

## ■ 目 次 ■

表紙の図	.....	3 0
第 24 回日本バイオイメーjing学会学術集会	.....	3 1
第 24 回日本バイオイメーjing学会学術集会運営委員会名簿		3 2
ご案内	.....	3 3
会場のご案内	.....	3 5
展示企業一覧・広告掲載企業一覧	.....	3 7
第 24 回学術集会プログラム	.....	3 9
要旨	.....	5 3
特別講演・奨励賞受賞者講演	.....	5 4
シンポジウム	.....	5 6
一般演題（ポスター）	.....	7 0
公開講座	.....	1 4 7
特別展示のご案内	.....	1 5 5
発表者索引	.....	1 6 5
総会資料	.....	1 7 1
学会定款	.....	1 8 3
協賛企業一覧	.....	1 8 9

表紙の図：

## 超高磁場 MRI を用いた生体内免疫細胞脳内浸潤の 1 細胞レベル可視化についての検討

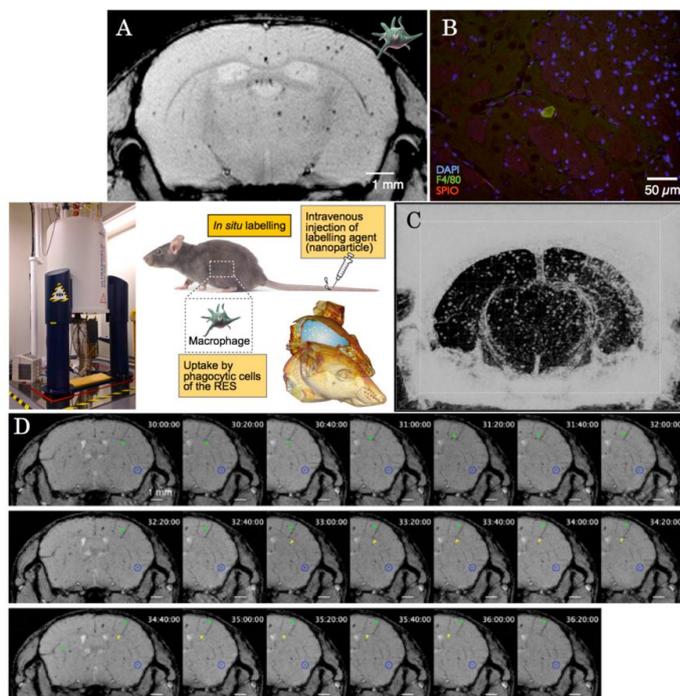
○森 勇樹<sup>1,2)</sup>、陳 挺<sup>1)</sup>、大野 工司<sup>3)</sup>、吉田 慎一<sup>4)</sup>、多胡 善幸<sup>4)</sup>、小橋 昌司<sup>5)</sup>、畑 豊<sup>5)</sup>、吉岡 芳親<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>大阪大・免疫学フロンティア研究センター、<sup>2)</sup>(独)情報通信研究機構・大阪大 脳情報通信融合研究センター、

<sup>3)</sup>京都大・化研・材料機能化学研究系、<sup>4)</sup>(株)カネカ フロンティアバイオ・メディカル研究所、<sup>5)</sup>兵庫県立大・院・工

(第 23 回学会学術集会ベストイメージング賞 (ニコン賞) 受賞)

中枢神経系は免疫特権の器官と長く考えられてきたが、最近の研究で、免疫細胞が多くの神経関連疾患の発生に重要な役割を担うことが分かりつつある。免疫細胞は、恒常性の目印となる因子群のレベルに異常がないか、脳の微小血管系を常時監視している。異常があった場合、免疫反応が始まり、中枢神経系内のミクログリアの動員、または末梢からの免疫系細胞の浸潤、あるいはその両者が起こる。しかし、正常状態・疾病状態での免疫細胞の動態には、不明な点が多い。それは、生きた組織内での細胞の動きを、低侵襲で長期にわたって可視化することが難しかったためである。今回、マウス生体脳内の細胞移動を単一細胞レベルで連続的に追跡する目的で、高感度生体 MRI (磁気共鳴イメージング) 技術を開発した。MRI と超常磁性酸化鉄ナノ粒子 (SPIO) の血管内投与を組み合わせることで、末梢の貪食細胞が、正常およびリポ多糖投与マウスの脳内部に移行する様子を追跡できた。また、MRI のタイムラプス動画により、生きた動物脳内での細胞移動の様子を示すことにも成功した。タイムラプス MRI では、コントロールマウス脳内でゆっくりと動いている細胞の可視化・追跡も可能である。SPIO を利用した高感度 MRI 細胞追跡技術は、脳内の免疫細胞の動態と CNS の恒常性維持機構について、新たな視座を提供することが期待できる。



A) 超常磁性酸化鉄ナノ粒子 (SPIO) 投与後 2 日目の生体正常マウス脳 MRI 断層写真。黒点は SPIO で標識されたマクロファージ。平面分解能は  $60 \mu\text{m} \times 60 \mu\text{m}$ 。スライス厚は  $300 \mu\text{m}$ 。磁性ナノ粒子によって、実際の細胞よりも大きく強調して描出されている。

B) 脳組織切片における免疫組織染色。F4/80 陽性細胞が SPIO を保持したまま脳実質に存在している。

C) 3次元再構成による生体マウス脳全体における SPIO 標識細胞分布。3次元の空間情報に加え、時間軸を加えた 4次元の生体内細胞追跡が可能となる。

体内深部のダイナミックな免疫細胞の動きを、生きたまま非侵襲的に 1細胞レベルで可視化可能となる。

D) 生体マウス脳の経時的 MRI 観察によるタイムラプス写真。1フレームは 20 分。長時間一定の場所に留まる細胞 (青丸印)、静脈に沿って動くもの (緑矢印)、実質内を移動するもの (黄矢印) などが混在している。

速度は平均して約  $5 \mu\text{m}/\text{min}$  とゆっくりしたのが見られた。

Mori, Y. et al., Sci. Rep. 2014, 4, 6997 より一部改変して掲載。

## ■第24回日本バイオイメーjing学会学術集会■

主催：日本バイオイメーjing学会

共催：東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 イメーjingフロンティアセンター

会期：平成27年9月26日（土）～9月28日（月）

◆公開講座：9月26日（土）12:00～17:10（懇談会～18:30）

◆学術講演会：9月27日（日）9:00～17:50（懇親会～20:00）

9月28日（月）9:00～17:20

会場：東京理科大学 葛飾キャンパス（東京都葛飾区新宿6-3-1）

図書館ホール 及び ホワイエ

（<http://www.tus.ac.jp/info/access/katcamp.html> をご参照ください。）

大会長：朽津 和幸

（東京理科大学 理工学部 応用生物科学科/イメーjingフロンティアセンター）

学術集会ホームページ：<http://www.rs.tus.ac.jp/ambs15/index.html>

参加費：公開講座（無料）

学術集会

一般 会員・協賛学会員：5,000円、非会員：8,000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

学生の方は当日受付にて学生証をご提示ください。

### 協賛学会（五十音順）

可視化情報学会	クロマトグラフィー科学会	日本化学会
日本磁気共鳴医学会	日本植物学会	日本植物生理学会
日本神経化学会	日本生化学会	日本生物物理学会
日本生理学会	日本動物学会	日本農芸化学会
日本分子イメーjing学会	日本分子生物学会	日本分析化学会
日本分光学会	日本免疫学会	日本薬理学会
日本レーザー医学会		

## ■第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会運営委員会■

大会長 : 朽津 和幸 (東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)

副大会長 : 曾我 公平 (東京理科大学 基礎工学部 材料工学科)

運営委員 :

須田 亮 (東京理科大学 理工学部 物理学科)

中村 岳史 (東京理科大学 生命医科学研究所)

松永 幸大 (東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)

政池 知子 (東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)

桧垣 匠 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科)

来須 孝光 (東京工科大学 応用生物学部)

梅澤 雅和 (東京理科大学 研究推進機構 総合研究院)

上村 真生 (東京理科大学 基礎工学部 材料工学科)

北畑 信隆 (東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)

篠田 陽 (東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)

### ◎本学術集会についての問い合わせ先

第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会事務局

東京理科大学理工学部応用生物科学科 朽津研究室

大会長 朽津 和幸

〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

TEL : 04-7122-9404, FAX : 04-7123-9767

E-mail : [ambs15@rs.tus.ac.jp](mailto:ambs15@rs.tus.ac.jp)

URL : <http://www.rs.tus.ac.jp/ambs15/index.html>

## ■ 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。当日受付の方は、参加費を納入の上、領収書とネームカードをお受け取りください。

◆参加費：

○公開講座：無料

○学術集会：

一般（会員・協賛学会員：5,000 円、非会員：8,000 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）

※学生の方は当日受付にて学生証をご提示ください。

○懇親会費：一般 5,000 円 / 学生：2,000 円

○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ジング学会会員に限ります。

(4) 9月27日（日）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ださい。  
受付開始時間は8時30分です。

### 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。口頭発表は原則 PC 持ち込みとします。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。**USB メモリーでの持ち込みの場合は、下記の日時まで**に受付にお申し出ください。

シンポジウム 1： 9月27日（日） 8:45

シンポジウム 2、特別講演： 9月27日（日） 14:00

トピカルセッション： 9月28日（月） 8:45

シンポジウム 3、奨励賞受賞講演：9月28日（月） 14:00

- ・ 口頭発表用には、Windows 8、Microsoft Power Point 2013 搭載の PC を準備します。
- ・ 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。別途コネクタが必要な場合がありますので、必ずご持参ください。

(2) ポスター討論

- ・ ポスターサマリー発表は、**交代時間も含め 1 件 2 分**です。集会のスムーズな進行のため、**時間厳守**をお願いします。P-1～P-40 のサマリー発表は一日目（9月27日・日）、P41～P-49 のトピカルセッション選定題目の発表、及び P50～P76 のサマリー発表は二日目（9月28日・月）です。

9月27日(日) 11:10-12:30 ポスターサマリー講演1 P-1~P-40(各2分)

9月28日(月) 9:00-10:30 トピカルセッション P-41~P-49(各10分)

