser Scanning Microscope

幸村 心元

オリンパス株式会社

営業マーケティング部門 科学国内営業本部 ライフサイエンス営業部

Miyuki Koumura

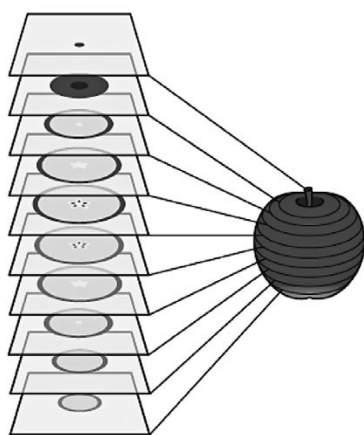
OLYMPUS CORPORATION

Lifescience Sales Dept. Japan Scientific Solutions Sales Division

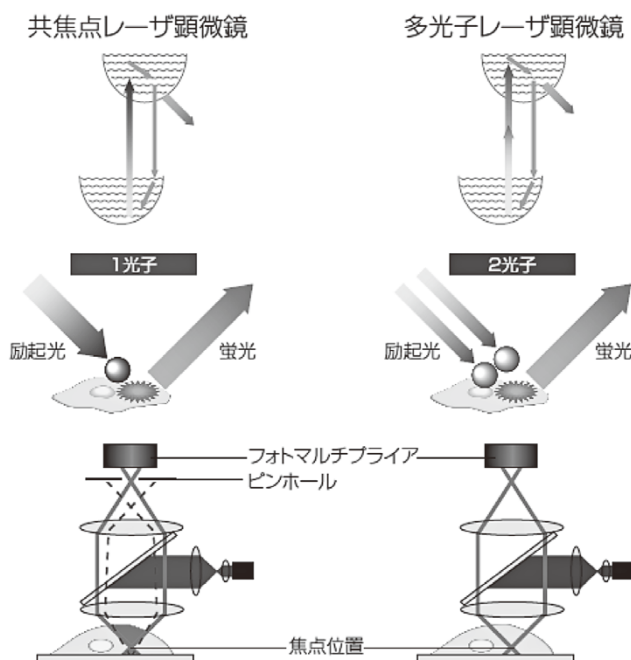
共焦点レーザー顕微鏡とは、標本の光学的スライス像を連続的に撮影し再構成することで立体的な画像をつくることのできる顕微鏡です。

光源となる可視光レーザーで標本面を走査し、受光器の前に設置された共焦点ピンホールによって非焦点面からの蛍光を排除することで焦点面からの蛍光のみを受光器で検出します。Z軸上の分解能が高いため、臓器切片、胚、卵などの厚みのある標本の観察に最適で、三次元構造の把握やその動態を観察することができます。

多光子レーザー顕微鏡では、光源に近赤外域のパルスレーザーを使用します。光子密度が高くなる焦点面においてのみ多光子励起が起こり、そこからの蛍光を受光器で検出するので、共焦点ピンホールを通すことなく共焦点と同じ効果が得られます。加えて、励起光として近赤外域のレーザーを使用しているため、標本のさらに深部の観察や生きた臓器を観察することを得意としています。近年では透明化標本の観察にも多く利用されています。



共焦点顕微鏡、多光子顕微鏡は、光学的スライス画像を再構成して立体観察することができる



共焦点顕微鏡（1光子励起）と多光子顕微鏡（2光子励起）で励起方法の違い

光学顕微鏡の分解能と超解像顕微鏡

Resolution limit of optical microscope and superresolution microscope

○加藤薫¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

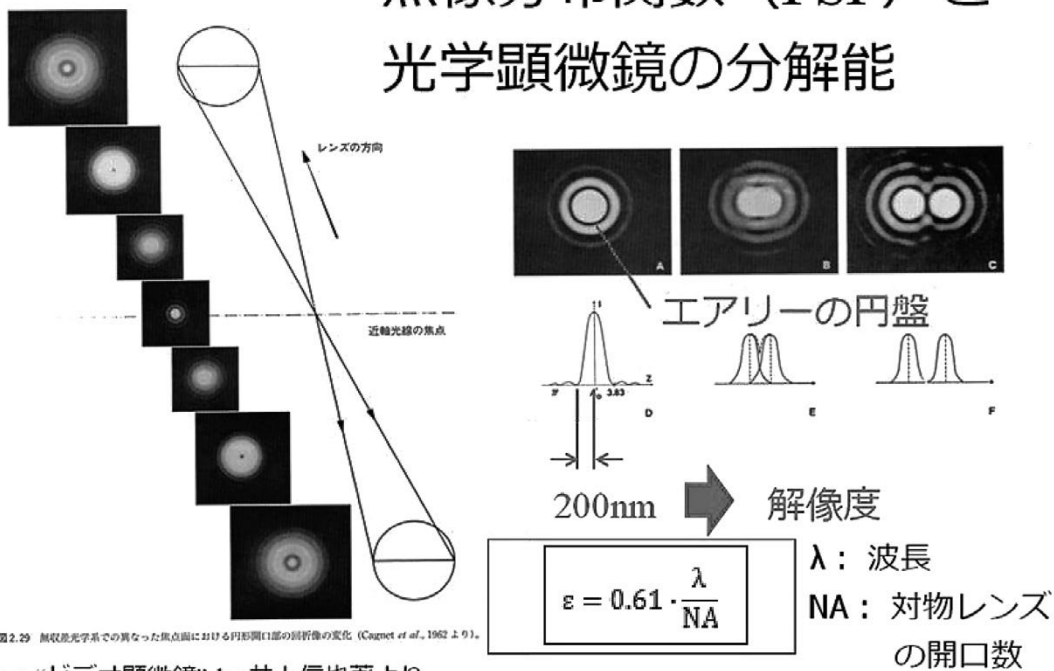
○Kaoru Katoh¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

光学顕微鏡の分解能は、光の波長とレンズの開口数できまり、改善することができないと信じられてきました。しかし、2000年前後になると、光とレンズに、別の要素を加えることで、分解能の限界を超えることができると示唆されはじめました。この超解像光学顕微鏡は、急速に研究が進み、今では100nm以下の分解能での観察すら可能になりました。

このプレゼンは、後に続く超解像顕微鏡の講義のイントロダクションとして、光学顕微鏡の分解能と超解像の簡単な原理（下図）から始め、現在、市販ベースで使用できる超解像顕微鏡にはどのようなものがあり、どんな分解能で、どのような画像が得られるのかを概説します。様々な映像を見ることによって、各種の超解像顕微鏡の特徴と概要を感じて頂き、後に続く講義を理解しやすくすることを狙います。講義で使用する生物試料の映像は、私自身の手で撮影したものを uses。

点像分布関数 (PSF) と 光学顕微鏡の分解能



ピンホールを越えた Airyscan 検出器

Airyscan: next-generation microscope detector beyond the confocal pinhole aperture

○関川明生^{1,2}

¹カールツァイス株式会社 マイクロスコピー アカデミアセールス

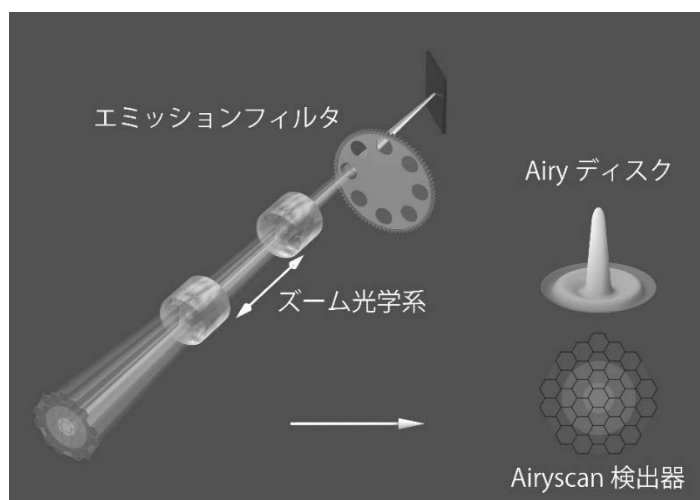
²首都大学東京 理工学研究科 神経分子機能

○Akio Sekigawa^{1,2}

¹Academia Sales Dept., Carl Zeiss Co., Ltd.

²Lab. Molecular Neurosci., Dept. Biological Sci., Tokyo Metropolitan Univ.

顕微鏡法においてコントラストと分解能の双方を高く得ることは難しい。透過明視野検鏡の場合、観察する標本の像（影）は滲まず分解能は高いが、シグナルを増感が出来ずコントラストは低い。逆に、落射蛍光観察では量子収率（蛍光の効率）の高いプローブの存在に加え様々な増感法もあり、像（光）のコントラストは高いが、蛍光の光束が発散してしまう為に滲んだ（分解能の低い）像となってしまう。この蛍光の余分なシグナル（ボケ像）を除き高い分解能の像を得るため、ソフトウェアによる画像の先鋭化処理（デコンボリューションなど）やハードウェアによる余分なシグナルの除去（ピンホールによる共焦点効果など）などがイメージングに用いられてきた。しかしながら、蛍光プローブに有機合成色素や蛍光蛋白質を用いた場合、計算処理の為に複数の撮影や小さいピンホール径でも信号を得る為の高輝度の励起光は、色素の退色を引き起こしてしまう。つまり既存のシステムでは標本の脆弱性のために、十分な分解能の向上を引き出せていない。新しく世に出た Airyscan 検出器は、一般的に用いられているプローブにおいても十分な分解能向上を見込めるハードウェアである。従来の共焦点レーザー顕微鏡の 1.7 倍の分解能、Confocal volume では 5 倍になるイメージを取得出来、加えて標本へのダメージはより低い。照明に工夫を凝らした超解像顕微鏡法では撮影が困難な、比較的厚い標本についても画像化できる画期的なハードウェアである。さらに近年では照明光の工夫とのコンビネーションにより、高速イメージングをも可能にしている。



超解像顕微鏡 SIM について

Super Resolution Microscope SIM

○大原大典

株式会社 ニコン

○Daisuke OHARA

NIKON CORPORATION

生体組織を構成している最小構成単位は細胞であり、その機能は細胞によって維持されています。その細胞内には、細胞小器官と呼ばれる微細構造が存在し、これらの働きにより細胞の生命現象は維持されています。それら細胞小器官の形態やその機能を可視化する手段として、様々な種類の顕微鏡が発明されてきました。近年、細胞内のより微細な構造や蛋白質の局在を解明する研究に注目が集まっています。それに伴い、従来の蛍光顕微鏡の回折限界を上回る分解能を持つ様々な種類の超解像蛍光顕微鏡技術が開発されており、研究者の有用なツールとして普及しています。今回は、超解像顕微鏡技術の一つである、モアレ現象を蛍光顕微鏡に応用して、従来の蛍光顕微鏡の約2倍の分解能を達成する構造化照明顕微鏡 (SIM: Structured Illumination Microscopy) の原理を紹介すると共に、SIM の原理を採用した最新の N-SIM S システムの紹介をします。

N-SIM S システムの撮影シーケンスでは、前機種の機械的駆動を見直して電氣的駆動とし、10 fps 以上の高速撮影を達成しました。ライブセルの速い変化を超解像観察することが可能となり、より本質的な生命現象を捉えることができるようになりました。さらに、電氣的駆動にすることで、対物レンズ、撮影モード (2D-SIM、3D-SIM、TIRF-SIM)、励起波長、それぞれの切り替えに必要なであった光学調整が不要になり、サンプルに応じた最適な超解像イメージングを可能としています。

STED超解像顕微鏡 最新イメージング -Latest Technologies of STED Super-Resolution Microscopy-

○長利 卓

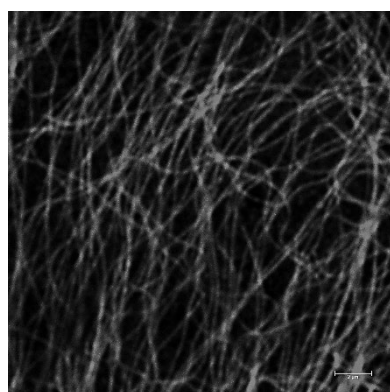
ライカマイクロシステムズ株式会社 ライフサイエンス事業本部

Leica Microsystems, Division of Life Science Research

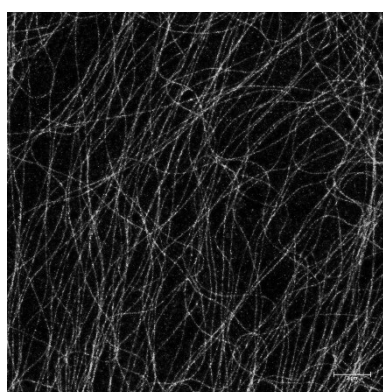
最先端のライフサイエンス研究において、より微細に、より正確に、細胞の動態や挙動を観察するためには、観察するためのツールである、“顕微鏡”システムの進化が最も重要な要素となる。近年、顕微鏡においても、共焦点レーザー顕微鏡を中心に次々と新しい技術開発が進み、“蛍光イメージング”の応用範囲が飛躍的に広がっている。ライカマイクロシステムズにおいても、ハイエンド共焦点レーザー顕微鏡Leica TCS SP8をベースとしたライカ独自技術に基づく蛍光寿命イメージングシステムFALCONや非対称リニアスキャンなど数多く開発している。今回はその中から超解像レーザー顕微鏡Leica TCS SP8 STED3Xについて紹介する。

Leica TCS SP8 STED3Xは誘導放出抑制を原理とし、ホワイトライトレーザーやゲート検出といったLeicaの先端光学技術と組み合わせることにより、演算処理に依存しない超解像を実現した装置である。STED3Xでは従来のXY平面での超解像に加えて、XYおよびZ方向へ照射するSTEDレーザーの出力を調整することで、試料や研究目的に適した分解能を自在に得ることが可能となる。STED3Xでは、従来のXY方向での50 nm以下の分解能に加えて、Z方向での130 nm以下の分解能を実現している。また、STED3Xでは、STEDレーザーに新しいラインナップを追加することにより、マルチカラー超解像イメージングを可能とした。新STED 660 nm, 775 nmレーザーにより、従来の緑蛍光波長域に加えて、赤蛍光および近赤外波長領域の蛍光色素によるSTEDイメージングに対応をしている。また、新STED 775 nmレーザーを用いることでXY平面30 nmという分解能を実現している。

共焦点画像



STED 画像



微小管 (STAR635P) の共焦点画像と STED (775 nm) 画像

生きたままの脳をみる —2 光子顕微鏡

Observation inside living brain -Two-photon microscopy

○根本知己¹

¹北海道大学電子科学研究所

○Tomomi Nemoto¹

¹ Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University

Two-photon excitation fluorescence laser-scanning microscopy (TPLSM) has become general and widespread to the various fields of life sciences in this decade. Especially in the field of neuroscience, “*in vivo*” TPLSM has revealed vital information on neural activity for brain function. On the other hand, in the era of “connectomics”, visualizations of morphology and activities of numerous neurons in vaster regions in the living brain are required within a short period.

Recently, we have developed we developed novel TPLSM that uses a 1064 nm gain-switched laserdiode-based light source with average power above 4 W, pulse width of 7.5-picosecond, repetition rate of 10-MHz, and a high-sensitivity photomultiplier tube [1]. It enabled to visualize pyramidal neurons in the hippocampal CA1 and in the hippocampal dentate gyrus (Fig. 1). In addition, we have tried adaptive optics to compensate spherical aberrations during “*in vivo*” observation of deeper layers in living mouse brain. We then improved the fluorescent signals from Layer V pyramidal neurons and the spatial resolution. By utilizing these techniques, we next carried out “*in vivo*” laser ablation of neural fiber at over 500 μm depth from the brain surface (Fig. 2). Moreover, we have successfully improved the spatial resolution of TPLSM by taking advantages of STED technology [2]. In this presentation, we will discuss these improvements and future application on the basis of our recent data.

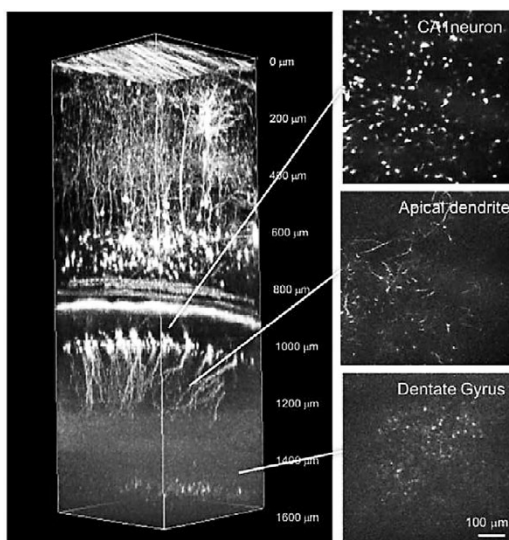


Fig. 1: “*in vivo*” imaging of cortical and hippocampal neurons in anesthetized mouse

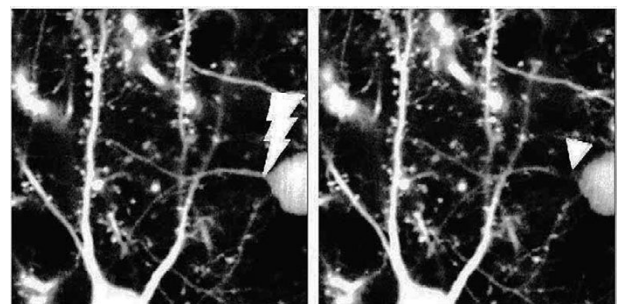


Fig. 2: “*in vivo*” laser ablation of neural fiber

[1] R. Kawakami, *et al.*, *Biomed. Opt. Express*, **6** (2015) 891.

[2] K. Otomo, *et al.*, *Biomed. Opt. Express*, **9** (2018) 2476.

揺らぎ解析の基礎と応用

Basics and application of fluctuation analysis under microscope

○金城政孝

北海道大学 大学院先端生命科学研究所 先端細胞機能科学分野

○Masataka Kinjo

Laboratory of Molecular Cell Dynamic

Faculty of Advanced Life Science, Hokkaido University

光学顕微鏡からは様々な情報が得られる。それは大きく空間情報と時間情報に分けることができる。特に蛍光顕微鏡を利用することで、蛍光分子だけの時間に依存した情報に得ることが可能になる。バイオイメージング分野の多くの研究は空間情報に中心をおいているが、ここでは、時間情報について考えてみたい。

時間情報を得るために、顕微鏡観測の中の一点に集中してみる。例えば、レーザーを用いた共焦点蛍光顕微鏡を利用すると、その分解能は光を回折限界まで絞ることによって、大よそ直径 400nm、軸長、 $1\mu\text{m}$ 程度の楕円形の観察視野を得ることが可能となる。対物レンズで集光した一点の領域の観察になるので、画像を得ることができないが、生細胞などの観察を行うと、固定されていない蛍光分子が共焦点領域を通過するとき引き起こす蛍光強度の揺らぎが観察される(図 1)。この蛍光分子の運動性を反映した蛍光強度の揺らぎには、分子の大きさ、分子の数の情報が含まれている。そこから、蛍光分子の大きさだけでなく、細胞内の粘性などの微環境、構造などを推定することや、運動性の変化から分子が他の分子と相互作用する強さを定量的に知ることが可能である。このような共焦点光学系を利用した蛍光強度揺らぎの測定方法は蛍光相関分光法 (FCS, Fluorescence Correlation Spectroscopy) と呼ばれる。

この講演では、蛍光色素を 2 種類(2 色)に拡張した測定方法や、一点だけの測定だけではなく、画像から蛍光強度の揺らぎを解析する手法など、現在の研究トピックまで紹介したい。

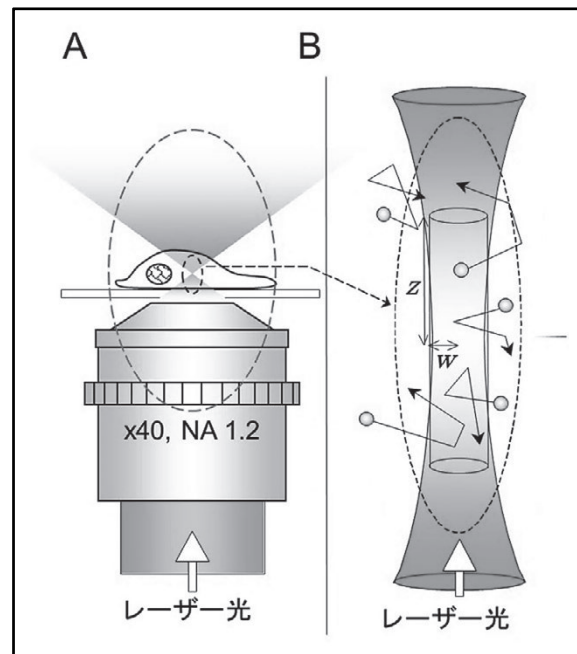


図 1 蛍光相関分光法観察領域

(A)試料測定部の模式図。レーザー光は対物レンズカバーガラス上の溶液や細胞の中の一点に絞られている。

(B)検出領域の拡大模式図。検出領域は半径 w 、軸長 $2z$ で定義される円柱状の領域として示した。蛍光分子(O)はブラウン運動により動き回り領域の中を自由に出入りし、この円柱の中で励起され蛍光を発する。

- 1). Fukushima, R. et al. Two-detector number and brightness analysis reveals spatio-temporal oligomerization of proteins in living cells. *Methods* (2018). doi:10.1016/j.ymeth.2018.03.007

ホタルの光でみる細胞の世界

Visualization of cell dynamics using the light of firefly

○近江谷克裕¹

¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

○Yoshihiro Ohmiya¹

¹ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

紀元前 384 年生まれのギリシャの哲学者アリストテレスは死んだ魚が光ることや光るキノコがあることを知っていた。日本でも古事記の時代からホタルの記述が散在するが、世界中に光る生物の記述が存在する。しかし、光る生物の化学の始まりは 19 世紀である。1821 年マカイレ (Macaire) は何らかの有機化合物が発光にかかわっていることを、1872 年フィプソン (Phipson) は死んだ魚が光るのは細菌のせいであることを突き止めている。そして 1885 年フランス人研究者デュボア (Dubois) は発光生物の中には「光の素 (ルシフェリン Luciferin)」と「光の素を発光させる化学反応を触媒する酵素 (ルシフェラーゼ Luciferase)」があることを明らかにした。また、光る生物の科学史をたどってみると 17 世紀には「ボイルの法則」のボイル (Boyle)、19 世紀にはパスツール (Pasteur) の名前を見出すことができる。日本人の貢献も非常に大きく、19 世紀後半には日本人研究者の名前が散見される。例えば第二の熊楠ともいわれた神田左京は「ホタル」という国内外に知られた名著を、そして下村脩博士は細胞内のタンパク質標識技術を変えた緑色蛍光タンパク GFP の発見者であるなど、輝かしい足跡を辿ることができる。これまでの研究により、すべてではないが生物発光の仕組みの理解は進み、その仕組みを利用し生命現象を明らかにする研究が進展しつつある。

通常、GFP は対象となるタンパク質と融合し細胞内で発現させることで、対象タンパク質の細胞内での局在や寿命をイメージングすること、また細胞内の Ca^{2+} や ATP 等の細胞内シグナルを可視化することが可能となり生命科学に革新をもたらした。ホタルの光もまた、同様な解析に用いられるが、蛍光と生物発光の違いは、前者が光で励起するのに対し、後者はルシフェリンの酸化に伴う化学反応でイメージングする点である。蛍光は励起光を当てさえすれば 1 分子レベルでも光を検出できるが、光を当てる必要があるため光が届かない場所の解析はできない。また、細胞などは光損傷が問題となるため長時間のイメージングには向かない。一方、生物発光は化学反応であるのでルシフェリンとルシフェラーゼが出合えば光を発する。しかしながら 1 反応から生み出される光は 1 光子以下と微弱光である。ただし光損傷などは問題とならず、長時間にわたってイメージング可能である。例えば、ホタルルシフェラーゼに局在シグナル化配列を付けることで、細胞小器官の動きを長時間にわたってイメージングできる。また、ルシフェラーゼ遺伝子を導入した細胞株 (悪性腫瘍など) を作製しヌードマウスの生体表層部 (皮下や脳など) へ移植すれば、ガンの進行を探る研究などに利用できる。本講演ではホタルやウミホタルの光で覗く生命のダイナミズムを紹介する。

バイオイメージングに関わる学際的技術開発

○宮脇敦史^{1,2}¹ 国立研究開発法人理化学研究所 脳神経科学研究センター² 国立研究開発法人理化学研究所 光量子工学研究センター○Atsushi Miyawaki^{1,2}¹ RIKEN Center for Brain Science, ² RIKEN Center for Advanced Photonics

細胞の中を動き回る生体分子の挙動を追跡しながら、ふと、大洋を泳ぐクジラの群を思い起こす。クジラの回遊を人工衛星で追うアルゴスシステムのことである。背びれに電波発信器を装着したクジラを海に戻す時、なんとかクジラが自分の種の群に戻ってくれることをスタッフは願う。今でこそ小型化された発信器だが昔はこれが大きかった。やっかいなものをぶら下げた奴と、仲間から警戒され村八分にされてしまう危険があった。クジラの回遊が潮の流れや餌となる小魚の群とどう関わっているのか、種の異なるクジラの群の間にどのような interaction があるのか。捕鯨の時代を超えて、人間は海の同胞の真の姿を理解しようと試みてきた。

バイオイメージング技術において、電波発信器の代わりに活躍するのが蛍光や発光のプロープである。生体分子の特定部位にプロープをラベルし細胞内に帰してやれば、外界の刺激に伴って生体分子が踊ったり走ったりする様子を可視化できる。蛍光や発光の特性を活かせば様々な情報を抽出できる。ポストゲノム研究プロジェクトを云々するに、より実際的な意味において、細胞内シグナル伝達系を記述するための同時観測可能なパラメータをどんどん増やす試みが重要である。我々は、細胞の心をつかむためのスパイ分子を開発している。材料となるのは可視光を吸収あるいは放出するタンパク質である。近年の遺伝子導入技術の進歩のおかげで、蛍光・発光性タンパク質を利用したスパイ分子がますます活躍している。そうしたスパイ分子を活用して、動物の脳で起こる現象を深く、広く、細かく、そして速く、長く観る研究の実際を紹介したい。また、可視光と相互作用するタンパク質が、「光と生命体との相互作用」を巡る人類の発見から生まれ、それらの生物学的存在意義に関する我々の理解を超えて、ますます有用になっていく過程を広く考察してみたい。

超マイクロ決死隊を結成し、微小管の上をジェットコースターのように滑走したり、核移行シグナルの旗を掲げてクロマチンのジャングルに潜り込んだりして細胞の中をクルージングする、そんな adventurous な遊び心を持ちたいと思う。大切なのは科学の力を総動員することと、想像力をたくましくすること。そして whale watching を楽しむような心のゆとりが serendipitous な発見を引き寄せるのだと信じている。

■ 発表者索引 ■

あ

青山 光輝 P 2 7
 浅井 卓也 P 2 6
 東 拓哉 S 3 - 2
 有本 知子 P 9

い

飯塚 怜 奨励賞講演、P 2 5
 池谷 裕二 P 4 3
 石川 良樹 P 4 9
 石川 哲也 P 9
 石橋 健一 P 2
 石山 静葉 P 4 7
 石渡 潮路 P 4 6
 石渡 信一 追悼講演
 板橋 武 P 1 4
 市岡 隆幸 P 2
 一木 隆範 P 2 5
 伊東 克秀 K 4
 伊藤 吹夕 LS2-2
 井上 広大 P 2
 岩崎 憲治 S 1 b - 4

う

上 喜裕 P1
 植木 紘史 P 1 1
 上田 太郎 P 3 2
 上田 泰己 P 2 4
 内橋 貴之 P 5
 宇部 卓司 P 3 7
 梅澤 雅和 P 3 7、P 4 4
 浦野 泰照 特別講演

お

大澤 郁郎 P 8
 太田 善浩 P 8
 太田 啓介 S 1 b - 1
 大友 拓也 P 4 2
 大友 康平 P 1 5、P 3 6

大貫 仁碧 P 4 0
 大野 尚仁 P 2
 大原 大典 K 9
 近江谷 克裕 K 1 3
 大森 瑤乃 P 1 0
 大森 雄太 LS2-3、P 3 0
 岡 浩太郎 LS2-4、P 5 0
 岡咲 賢哉 P1
 岡沢 秀彦 S 4 - 3
 岡嶋 孝治 P 4 9
 岡田 智 P 4
 岡田 知子 S 1 b - 3
 岡部 弘基 S 3 - 3、P 3 5、P 4 3
 岡本 晃一 P 7
 小川 和准 P 2 0
 沖 歩 P 6
 荻野 英賢 P 3 3
 小椋 俊彦 S 1 b - 3
 長利 卓 K 1 0
 小関 泰之 P 2 6
 小野 聖二郎 P 2 0
 小野島 大介 P 9、P 2 4
 小俣 大樹 P 3 8

か

影山 沙織 P 3 8
 桂 廣亮 P 1 1
 加藤 晃一 S1a-1、P 5
 加藤 寛人 P 1 8
 加藤 竜司 P 1 8
 加藤 有介 LS2-2
 加藤 薫
 K 1、K 7、S 3 - 1、P 1 9、
 P 2 9、P 4 1、P 4 7、P 4 9
 金丸 直弘 P 7
 金光(藤田) 明音 P 2 2
 金森 敏幸 P 1 8

蟹江 慧	P 1 8	さ	
鎌田 恭史	P 3 6	坂田 喬亮	P 6
上村 真生	P 3 7、P 4 4	佐々木 章	P 1 7
賀屋 秀隆	P 2 0	佐々木 裕次	P 2 7、P 2 8
河岡 義裕	P 1 1	佐藤 和秀	P 9
河内 正治	LS2-2	佐藤 良勝	S 2 - 3
川喜多 愛	P 7	澤田 隼平	P 2 0
川久保 愛美	P 1 6	し	
き		柴田 貴弘	P 8
菊地 和也	LS2-3、P 1 3、P 3 0	渋田 真結	P 1 8
貴嶋 紗久	P 3 2	島 忠光	P 3 8
北村 晃大	P 9	島野 仁	S 3 - 4
木村 宏	S 3 - 6	進藤 大輝	P 1 4
金城 政孝	K 1 2	新藤 豊	LS2-4、P 5 0
く		す	
日下部 涼子	P 1 8	菅又 龍一	LS2-2
朽津 和幸	P 1 4、P 2 0、P 2 6、P 4 0	杉浦 慎治	P 1 8
久保 美香子	P 2	杉澤 元徳	P 1 2
久保 泰	P 2 8	杉本 憲治	P 7
倉岡 修平	P 3 7	杉山 正明	P 5
倉持 昌弘	P 2 7、P 2 8	洲崎 悦夫	P 2 4
来須 孝光	P 2 0	鈴木 和男	LS2-2
黒川 量雄	LS2-1	鈴木 章一	LS2-2
黒澤 茂	P 4 5	鈴木 孝治	LS2-4、P 5 0
黒沢 すみれ	LS2-2	鈴木 達哉	S1a-1
け		鈴木 亮	P 3 1、P 3 8
景 虹之	S 3 - 2	須田 亮	P 1 2
こ		墨野倉 誠	P 2
幸村 心元	K 3、K 6	せ	
小財 稔矢	P 5	関口 博史	P 2 7、P 2 8
小島 正樹	P 2、P 6	関川 明生	K 8
後藤 亜衣	P 1 5	関山 翔太	P 3 7
小林 圭	P 4 5	そ	
木南 裕昭	P 4 5	曾我 公平	P 3 7、P 4 4
小山 隆太	P 4 3	た	
権田 幸祐	S 4 - 2	高川 智弘	P 2 6