10:30-11:30 ポスターサマリー講演2 P-50~P-76(各2分)

- ・ポスター討論は、一日目(9月27日・日)がP-1~P-40、二日目(9月28日・月)がP-41~P-76、前半40分が奇数番号の発表時間、後半40分が偶数番号の発表時間です。この40分間、発表者は必ずポスターの前にいてください。

9月27日(日)

13:30-14:10 ポスター討論奇数(P1-P39) 20件

14:10-14:50 ポスター討論偶数(P2-P40) 20件

9月28日(月)

13:10-13:50 ポスター討論奇数(P41-P75) 18件

13:50-14:30 ポスター討論奇数(P42-P76) 18件

- ・ポスターパネルはW 95 cm × H 180 cmの大きさです。A0サイズポートレートのパスターが貼れます。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9月27日(日)8:30以降、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28日(月)14:30~17:30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・晝馬賞(浜松ホトニクス提供)、ニコン賞、カールツァイス賞、OLYMPUS賞の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28日(月)14時30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28日(月)17時10分より閉会式会場にて行います。

### 4. 理事会、評議員会、総会

理事会 9月26日(土)19:00-21:00 ホール右手奥の控えラウンジ

評議員会 9月27日(日)12:25-13:25 ホール右手奥の控えラウンジ

総会 9月28日(月)11:30-12:10 ホール

編集委員会 9月28日(日)12:10-13:10 ホール右手奥の控えラウンジ

### 5. 奨励賞受賞者講演

9月28日(月)16:40-17:10 ホール

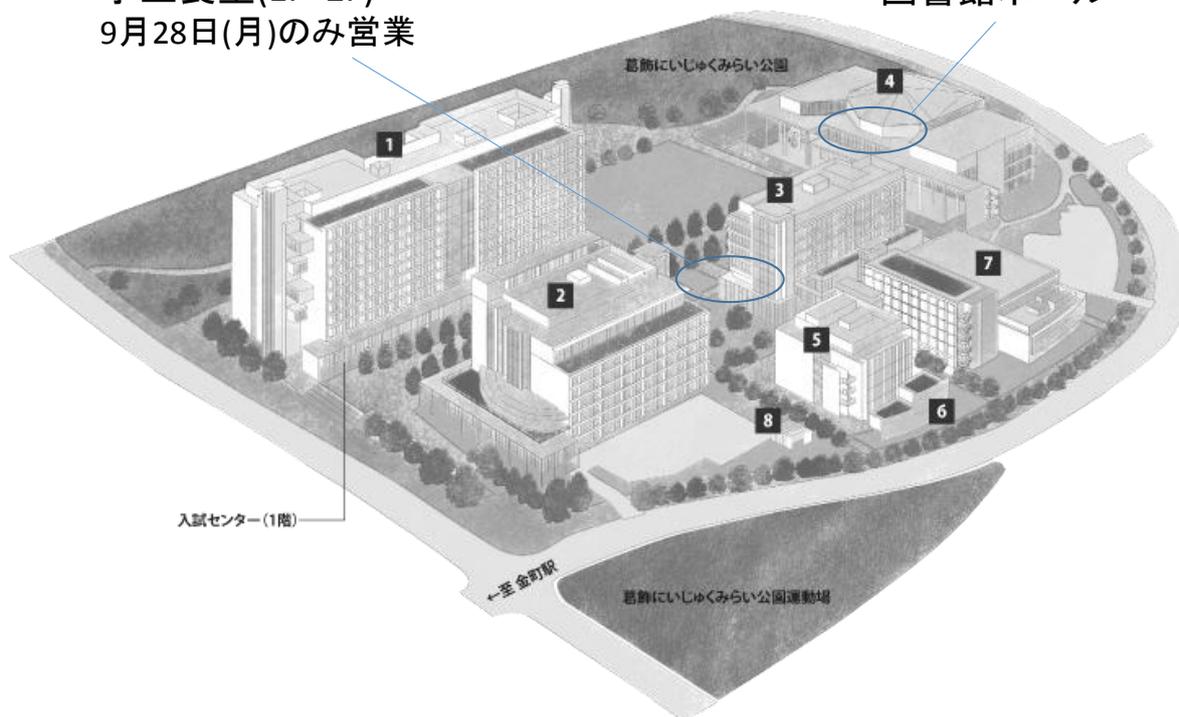
## ■会場のご案内■

＜アクセス＞ JR 常磐線(千代田線直通各駅停車) 金町駅、京成金町駅より徒歩 10 分  
 ※駐車場のご用意はありません。公共交通機関でお越しください。

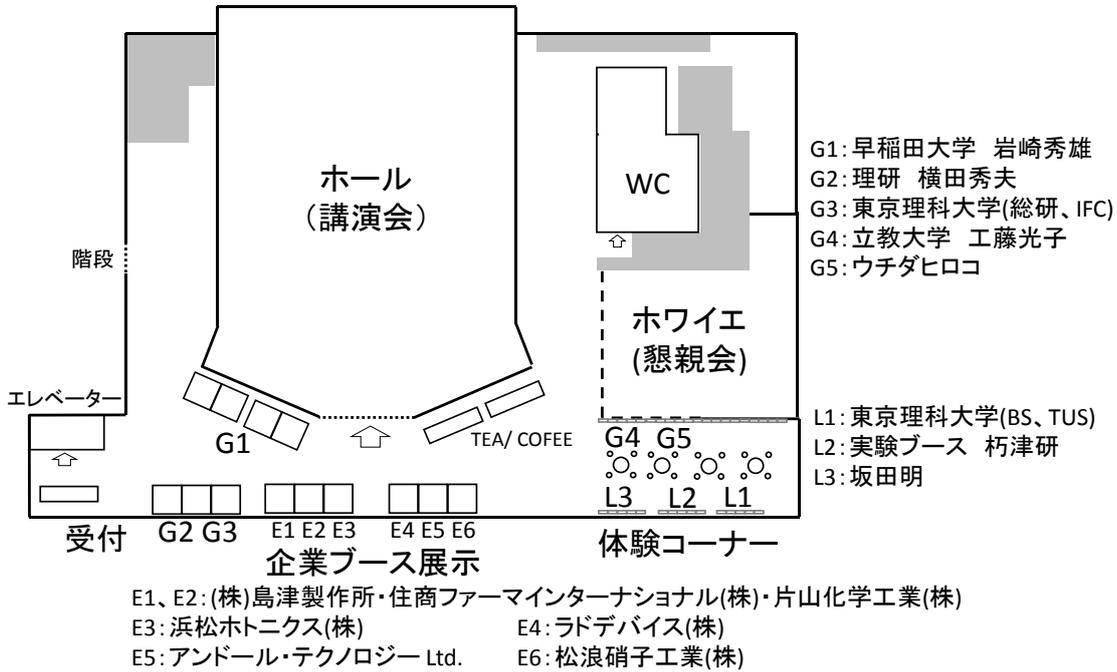


学生食堂(1F・2F)  
 9月28日(月)のみ営業

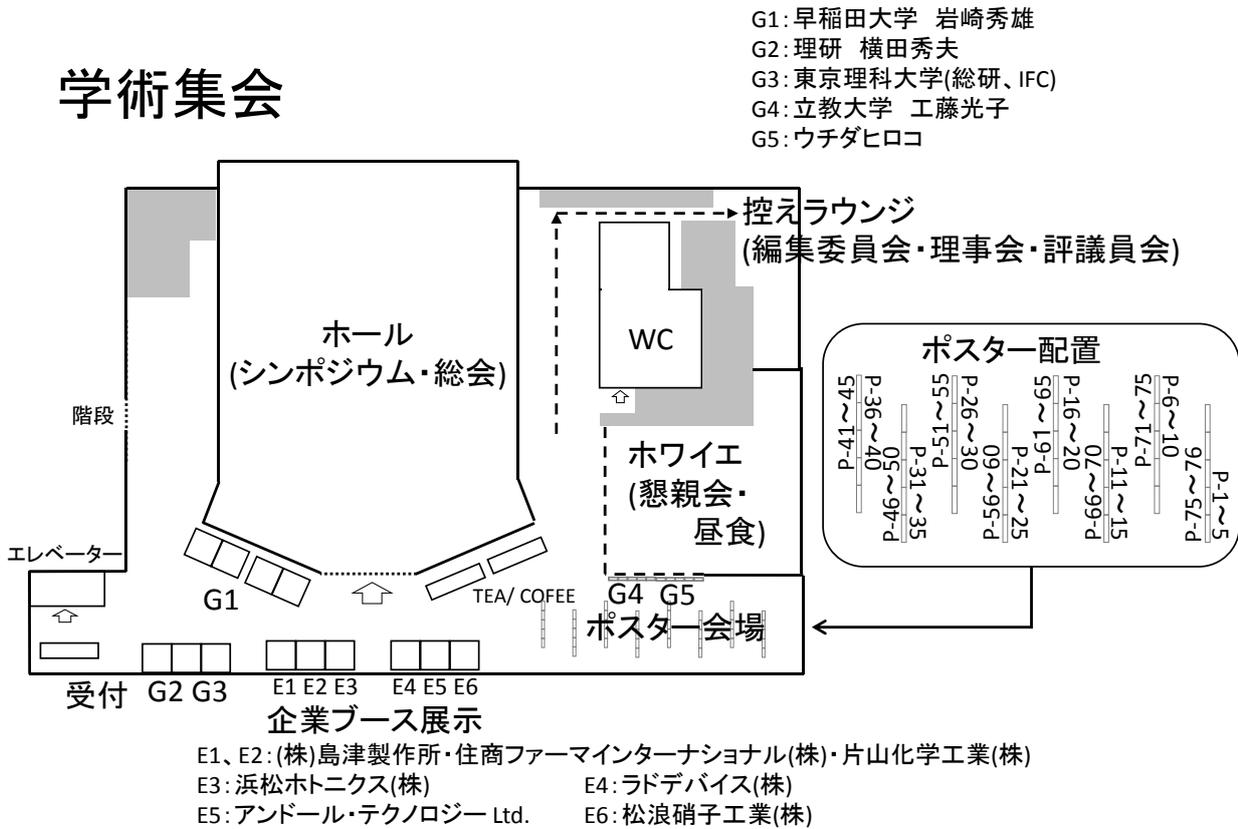
図書館ホール



# 公開講座



# 学術集会



■展示企業一覧■

---展示のご協力に厚く御礼申し上げます---

アンドール・テクノロジーLtd.

片山化学工業株式会社

株式会社島津製作所

住商ファーマインターナショナル株式会社

浜松ホトニクス株式会社

松浪硝子工業株式会社

ラド デバイス株式会社

■広告掲載企業一覧■

---広告掲載のご協力に厚く御礼申し上げます---

アブカム株式会社

株式会社 A-CLIP 研究所

スペクトラ・フィジックス株式会社

ソーラボジャパン株式会社

中立電気株式会社

平成 27 年 8 月 4 日現在、50 音順、敬称略

第 24 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

**OLYMPUS**  
Your Vision, Our Future

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。新たな感動を与えてくださる研究者とその画像に対して、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

カールツァイスマイクロスコピー株式会社

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。



晝馬賞

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

(順不同)

## ■ プログラム ■

第24回日本バイオイメージング学会学術集会 日程表				
9月26日(土)		9月27日(日)		9月28日(月)
		9:00		9:00
		9:10	開会	
			シンポジウム1 「NO DIVISION, NO LIFE. ～動物と植物の細胞分裂 イメージング最前線～」	トピカルセッション (T41-T49)
				10:30
		11:10		ポスターサマリー講演 (P50-P76)
11:30	受付(公開講座)		ポスターサマリー講演 (P1-P40)	11:30
12:00				総会
		12:30	休憩	12:10
			休憩	
		13:30	ポスター討論1 (P1-P40)  前半:奇数 後半:偶数	13:10
	公開講座 「私たちのくらしとバイオイメージング ～見えるからわかるバイオの世界～」			ポスター討論2 (T41-T49, P50-P76)  前半:奇数 後半:偶数
		14:50	シンポジウム2 「第2の生体の窓 ～21世紀のバイオイメージ ングの窓～」	14:30
				シンポジウム3 「感染症を見る」
		16:50	特別講演 上田 泰己(東大・医)	16:30
17:10				休憩
	懇談会	17:50	休憩	16:40
		18:00		奨励賞受賞講演
			懇親会	17:10
				閉会式・表彰式
18:30		20:00		

## 第 24 回日本バイオイメーキング学会学術集会プログラム

日時： 9月27日（日）9:00～9月28日（月）17:20

会場： 東京理科大学 葛飾キャンパス図書館大ホール（東京都葛飾区新宿 6-3-1）

### 9月27日（日）

#### 9:00 【開会】

会場：ホール

第24回学術集会大会長 朽津 和幸

（東京理科大・理工・応用生物科学/イメーキングフロンティアセンター）

#### 9:10～11:10

会場：ホール

#### 【シンポジウム1】「NO DIVISION, NO LIFE.～動物と植物の細胞分裂イメーキング最前線～」

オーガナイザー： 岡部 弘基（東京大・院・薬）、桧垣 匠（東京大・院・新領域）

##### S1-1. 細胞が等分裂する仕組みとその意義の理解に向けて

清光 智美

名古屋大学大学院理学研究科・JST さきがけ

##### S1-2. 顕微力学操作による細胞分裂機能のメカノケミカル制御

板橋 岳志<sup>1)</sup>、石渡 信一<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 早稲田大学理工学術院、<sup>2)</sup> 早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所

##### S1-3. 微小管ダイナミクスの可視化と定量化：植物細胞分裂の解析への適用

村田 隆<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 生物進化研究部門、<sup>2)</sup> 総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻

##### S1-4. 植物の細胞板形成を支えるM期キネシンNACK1とMAPKカスケード

笹部 美知子<sup>1)</sup>、桧垣 匠<sup>2)</sup>、栗原 大輔<sup>3,4)</sup>、東山 哲也<sup>3,4,5)</sup>、馳澤 盛一郎<sup>2)</sup>、町田 泰則<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 弘前大・農生、<sup>2)</sup> 東京大・院・新領域、<sup>3)</sup> 名大・院・理、<sup>4)</sup> JST・ERATO、<sup>5)</sup> 名大・WPI-ITbM

#### 11:10～12:30 【一般演題】ポスターサマリー講演

会場：ホール

座長：梅澤 雅和（東京理大・総研）、来須 孝光（東京工科大・応用生物）

##### P-1. タバコ培養細胞BY-2におけるオートファジーの細胞周期に依存した制御

花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>2,3)</sup>、朽津 和幸<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京工科大・応用生物、

<sup>3)</sup> 東京理科大・イメーキングフロンティアセンター

- P-2. 基部陸上植物ゼニゴケにおける活性酸素種生成酵素(NADPH oxidase)遺伝子の発現部位と機能の解析  
 木村 貴史<sup>1)</sup>、橋本 研志<sup>1)</sup>、籾田 渉二<sup>1)</sup>、賀屋 秀隆<sup>1,2)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、石崎 公庸<sup>3)</sup>、  
 西浜 竜一<sup>4)</sup>、河内 孝之<sup>4)</sup>、朽津 和幸<sup>1,5)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理科大・院・理工・応用生物学、<sup>2)</sup> 農業生物資源研、<sup>3)</sup> 神戸大・院・理、  
<sup>4)</sup> 京都大・院・生命、<sup>5)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター
- P-3. Preferential freezing avoidance localized in the anthers and embryo sacs in wintering flower buds of *Daphne kamtschatica* var. *jezoensis* revealed by NMR micro-imaging  
 Masaya ISHIKAWA<sup>1)</sup>, Hiroyuki IDE<sup>2,3)</sup>, Tetsuya TSUJII<sup>4)</sup>, William S. PRICE<sup>2,5)</sup>, Yoji ARATA<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> National Institute of Agrobiological Sciences, <sup>2)</sup> Water Research Institute, <sup>3)</sup> Ajinomoto Co.,  
<sup>4)</sup> PerkinElmer Japan, <sup>5)</sup> University of Western Sydney
- P-4. 寄生植物 *Striga hermonthica* 由来 D14L タンパク質の構造機能解析  
 徐 玉群<sup>1)</sup>、宮川 拓也<sup>1)</sup>、中村 英光<sup>1)</sup>、中村 颯<sup>1)</sup>、大塚 淳<sup>1)</sup>、浅見 忠男<sup>1,2)</sup>、  
 田之倉 優<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科、<sup>2)</sup> JST・CREST
- P-5. エンドサイトーシスを介したシロイヌナズナの感染防御応答の制御機構のイメージング解析  
 羽山 大介<sup>1)</sup>、大滝 幹<sup>1)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>2,4)</sup>、海老根 一生<sup>3)</sup>、  
 筒井 友和<sup>3)</sup>、上田 貴志<sup>3)</sup>、朽津 和幸<sup>1,4)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理科大・院・理工・応用生物学、<sup>2)</sup> 東京工科大・応用生物、  
<sup>3)</sup> 東京大・理・生物学、<sup>4)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター
- P-6. エンドサイトーシス経路におけるアクチン依存的なエンドソーム運動のバイオイメージング解析  
 益田 淳史<sup>1)</sup>、古屋 英里<sup>1)</sup>、堀込 知佳<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環
- P-7. 細胞膜受容体のエンドサイトーシス-リサイクリング機構のバイオイメージング解析  
 佐藤 匠<sup>1)</sup>、長野 真<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環
- P-8. リン脂質フリッパーゼのエンドサイトーシス経路におけるバイオイメージング解析  
 福田 志帆<sup>1)</sup>、小林 宣<sup>1)</sup>、仲田 瑛亮<sup>1)</sup>、富田 剛史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環
- P-9. 劇症型急性肺炎 (FARDS) モデルマウスにおける免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析  
 長谷川 明洋<sup>1)</sup>、荻野 英賢<sup>1)</sup>、中山 俊憲<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 山口大学大学院医学系研究科 ゲノム・機能分子解析学、  
<sup>2)</sup> 千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学
- P-10. Cell fate mapping of embryonic spleen primordium cells expressing the transcription factor Tlx1  
 Toru KASAHARA, Akihisa ODA, Ryo GOITSUKA  
 Division of Development and Aging, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of  
 Science

- P-11. 接着分子 CADM1 を介した細胞間接着による膵島  $\alpha$  細胞の分泌顆粒動態の制御  
小栗 良介<sup>1)</sup>、横川 慧<sup>1,2)</sup>、伊納 義和<sup>1)</sup>、中西 守<sup>1)</sup>、古野 忠秀<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 愛知学院大・薬、<sup>2)</sup> 名市大・院薬
- P-12. モルモット摘出右心室筋の低酸素に対する反応性の発達変化  
瀧口 正悟、宍戸 葵、行方 衣由紀、田中 光  
 東邦大学薬学部薬物学教室
- P-13. 3次元仮想培養系での増殖モデルの検討  
立野 玲子<sup>1,3)</sup>、伊藤 文音<sup>2)</sup>、永山 勝也<sup>2)</sup>、小倉 潔<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京都医学総合研究所、<sup>2)</sup> 九工大院・情報工学・機械情報、<sup>3)</sup> 関東学院大・工学総合研
- P-14. 成長円錐におけるアクチン関連蛋白質ファシンの FRAP 解析  
田中 みなみ<sup>1,2)</sup>、石川 良樹<sup>3)</sup>、加藤 薫<sup>1,2)</sup>  
<sup>1)</sup> 産総研・バイオメディカル、<sup>2)</sup> 筑波大大学院・生命環境、<sup>3)</sup> 群馬県立県民健康科学大
- P-15. ノックダウン細胞とコントロール細胞の同視野内観察：アクアポリン 8 ノックダウンがラット膵臓  $\beta$  細胞株のカルシウムシグナルに与える影響  
柴田 みゆき、田中 直子  
 大妻女子大・家・食物
- P-16. PET 分解酵素 Cut190 の活性化及び耐熱化におけるカルシウムの作用機序の解析  
宮川 拓也<sup>1)</sup>、水嶋 裕樹<sup>1)</sup>、大塚 淳<sup>1)</sup>、織田 昌幸<sup>2)</sup>、河合 富佐子<sup>3)</sup>、田之倉 優<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科、<sup>2)</sup> 京都府立大学大学院生命環境科学研究科、  
<sup>3)</sup> 京都工芸繊維大学繊維科学センター
- P-17. 生細胞イメージングに向けた抗 CD3 抗体結合 CdSe/ZnS 量子ドットのエンドサイトーシスの検討  
宇高 光<sup>1)</sup>、福田 武司<sup>1)</sup>、鈴木 美穂<sup>1)</sup>、大倉 正道<sup>2)</sup>、中井 淳一<sup>2)</sup>、鎌田 憲彦<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 埼玉大学大学院理工学研究科、<sup>2)</sup> 埼玉大学脳末梢科学研究センター
- P-18. 出芽酵母 Rho GTPase ファミリータンパク質の局在と変異体のアクチン骨格およびエンドサイトーシスのバイオイメージング解析  
小澤 彩夏<sup>1)</sup>、久保田 千尋<sup>1)</sup>、岡田 明日香<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環
- P-19. 出芽酵母を用いたヒト GPCR のリガンド応答性エンドサイトーシスのバイオイメージング解析  
秋庭 涼<sup>1)</sup>、藤村 翔吾<sup>1)</sup>、境 未来<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環
- P-20. 内在性 V-ATPase プロモーターを用いた出芽酵母へのヒト V-ATPase の発現と機能性のイメージング解析  
阿部 通子<sup>1)</sup>、塩川 舟華<sup>1)</sup>、斉藤 麻由<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