高田 英昭	P 2 9	中野 明彦	LS2-1
高橋 和浩	LS2-2	中野 寧	S 4 - 2
高橋 圭介	P 7	中村 岳史	P 1 2、P 2 2
高松 哲郎	S 4 - 1	中村 百花	P 6
多喜 正泰	S 2 - 3	中山 俊憲	P 3 3
瀧口 優	P 3	波平 昌一	P 4 1
武政 徹	P 4 7	行方 衣由紀	P 1 0
竹内 公平	P 1 2	奈良 雅之	P 2 3
武田 紘平	P 4 7		
田島 鉄也	P1	に	
田代 充	P 2	西澤 志乃	P 4 6
田中 悠介	P 1 0	西脇 大介	P1
田中 響	P 1 2	丹羽 一樹	P 4 8
田中 直子	P 1 6	ぬ	
田中 みなみ	S3-1、P 4 1、P 4 9	塗谷 睦生	S 2 - 1
田中 光	P 1 0、P 1 6	ね	
田中 睦生	P 4 5	根本 知己	K 1 1、P 1 5、P 3 6
田之倉 優	S1a-2	の	
田村 康	S 3 - 5	野田 尚宏	P 1 9
		野々村 賢一	P 2 0
つ		は	
津田 栄	P 2 7	萩原 雄樹	P 2 6
土屋 章一	P 2 5	萩原 芙美子	P 3 8
て		橋本 研志	P 1 4、P 2 6、P 4 0
出村 茉莉子	P 2	橋本 香保子	P 4 2
寺林 杏理	P 6	長谷川 明洋	P 3 3
照井 翔	P 2 2	長谷川 実咲	P 1 4
と		長谷部 光泰	P 3 6
戸井 基道	P 2 7	服部 香里	P 4 8
東ヶ崎 健	P 4 6	服部 淳彦	P 2 3
土岐 精一	P 2 0	花俣 繁	P 2 0
徳永 正之	S 4 - 2	馬場 嘉信	P 9、P 2 4
利岡 文美	P 2 5	濱 裕	P1
豊田 晴義	P 3	濱口 正悟	P 1 0
な		原田 雅史	S 4 - 4
永井 健治	S 2 - 4		
長崎 晃	P 3 2		

ひ

樋口 香織 P1
 平岡 泰 P 2 9
 平瀬 肇 P1
 平田 芳樹 P 4 5
 平野 和己 P 4 1、P 4 9

ふ

福井 希一 P 2 9
 福井 清 LS2-2
 福田 大治 P 4 8
 福永 任吾 P 2 0
 福山 聡 P 1 1
 藤井 裕紀 P 4 9
 藤村 章子 P 2 8
 藤芳 暁 S1 a - 3
 船津 高志 K 5、S 3-3、P 2 5、P 3 5、P 4 3
 古澤 直子 S 4 - 2

ほ

星 雄高 P 4 3
 堀田 耕司 LS 2-4、P 5 0
 堀 雄一郎 P 1 3
 本多 孝明 P 3 5

ま

松井 真優 P 2 2
 松井 裕史 P 1 8
 松熊 祥子 P 4 6
 松田 厚志 P 2 9
 松村 義隆 P 2、P 6
 松山 哲也 P 7
 丸山 雄介 P 2 3
 丸山 一雄 P 3 1、P 3 8

み

三尾 和弘 P 2 7、P 2 8
 三尾 宗代 P 2 8
 水巻 登志樹 P 2 4
 水本 朔 P 3 9

溝江 暉 P 1 4
 光田 展隆 P 3 2
 光山 統泰 P 3 4
 蓑島 維文 LS 2-3、P 3 0
 三牧 正和 LS2-2
 宮川 拓也 S1 a - 2

三宅 範夫 K 2
 宮代 大輔 LS2-1
 宮本 崇史 S 3 - 4
 宮本 大輔 P 2 6
 宮脇 敦史 K 1 4、P 1

む

宗像 理紗 P 3 8
 村田 隆 P 3 6
 村田 香織 P 7

も

毛内 拡 P1
 森作 俊紀 P 4 0
 守島 健 P 5
 森田 雅宗 P 1 9
 森本 康幹 P 2

や

矢木 宏和 S1 a - 1、P 5
 谷中 冴子 S1 a - 1
 柳沢 真澄 P 1 8
 山口 拓実 S1 a - 1
 山田 啓文 P 4 5
 山中 龍 LS 2-4、P 5 0
 山本 条太郎 P 2 1
 山本 友子 LS2-2

ゆ

湯川 博 S 2-2、P 9、P 2 4
 由井 宏治 P 4 0

よ

吉田 早希 P 5
 吉田 萌 P 4 4

米田 真由	P 8	P		
頼田 和子	LS2-2		Rawin Poonperm	P 2 9
り		R		
李 黎明	P 3 9		Elisenda Rodriguez	P 4
わ		S		
和田 健司	P 7		Dasa Siva	P 3 1
渡辺 大輝	P 5		Peter T.C. So	P 3
			Mriganka Sur	P 4
B		W		
Archana Bajpai	P 3 4		I-Hsuan Wang	P 1 1
Benjamin B. Bartelle	P 4	X		
Vincent Breton-Provenche	P 4		Yi Xue	P 3
E				
John T. Elliott	P 1 7			
F				
Brent French	P 3 1			
G				
Jingchi Gao	P 1 3			
H				
Michael Halter	P 1 7			
J				
Alan Jasanoff	P 4			
Unga Johan	P 3 8			
K				
Kimberly Kelly	P 3 1			
Alexander Klibanov	P 3 1			
L				
Jiyoung J. Lee	P 4			
Nan Li	P 4			
Tiago JS Lopes	P 1 1			
M				
James Melican	P 4			
N				
Gabriele Neumann	P 1 1			
Kien Xuan NGO	S 1 b - 2			

■ 総会資料 ■

2018 年度 日本バイオイメージング学会

総会資料

2018 年 9 月 4 日

日本バイオイメージング学会

会長 船津 高志

会場： 産業技術総合研究所つくばセンター 共用講堂

議題： 2017 年度事業報告、2018 年度事業経過報告および 2019 年度事業計画

総会議案

各委員会より報告

1. 庶務報告
2. 財務報告
3. 会計監査
4. 企画委員会
5. 和文誌委員会
6. 欧文誌編集委員会
7. ホームページ編集委員会
8. 集会委員会
9. 賞選考委員会
10. 研究助成選考委員会
11. 講習会委員会
12. 国際交流委員会
13. 新技術情報委員会
14. 男女共同参画委員会
15. 人事
16. その他

各委員会資料

1. 庶務報告(岡)

17 年度事業報告

- 1) 会報などを各委員会と協力して発送
- 2) 会員情報の管理・更新
- 3) その他

18 年度事業経過報告

- 1) 会報などを各委員会と協力して発送
- 2) 会員情報の管理・更新
- 3) その他

19 年度事業計画

- 1) 会報などを各委員会と協力して発送
- 2) 講習会への協力
- 3) 公開講座、科学研究費補助金（研究成果公開促進費）19 年度申請（予定）
- 4) 会員情報の管理・更新
- 5) その他

2. 財務報告（太田）（添付資料 参照）

17 年度財務報告

- 1) 収支のまとめ
- 2) 会員への会費振込依頼、入金確認等
- 3) 学術集会会場での会費徴収

18 年度財務経過報告

- 1) 収支のまとめ
- 2) 会員への会費振込依頼、入金確認等
- 3) 学術集会会場での会費徴収

19 年度財務計画

- 1) 収支のまとめ
- 2) 会員への会費振込依頼、入金確認等
- 3) 学術集会会場での会費徴収

3. 監査（川西、大幡）

- 1) 監査結果の報告

4. 企画委員会（加藤（晃））

17 年度事業報告

- 1) 賛助会員への勧誘
- 2) 会報「バイオイメーキング」への広告勧誘（エーイー企画との連携）
- 3) エーイー企画（広告代理店）と連携し集会の展示、広告を担当

18 年度事業経過報告

- 1) 賛助会員への勧誘
- 2) 会報「バイオイメーキング」への広告勧誘（エーイー企画との連携）
- 3) エーイー企画（広告代理店）と連携し集会の展示、広告を担当

19 年度事業計画

- 1) 賛助会員への勧誘
- 2) 会報「バイオイメーキング」への広告勧誘（エーイー企画との連携）
- 3) エーイー企画（広告代理店）と連携し集会の展示、広告を担当

5. 和文誌委員会（朽津）

17 年度事業報告

- 1) 会報発行 和文誌「バイオイメーキング」第 26 巻 2 号まで発行
- 2) 和文誌「バイオイメーキング」の Web-site
(<https://sites.google.com/site/bioimagingmag/>)での公開
- 3) 和文誌「バイオイメーキング」と英文誌「Bioimages」の編集方針の見直し作業
- 4) 投稿（総説・解説、原著論文、研究室紹介等）呼びかけ、特集記事の充実

18 年度事業経過報告

- 1) 会報発行 和文誌「バイオイメーキング」第 27 巻 1 号まで発行
- 2) 和文誌「バイオイメーキング」の Web-site での公開
- 3) 和文誌「バイオイメーキング」と英文誌「Bioimages」の編集方針の見直し（和文の総説・解説、原著論文は、「Bioimages」に掲載の方向）に基づく、投稿規定の改定準備
- 4) 投稿（研究室紹介等）呼びかけ、特集記事の充実

19 年度事業計画

- 1) 和文誌「バイオイメーキング」第 28 巻発行
- 2) 和文誌「バイオイメーキング」の Web-site での公開、和文誌ホームページの充実
- 3) 投稿（研究室紹介等）呼びかけ、特集記事の充実

6. 欧文誌編集委員会（小島）

17 年度事業報告

- 1) Bioimages Vol25 までの論文のアップロード完了
- 2) 著作権ポリシーの制定と公開

18 年度事業経過報告

- 1) Bioimages Vol26 の論文のアップロード準備中
- 2) Bioimages の ESCI 掲載の可能性について検討

19 年度事業計画

- 1) Bioimages Vol27 の論文のアップロード
- 2) Vol. 6(1998)以前のバックナンバーのオンライン化を継続
- 3) 投稿規定の改訂

7. ホームページ編集委員会（曾我）

17年度事業報告

- 1) 新ホームページの公開
- 2) 旧ホームページのリダイレクト設定
- 3) 公式ドメインの取得、学会メールアドレスの新規作成

18年度事業経過報告

- 1) 運用体制の確立

19年度事業計画

- 1) 特になし

9. 集会委員会（永井）

17年度事業報告

第26回学術集会

日程： 2017年9月16日（土）～17日（日）

会場： 東京薬科大学八王子キャンパス

大会長： 小島 正樹（東京薬科大学）

参加費： 一般（正会員：6000円、非会員：8000円）

学生（学部学生無料、会員大学院生1,000円、非会員大学院生：3,000円）

公開講座： 「生命（いのち）のかたちを見る ～オートファジーから数学まで～」

参加費： （無料）

会期：2017年9月18日（月） 12:30～17:10

会場：東京都八王子市生涯学習センター（クリエイトホール）

18年度事業経過報告

第27回学術集会

日程： 2018年9月3日（日）～4日（火）

会場： 産業技術総合研究所 つくばセンター共用講堂

大会長： 加藤 薫（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門）

参加費： 一般（正会員：6,000円、非会員：8,000円）

学生（学部学生無料、会員大学院生2,000円、非会員大学院生：3,000円）

公開講座： 「顕微鏡イメージングを学ぶ」

主催： 日本バイオイメージング学会

共催： 産業技術総合研究所

参加費： （無料）

会期：2017年9月2日（月） 12:00～18:30

会場：産業技術総合研究所 つくばセンター共用講堂

19 年度事業計画

第 28 回学術集会（第 6 回国際バイオイメージングシンポジウム同時開催）

日程： 2019 年 9 月 21 日（土）～23 日（月）

会場： 帝京大学板橋キャンパス（東京都板橋区加賀 2-11-1）

大会長： 鈴木 亮（帝京大学 薬学部 薬物送達学研究室）

参加費： 一般（正会員：8,000 円、非会員：10,000 円）

学生（学部学生（4 年生以下）無料、会員大学院生（学部 5 年生以上）3,000 円、非会員（学部 5 年生以上）大学院生：5,000 円）

※参加費：第 5 回国際バイオイメージングシンポジウムとの同時開催のため、前回の国際シンポジウムと同額に設定（会員大学院生以外）。

また、薬学部は 6 年制であるため、学部学生を 4 年生以下、大学院生を 5 年生以上と併記。

公開講座：開催なし

8. 賞選考委員会（高松）

17 年度事業報告

1) 奨励賞：矢木 宏和 氏（名古屋市立大学大学院薬学研究科）を推薦

18 年度事業経過報告

1) 奨励賞：飯塚 怜 氏（東京大学大学院薬学研究科）を推薦

19 年度事業計画

1) 奨励賞について、学会ホームページと和文誌「バイオイメージング」に、推薦のお願いを掲載予定。

9. 研究助成選考委員会（菊池）

17 年度事業報告

1) 第 5 回国際シンポジウムにおける Young Scientist Travel Award：若手（40 歳未満）の選考を行った

18 年度事業経過報告

1) 特になし

19 年度事業計画

1) 第 6 回国際シンポジウムにおける Young Scientist Travel Award の選考（予定）

10. 講習会委員会（加藤（薫））

17 年度事業報告

1) 特になし

18 年度事業経過報告

- 1) 特になし

19 年度事業計画

- 1) 計画中

1 1. 国際交流委員会（鈴木）

17 年度事業報告

1) 第 5 回国際バイオイメージングシンポジウム

The 5th International Symposium for Bioimaging, Singapore, May 20-21, 2017 =
Joint Symposium on Bioimaging

会期：May 20-21, 2017

開催場所：National University of Singapore, Singapore

会長：Prof. Paul Matsudaira (MBI) and Prof. Kazuo Suzuki (Bioimaging Society)

共催：Mechanobiology Institute (MBI)：協賛：早稲田大学 WABIOS 所長

参加者人数：85 名、ポスター：35 題

全体テーマ：特に設定せず

特別講演：石渡信一先生（元 WABIOS 所長）、Prof. Michael Scheet

Symposium-1, Symposium-2, Women in Science

Young Scientist Travel Award：若手（40 歳未満）の発表と旅費（80,000 円補助）

18 年度事業経過報告

1) 第 6 回国際バイオイメージングシンポジウムに向けての準備

会期：Sep 21-23, 2019

開催場所：帝京大学板橋キャンパス（東京都板橋区加賀 2-1-1）

大会長：鈴木亮（帝京大学薬学部）

共催：帝京大学、National University of Singapore, Mechanobiology Institute (MBI)

19 年度事業計画

1) 第 6 回国際シンポジウムの準備と開催

1 2. 新技術情報委員会（後藤）

17 年度事業報告

- 1) 特になし

18 年度事業経過報告

- 1) 特になし

19 年度事業計画

- 1) 特になし

1 3. 男女共同参画委員会（洲崎）

17 年度事業報告

- 1) 男女共同参画学協会連絡会 15 期運営委員会に出席
- 2) 内閣府理工チャレンジ～女子学生・生徒の理工系分野への選択～ リコチャレ応援団体として参加
- 3) 第 25 回学術集会において「女子中高校生夏の学校での活動報告」をポスター発表
- 4) 女子中高校生夏の学校(8 月 6-8 日)、協賛及びポスター参加

18 年度事業経過報告

- 1) 男女共同参画学協会連絡会 16 期運営委員会に出席
- 2) 内閣府理工チャレンジ～女子学生・生徒の理工系分野への選択～ リコチャレ応援団体として参加、理工系女子応援ネットワークに参加
- 3) 女子中高校生夏の学校(8 月 9 日～11 日)、協賛及びポスター参加

19 年度事業計画

同様の活動を継続予定

1 4. 人事

1 5. その他

審議事項：

- 1) 第 28 回学術集会の準備について
- 2) 和文誌と欧文誌の統合について
- 3) その他

昨年、今年と日本分子イメージング学会との合同シンポジウムを開催している。

第 12 回日本分子イメージング学会総会・学術集会「生命の神秘に迫る分子イメージング」

第 13 回日本分子イメージング学会総会・学術集会「日本バイオイメージング学会共催シンポジウム」

第 26 回日本バイオイメージング学会学術集会 日本分子イメージング学会との合同シンポジウム「モダリティーの壁を越える」

第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会 分子イメージング学会合同シンポジウム「医療と人体のイメージング」

2017年度決算書（2017年1月1日～2017年12月31日）

日本バイオイメージング学会

会長 船津 高志 印

理事(財務担当) 太田 善浩 印

一般会計

収入

2016年より繰越	4,663,788
利息	11
会費	991,000
第25回学術集会余剰金	577,843
懇親会費	63,000
許諾抄録利用料	2,160
国際学会参加費	88,000
収入計	6,385,802

支出

バイオイメージング印刷費	214,110
ジャパンメディカル英文校正	38,914
通信・郵送費	91,278
謝金・人件費	19,800
男女共同参画	7,000
奨励賞	100,000
会議費	122,160
振込手数料	6,480
学術集会準備金	300,000
交通宿泊費	112,720
過払い会費返金	6,000
HP作成維持費	629,300
雑費	112,095
小計	1,759,857
2018年度への繰越	4,625,945
支出計	6,385,802