- P-21. **がん診断用超音波造影を目的としたアクティブターゲティング型ナノバブルの開発**  
影山 彩織<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>、小田 雄介<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,2)</sup>、宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD
- P-22. **超音波イメージングバブルを利用した in vitro 超音波遺伝子導入システムの開発**  
星 成美<sup>1)</sup>、宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>、望月 剛<sup>2)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>、小田 雄介<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,4)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、榊田 晃司<sup>3)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> MU 研究所、<sup>3)</sup> 東京農工大学大学院生物システム応用科学府、  
<sup>4)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD
- P-23. **ナノバブルと超音波による脳への薬物送達システムの開発およびその特性評価**  
萩原 芙美子<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,2)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>、小田 雄介<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>、宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD
- P-24. **Mon1-Ccz1 activates Rab7 only on late endosome and dissociates from lysosome in mammalian cells**  
Sayaka YASUDA<sup>1)</sup>、So MORISHITA<sup>1)</sup>、Akane FUJITA<sup>1)</sup>、Tomohisa NANAŌ<sup>1)</sup>、Naoyuki WADA<sup>2)</sup>、Satoshi WAGURI<sup>3)</sup>、Giampietro SCHIAVO<sup>4)</sup>、Mitsunori FUKUDA<sup>5)</sup>、& Takeshi NAKAMURA<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Division of Biosignaling, RIBS, Tokyo University of Science, <sup>2)</sup>Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, <sup>3)</sup>Department of Anatomy and Histology, Fukushima Medical University, <sup>4)</sup>UCL Institute of Neurology, University College London, <sup>5)</sup>Laboratory of Membrane Trafficking Mechanisms, Department of Developmental Biology and Neurosciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University
- P-25. **The mechanism of stress granule formation induced by intracellular local thermogenesis**  
Beini SHI<sup>1)</sup>、Kohki OKABE<sup>1,2)</sup>、Takashi FUNATSU<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo, Japan, <sup>2)</sup> JST, PRESTO
- P-26. **Green-Red FRET センサー構築の試み**  
田中 響<sup>1)</sup>、安田 さや香<sup>1)</sup>、須田 亮<sup>2)</sup>、中村 岳史<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理科大学大学院生命科学研究科、<sup>2)</sup> 東京理科大学理工学部物理学科
- P-27. **FRET センサーによる Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討**  
照井 翔<sup>1)</sup>、鯉沼 真吾<sup>1)</sup>、石田 彪馬<sup>1)</sup>、和田 直之<sup>2)</sup>、福田 光則<sup>3)</sup>、中村 岳史<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東京理科大学生命医科学研究科、<sup>2)</sup> 東京理科大学理工学部、  
<sup>3)</sup> 東北大学大学院生命科学研究科
- P-28. **二光子励起に伴う eGFP の光褪色の定量的評価**  
神山 直人、砂入 允哉、戸田 圭亮、須田 亮  
 東京理科大学 理工学部物理学科
- P-29. **タンパク質ラベル化プローブの開発および多色 1 分子イメージングへの応用**  
佐藤 亮太<sup>1)</sup>、吉村 彰真<sup>1)</sup>、小塚 淳<sup>2)</sup>、熊谷 雄太郎<sup>3)</sup>、水上 進<sup>1,3)</sup>、菊地 和也<sup>1,3)</sup>  
<sup>1)</sup> 阪大院工、<sup>2)</sup> 理化学研究所生命システム研究センター、  
<sup>3)</sup> 大阪大学免疫学フロンティア研究センター

- P-30. Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with broad, high dynamic range, and rapid response  
Masahiro NAKANO<sup>1)</sup>, Yoshiyuki ARAI<sup>1)</sup>, Ippei KOTERA<sup>2)</sup>, Takuya IWASAKI<sup>2)</sup>, Yasuhiro KAMEI<sup>3)</sup>, Takeharu NAGAI<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University,  
<sup>2)</sup> Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University,  
<sup>3)</sup> Spectrography and Bioimaging Facility, National Institute for Basic Biology
- P-31. ラスター画像相互相関分光法を用いた生細胞内外来 DNA 分解活性イメージング  
佐々木 章<sup>1,2)</sup>、山本 条太郎<sup>3)</sup>、神 隆<sup>2)</sup>、金城 政孝<sup>3)</sup>  
<sup>1)</sup> 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、<sup>2)</sup> 理化学研究所 生命システム研究センター、<sup>3)</sup> 北海道大学大学院 先端生命科学研究院
- P-32. PEG 脂質誘導体を利用した細胞の蛍光標識法の開発  
樋口 ゆり子<sup>1,2)</sup>、杉田 かおり<sup>2)</sup>、山下 富義<sup>2)</sup>、橋田 充<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 京都大学学際融合教育研究推薦センター、<sup>2)</sup> 京都大学大学院薬学研究科
- P-33. 発光蛋白質を用いた生体脳内 CREB リン酸化の可視化  
石本 哲也、森 寿  
 富山大学 大学院医学薬学研究部 分子神経科学講座
- P-34. ナノ医薬品の特性解析における走査型プローブ顕微鏡の利用  
加藤 くみ子、原矢 佑樹、阿部 康弘、合田 幸広  
 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部
- P-35. 線虫 (*C. elegans*) のにおい感度を行動と神経活動から評価する  
設楽 久志、牧野 多成、堀田 耕司、岡 浩太郎  
 慶應大・理工・生命
- P-36. 線虫における感覚神経細胞と介在神経細胞の同時イメージング  
芦田 慶太、設楽 久志、堀田 耕司、岡 浩太郎  
 慶應義塾大学大学院基礎理工学専攻
- P-37. 神経細胞の微細構造イメージングに基づく中枢神経系有害反応 in vitro 評価系の開発  
佐藤 薫<sup>1)</sup>、清水 英雄<sup>1)</sup>、小針 彩奈<sup>2)</sup>、花村 健次<sup>3)</sup>、白尾 智明<sup>3)</sup>、田辺 光男<sup>2)</sup>、関野 祐子<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所、<sup>2)</sup> 北里大学薬学部、<sup>3)</sup> 群馬大学大学院医学系研究科
- P-38. Neurotoxic and nontoxic A $\beta$ <sub>1-42</sub> assemblies are commonly composed of  $\beta$ -sheet structures but have different CD spectra pattern in the short wavelength  
Yoshitaka MATSUMURA<sup>1,2)</sup>, Tomoya SASAHARA<sup>1,2)</sup>, Takayuki OHNISHI<sup>1,2)</sup>, Eri SAIJO<sup>1,2)</sup>, Kaori SATOMURA<sup>1,2)</sup>, Michio SATO<sup>3)</sup>, and Minako HOSHI<sup>1,2,4)</sup>  
<sup>1)</sup> TAO Health Life Pharma Co., Ltd., <sup>2)</sup> Institute of Biomedical Research Innovation,  
<sup>3)</sup> Meiji University, <sup>4)</sup> Kyoto University

P-39. 乳酸水溶液における透過赤外吸収スペクトルの pH 依存性

米山 靖子<sup>1)</sup>、宇部 卓司<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学 基礎工学研究科 材料工学専攻 石黒研究室、

<sup>2)</sup> 東京理科大学総合研究院 イメージングフロンティアセンター

P-40. 水中で生きている細胞の非侵襲その場赤外分光

宇部 卓司<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学基礎工学部 材料工学科、

<sup>2)</sup> 東京理科大学総合研究院 イメージングフロンティアセンター

12:30～13:30

<休憩>

13:30～14:50 【一般演題】ポスター討論

会場：ホールロビー

奇数番号討論時間 (P1～P39) 13:30～14:10

偶数番号討論時間 (P2～P40) 14:10～14:50

14:50～16:50

【シンポジウム2】「第2の生体の窓～21世紀のバイオイメージングの窓～」 会場：ホール

オーガナイザー： 曾我 公平 (東京理科大)、竹内 司 (島津製作所)、

横田 秀夫 (理化学研究所)、岸本 英博 (琉球大)

S2-1. SBW イメージングの現状と課題

曾我 公平<sup>1)</sup>、竹内 司<sup>2)</sup>、横田 秀夫<sup>3)</sup>、岸本 英博<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・基礎工、<sup>2)</sup> 島津製作所、<sup>3)</sup> 理研・光量子、<sup>4)</sup> 琉球大・医

S2-2. カーボンナノチューブのSBWにおける蛍光

岡崎 俊也

産業技術総合研究所ナノチューブ実用化研究センター

S2-3. 第2の生体の窓(Second Biological Window)におけるマウスイメージング

竹内 司

島津製作所 分析計測事業部

S2-4. ナノ粒子環境問題とSBW(第2の生体の窓)イメージングへの期待

梅澤 雅和

東京理大・総研・環境次世代

S2-5. 新たなイメージング内視鏡の開発 -次世代内視鏡への展望-

金子 和弘<sup>1)</sup>、佐藤 暁洋<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国立がん研究センター東病院 消化管内視鏡科、<sup>2)</sup> 国立がん研究センター東病院

臨床開発センター、臨床試験支援室、<sup>3)</sup> 東京理科大学基礎工学部

16:50～17:50

【特別講演】

会場：ホール

全身・全脳透明化の先に見えるもの—生命の「時間」の理解に向けて—

上田 泰己

東京大学医学系研究科／理化学研究所

(座長：朽津 和幸 (東京理科大・理工・応用生物科学/イメージングフロンティアセンター))

18:00～20:00

【懇親会】

会場：ホワイエ

9月28日(月)

9:00～10:30

【トピカルセッション】

会場：ホール

座長：篠田 陽 (東京理大・理工・応用生物科学)、政池 知子 (東京理大・理工・応用生物科学)

P-41. 細胞質分裂の収縮環の超解像顕微鏡による観察

加藤 薫<sup>1)</sup>、上条 桂樹<sup>2)</sup>、高橋 正行<sup>3)</sup>、細谷 浩史<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>産総研・バイオメディカル、<sup>2)</sup>東北大・医・人体構造、<sup>3)</sup>北大・理・化学、

<sup>4)</sup>広島大・理・生物

P-42. 長円形マイクロチャンバー内における微小管の動的不安定性

小野寺 優<sup>1)</sup>、中山 莉奈子<sup>2,3)</sup>、島 知弘<sup>4,5)</sup>、岡田 康志<sup>5)</sup>、政池 知子<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup>東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup>東京理科大・総合研究院、<sup>3)</sup>JST・さきがけ、

<sup>4)</sup>東大院・理学・生物科学、<sup>5)</sup>理研・生命システム研究センター

P-43. 超微小粒子の胎児期曝露に伴う脳血管周辺異常の赤外顕微法による可視化

小野田 淳人<sup>1,2,5)</sup>、川崎 平康<sup>3)</sup>、築山 光一<sup>3,4)</sup>、武田 健<sup>2)</sup>、梅澤 雅和<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東京理大院・薬、<sup>2)</sup>東京理大・総研・環境次世代、

<sup>3)</sup>東京理大・総研・IR-FEL センター、<sup>4)</sup>東京理大・理・化学、<sup>5)</sup>学振特別研究員 DC

P-44. 新規動体追跡技術により可能になる 3D imaging による自由行動マウスの全身の遺伝子発現追跡定量法の開発

浜田 俊幸<sup>1)</sup>、石川 正純<sup>1,2)</sup>、Kenneth SUTHERLAND<sup>2)</sup>、宮本 直樹<sup>2)</sup>、白土 博樹<sup>3)</sup>、

本間 さと<sup>4)</sup>、本間研一<sup>4)</sup>

北海道大学医学研究科 <sup>1)</sup>分子追跡医学分野、<sup>2)</sup>医学物理工学分野、<sup>3)</sup>放射線医学分野、<sup>4)</sup>時間生理学講座

P-45. 細胞内グルタチオンとの求核付加・解離平衡反応を利用した超解像蛍光イメージングプローブの開発

両角 明彦<sup>1,4)</sup>、神谷 真子<sup>2,5)</sup>、宇野 真之介<sup>1)</sup>、梅澤 啓太郎<sup>1)</sup>、吉原 利忠<sup>3)</sup>、

飛田 成史<sup>3)</sup>、浦野 泰照<sup>1,2,4)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学大学院薬学系研究科、<sup>2)</sup>東京大学大学院医学系研究科、

<sup>3)</sup>群馬大学大学院理工学府、<sup>4)</sup>AMED CREST、<sup>5)</sup>JST さきがけ

P-46. Study on the Role of Cytoskeletal Networks in Single Cells to Their Viscoelastic Properties with the Laser-induced Surface Deformation Microscopy

Toshinori MORISAKU, Yuhei WADA, and Hiroharu YUI

Department of Chemistry, Tokyo University of Science

P-47. 葉におけるジグソーパズル型表皮細胞の形態計測と数理モデル

桧垣 匠<sup>1)</sup>、今村 寿子<sup>2)</sup>、秋田 佳恵<sup>1)</sup>、朽名 夏磨<sup>1,3)</sup>、小林 亮<sup>4)</sup>、馳澤 盛一郎<sup>1)</sup>、三浦 岳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大・院・新領域、<sup>2)</sup> 九州大・院・医学、<sup>3)</sup> LPixel Inc.、<sup>4)</sup> 広島大・院・理学

P-48. イネの花粉・種子形成および代謝制御におけるオートファジーの役割

来須 孝光<sup>1,2)</sup>、陶 文紀<sup>3)</sup>、花俣 繁<sup>3)</sup>、岡咲 洋三<sup>4)</sup>、二平 耕太郎<sup>3)</sup>、小嶋 美紀子<sup>4)</sup>、徳永 京也<sup>5)</sup>、北畑 信隆<sup>3)</sup>、榊原 均<sup>4)</sup>、斉藤 和季<sup>4)</sup>、多田 雄一<sup>1)</sup>、小関 泰之<sup>5)</sup>、朽津 和幸<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター、<sup>3)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>4)</sup> 理研・環境資源科学、<sup>5)</sup> 東京大院・工・電気系工学

P-49. 蛍光標識による DNA の可視化を利用した「DNA 複製」実験教材の開発

武村 政春

東京理科大学理学部第一部教養学科

10:30~11:30

【一般演題】ポスターサマリー講演

会場：ホール

座長：北畑 信隆（東京理大・理工・応用生物科学）、上村 真生（東京理大・基礎工・材料工）

P-50. 「バイオイメージング」を女子中高校生達へ伝えて～「女子中高校生夏の学校」の10年～

田中 直子<sup>1)</sup>、橋本 香保子<sup>2)</sup>、朽津 和幸<sup>3)</sup>、洲崎 悦子<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 大妻女子大学家政学部、<sup>2)</sup> 千葉工業大学工学部、<sup>3)</sup> 東京理科大学理工学部、<sup>4)</sup> 就実大学薬学部

P-51. 蛍光顕微鏡イメージングの教育・サイエンスコミュニケーションへの活用

朽津 和幸<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター

P-52. 脂肪滴の成熟過程におけるミトコンドリアの役割：ペリリピンが与える影響

長谷川 千織<sup>1)</sup>、伊香賀 玲奈<sup>2)</sup>、田中 光<sup>3)</sup>、田中 直子<sup>1)</sup>

大妻女子大院・健康栄養、<sup>2)</sup> お茶女大院・理学、<sup>3)</sup> 東邦大・薬

P-53. 超解像光学顕微鏡観察によるミトコンドリア単離法の検討

柴田 貴弘<sup>1)</sup>、山下 紗季<sup>1)</sup>、加藤 薫<sup>2)</sup>、太田 善浩<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京農工大・大学院工学府・生命工学専攻、<sup>2)</sup> 産総研・バイオメディカル部門

P-54. 転写因子キメラリプレッサー過剰発現シロイヌナズナ系統を利用した植物免疫応答のプログラム細胞死制御機構の解析

高林 宏樹<sup>1)</sup>、市田 佳菜絵<sup>2)</sup>、光田 展隆<sup>3)</sup>、高木 優<sup>3,4)</sup>、多田 雄一<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>2)</sup> 東京工科大院・バイオニクス、<sup>3)</sup> 産総研・生物プロセス、<sup>4)</sup> 埼玉大院・理工

**P-55. 植物における透明化と深部イメージングへの挑戦**

長谷川 淳子<sup>1)</sup>、坂本 勇貴<sup>2)</sup>、中上 知<sup>3)</sup>、勝山 雄喜<sup>2)</sup>、澤 進一郎<sup>3)</sup>、松永 幸大<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・大学院・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大学・理工・応用生物科学、

<sup>3)</sup> 熊本大学・大学院・自然科学・理学

**P-56. スクロース水溶液水浸処理による植物の気孔分布パターンの攪乱**

秋田 佳恵、桧垣 匠、馳澤 盛一郎

東京大・院・新領域

**P-57. 三次元で見た ATP 依存的な繊毛運動の Ca<sup>2+</sup>による制御**

岩瀬 寿仁<sup>1)</sup>、末柄 祐明<sup>1)</sup>、中山 莉奈子<sup>2,5)</sup>、加藤 孝信<sup>3)</sup>、瀬藤 光利<sup>4)</sup>、西坂 崇之<sup>3)</sup>、池上 浩司<sup>4)</sup>、政池 知子<sup>1,2,5)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・総合研究院、

<sup>3)</sup> 学習院大・理・物理、<sup>4)</sup> 浜松医大・解剖学・細胞生物学、<sup>5)</sup> JST・さきがけ

**P-58. 成長円錐における ATP レベル - 形態変化相関の評価**

鈴木 李夏、堀田 耕司、岡 浩太郎

慶應義塾大学大学院 理工学研究科 生命システム情報専修 生物物理・神経情報学研究室

**P-59. リポソーム中溶液反応の直接電顕観察**

阿井 晴佳<sup>1)</sup>、森屋 直人<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,4)</sup>、村田 和義<sup>2)</sup>、新井 善博<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科、<sup>2)3)</sup> 自然科学研究機構 生理学研究所 テラベース株式会社、<sup>4)</sup> 東京理科大学 総合研究院 イメージングフロンティアセンター

**P-60. 材料結合性アミノ酸配列導入によるタンパク質とカーボンナノチューブの複合体形成**

二井 大輔<sup>1)</sup>、嶋田 友一郎<sup>2)</sup>、細川 茜<sup>2)</sup>、野沢 陽佑<sup>3)</sup>、伊藤 雅弘<sup>1)</sup>、本間 芳和<sup>1)</sup>、池平 秀<sup>4)</sup>、西織 大輝<sup>4)</sup>、宮地 麻里子<sup>4)</sup>、山野井 慶徳<sup>4)</sup>、西原 寛<sup>4)</sup>、鞆 達也<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学大学院理学研究科物理学専攻、<sup>2)</sup> 東京理科大学工学部工業化学科、