特別会計

収入

2016年度より繰越	5,000,000
収入計	5,000,000

支出

国際学会準備金	709,331
2018年度への繰越	4,290,669
支出計	5,000,000

監査 2018年 月 日

監事 川西 徹 印
監事 大幡 久之 印

2019年度予算案(2019年1月1日～2019年12月31日)

一般会計

収入

繰り越し	4,626,337
会費	991,000
<hr/>	
収入計	5,617,337

支出

バイオイメージング印刷費	250,000	広報
Bioimages アップロード費	300,000	広報
ホームページ管理費	100,000	広報
謝金・人件費	150,000	庶務、会計
英文校閲費	80,000	編集
会議費	120,000	庶務
通信・郵送費	100,000	庶務、会計
奨励賞・研究助成	100,000	賞選考
男女共同参画(分担金 他)	84,000	男女共同・国際
学術集会準備金	300,000	集会
雑費	30,000	庶務・会計
予備費	4,003,337	
<hr/>		
支出計	5,617,337	

特別会計

収入

繰り越し	4,290,237
<hr/>	
収入計	4,290,237

支出

2020年度への繰越	3,290,237
国際学会準備金	1,000,000
<hr/>	
支出計	4,290,237

2018年度の各委員会：名簿

○：委員長、Editor-in-Chief

△：副委員長

1. 会 長 : 船津 高志
2. 副 会 長 : 岡 浩太郎、洲崎 悦子
3. 庶 務 : ○岡 浩太郎
4. 財 務 : ○太田 善浩
5. 企 画 : ○加藤 晃一、木原 裕、楠見 明弘、竹本 邦子、西村 智、長谷川 明洋、樋口 ゆり子
* 公開講座の企画を含む（学術集会付設の公開講座は大会長が企画）
6. 和文誌編集 : 池水信二、菊地 和也、○朽津 和幸、曾我 公平、田中 直子、桧垣 匠、古野 忠秀
7. 欧文誌編集 : 大幡 久之、朽津 和幸、小島 清嗣、○小島 正樹、斎野 朝幸、洲崎 悦子、寺川 進、宮川 拓也
8. ホームページ編集 : 岡 浩太郎、小島 正樹、朽津 和幸、○曾我 公平、桧垣 匠
9. 集 会 : 太田 善浩、加藤 薫、高松 哲郎、立野 玲子、○永井 健治
10. 賞 選 考 : 大塩 力、楠見 明弘、鈴木 和男、○高松 哲郎、田之倉 優、寺川 進、浜口 幸久、根本 知己
11. 研究助成選考 : ○菊地 和也、末松 誠、鈴木 和男、中山 俊憲、根本 知己
12. 講 習 会 : ○加藤 薫、櫻井 孝司、中村 岳史、企業から（オリンパス、カールツァイス、ニコン、浜松ホトニクス）
13. 国 際 交 流 : 木原 裕、○鈴木 和男、鈴木 亮、永井 健治
アドバイザー : A. Wheatley, J. Girkin, F. Maxfield, R. Hoffmann, N. Demaurex, Lowrel Bolin, D. Ehrhardt, M. E. P. Murphy, W. Dawson, M. Jaconi
* 国際バイオイメーキング学会の対応を含む
14. 新技術情報 : 荒井 祐仁、加藤 薫、○後藤 英一、鶴旨 篤司、晝馬 亨
15. 男女共同参画 : 加藤 有介、朽津 和幸、○洲崎 悦子、田中 直子、橋本 香保子、樋口 ゆり子

[付属資料]

1. 役員

1) 評議員 (2018. 12. 31まで)

荒井 祐仁、池水 信二、大塩 力、太田 善浩、岡 浩太郎、加藤 薫、加藤 晃一、加藤 有介、菊地 和也、木原 裕、楠見 明弘、朽津 和幸、小島 正樹、後藤 英一、齋野 朝幸、櫻井 孝司、末松 誠、洲崎 悦子、鈴木 和男、鈴木 亮、曾我 公平、高松 哲郎、竹本 邦子、立野 玲子、田中 直子、田之倉 優、鶴旨 篤司、寺川 進、冨田 光子、永井 健治、中村 岳史、中山 俊憲、西村 智、根本 知己、橋本 香保子、長谷川 明洋、浜口 幸久、桧垣 匠、樋口 ゆり子、晝馬 亨、船津 高志、古野 忠秀、宮川 拓也

2) 監 事 (2名: 2018. 12. 31まで)

大幡 久之、川西 徹

3) 理 事 (16名: 4年任期、2年毎半数改選、評議員により互選)

2018. 12. 31まで

菊地 和也、木原 裕、朽津 和幸、洲崎 悦子、鈴木 和男、高松 哲郎、寺川 進

2020. 12. 31まで

太田 善浩、岡 浩太郎、加藤 薫、加藤 晃一、小島 正樹、曾我 公平、永井 健治、船津高志

4) 特任理事 (2年任期)

2018. 12. 31まで

大塩 力、田之倉 優、浜口 幸久

5) 会長、副会長、庶務担当、財務担当 (理事により互選: 2年任期)

会 長: 2018. 12. 31まで: 船津 高志

副 会 長: 2018. 12. 31まで: 岡 浩太郎、洲崎 悦子

庶務担当理事: 2018. 12. 31まで: 岡 浩太郎

財務担当理事: 2018. 12. 31まで: 太田 善浩

2. 名誉会員 (非役員)

新井 孝夫、荒田 洋治、石村 巽、大木 和夫、柏木 浩、関塚 永一、脊山 洋右、中西 守、眞島 利和、南谷晴之、安岡 則武

日本バイオイメーjing学会入会のお願ひ

日本バイオイメーjing学会では会員の募集を致しております。会員の方の周囲に画像に関心のある方がおられましたら入会されるようご勧誘をお願い致します。入会される方は、本誌末の入会申込書をご利用ください。

正会員： 5,000円
学生会員： 2,000円
団体会員： 10,000円（図書館対象）
賛助会員：一口 100,000円
評議員会費： 8,000円

申込先

学会事務局

〒223-8522 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1
慶應義塾大学工学部生命情報学科 生物物理・神経情報学研究室内
日本バイオイメーjing学会事務局
TEL: 045-566-1728
FAX: 045-566-1789
E-mail: office@j-bioimaging.org
郵便振替:00130-3-73565
名 義:日本バイオイメーjing学会事務局

日本バイオイメーjing学会賛助会員入会のお願ひ

本学会は、画像解析技術を基に生命原理を解明し、人類の福祉に貢献することを目的としております。つきましてはこの趣旨に御賛同いただき御機関に賛助会員として参加いただければありがたいと思ひます。日本における基礎生命科学と応用開発研究との有機的結合実現のためぜひ御協力ください。

賛助会員入会御承諾の場合は下記口座への会費の振込とともに、本誌末の入会申込書(学会入会申込書と同じ)に必要事項を御記入の上、返送をお願い致します。

賛助会員 会費:一口 年10万円
会費振込先: 郵便振替:00130-3-73565
日本バイオイメーjing学会事務局

特 典:展示会での優先展示、学会誌、広報誌、学会要旨集への広告優先権

問合せ先 〒223-8522 神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1
慶應義塾大学工学部生命情報学科 生物物理・神経情報学研究室内
日本バイオイメーjing学会事務局
TEL: 045-566-1728 FAX: 045-566-1789
E-mail: office@j-bioimaging.org

会費納入のお願い

日本バイオイメーjing学会学会費の納入をお願いいたします。
すみやかな納入をお願いいたします。

正会員： 5,000円

学生会員： 2,000円

団体会員： 10,000円(図書館対象)

賛助会員：一口100,000円

評議員会費 8,000円

会費振込先： 郵便振替：00130-3-73565
日本バイオイメーjing学会事務局

学会のホームページは以下の通りです。ご利用ください。

<http://j-bioimaging.org>

日本バイオイメージング学会定款

第1章 総 則

- 第1条 この学会は、日本バイオイメージング学会という。
- 第2条 この学会は、事務所を庶務担当理事の勤務先におく。
- 第3条 この学会は、評議員会の議決を経て必要の地に支部をおくことができる。

第2章 目的および事業

- 第4条 この学会は、会員の研究発表、知識の交換ならびに会員相互および関連学（協）会との連絡提携の場となり、バイオイメージング学の進歩普及をはかり、もって学術、文化の発展に寄与することを目的とする。
- 第5条 この学会は、前条の目的を達成するために次の事業を行う。
- 1 研究発表会および講演会の開催
 - 2 会誌、研究報告および資料の刊行
 - 3 内外の関連学（協）会との連絡および協力
 - 4 研究の奨励および研究業績の表彰
 - 5 研究および調査
 - 6 その他目的を達成するために必要な事業

第3章 会 員

- 第6条 この学会の会員は、次のとおりとする。
- 1 正会員 バイオイメージング学に関する学識または経験を有する個人であって、この学会の目的に賛同し、別に定められた年会費を納める者
 - 2 学生会員 大学またはこれに準ずる学校に在籍し、バイオイメージング学に関係のある学科を納める学生であって、この学会の目的に賛同し、別に定められた年会費を納める者
 - 3 団体会員 この学会の目的に賛同し、別に定められた年会費を納める団体
 - 4 賛助会員 この学会の事業を後援し、別に定められた年会費1口以上を納める者または法人
 - 5 名誉会員 バイオイメージング学と本学会の発展に大いに貢献した個人で、評議員会の認めた者
- 第7条 会員になろうとする者は、会費を添えて入会申込書を提出し、理事会の承認を受けなければならない。
- 第8条 会員は、この学会が刊行する機関誌および図書の優先的配布を受けることができる。
- 第9条 会員は、次の事由によって資格を喪失する。
- 1 退会
 - 2 禁治産および準禁治産の宣告
 - 3 死亡、失踪宣告
 - 4 除名
- 第10条 会員で退会しようとする者は、理由を付して退会届を提出しなければならない。

第11条 会員が次の各号の一に該当するときは、評議員会の議決を経て、会長がこれを除名することができる。

- 1 会費を滞納したとき
- 2 この学会の会員としての義務に違反したとき
- 3 この学会の名誉を傷つけ、あるいはこの学会の目的に反する行為をしたとき

第12条 既納の会費は、いかなる理由があってもこれを返還しない。

第4章 役員、評議員および職員

第13条 この学会には、次の役員をおく。

理事 12名以上16名以内（うち会長1名、副会長2名）

特任理事 6名以内

監事 2名

評議員 全会員の10%程度

第14条 1 評議員と監事は、正会員より総会で選出し、理事および特任理事は、評議員より評議員会で選出する。

- 2 理事は、互選で会長1名、副会長2名、庶務担当理事1名、財務担当理事1名、国際交流委員長1名を定め、常務理事とする。

第15条 1 会長はこの学会の業務を総理し、この学会を代表する。

2 副会長は会長を補佐し、会長に事故ある時は会長業務を代行する。

3 庶務担当理事、財務担当理事は、会長を補佐し、理事会の決定事項に基づき事務を行う。

4 国際交流委員長は、理事会の決定事項に基づき、諸外国とのバイオイメージング研究の学術的交流と連携を図り、国際バイオイメージング会議を推進する。

第16条 1 理事は、理事会を組織し、この学会の運営上重要な事項について決定し、執行する。

2 常務理事は常務理事会を組織し、必要な事項について協議し、理事会に諮る。

3 特任理事は、理事会の決定事項に基づき、特定の重要事項を担当する。

第17条 監事は民法第59条の職務を行う。

第18条 評議員は評議員会を組織して、この学会の運営上の重要事項にかかわる理事会の決定事項に関し、議事を開き議決する。

第19条 1 会長、副会長、庶務担当理事、財務担当理事、監事の任期は2年とする。

2 理事の任期は4年とし、2年毎に半数を改選する。

3 特任理事の任期は2年とする。但し、再任を妨げない。

4 評議員の任期は4年とする。但し、再任を妨げない。

5 補欠または増員による役員の任期は、前任者の残任期間とする。

6 役員は、その任期満了後でも後任者が就任するまでは、なお、その職務を行う。

7 役員は、この学会の役員としてふさわしくない行為のあった場合、または特別の事情のある場合には、その任期中であっても評議員会の議決により、会長が任を解くことができる。

第20条 役員は交通費、連絡費、日当の支給を受けることができる。

第21条 1 この学会の事務を処理するため、書記等の職員をおくことができる。

2 職員は、会長が任免する。

3 職員は、有給とする。

第5章 会 議

- 第22条 1 通常総会は、毎年1回議長が召集する。
2 臨時総会は、理事会または監事が必要と認めたとき、いつでも召集することができる。
- 第23条 会長は、会員現在数の5分の1以上から会議に付議すべき事項を示して総会の召集を請求された場合には、その請求のあった日から20日以内に臨時総会を召集しなければならない。
- 第24条 通常総会の議長は、会長とし、臨時総会の議長は会議のつど会員の互選で定める。
- 第25条 総会の召集は、少なくとも10日以前に、その会議に付議すべき事項、日時および場所を記載した書面または会誌の公告をもって通知する。
- 第26条 次の事項は、通常総会に提出してその承認を受けなければならない。
1 事業計画および収支予算についての事項
2 事業報告および収支決算についての事項
3 財産目録
4 その他理事会において必要と認めた事項
- 第27条 総会は、会員現在数の5分の1以上出席しなければ、その議事を開き議決をすることができない。ただし、当該議事につき書面をもってあらかじめ意志表示した者は、出席者とみなす。
- 第28条 総会の議事はこの定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席者の過半数をもって決し、可否同数の時は、議長の決するところによる。
- 第29条 総会の議事の要項および議決した事項は、会員に通知する。
- 第30条 1 評議員会は随時会長が召集する。
2 評議員会の議長は、会長がこれに当たる。
- 第31条 評議員会は評議員数現在数の5分の1以上出席しなければ議事を議決することができない。
- 第32条 評議員会は、この定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席者の過半数をもって決し、可否同数のときは議長の決するところによる。
- 第33条 理事会は、毎年2回会長が召集する。ただし、会長が必要と認めた場合、または、理事現在数の3分の1以上から会議の目的たる事情を示して請求のあったときには、会長は臨時理事会を召集しなければならない。
- 第34条 1 理事会は理事現在数の3分の2以上出席しなければ議事を開き議決することができない。ただし、当該議事につき書面をもってあらかじめ意志を表示したものは、出席者とみなす。
2 理事会の議事は、この定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席理事の過半数をもって決し、可否同数のときは、議長の決するところによる。
3 特任理事は理事会には参考人として出席できる。
- 第35条 総会、評議員会および理事会の議事録は、議長が作成し、議長および出席者代表2名以上が署名押印の上、これを保存する。

第6章 資産および会計

- 第36条 この学会の資産は、次のとおりとする。
1 この学会設立当初画像解析シンポジウムから継承した別紙財産目記載の財産

- 2 会費
- 3 事業に伴う収入
- 4 資産から生じる果実
- 5 寄付金品
- 6 その他の収入

- 第37条 1 この学会の資産を分けて、基本財産および運用財産の2種とする。
2 基本財産は、別紙財産目録のうち、基本財産の部に記載する資産および将来基本財産に編入される資産で構成する。
3 運用財産は、基本財産以外の資産とする。
4 寄付金品であって、寄付者の指定のあるものは、その指定にしたがう。
- 第38条 この学会の基本財産のうち現金は、理事会の決定によって定期郵便貯金とするか、もしくは定期預金として、会長が保管する。
- 第39条 基本財産は、処分し、または担保に供してはならない。ただし、この学会の事業遂行上やむを得ない理由があるときは、評議員会および総会の議決を経、その一部に限り処分し、または担保の供することができる。
- 第40条 この学会の事業遂行に要する費用は、会費、事業に伴う収入および資産から生ずる果実等の運用をもって支弁する。
- 第41条 学会の事業計画およびこれに伴う収支予算は、評議員会で議決しなければならない。
- 第42条 1 この学会の収支決算は、毎回、財産目録、事業報告書および会員の移動状況書とともに監事の意見をつけ、評議員会および総会の承認を受けなければならない。
2 この学会の収支決算に剰余金があるときには、評議員会の議決および総会の承認をうけて、その一部もしくは全部を基本財産に編入し、または翌年度に繰り越すものとする。
- 第43条 収支予算で定めるものを除くほか、新たに義務の負担をし、または権利の放棄をしようとするときは、評議員会および総会の議決を受けなければならない。借入金（その会計年度内の収入をもって償還する一時借入金を除く）についても同様とする。
- 第44条 この学会の会計年度は、毎年1月1日に始まり12月31日に終る。

第7章 定款の変更ならびに解散

- 第45条 この定款は、評議員会および総会においておのおのの4分の3以上の議決を経なければ変更することができない。
- 第46条 この学会の解散は、評議員会および総会においておのおのの4分の3以上の議決を経なければならない。
- 第47条 この学会の解散に伴う残余財産は、評議員会および総会においておのおのの4分の3以上の議決を経て、この学会の目的に類似の目的を有する公益事業に寄付するものとする。

第8章 補 則

- 第48条 1. この定款施行についての細則は、評議員会の議決を経て別に定める。
2. 本定款は1991年10月18日より実施する
3. 事業年度の初年度は本会設立の日をもってはじまる

4. 初年度は半期役員は互選で決定する

付 則

本定款は、2011年1月1日より実施する。

細 則

1. この細則は、日本バイオイメーjing学会定款48条の1により、定めたものである。
2. 本学会の事務所を、庶務担当理事の勤務先（〒223-8522 神奈川県横浜市港北区日吉3丁目14番1号 慶應義塾大学理工学部生命情報学科生物物理・神経情報学研究室）におく。
3. 年会費は正会員5,000円、学生会員2,000円、団体会員10,000円、賛助会員1口100,000円とする。ただし、評議員の年会費は8,000円とする。また、賛助会員の企業は、若干名を会員として登録することができる（これを登録会員という）。登録会員は、評議員会の議決をもって承認される。
4. 第14条で定める評議員（評議員という）のほかに、任期2年（再任を妨げない）の企業評議員をおくことができる。企業評議員は、本学会の活動に協力的な企業に属する正会員および賛助会員企業の登録会員より選出し、評議員会で承認する。ただし、企業評議員の人数は評議員の20%以内とし、評議員の年会費を納める必要はない。
5. 定款第16条2の常務理事会は、常務理事と和文誌編集委員会委員長、欧文誌編集委員会委員長より構成する。
6. 副会長は、会長以外の常務理事と併任することができる。
7. 定款第5条に定めた事業を行うため、企画、和文誌編集、欧文誌編集、ホームページ編集、集会、賞選考、研究助成選考、講習会、国際交流、新技術情報、男女共同参画の各委員会を置く。各委員会には、必ず理事が属し、委員長は原則として理事がつとめる。ただし、特別の事情があるときは、評議員が委員長をつとめることができる。また、必要に応じて、これらの委員会のほかに、特別委員会を設けることができる。
特別委員会には、必ず理事が複数名加わるとともに、理事が委員長をつとめる。
8. 本細則の変更については、評議員会の議決と総会の承認を必要とする。

付 則

本細則は、2017年1月1日より実施する。

年会費

会員は次の会費年額を支払うこととする。

1. 評議員 年額 8,000円
2. 正会員 年額 5,000円
3. 学生会員 年額 2,000円
4. 団体会員 年額 10,000円
5. 賛助会員 年額 1口 100,000円

附則

1. 企業評議員は、個人正会員については会費年額 5,000円、賛助会員を代表して評議員となる場合には賛助会費のみとする。

◆ 協賛企業一覧 ◆

本学術集会の開催に当たり下記の団体および企業からご援助をいただきました。

ここに厚く御礼申し上げます。

平成30年8月8日現在

株式会社アートレイ
アンドール・テクノロジー Ltd
株式会社池田理化
オリンパス株式会社
カールツァイス株式会社
クロマテクノロジージャパン合同会社
ケイエルブイ株式会社
五稜化薬株式会社
コーンズテクノロジー株式会社
セブンシックス株式会社
株式会社生体分子計測研究所
ソーラボジャパン株式会社
東京化成工業株式会社
株式会社東陽テクニカ
株式会社東レリサーチセンター
株式会社ナノシード
株式会社ニコン
株式会社ニコンインステック
浜松ホトニクス株式会社
株式会社ビジコムジャパン
株式会社ファンケル
横河電機株式会社
ライカマイクロシステムズ株式会社
株式会社ライトストーン
理科研株式会社

※50音順、敬称略

バイオイメージング 第 27 巻第 2 号

平成 30 年 8 月 24 日発行

発行所：日本バイオイメージング学会

〒223-8522 神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1

慶應義塾大学工学部生命情報学科 生物物理・神経情報学研究室

電話：042-676-5498 ; FAX：042-676-5863

E-mail: office@j-bioimaging.org

URL: <http://j-bioimaging.org/>

第27回日本バイオイメージング学会学術集会 講演要旨集

広告掲載企業 一覧 (※五十音順、敬称略)

表4	ソーラボジャパン株式会社
表2	株式会社ファンケル
表3	クロマテクノロジージャパン合同会社
後付	株式会社アートレイ
	アンドール・テクノロジー Ltd
	株式会社池田理化
	ケイエルブイ株式会社
	五稜化薬株式会社
	コーンズテクノロジー株式会社
	セブンシックス株式会社
	株式会社生体分子計測研究所
	東京化成工業株式会社
	株式会社東陽テクニカ
	株式会社東レリサーチセンター
	株式会社ナノシード
	浜松ホトニクス株式会社
	株式会社ビジコムジャパン
	横河電機株式会社
	株式会社ライトストーン
	理科研株式会社

近赤外線カメラ



InGaAsカメラ

検出波長帯域
900 ~ 1700nm

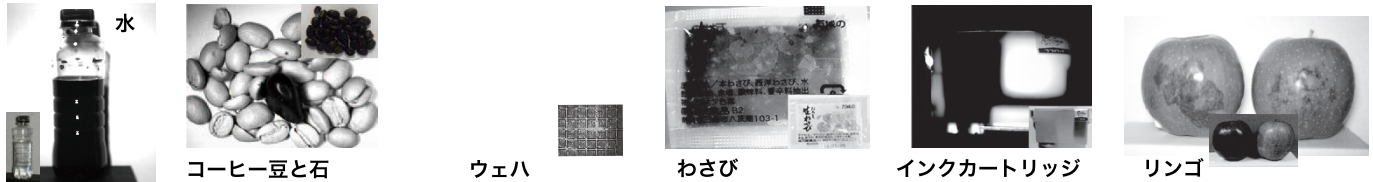
USB 3.0

Camera Link

USB 2.0

NTSC/PAL

画素数	型番	センサメーカー	検出波長帯域	出力画素数	フレームレート	有効撮像面積	画素サイズ	シャッタースピード	インタフェース	A/D分解能	外部トリガ	アナログ出力
SXGA 1.3MP	ARTCAM-130SWIR	SGL Semiconductor Devices	400 ~ 1700nm	1280 × 1024	30fps	12.8 × 10.24mm	10 × 10 μm	1/25706 ~ 1.27秒	USB3.0 Camera Link	13bit	✓	
	ARTCAM-032TNIR	HAMAMATSU	950 ~ 1700nm	640 × 512	62fps	12.8 × 10.24mm	20 × 20 μm	1/1000000 ~ 1秒	USB3.0	14bit	✓	✓
VGA 640×512	ARTCAM-031TNIR	CHUNGHWA LEADING PHOTONICS TECH	900 ~ 1700nm		27fps	16.0 × 12.8mm	25 × 25 μm	1/1833333 ~ 4.408	USB2.0	12bit	✓	
	QVGA 320×256	ARTCAM-009TNIR	HAMAMATSU	950 ~ 1700nm	320 × 256	228fps	6.4 × 5.12mm	20 × 20 μm	1/1000000 ~ 1秒	USB3.0	14bit	✓
ARTCAM-008TNIR		CHUNGHWA LEADING PHOTONICS TECH	900 ~ 1700nm	90fps		9.6 × 7.68mm	30 × 30 μm	1/25706 ~ 1.27秒	USB2.0	✓		
128 × 128	ARTCAM-0016TNIR	HAMAMATSU	950 ~ 1700nm	128 × 128	258fps	2.56 × 2.56mm	20 × 20 μm	1/1000000 ~ 0.013秒	USB2.0	14bit	✓	



InGaAs/GaAsSbカメラ

型番	ARTCAM-2350SWIR	ARTCAM-2500SWIR
検出波長帯域	1000nm~2350nm	1000nm~2500nm
有効画素数	320(H) × 256(V)	
インターフェイス	Camera Link	
フレームレート	320fps	
受光素子冷却方式	電子冷却(-75度)	
画像出力ビット長	16bit階調(0~65535)	
電源電圧	DC24V	
レンズマウント	Cマウント	
外形寸法	90(W)X170(H)X110(D)mm	
重量	約2500グラム	

住友電工製センサ使用!

検出波長帯域
1000 ~ 2500nm

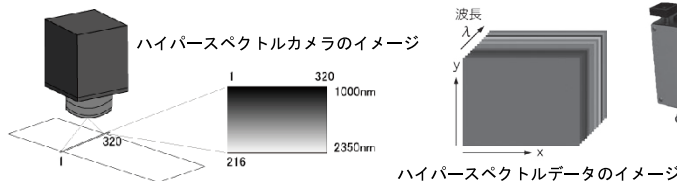
Camera Link



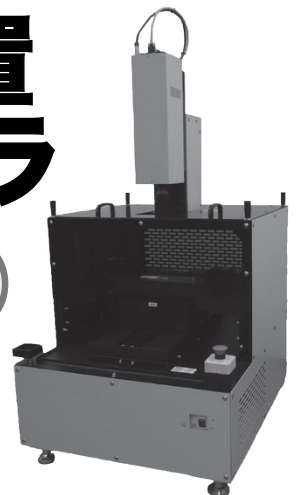
二次元近赤外線分光装置 ハイパースペクトルカメラ

通常のカメラで撮影した画像は二次元の情報のみですが、ハイパースペクトルカメラの場合、二次元の情報に光を細かく分光したハイパースペクトルデータ（波長情報）を追加します。

そのため、通常では判別できない物質特性や状態を判定することができます。



測定波長帯域
1000 ~ 2350nm



Widefield
+
SRRF-Stream

Widefield
Only



Dragonfly

The most flexible imaging solution ever!

High Speed Confocal Platform

The game-changer in confocal microscopy - with the Andor Dragonfly you can image at an unrivalled, multi-modal combination of instant confocal, widefield and TIRF.

www.andor.com/jp/dragonfly

SRRF-STREAM SUPER-RESOLUTION TECHNOLOGY

SRRF-Stream is a *real time* super-resolution functionality that operates exclusively on Andor's iXon Life and iXon Ultra EMCCD cameras.

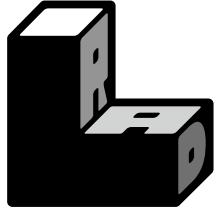


www.andor.com/srrf-stream

ANDOR
an Oxford Instruments company

未採択の申請書 を利用した オープンイノベーションプラットフォーム

- エルラド -

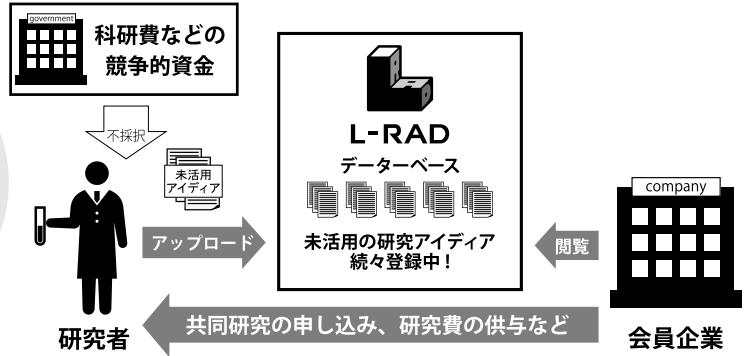


L-RAD

リバネス - 池田 研究開発促進システム powered by COLABORY

詳細はコチラ！

L-RADに登録して
研究費を
獲得しませんか？



 **株式会社 池田理化**

<http://www.ikedarika.co.jp>

八王子・小金井・鶴見・横浜・藤沢・平塚・三島・藤枝・名古屋・大阪・岩国・千葉・つくば・埼玉・宇都宮・仙台・札幌

本社

〒101-0044 東京都千代田区鍛冶町1-8-6 神田KSビル

TEL:03-5256-1811 FAX:03-5256-1818



ゲノム
研究

再生
医療

創薬

分析

研究
設備

試薬
消耗品

受託

様々な
研究用機器/
試薬/消耗品
をご提供



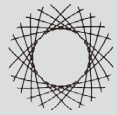
理科研株式会社

www.rikaken.co.jp

- 本社 〒460-0007 名古屋市中区新栄一丁目 33 番 1 号
TEL: 052-241-5351 代 E-mail: honsya@rikaken.co.jp
- 三重支店 〒514-0103 三重県津市栗真中山町 43 番地 1
TEL: 059-236-5511 E-mail: mie@rikaken.co.jp
- 岐阜営業所 〒500-8225 岐阜県岐阜市岩地二丁目 25 番 2 号
TEL: 058-240-0721 E-mail: gifu@rikaken.co.jp
- 大阪営業所 〒562-0035 大阪府箕面市船場東三丁目 6 番 62 号
TEL: 072-726-5351 E-mail: osaka@rikaken.co.jp

- 東京支社 〒113-0033 東京都文京区本郷三丁目 44 番 2 号
TEL: 03-3815-8951 代 E-mail: tokyo@rikaken.co.jp
- 宇都宮分室 〒321-0932 栃木県宇都宮市平松本町 805-45
TEL: 028-613-3451
- 目黒支店 〒153-0042 東京都目黒区青葉台三丁目 12 番 6 号
TEL: 03-3477-7251 E-mail: meguro@rikaken.co.jp
- 多摩営業所 〒187-0022 東京都小平市上水本町二丁目 18 番 20 号
TEL: 042-329-8651 E-mail: tama@rikaken.co.jp
- つくば支店 〒305-0074 茨城県つくば市高野台三丁目 16 番地 2 号
TEL: 029-839-1251 E-mail: tsukuba@rikaken.co.jp
- 千葉営業所 〒260-0842 千葉県中央区南町三丁目 2 番 1 号
TEL: 043-305-1751 E-mail: chiba@rikaken.co.jp
- 仙台営業所 〒984-0051 仙台市若林区新寺三丁目 5 番 40 号
TEL: 022-352-4851 E-mail: sendai@rikaken.co.jp
- 神奈川支店 〒227-0045 横浜市青葉区若草台 1 番地 5
TEL: 045-530-0151 E-mail: kanagawa@rikaken.co.jp
- 鶴見営業所 〒230-0033 横浜市鶴見区朝日町一丁目 49 番地
TEL: 045-500-4551 E-mail: tsurumi@rikaken.co.jp
- 鎌倉営業所 〒248-0036 神奈川県鎌倉市手広六丁目 1 番 1 号
TEL: 0467-39-2151 E-mail: kamakura@rikaken.co.jp
- 三島営業所 〒411-0943 静岡県駿東郡長泉町下土狩 217 番地 1
TEL: 055-980-1101 E-mail: mishima@rikaken.co.jp
- 静岡営業所 〒422-8005 静岡県駿河区池田 379 番地
TEL: 054-208-5351 E-mail: shizuoka@rikaken.co.jp





ARGOLIGHT
A Precision Company

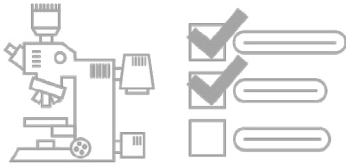
蛍光顕微鏡用 品質管理ツール

毎日使っている**蛍光顕微鏡**、正しく**校正**していますか？**アルゴスライド**は取り扱いが簡単で**3年以上安定してご使用頂けます**。

従来方式の**蛍光ビーズ**や**蛍光板**では**不可能**だった、**照明の均一性**、**強度応答性**、**スペクトル応答性**など、**一度に複数の項目を管理**することが出来ます。

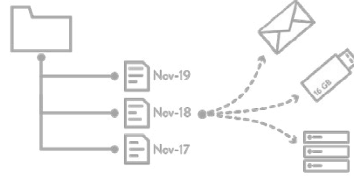


疑いの排除



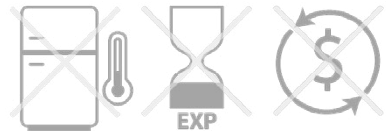
信頼性の高い検査結果を提供します。
異常検出時には推定要因に素早くアクセスし、回復させます。

簡単にデータを記録、共有可能



データを自動で記録し、選択した専用フォルダーに保存します。データは共通のフォーマットで保存されます。

取り扱いが容易



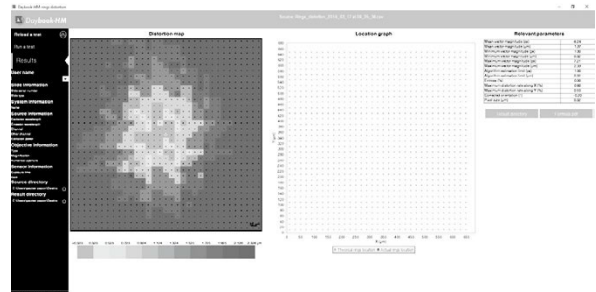
消耗部品等を新たに購入する必要はありません。
通常の光学部品と同じで冷蔵不要で、保管、取り扱いが容易です。

Daybook 品質管理システムは、**極めて安定性に優れた検査用ハードウェア**と**非常に効率的な画像処理ソフトウェア**を組み合わせたもので、**蛍光顕微鏡向けの迅速で信頼性の高い品質管理ソリューション**を提供します。

ハードウェア



ソフトウェア



お問い合わせ



クイエルビー株式会社

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町1-1
TEL : 03-3258-1238 (代) FAX : 03-3258-5689
URL : www.klv.co.jp E-mail : tolawase@klv.co.jp

●記載内容は、改良のため予告なく変更する場合がございますので、ご了承ください。

IMAGING BEYOND BARRIERS!