<sup>3)</sup> 東京理科大学理学部物理学科、<sup>4)</sup> 東京大学大学院理学研究科化学専攻

**P-61. 近赤外蛍光セラミックスナノ粒子による生体内がん転移挙動の追跡**

福島 理人、須鎗 聡、上村 真生、曾我 公平

東理大・基礎工

**P-62. Mn<sup>2+</sup>ドーピング NaYF<sub>4</sub> アップコンバージョン発光ナノ粒子を用いた近赤外光フォトダイナミックセラピー**

大本 歩<sup>1)</sup>、上村 真生<sup>1)</sup>、邱 信程<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・基礎工学部、<sup>2)</sup> 台湾国立清華大學・生醫工程與環境科學系

**P-63. 希土類含有セラミックナノ粒子 (RED-CNP) による小動物を用いた NIR-II 蛍光イメージングならびにマルチモーダルイメージングの可能性**

大谷 敬亨<sup>1)</sup>、北川 寛之<sup>1)</sup>、服部 正泰<sup>1)</sup>、竹内 司<sup>2)</sup>、渡邊 重明<sup>3)</sup>、上村 真生<sup>4)</sup>、曾我 公平<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 片山化学工業株式会社 開発課、<sup>2)</sup> 島津製作所 分析計測事業部、

<sup>3)</sup> 住商ファーマインターナショナル 創薬推進部、<sup>4)</sup> 東京理科大学 基礎工学部

- P-64. Nanoparticle distribution in mouse airways and plant leaves detected by near-infrared fluorescence analysis  
Masakazu UMEZAWA<sup>1)</sup>, Masao KAMIMURA<sup>2)</sup>, Nobutaka KITAHATA<sup>3)</sup>, Bunki TOU<sup>3)</sup>, Rihito FUKUSHIMA<sup>2)</sup>, Ayumu OMOTO<sup>2)</sup>, Yuya YASUDA<sup>2)</sup>, Takeaki HARADA<sup>2)</sup>, Ken TAKEDA<sup>1)</sup>, Kazuyuki KUCHITSU<sup>3,4)</sup>, Kohei SOGA<sup>2,4)</sup>  
<sup>1)</sup>The Center for Environmental Health Science for the Next Generation, RIST, Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science; <sup>2)</sup>Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology, Tokyo University of Science; <sup>3)</sup>Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology; <sup>4)</sup>Imaging Frontier Center, RIST, Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science
- P-65. 希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外蛍光強度比によるナノ温度イメージング  
須鎗 聡、松本 泰来、上村 真生、曾我 公平  
 東京理大・基礎工
- P-66. 近赤外ハイパースペクトルイメージングによるがん診断システムの構築  
安田 裕哉<sup>1)</sup>、河西 真依<sup>2)</sup>、上村 真生<sup>1)</sup>、金子 和弘<sup>3)</sup>、竹村 裕<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 東理大・基礎工・材料工、<sup>2)</sup> 東理大・理工・機械工、  
<sup>3)</sup> 国立がんセンター東病院・消化管内視鏡
- P-67. 生物・医用画像処理・解析のためのクラウド・コンピューティング 4DICP: 4D Image Communication Platform  
森田 正彦<sup>1)</sup>、俵 丈展<sup>1)</sup>、西村 将臣<sup>1)</sup>、井尻 敬<sup>3,1)</sup>、吉澤 信<sup>1)</sup>、趙 武魁<sup>2)</sup>、舛本 現<sup>2)</sup>、辻村 有紀<sup>1)</sup>、姫野 龍太郎<sup>2)</sup>、横田 秀夫<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 理化学研究所 光量子工学研究領域 画像情報処理研究チーム、  
<sup>2)</sup> 理化学研究所 情報基盤センター、<sup>3)</sup> 立命館大学 情報理工学部
- P-68. 軟X線顕微鏡による糸状性シアノバクテリアの窒素マッピング  
寺本 高啓<sup>1)</sup>、吉村 真史<sup>2)</sup>、浅井 智広<sup>3)</sup>、寺内 一姫<sup>3)</sup>、難波 秀利<sup>2)</sup>、太田 俊明<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup> 立命館大学理工学部、<sup>2)</sup> 立命館大学 SR センター、<sup>3)</sup> 立命館大学生命科学部
- P-69. 核小体ストレス応答の可視化レポーターシステムの構築とバイオイメージングによる新たな生理作用の解明  
河原 康一<sup>1)</sup>、川畑 拓斗<sup>1,2)</sup>、上條 陽平<sup>1,3)</sup>、白石 岳大<sup>1,4)</sup>、堀口 史人<sup>1,3)</sup>、山本 雅達<sup>1)</sup>、新里 能成<sup>1)</sup>、南 健太郎<sup>1)</sup>、有馬 一成<sup>5)</sup>、濱田 季之<sup>5)</sup>、古川 龍彦<sup>1)</sup>  
 鹿児島大学 <sup>1)</sup> 大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学、<sup>2)</sup> 大学院理工学研究科生命化学、  
<sup>3)</sup> 大学院理工学研究科システム情報科学、<sup>4)</sup> 理学部生命化学有機生化学、<sup>5)</sup> 学術研究院理工学域理学系
- P-70. D-アミノ酸酸化酵素調節因子 G72 のドメインモデリング  
加藤 有介、福井 清  
 徳島大学疾患酵素学研究センター

P-71. Sirt4 複合体構造モデリング

小島 正樹<sup>1)</sup>、加藤 有介<sup>1,2)</sup>、木原 裕<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京薬科大学生命科学部、<sup>2)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター、

<sup>3)</sup> 姫路日ノ本短期大学ライフサイエンス研究センター

P-72. Abl-Abi 複合体の構造モデリング

鈴木 貴裕<sup>1)</sup>、清野 翔平<sup>1)</sup>、加藤 有介<sup>1,2)</sup>、谷 佳津子<sup>1)</sup>、小島 正樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京薬科大学生命科学部、<sup>2)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター

P-73. 細胞膜タンパク質リサイクリングにおける Arf GTPase 活性化因子 Glo3p のイメージング解析

小林 宣<sup>1)</sup>、河田 大樹<sup>1)</sup>、長野 真<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

P-74. FYVE ドメインタンパク質 Pib2p のバイオイメージング解析

瀬戸 貴成<sup>1)</sup>、仲田 瑛亮<sup>1)</sup>、富田 剛史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

P-75. アクチン重合制御因子 Srv2/CAP とコフィリンによるクラスリン仲介型エンドサイトーシスの協調的制御機構

堀込 知佳<sup>1)</sup>、岡田 明日香<sup>1)</sup>、益田 淳史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

P-76. クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるホスホイノシチド(PIs)および PI4 キナーゼ Stt4p のイメージング解析

山本 航<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

11:30~12:10 【総会】

会場：ホール

12:10~13:10

<休憩>

13:10~14:30

【一般演題】ポスター討論

会場：ホールロビー

奇数番号討論時間 (P41~P75) 13:10~13:50

偶数番号討論時間 (P42~P76) 13:50~14:30

14:30~16:30

【シンポジウム3】「感染症を見る」

会場：ホール

オーガナイザー： 鈴木 和男 (帝京大)、加藤 有介 (徳島大)

S3-1. オーバービュー：「感染症を見る」を開催するにあたって

鈴木 和男

帝京大学アジア国際感染症制御研究所

S3-2. 最小イオンチャネル Hv1/VSOP による貪食細胞の活性酸素産生の多重制御

岡村 康司<sup>1,2)</sup>、大河内 善史<sup>1)</sup>、荒谷 康昭<sup>3)</sup>、Hibret A. Adissu<sup>4)</sup>、鈴木 和男<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 大阪大学大学院医学系研究科、<sup>2)</sup> 大阪大学大学院生命機能研究科、

<sup>3)</sup> 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科、<sup>4)</sup> Physiol & Experimental Med, Hospital for Sick Children, Canada、<sup>5)</sup> 帝京大学・アジア国際感染症制御研究所

S3-3. インフルエンザの薬剤耐性を見る

加藤 有介<sup>1)</sup>、菱木 はるか<sup>2)</sup>、亀岡 洋祐<sup>3,4)</sup>、伊東 玲子<sup>3)</sup>、鈴木 章一<sup>3)</sup>、小川 知子<sup>5)</sup>、石和田 稔彦<sup>6)</sup>、鈴木 和男<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター、<sup>2)</sup> 千葉大学医学部附属病院小児科、

<sup>3)</sup> 帝京大学アジア国際感染症制御研究所、<sup>4)</sup> A-CLIP 研究所、<sup>5)</sup> 千葉県衛生研究所、

<sup>6)</sup> 千葉大学真菌医学研究センター

S3-4. 植物の感染防御応答の制御と細胞内の膜動態

朽津 和幸<sup>1,2)</sup>、大滝 幹<sup>1)</sup>、羽山 大介<sup>1)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>1,3)</sup>、上田 貴志<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター、

<sup>3)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>4)</sup> 東京大院・理・生物科学