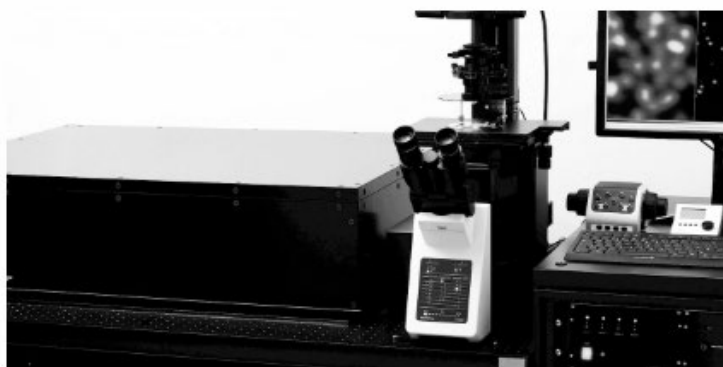


ノーベル化学賞受賞後に加速した超解像顕微鏡の最新テクノロジーをすべての研究者にお届けします。



Stefan W. Hell and co-founders

Expert Line
STED / RESOLFT



Compact Line
STEDYCON & EPYCON



At the physical limits

- ✓ High-end / customized
- ✓ Cutting edge 2D & 3D STED
- ✓ Continuously upgradable
- ✓ Multiple STED options
- ✓ Powerful software

Expands any microscope stand to STED + confocal...

- ✓ Compact / rugged / ergonomic
- ✓ Cutting-edge 2D STED
- ✓ Installation within minutes; plug & play STED + confocal imaging
- ✓ Fits any microscope body
- ✓ Intuitive software

超解像顕微鏡のご相談・デモのご用命は下記まで



Super resolution STED microscopes
from its inventors

コーンズテクノロジー株式会社

電子機器・装備営業部 バイオチーム

〒105-0014

東京都港区芝3丁目5番1号 コーンズハウス

Tel. 03-5427-7564

E-mail:ctl-science@cornes.jp

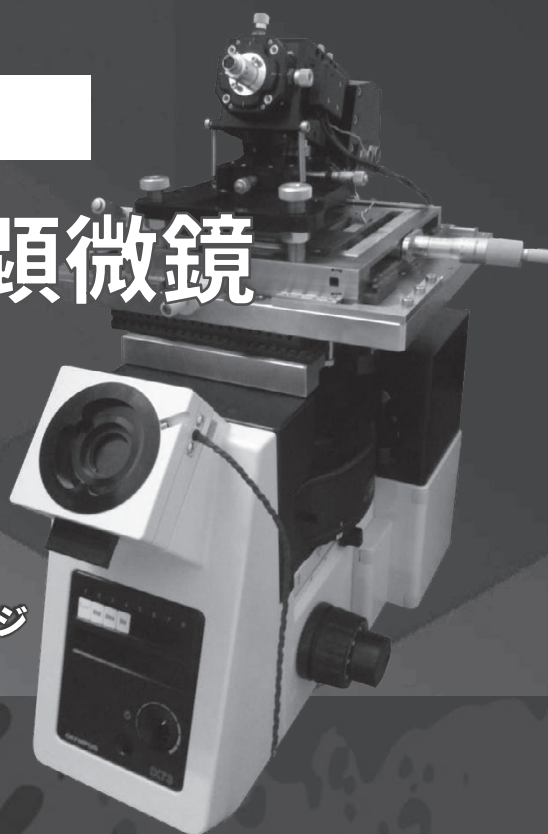
細胞ダイナミクスを解き明かす

動画AFM × 光学顕微鏡

プローブスキャン型高速原子間力顕微鏡

PS-NEX

- 光学顕微鏡と同時観察可能
- サンプルサイズの制約緩和
- 高速プローブスキャンシステム+粗動ステージ



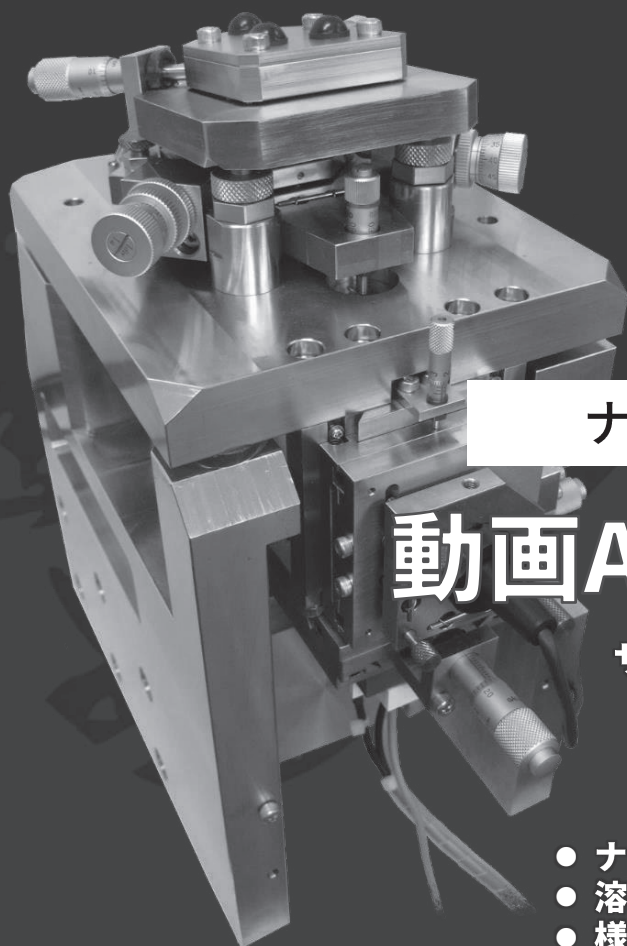
ナノスケールの動態を直接見る

動画AFM × 機能拡張

サンプルスキャン型高速原子間力顕微鏡

SS-NEX

- ナノスケール・リアルタイム動画観察の実現
- 溶液中での反応過程観察
- 様々なニーズに対応した豊富なオプション

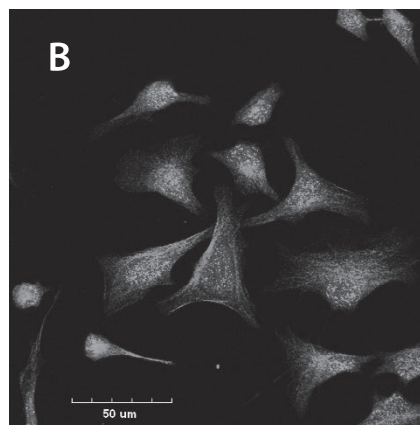
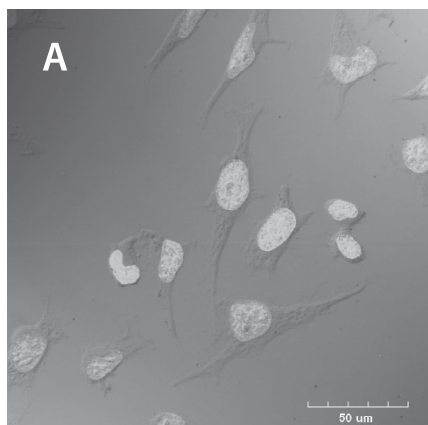


細胞イメージング試薬

DAPI-2HCl [for Biochemical Research] (Blue Fluorescence) 5mg 5,300円 [A2412]

Goat Anti-Mouse IgG FITC Conjugate (Green Fluorescence)
0.1mg / 1vial 12,000円 [G0406]

使用例



- (A) 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ **A2412**(青色)で蛍光染色したHela細胞核
 (B) マウス抗 α チューブリン抗体で標識した後に, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の二次抗体 **G0406**(緑色)で
 蛍光染色したHela細胞。細胞核は1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ **A2412**(青色)で蛍光染色。

レーザー走査顕微鏡: Olympus FLUOVIEW FV 3000

関連製品

Goat Anti-Rabbit IgG FITC Conjugate (Green Fluorescence)
0.1mg / 1vial 12,000円 [G0452]

Goat Anti-Mouse IgM FITC Conjugate (Green Fluorescence)
0.1mg / 1vial 12,000円 [G0453]

Streptavidin FITC Conjugate (Green Fluorescence) 0.1mg / 1vial 12,000円 [S0966]

Goat Anti-Mouse IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate (Red Fluorescence)
0.1mg / 1vial 40,000円 [G0505]

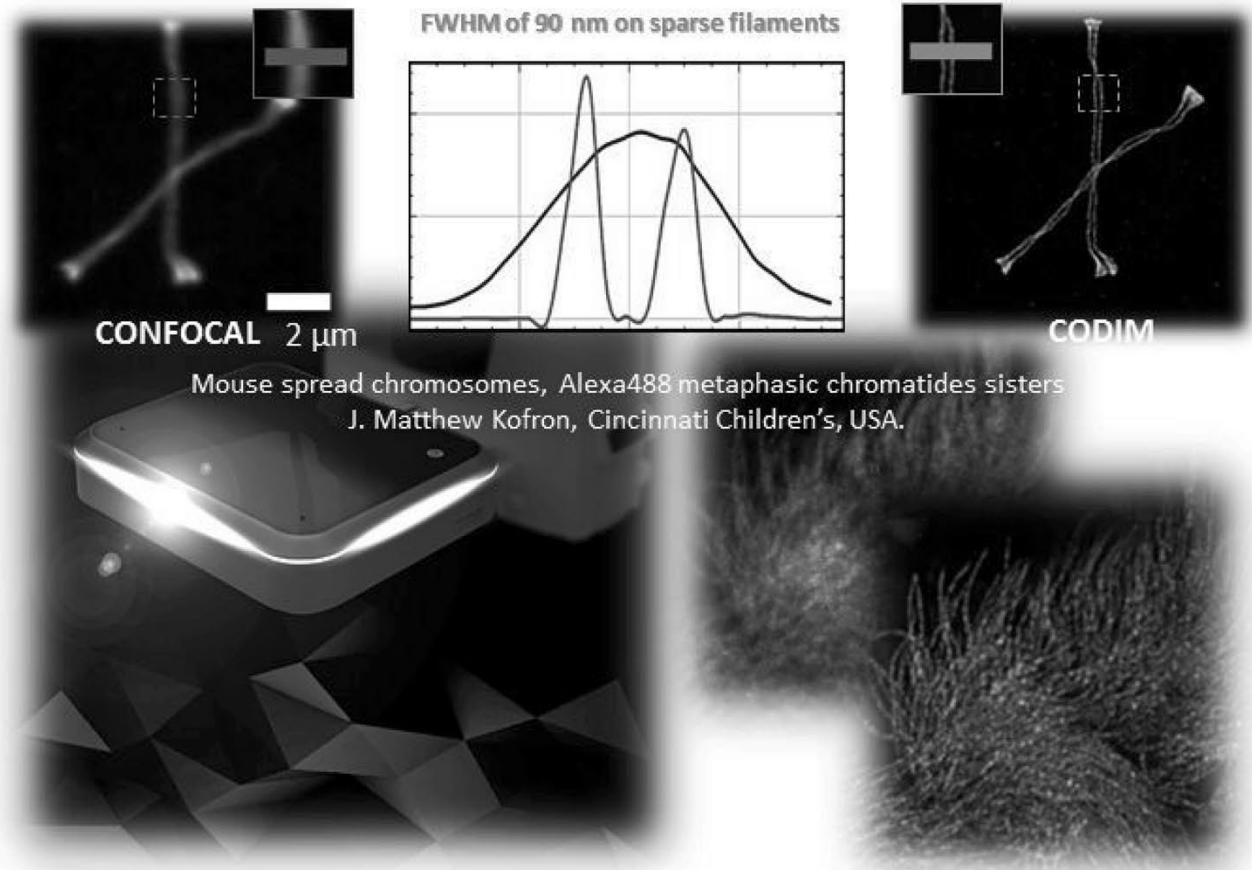
Goat Anti-Rabbit IgG DTBTA-Eu³⁺ Conjugate (Red Fluorescence)
0.1mg / 1vial 40,000円 [G0506]

Streptavidin DTBTA-Eu³⁺ Conjugate (Red Fluorescence)
0.1mg / 1vial 40,000円 [S0993]

ATBTA-Eu³⁺ [DTBTA-Eu³⁺ Labeling Reagent] (Red Fluorescence) 10mg 9,600円 [A2083]

Bisbenzimidazole H 33258 Hydrate [for Biochemical Research] (Blue Fluorescence)
25mg 5,500円 [H1343]

お手持ちの蛍光顕微鏡で簡単に超解像を実現！！
ユニバーサルCODIM
 超解像イメージ取得用アドオンモジュール



Mouse spread chromosomes, Alexa488 metaphasic chromatides sisters
 J. Matthew Kofron, Cincinnati Children's, USA.

ユニバーサルCODIMは、世界唯一の円錐回折 (Conical Diffraction) 技術により通常の蛍光顕微鏡で、90nmの超解像度を実現します。

- ユニバーサルCODIMは顕微鏡の標準Cマウントに接続する方式で蛍光顕微鏡や共焦点顕微鏡へ容易に実装できます。
- 本装置は、低光毒性・低光退色を実現できるスポットビーム走査光源の導入によりライフサイエンス領域で有効とされる解像度90nmの超解像度イメージングプラットフォームが実現できます。
- ライブセル計測で必須とされる、タイムラプスによる長時間・低毒性イメージの取得に対応します。
- ライブセル計測は標準的な蛍光顕微鏡ワークフローで運用可能です。
 (ライフサイエンス用蛍光顕微鏡 & 共焦点顕微鏡に対応) (従来の蛍光試薬に対応)
- 標準で3色レーザー、最大6色(オプション)のマルチカラーに対応します。
- 設置場所をとらないコンパクト設計 (457W x 147H x 558D 突起部は含まず)

株式会社 東陽テクニカ ナノイメージング&アナリシス

〒103-8284 東京都中央区八重洲1-1-6
 TEL.03-3279-0771 FAX.03-3246-0645 E-Mail: bunseki@toyo.co.jp

大 阪 支 店 〒532-0003 大阪府大阪市淀川区宮原1-6-1(新大阪ブリックビル)	TEL.06-6399-9771	FAX.06-6399-9781
名 古 屋 営 業 所 〒465-0095 愛知県名古屋市名東区高社1-263(一社中央ビル)	TEL.052-772-2971	FAX.052-776-2559
宇 都 宮 営 業 所 〒321-0953 栃木県宇都宮市東宿郷2-4-3(オカバ宇都宮ビル)	TEL.028-678-9117	FAX.028-638-5380
電 子 技 術 セ ン タ ー 〒103-8284 東京都中央区八重洲1-1-6	TEL.03-3279-0771	FAX.03-3246-0645
テ ク ノ ロ ジ ー イ ン タ ー フ ェ ー ス セ ン タ ー 〒103-0021 東京都中央区日本橋本石町1-1-2	TEL.03-3279-0771	FAX.03-3246-0645

本カタログに記載された商品の機能・性能は断りなく変更されることがあります。

Technology & Trust

東レリサーチセンターは、高度で幅広い分析技術と豊富な経験を用いて、皆様の研究開発や製造におけるさまざまな問題解決をお手伝いします。

設立：1978年6月

企業理念：高度な技術で社会に貢献する

モットー：信頼性の高い技術を提供します (Technology)
機密保持を厳守します (Trust)



LSI
Memory
Power Device
Opt Device

Semiconductor



*Analysis
Problem solving
Patent litigation
Investigative research*

Display device
LCD/OLED
Battery / Cell
LIB/FC/SC

Electronic
Device

TRC's
Comprehensive
Technical
Capability



Industrial
Materials,
Environment

Pharmaceutical
Bio-technology

Organic Materials
Inorganic Materials
Polymer, Metal,
Ceramics, Catalyst

Structural analysis
Bio-medical
Pharmacokinetic Studies
Stability testing
Specification test

Techniques

- Morphological Study : FIB, TEM/STEM, SEM, EDX, EELS, SPM
- Surface Analysis : SIMS, TOF-SIMS, XPS, AES, EPMA, RBS/HFS
- Structure Analysis : IR, Raman, NMR, ESR, CL/PL, XRD
- Material Characterization : Mechanical, Rheological, Thermo-Physical and Electrical Properties
- Organic Analysis : IR, GC, GC/MS, LC, LC/MS, NMR
- Inorganic Analysis : ICP-AES, ICP-MS, IC, XRF
- Ion implantation Service
- Pharmaceutical Analysis : Appearance, Purity & Impurity, Assay, General tests etc.

株式会社 東レリサーチセンター

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町一丁目1番1号 TEL. 0120-95-2186, 03-3245-5665 FAX 03-3245-5804
e-mail: bunseki@trc.toray.co.jp URL: <http://www.toray-research.co.jp>

超解像顕微鏡 解像度評価ツール ナノルーラー

DNA折り紙技術により製造された「ナノルーラー」は
2点の蛍光色素が一定の幅(6~350nm)で発光します。
ナノルーラーは、ドイツGATTAquant社が開発しました。

- ◎超解像顕微鏡の性能確認
- ◎均一サンプルによる顕微鏡の性能比較
- ◎トラブルシューティング

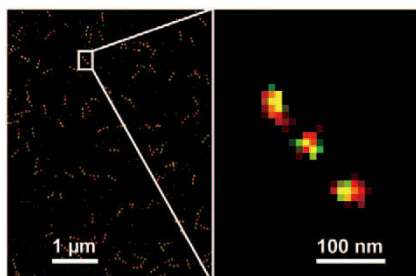
対象顕微鏡

- SIM/STED/共焦点顕微鏡
- STORM/DNA-PAINT



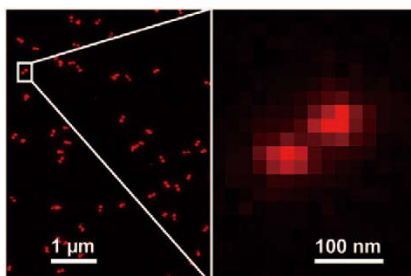
画像例

DNA-PAINT ナノルーラー
3つのスポットを持つタイプです。



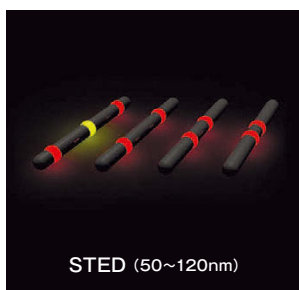
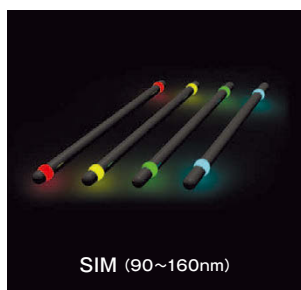
(幅:40nm,ATTO655)

GATTA-STED 90R ナノルーラー



(幅:90nm)

各種ラインナップあり、カスタム対応も可能です。(幅、蛍光色素)



製品の詳しい情報はホームページ、又はお気軽にご連絡ください。



NANOXEED
<https://nanoxeed.co.jp/>

株式会社 ナノシード

〒182-0022 東京都調布市国領町2-5-15 コクティ-3F スモールオフィス
✉ info@nanoxeed.co.jp ☎ 03-4405-3913



オルカ フラッシュ
ORCA-Flash4.0V3

デジタルCMOSカメラ

量子効率
82% (Peak QE)

感度
0.8 electrons

画素数
400万画素

高速読み出し
100フレーム/秒

ダブルビュー ジェミニ
W-VIEW GEMINI-2C

イメージスプリッティング光学系

超解像性能

高ユニフォミティ

1ピクセルレベル
の色スレ制御

容易な位置合わせ

多波長同時イメージング

高性能 CMOS カメラとイメージスプリッティング光学系を組み合わせ
超解像性能での多波長同時イメージングを実現。

新しい情報を随時紹介

ライフサイエンスカメラのリーディングカンパニー浜松ホトニクスは、ライフサイエンス分野において高い性能の顕微鏡用カメラを開発してきました。ORCA-Flash 4.0 V3は、科学計測用CMOSイメージセンサを搭載し、400万画素の高解像度でありながら、100 フレーム/秒の高速読み出しや低ノイズを実現し、好評をいただいています。このORCA-Flash 4.0 V3とイメージスプリッティング光学系 W-VIEW GEMINI-2Cを組み合わせることにより、超解像性能での多波長同時イメージングを実現しました。浜松ホトニクスのライフサイエンス分野の製品情報は、弊社の顕微鏡イメージング専用Webサイトで紹介しています。



浜松ホトニクス株式会社 WEB SITE www.hamamatsu.com

□システム営業推進部 〒431-3196 浜松市東区常光町812 TEL (053)431-0150 FAX (053)433-8031 E-Mail sales@sys.hpk.co.jp

"詳細情報は、Webから"

ホトニクス ライフサイエンス

検索

最新カタログをPDFデータで掲載しています。
ぜひ、アクセス・ダウンロードしてください。

in vitro & in vivo イメージング用製品

Flamma® シリーズ

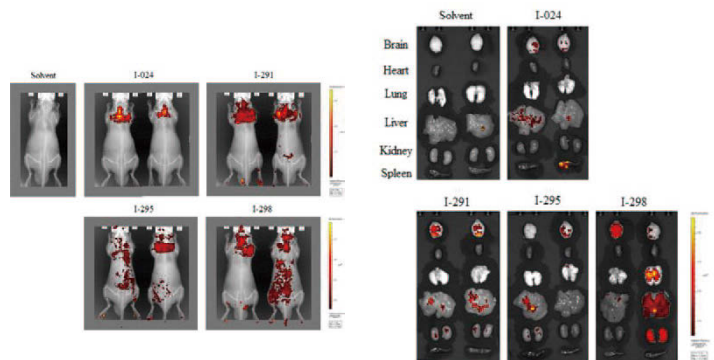
- ▶ 優れた蛍光強度と水中での安定性を兼ね備えた蛍光試薬
- ▶ ラベリングのための各種官能基 (NHS, Amine, Vinyl Sulfone etc.) を有するものをご用意

Flamma® Fluorophore

Flamma® Fluor	λ_{Ex} (nm)	λ_{Em} (nm)	励起レーザー波長	対応する既存試薬
Flamma® 406	401	434	LIV	A405, Cascade Blue®, D405, C405, Pacific Blue®
Flamma® 496	496	516	488 nm Laser	FAM, FITC, Fluorescein
Flamma® 488	495	519	488 nm Laser	A488, C2, D488, C488, A488
Flamma® 552	550	565	532, 543, 546, 555 or 568 nm Laser	A555, C3, D549, C488, A488
Flamma® 553	554	584	532, 543, 546, 555 or 568 nm Laser	A546, TRITC
Flamma® 560	560	589	532, 543, 546, 555 or 568 nm Laser	A568, C568, A565, TRITC
Flamma® 648	648	663	663, 635, or 640 nm Laser	A647, C5, D649, C647, A647N
Flamma® 675	675	691	680 or 685 nm Laser	A680, C5.5, D680, C680, I680LT
Flamma® 749	749	774	680, 685, or 750 nm Laser	A750, C7, D750, C750, I750
Flamma® 774	774	806	785 nm Laser	C7.5, C770
Flamma® 800	775	795	785 nm Laser	A790, D800, C790, I800CW

BBB Flamma® シリーズ

- ▶ 2018 年上市の新製品
- ▶ BBB(Blood Brain Barrier) を通過して脳組織のイメージングが可能



ポリサルコシンを利用したナノキャリア

ポリサルコシン - PEG に代わる新素材

特徴

- ▶ 生分解性があり、免疫原性を持ちません
- ▶ タンパク質に対する非特異的吸着を起こしません
- ▶ 水および有機溶媒のいずれにも高い溶解性を示します
- ▶ 200-220 nm に吸収を持つため、HPLC および紫外可視吸収スペクトルでの検出が可能です。分析用途でもお使いいただけるグレードで提供いたします。

* ポリサルコシンを用いることで従来の PEG 修飾化合物との差別化が可能です。

- 日本国内のお問い合わせは -

株式会社ビジコムジャパン

〒141-0022 東京都品川区東五反田 5-28-1 K2 ビル 7 階

TEL. 03-6277-3233 FAX. 03-6277-3265

e-mail: sales@bizcomjapan.co.jp HP: bizcomjapan.co.jp

約120nm※のXY分解能

スピニングディスク共焦点をベースにした超解像技術で光学的に約1.4倍分解能が向上しました。さらにデコンボリューションを行うことで、最終的に光学限界の約2倍の分解能を実現します。

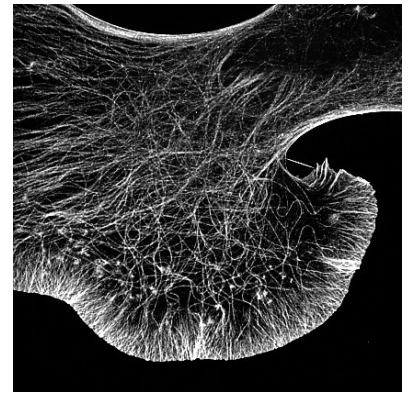
※：デコンボリューションを含めた場合の参考値

アプリケーション例：

NG108細胞の成長円錐

画像ご提供：

産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 加藤薫先生



超解像ライブセルイメージングに最適

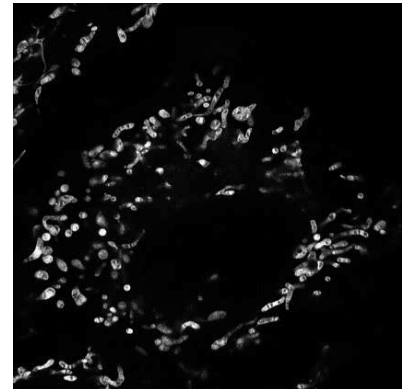
CSUの特長である高速リアルタイムイメージングを、超解像でも行うことが可能です。さらに、退色・光毒性を抑えたライブセルイメージングが可能です。

アプリケーション例：

ミトコンドリアのリアルタイムライブセルイメージング(10FPS)

画像ご提供：

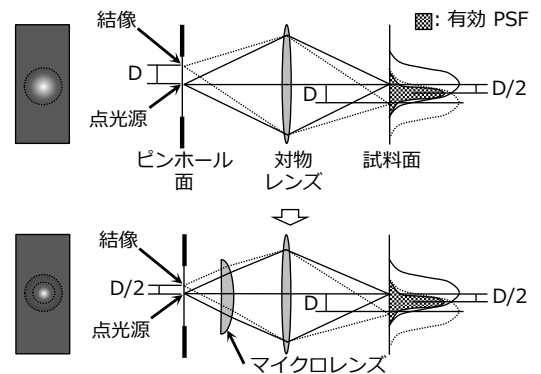
産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 加藤薫先生



SoRa超解像の原理

通常の共焦点顕微鏡の結像関係は、照明系のPSF（点像分布関数）と検出系のPSFとの積で表されます。ピンホールの光軸中心からDの位置の結像を考察しますと、図のように照明系のPSFと検出系のPSFの積となり、光軸中心からD/2の位置情報を中心として伝達されていることが分かります。これはすなわちD/2の位置の情報がピンホール上ではDに拡大されていることと同等になります。これを補正するために、マイクロレンズを用いてピンホールに投影される個々の焦点を1/2に光学的に縮小することにより、理想的な結像関係となります。

この場合の分解能は、ピンホールを無限小に小さくした場合の理想的な共焦点顕微鏡とほぼ等しくなり、通常の共焦点顕微鏡の約1.4倍の向上が見込めます。しかも明るく、高速で、細胞にやさしいCSUの特徴はそのまま維持されます。



High-speed Super-resolution Confocal Scanner

CSU-W1 SoRa

Confocal Scanner Unit

Super resolution via optical re-assignment



●お問い合わせ先

横河電機株式会社 ライフイノベーション事業本部 バイオソリューションセンター

(076) 258-7028 〒920-0177 石川県金沢市北陽台2-3

E-mail : CSU@CSV.yokogawa.co.jp

Website : <https://www.yokogawa.co.jp/solutions/products-platforms/life-science/>

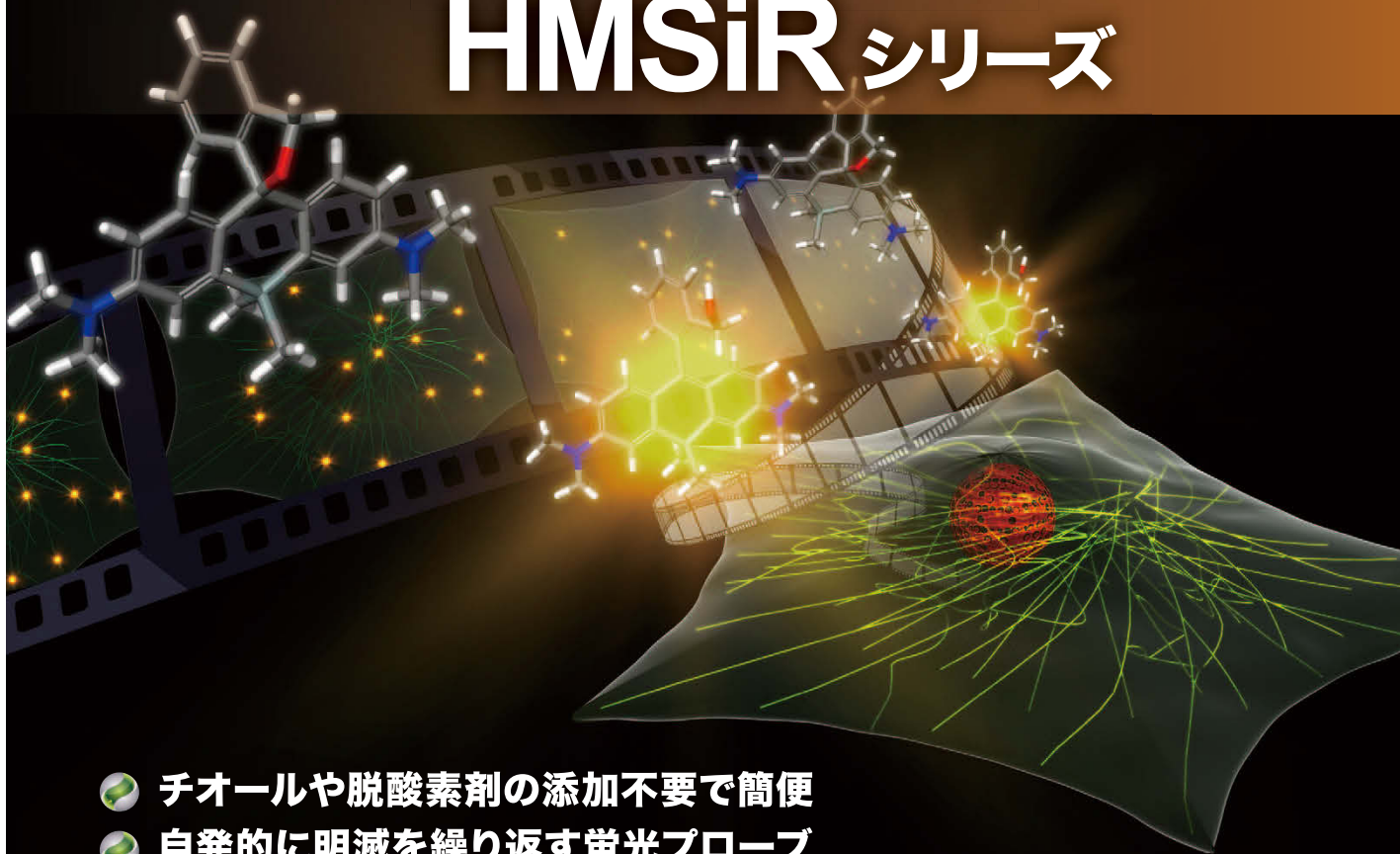


Website

魅せる^{●●●●●}蛍光、五稜化薬。

超解像イメージング用蛍光試薬

HMSiRシリーズ

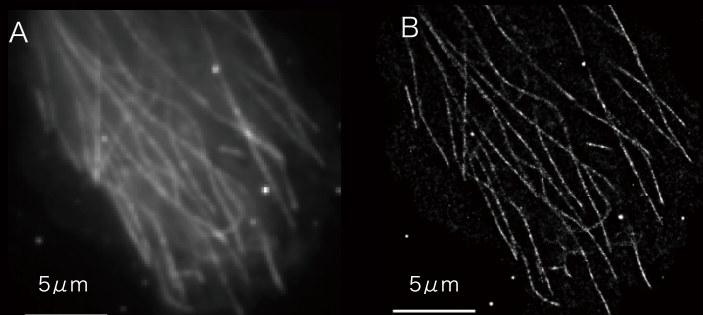


- チオールや脱酸素剤の添加不要で簡便
- 自発的に明滅を繰り返す蛍光プローブ

超解像顕微鏡技術の dSTORM や PALM は蛍光色素の明滅を利用したイメージング手法です。これまで色素の明滅はチオールや脱酸素剤の添加および高出力レーザー照射が必要でした。五稜化薬の HMSiR は、前述の処理なしに自発的に明滅を起こす蛍光プローブです。これにより生理的条件下での超解像イメージングを実現しました。