S3-5. クライオ蛍光顕微鏡で見る数ケルビンの世界

藤芳 暁

東京工業大学 大学院理工学研究科 物性物理学専攻

S3-6. まとめ

加藤 有介

徳島大学疾患酵素学研究センター

16:40～17:10

【奨励賞受賞者講演】

会場：ホール

細胞内マグネシウムイオン動態の蛍光イメージング

新藤 豊（慶大・理工・生命情報）

（座長：浜口 幸久）

17:10～17:20

【ベストイメージング賞授賞式】

会場：ホール

【閉会式】

◆理事会 : 9月26日(土) 19:00～21:00

会場：ホール右手奥 控えラウンジ

◆評議員会 : 9月27日(日) 12:30～13:30

会場：ホール右手奥 控えラウンジ

◆総会 : 9月28日(月) 11:30～12:10

会場：ホール右手奥 控えラウンジ

## ◎公開講座プログラム

日時：9月26日（土）12:00～17:10（受付開始 11:30）

会場：東京理科大学 葛飾キャンパス（東京都葛飾区新宿 6-3-1） 図書館ホール及びホワイエ

「私たちの暮らしとバイオイメージング～見えるからわかるバイオの世界～」

（平成27年度科学研究費助成事業（研究成果公開促進費））

11:30 開場

12:00～13:00

### 【バイオイメージング体験】

会場：ホワイエ

自分のDNAを見てみよう！

3Dバイオイメージング体験

13:00～14:10

### 【講演会1】

会場：図書館ホール

はじめに

川西 徹（国立医薬品食品衛生研究所 所長）

K-1. あきらめない雌しべ： 秘められた花の力を映像で解き明かす

東山 哲也

名古屋大学大学院理学研究科 教授

K-2. 見えないものを見る： 画像処理によるバイオイメージングの展開

横田 秀夫

理化学研究所光量子工学研究領域 チームリーダー

14:10～14:50

### 【バイオイメージング体験】

会場：ホワイエ

14:50～17:10

### 【講演会2】

会場：図書館ホール

K-3. イラストがいざなう科学の入り口

ウチダヒロコ

イラストレーター / 神戸大学

K-4. 生物発光が拓く未来の生活

永井 健治

大阪大学産業科学研究所 教授

K-5. いのちが透けて見えるミジンコから思うこと

坂田 明

ミュージシャン / 広島大学客員教授

おわりに

朽津 和幸（東京理科大学理工学部 教授）

17:10～18:30

懇談会

■ 学術講演会要旨 ■

特別講演

奨励賞受賞者講演

シンポジウム 1

「NO DIVISION, NO LIFE. ～動物と植物の細胞分裂イメージング最前線～」

シンポジウム 2

「第 2 の生体の窓～21 世紀のバイオイメージングの窓～」

シンポジウム 3

「感染症を見る」

## 特別講演

### 全身・全脳透明化の先に見えるもの—生命の「時間」の理解に向けて—

○上田 泰己<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学医学系研究科、<sup>2)</sup>理化学研究所

私達の体内には自然が創った時計がある。この概日時計は、約24時間の周期でリズムをうち、光や温度の変化でリセットされ、体内の様々なイベントのタイミングを調節する。朝に目が覚め、夜に眠たくなるのも各臓器に時計細胞が存在するからである。体中に散在する時計細胞は、全体として統一的な時間を刻んでいる。講演では、概日時計の解明の現状について紹介するとともに、細胞から少量多品種で個体を創り出す技術や、器官のまるごとイメージングを可能にする透明化技術を紹介し、これらを用いた個体レベルのシステム生物学の実現に向けた試みを議論したい。

**参考文献** *Nature* **418**: 534-9 (2002), *PNAS* **101**:11227-32 (2004), *Nature Genetics* **37**:187-92 (2005), *Nature Genetics* **38**:312-9 (2006), *Nat Cell Biol.* 9:1327-34 (2007), *PNAS* **05**, 14946-51 (2008), *Nat Cell Biol.* **10**, 1154-63(2008), *PNAS* **106**, 9890-5 (2009), *PNAS* **106**: 15744-9 (2009), *Curr Biol.* **20**(24):2199-206 (2010), *Cell* **144**(2):268-81 (2011), *Nature Rev. Genet.* **12**(6):407-16 (2011), *Cell Reports* **2**(4):938-50 (2012), *Genome Biol.* **14**(4):R31 (2013), *Cell*, **157**(3): 726-39, (2014), *Cell*, **159**(6):911-24(2014).

## 奨励賞受賞者講演

### 細胞内マグネシウムイオン動態の蛍光イメージング

○新藤 豊

慶大・理工・生命情報

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、細胞機能の恒常性維持や調節において重要な役割を果たしている。細胞内での  $Mg^{2+}$ 濃度変化は、ミトコンドリアにおける ATP 産生や細胞内での ATP 消費、イオンチャネルの透過性調節、細胞周期の制御などに深く関わっていることが報告されているが、細胞の  $Mg^{2+}$ 濃度調節メカニズムや、細胞内  $Mg^{2+}$ 濃度を引き起こすシグナルはほとんど知られていない。その理由の一つとして、市販の蛍光  $Mg^{2+}$ プローブの  $Ca^{2+}$ に対する選択性の低さが挙げられる。そのため、 $Ca^{2+}$ シグナルが活性化される条件では正確な  $Mg^{2+}$ 濃度の測定ができなかった。我々のグループでは  $Mg^{2+}$ 選択性の非常に高い蛍光プローブである KMG シリーズを開発し、細胞内  $Mg^{2+}$ 動態の解析を行ってきた。その一つである KMG-104 を用いた蛍光イメージングより、細胞内でミトコンドリアが  $Mg^{2+}$ を貯蔵しており、脱共役剤によるミトコンドリア膜電位の脱分極が細胞質中への  $Mg^{2+}$ 放出を誘導することを明らかにした (Kubota and Shindo *et al.*, *Biochimica Biophysica Acta*, 2005)。同様に、グルタミン酸興奮毒性に伴うミトコンドリアへの過剰な  $Ca^{2+}$ 流入によるストレスも、ミトコンドリアから細胞質への  $Mg^{2+}$ 放出の引き金となることを、分散培養したラット海馬神経細胞を用いた実験から明らかにした (Shindo *et al.*, *J Neurosci Res*, 2010)。また、一酸化窒素(NO)により活性化される cGMP、PKG シグナルもミトコンドリアの  $Mg^{2+}$ 放出を誘導することがわかった(Yamanaka and Shindo *et al.*, *FEBS Lett*, 2013)。これらの研究より、ミトコンドリアがストレス負荷や細胞内シグナルの影響を受けて細胞質中の  $Mg^{2+}$ 濃度を変化させることが明らかになった。そこで我々は、ミトコンドリア内  $Mg^{2+}$ 濃度変化をイメージングするため、ミトコンドリアへと局在しやすい Rhodamine 骨格をベースとした KMG-301 を開発し、ミトコンドリア内  $Mg^{2+}$ 動態の解析を可能とした (Shindo *et al.*, *PLoS ONE*, 2011)。KMG-104 と KMG-301 の同時使用による同一細胞内での細胞質中とミトコンドリア内の  $Mg^{2+}$ 濃度変化の同時観察を行ったところ、ミトコンドリア脱分極に伴うミトコンドリア内  $Mg^{2+}$ 濃度減少と細胞質中の  $Mg^{2+}$ 濃度増加は完全な対称形とはならなかった。これは細胞内のコンパートメントにより  $Mg^{2+}$ のバッファリングが異なることを反映していると考えられる。さらに、細胞内の任意の場所における  $Mg^{2+}$ 濃度変化のイメージングを可能とするために、テトラスチンタグ(TC タグ)という短いペプチドタグに選択的に結合するプローブ FIAsh と KMG-104 の特性を併せ持つ KMG-104-AsH を開発した (Fujii and Shindo *et al.*, *J Am Chem Soc*, 2014)。これにより、細胞内の特定部位に局在するタンパク質に TC タグを結合させて細胞に発現させることで、プローブを細胞内のその特定の部位に局在させることが可能となった。現在我々は、蛍光タンパク質に TC タグを結合し、細胞内小器官特異的に発現させることにより、小器官の動きの影響を受けないレシオメトリックな  $Mg^{2+}$ 濃度変化測定系を確立し、細胞内局所での  $Mg^{2+}$ 動態解析を進めている。本発表ではその最新結果も紹介したい。

これらの研究を遂行するにあたり大変お世話になりました慶應義塾大学・岡 浩太郎 教授に、この場を借りて深く御礼申し上げます。

細胞が等分裂する仕組みとその意義の理解に向けて

○清光 智美

名古屋大学大学院理学研究科・JST さきがけ

細胞分裂の研究史において、遺伝情報を担う染色体や、細胞運命を決定する極性因子の分配の仕組みは盛んに研究されてきた。しかし、細胞生理に直結すると思われる細胞サイズの制御の仕組みやその意義は十分に理解されていない。一般に、脊椎動物の体細胞分裂では娘細胞のサイズは均等であり、厳密に制御されている。細胞サイズの均等性を保障する仕組みやその生理学的意義とは何なのだろうか？

動物細胞において、細胞分裂面は染色体分配装置である紡錘体から出るシグナルによって規定されるため、等分裂するためには紡錘体が細胞の中央に正確に配置されることが必要となる。我々は、等分裂する HeLa 細胞(ヒト子宮頸ガン由来細胞株)では、紡錘体配置の偏りを感知し、逆方向に紡錘体を牽引することでその偏りを修正する、自律的な細胞内システムが存在することを見出した(Kiyomitsu and Cheeseman *Nat. Cell Biol.* 2012)。また分裂期後期においては、紡錘体を動かすのではなく、細胞膜を非対称に伸長し、細胞境界を拡張することで紡錘体配置の偏りを修正する仕組みがあることも発見した(Kiyomitsu and Cheeseman *Cell* 2013)。これらの制御システムの異常は、サイズの異なる娘細胞を生む不等分裂につながり、小さいサイズの娘細胞では細胞周期の遅延や細胞死が起こることが示唆された。本セミナーでは、これまでの研究成果と最新の知見や技術を紹介し、等分裂の仕組みとその意義、細胞分裂研究の今後の展望について議論したい。

## 顕微力学操作による細胞分裂機能のメカノケミカル制御

○板橋 岳志<sup>1)</sup>、石渡 信一<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 早稲田大学理工学術院、<sup>2)</sup> 早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所

発生・増殖・分化過程の研究を通じて、細胞をとりまく物理的環境とその変動（力や温度、そしてそのシグナル・情報伝達機構）は、多くの細胞機能や制御機構に非常に重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。それらに共通の細胞分裂過程においても、細胞の内外で働く“力”は多くの機能に関わっている。近年の遺伝子操作技術や細胞生物学的手法の飛躍的發展により、細胞分裂過程に重要なタンパク質が数多く同定され、紡錘体形成や染色体分配の分子ダイナミクスや分子メカニズムは急速に明らかにされつつある。一方、細胞分裂期にある細胞内の紡錘体が、周囲の細胞群や環境から受ける様々な力学負荷にどのように適応し、細胞分裂を精確に遂行しているのかという、力学的見地からの細胞分裂ダイナミクスの理解は未だ乏しい。