※ dSTORM: direct stochastic optical reconstruction microscopy

※ PALM: photo activated localization microscopy



HaloTag®-β-tubulinを発現させたVelo細胞を HMSiR-Haloで染色し、STORM顕微鏡にて観察。平均化画像 (A) に比べ、超解像画像 (B) では微小管構造がより明瞭に確認できる。

Velo細胞内における微小管の超解像ライブイメージング

※HaloTag® は、Promega社の登録商標です。



蛍光色素の専業メーカー
五稜化薬株式会社

〒060-0008 札幌市中央区 北8条 西18丁目 35番地100 エアリービル5階
TEL: 011-624-5860 FAX: 011-351-1822
MAIL: info@goryochemical.com URL: http://www.goryochemical.com

登録者限定キャンペーンなどお得情報満載のメールニュース好評配信中！
ぜひご登録ください。



五稜化薬 メールニュース

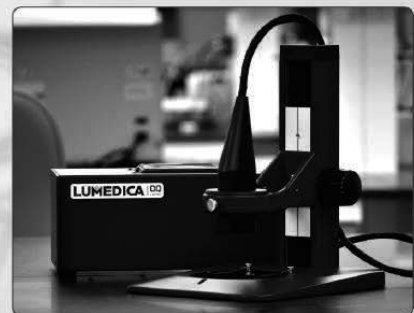


圧倒的ローコストな 眼科研究用 SD-OCT

LUMEDICA

網膜イメージングに適した圧倒的にローコストなSD-OCTシステムです。このSD-OCTシステムには光源、干渉計、検出器、サンプルスキャナ、コンピュータ、ソフトウェアが全て含まれています。

携帯電話に採用されている非常に安価な部品を用い、さらに製造工程を合理化することで、OCT1台を構築するのにかかる時間を数時間まで圧縮しています。これにより、高性能でありながら低価格を実現しています。



眼底検査研究用SD-OCTシステム

小動物の眼を用いた眼底イメージングの基礎研究に適しています。中心波長840nmの光源に適したサンプルであればどのようなサンプルでもイメージング可能です。OCTの研究をこれから始める方だけでなく、OCTを用いて研究対象の試料を検査してみたいとお考えの方に最適な入門用OCTとなっています。

◆ 特長

- ・低価格：～\$10,000
- ・オールインワン構成
- ・小型・堅牢（靴箱サイズ）
- ・光源中心波長：840nmのSLED
- ・イメージサイズ：512×512px
- ・Bスキャン速度：19/sec
- ・スキャン範囲：7mm×7mm
- ・分解能
深さ方向：5 μ m in tissue
横方向：15 μ m

◆ 用途

- ・網膜イメージングの研究用途
- ・OCTを用いた基礎研究
- ・教育用途

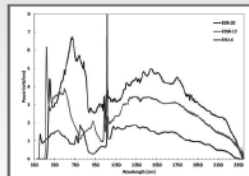
高出力・高ビーム品質 白色レーザー SuperK EXTREME

可視域でガウシアンビーム特性を持つ、唯一の 高出力白色スーパーコンティニュームレーザー



仕様

平均出力 (mW)	1800 ~ 6000
繰り返し周波数 (MHz)	2 ~ 78
ビーム品質	1.1
対応波長 (nm)	400 ~ 2400



用途

- ・プラズモニクス&メタマテリアル
- ・蛍光寿命イメージング (FLIM) /
蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)
- ・光コヒーレンストモグラフィ (OCT) / 白色干渉系
- ・分光
- ・顕微鏡 (超解像顕微鏡も含む)

特長

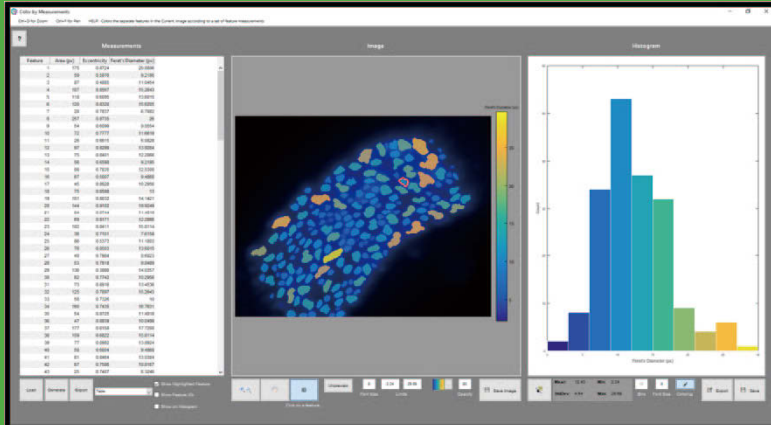
- スペクトル 400 - 2400 nm
- 高出力 600 - 2000 mW @ 350 - 850 nm
- M2 < 1.1
- 無偏光 (Un-polarized)
- 光パルスの高繰り返し周波数 78MHz
- アライメントフリー、メンテナンスフリー
- 繰り返し周波数可変オプションあり
- 12ヶ月 or 24ヶ月保証 (保証の延長オプションあり)

sevensix
www.sevensix.co.jp

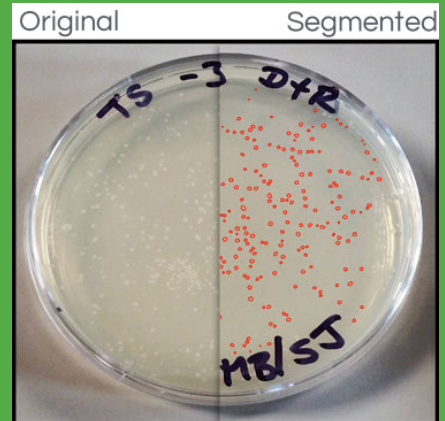
セブンシックス株式会社
東京都港区麻布十番1丁目5番18号 カートプラン麻布十番7階
E-mail : info@sevensix.co.jp TEL : 03-6721-1077

粒子や結晶の構造解析・測定に最適！ 画像解析ソフトウェアMIPAR

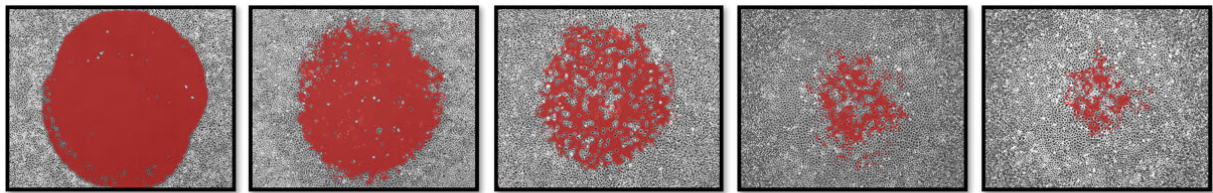
MIPAR(マイパー)はマウスで簡単に操作できるプログラム**いらす**の画像解析ソフトウェアです。比類なき検出能力と測定機能を有しており、粒子解析(粒径分布、粒子数、粒子面積)をはじめ金属材料、鉱物、医薬、生命科学などの様々な分野にご利用頂けます。



レシピを設定して顕微鏡画像から抽出した各オブジェクトを測定



シャレ画像から直接オブジェクトを抽出/測定

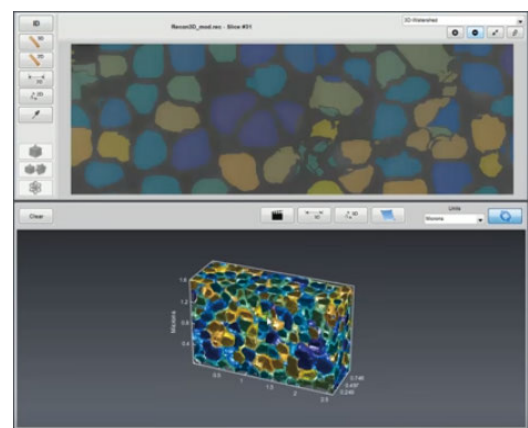


Time Series

同じレシピ条件で、細胞の回復を時系列に検出した例

<MIPARの主な機能>

- ①メニュー操作だけで、セグメント分割、パターン認識、エッジ抽出、セルのカウントなど、様々な検出が行えます。
- ②レシピ(画像検出設定、測定設定)を自由に作成・保存・編集でき、複数の画像処理に利用できます。
- ③バッチ機能にて、同じレシピで多数の画像を一括処理できます。
- ④検出した細胞や粒子の各種測定(面積など)を行い、CSV/TXTファイルで出力します。



3DオプションでFIB-SEM積層画像を構築

WindowsOS (64bit) 及びMacに对应 永年/年間ライセンスから選択可

操作方法や見積りの
お問い合わせはこちらまで! ⇒

正規国内代理店
 LightStone®
株式会社 ライトストーン

〒101-0031
東京都千代田区東神田2-5-12 龍角散ビル7F
TEL 03-3864-5211 FAX 03-3865-0050
e-Mail : sales@lightstone.co.jp
https://www.lightstone.co.jp/

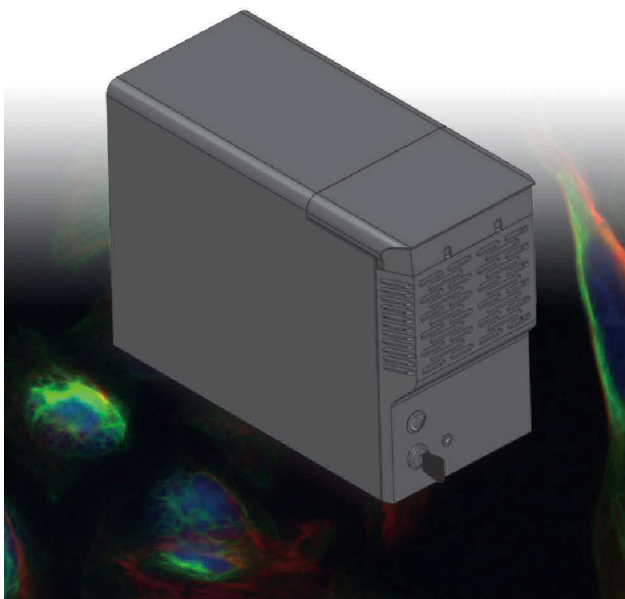
クロマテクノロジー社は、フィルターと光源を通じて
蛍光に関するお悩みにお応えします。

NEW PRODUCT Narrow Bandpass **バンド幅 3nm以下**
狭帯域バンドパスフィルター ハードコート・永年保証

	ET226 /2bp	ET250 /2bp	ET316 /2bp	CT400.9 /1bp	ET473.9 /1.5bp	ZET523 /1bp	ET561 /2bp	CT589 /1bp	CT625 /2bp	CT681.5 /3bp	CT808 /3bp	CT1030 /3bp
中心波長	226nm	250nm	316nm	401nm	474nm	523nm	561nm	589nm	625nm	682nm	808nm	1030nm
FWHM	2nm	2nm	2nm	1nm	1.5nm	1nm	2nm	1nm	2nm	3nm	3nm	3nm
ピーク透過率	>40%	>60%	>60%	>90%	>90%	>75%	>90%	>85%	>90%	>90%	>90%	>75%
阻止帯の幅 (特注もできます)	200-900nm	200-360nm	200-360nm	200-1200nm	200-900nm	200-1100nm	300-1500nm	300-1150nm	300-1100nm	300-1150nm	300-1100nm	910-1190nm

LDI 

新製品 小型高出力レーザー光源



- 多波長
- 高パワー
- 均一出力
- 安定制御
- 高速切換

Laser Line (nm)	Power (mW)
	<i>Out of fiber (400 μm 0.22 NA)</i>
405	300
445	1000
470	1000
520	500
528	500
555	1000
640	500



クロマテクノロジージャパン合同会社

TEL : 045-285-1583 email : japan@chroma.com <https://jp.chroma.com>

2光子メゾスコープ

高解像と広視野を両立した2光子イメージングシステム

革新的な大型対物レンズを搭載した新設計の走査イメージング光学系により、 $\varnothing 5$ mmという広視野を実現。細胞下レベルの分解能で空間的に離れた脳内領域の*in vivo*機能イメージングを一括して行うことが可能です。



2光子メゾスコープ

$\varnothing 5$ mm FOV Captures
Multiple Brain Regions

特長

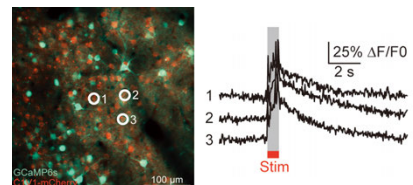
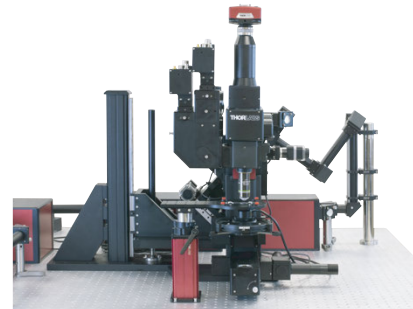
- $\varnothing 5$ mmの視野内における機能イメージング
- ランダムアクセス走査機構により空間的に離れた複数の関心領域を高速で連続走査
- 顕微鏡ボディは試料周りを $\pm 20^\circ$ の角度で回転し、XYZの精細移動が可能
- HHMI Janelia Research Campusから認可を取得した技術を使用

Bergamo II: 多光子励起レーザー走査顕微鏡

SLM 多点光刺激と3光子イメージングに対応

特長

- 最先端 *in vivo* イメージングを実現する2つの追加オプション
 - ・ ホログラフィ技術を応用した多点同時光刺激モジュール
 - ・ 900~1900 nmの広帯域をカバーする3光子励起用光学系
- 実験用途に合った顕微鏡を構成できる高い柔軟性
- 革新的なローテーションスコープ仕様はあらゆる角度から試料を観察可能 ($\Delta \theta$ 最大 100°)
- 共焦点イメージング機能を追加可能
- 複数のスキャナを持つデュアル走査システムに対応



Photostimulation and Ca^{2+} Imaging of Three Cells using SLM
(Courtesy of Lloyd Russell, Dr. Adam Packer, and Prof. Michael Häusser, University College London, United Kingdom)

www.thorlabs.co.jp

E-mail: sales@thorlabs.jp

THORLABS

ソーラボジャパン株式会社

〒179-0081 東京都練馬区北町3-6-3 TEL: 03-6915-7701 FAX: 03-6915-7716

2018年7月17日より下記住所へ移転しました