私たちは、アフリカツメガエル卵抽出液中や培養細胞中に形成された紡錘体に様々な力学的負荷を直接加え、その応答性を顕微解析することで、紡錘体の形態制御機構や染色体分配機構といった細胞分裂の素過程を物理的側面から解明しようと試みている。これまで私たちは、MEMS力センサーや微小ガラス針を用いて定量的顕微操作及び力測定を可能とする実験系を構築し、試験管内で形成させた紡錘体を直接顕微操作することによって、紡錘体の力学特性及び外部負荷に対する応答性を明らかにしてきた (Ref. 1-3, 5)。また、このシステムを培養細胞系に導入し、細胞を圧縮・伸展させる外部負荷が、負荷の方向によって有糸分裂期進行を加速・減速させることも分かってきた (Ref. 4)。本演題では、私たちのマイクロ力学操作・計測手法を用いた研究から見えてきた、細胞分裂機能のメカノケミカル制御について紹介する。

### 参考文献

1. Takagi J, Itabashi T, Suzuki K, Shimamoto Y, Kapoor TM, Ishiwata S. Micromechanics of the meiotic spindle revealed by stretching along the long axis. *Biophys J*, 106: 735-740 (2014)
2. Takagi J, Itabashi T, Suzuki K, Ishiwata S. Chromosome position at the spindle equator is regulated by chromokinesin and a bipolar microtubule array. *Sci Rep*, 3: 2808 (2013)
3. Takagi J, Itabashi T, Suzuki K, Kapoor TM, Shimamoto Y, Ishiwata S. Using micromanipulation to analyze control of vertebrate meiotic spindle. *Cell Rep*, 5: 44-50 (2013)
4. Itabashi T, Terada Y, Kuwana K, Kan T, Shimoyama I, Ishiwata S. Mechanical impulses can control metaphase progression in a mammalian cell. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109: 7320-7325 (2012)
5. Itabashi T, Takagi J, Shimamoto Y, Onoe H, Kuwana K, Shimoyama I, Gaetz J, Kapoor TM, Ishiwata S. Probing the mechanical architecture of the vertebrate meiotic spindle. *Nat Methods*, 6: 167-172 (2009)

## 微小管ダイナミクスの可視化と定量化：植物細胞分裂の解析への適用

○村田 隆<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 生物進化研究部門、

<sup>2)</sup> 総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻

微小管は真核生物における細胞骨格の主要構成要素の一つであり、遺伝情報の担い手である染色体の分配に働く。また、植物細胞においては、染色体分配後に細胞を2つに分ける過程（細胞質分裂）の進行に働く。微小管が細胞分裂で働くためには、微小管が組織化して紡錘体などの高次の構造体を形作る必要がある。

微小管はチューブリンタンパク質が重合してできた中空の繊維であり、細胞内では重合と脱重合の繰り返しにより常に更新している。細胞内で微小管が高次の構造体を作るためには、微小管の更新と移動が時間的、空間的に適切に制御される必要がある。細胞分裂の理解には、これらの微小管ダイナミクスを可視化し定量することが必要である。

植物の細胞質分裂における微小管ダイナミクスの解析では、観察対象が大きく立体的なことが問題である。我々は、この問題を克服するため、様々なアプローチを行ってきた。

1) 2光子スピニングディスク共焦点顕微鏡による3Dライブイメージング：スピニングディスク共焦点顕微鏡は、蛍光標識した細胞内構造のダイナミクスを観察するのに適した方法だが、観察対象が厚くなるとコントラスト低下が顕著になる。2光子励起を用いることによりこの問題は克服できるが、レーザー出力の不足が問題だった。我々は高ピークパワーのYbレーザーをスピニングディスク共焦点顕微鏡に導入した (Otomo et al. 2015)。この顕微鏡を用いて紡錘体形成の解析を行っている。

2) シリコン浸レンズを用いたスペックル解析：スペックル顕微鏡法は対象のタンパク質を低頻度で蛍光標識し、個別の蛍光分子を顕微鏡下で識別する方法である。イメージングは高S/Nかつ収差が少ない条件で行う必要があるため、細胞深部でこの方法を適用することは難しい。我々は、シリコンオイルで細胞を埋め込み、シリコン浸対物レンズでイメージングすることにより、試料由来の収差を可能な限り減らし、微小管のスペックル観察に成功した (Murata et al. 2013)。

3) 2光子FRAPによる微小管動態の定量：光退色後蛍光回復 (FRAP) 法は、対象とするタンパク質を蛍光標識し、細胞の一部に強い光を照射することにより蛍光を局所的に退色させ、その後の蛍光回復を測定することにより対象タンパク質の動態を解析する方法である。しかしながら、対象が立体物の場合、退色領域が顕微鏡のフォーカス面の上下に広がるのが問題となる。我々は2光子励起により退色を行うことにより、退色領域を限定し、微小管動態の定量解析に成功した (「バイオイメージング」最新号参照)。上記のスペックル解析と合わせ、細胞質分裂で生じる隔膜形成体の微小管には、隔膜形成体内部を移動し重合・脱重合による更新が早い微小管と、更新が遅く移動しない微小管の2種類があることを示し、微小管がどのように細胞質分裂を駆動するのか明らかにした (Murata et al. 2013)。

(参考文献) Murata et al. (2013) Nature Comm. 4, 1967.

Otomo et al. (2015) Anal. Sci. 31, 307-313.

## S1-4

### 植物の細胞板形成を支える M 期キネシン NACK1 と MAPK カスケード

○笹部 美知子<sup>1)</sup>、桧垣 匠<sup>2)</sup>、栗原 大輔<sup>3,4)</sup>、東山 哲也<sup>3,4,5)</sup>、馳澤 盛一郎<sup>2)</sup>、町田 泰則<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 弘前大・農生、<sup>2)</sup> 東京大・院・新領域、<sup>3)</sup> 名大・院・理、

<sup>4)</sup> JST・ERATO、<sup>5)</sup> 名大・WPI-ITbM

細胞質分裂は、細胞分裂の最後の重要なステップで生物種によって多様な様式をとる。植物の細胞質分裂は、細胞板と呼ばれる隔壁が細胞の内側から外側に拡大成長することにより起こり、この過程は微小管を主成分とするフラグモプラストと呼ばれる細胞質分裂装置の中で進行する。我々はこれまでに、NACK1 キネシンと MAP キナーゼカスケードから成る NACK-PQR 経路が、植物の細胞質分裂を制御する中心的な制御系であることを示してきた (Nishihama et al. 2001, 2002, Soyano et al. 2003, Tanaka et al. 2004, Sasabe et al. 2006, Takahashi et al. 2010, Kosetsu et al. 2010)。この経路の全ての構成因子は、細胞質分裂時に、細胞板形成部位であるフラグモプラストの赤道面に局在し、細胞質分裂時に特異的に活性化される。この経路は、MAP キナーゼカスケードの最上流因子 NPK1 に NACK1 が直接結合することにより活性化されるが、NACK1 と NPK1 の結合は CDK の制御下であり、本経路の細胞質分裂時特異的な活性化は CDK により保証されていることが明らかとなっている (Sasabe et al. 2011)。また、生化学的な解析から、細胞板形成過程において NACK-PQR 経路は、下流で複数の微小管結合タンパク質をリン酸化することにより、フラグモプラスト微小管の動態を制御し、フラグモプラストの拡大成長とそれに引き続いて起こる細胞板の拡大成長を促進していることが明らかとなりつつある。

細胞質分裂における NACK-PQR 経路の生化学的な分子機能と制御システムが明らかとなってきた一方で、最近、ライブイメージング解析を通して、NACK1 キネシンが、MAP キナーゼカスケードの活性化因子としてのみならず、細胞板形成時に輸送キネシンとして機能していること、MAP キナーゼカスケード以外にも相互作用因子が存在する可能性が示唆される結果が得られている。ライブイメージング解析による時空間的な解析により見いだされた NACK1 の新たな分子機能モデルと、細胞質分裂過程の解明に向けて提示された新たな課題及び今後の展開について議論したい。

(Nishihama et al., *Genes & Dev.* 15,2001; Nishihama et al., *Cell* 109, 2002; Soyano et al., *Genes & Dev.* 17, 2003; Tanaka et al., *Genes to Cells.* 9, 2004; Sasabe et al., *Genes & Dev.* 20, 2006; Takahashi et al., *Plant Cell Physiol.* 51, 2010; Kosetsu et al. *Plant Cell* 23, 2010; Sasabe et al. *PNAS* 108, 2011)

## 「第2の生体の窓～21世紀のバイオイメージングの窓～」

### SBW イメージングの現状と課題

○曾我 公平<sup>1)</sup>、竹内 司<sup>2)</sup>、横田 秀夫<sup>3)</sup>、岸本 英博<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・基礎工、<sup>2)</sup> 島津製作所、<sup>3)</sup> 理研・光量子、<sup>4)</sup> 琉球大・医

1000 nm を超える近赤外波長域は「第2の生体の窓 Second Biological Window(SBW)」として近年世界的に話題を呼んでいる。これにはこの波長域におけるカメラなどの光学デバイスや蛍光材料などのアイテムを包括するシステムの発達が密接に関係する。このシンポジウムでは、世界に先行して日本で発達しつつある SBW におけるイメージングにフォーカスし、日本がこの波長域において世界をリードする地位を獲得することをめざし、SBW におけるバイオイメージングの現状と課題について議論する。

可視光域近傍での生体における光損失は主に光散乱と種々の吸収により支配されるが、色素による吸収を除くと、主な支配要因は短波長ほど強い光散乱と、長波長ほど強い赤外吸収の裾である。光散乱が紫外・可視よりも弱いことから、近年では 800～1000 nm の first biological window が良く用いられるようになってきた。しかし、さらに光散乱が弱く、かつ赤外吸収の影響を大きく受けない波長がさらに長波長に存在することは 1980 年代からすでに知られていた<sup>1,2)</sup>。ところが一般に用いられる半導体 Si を用いた撮像デバイスではその光学バンドギャップが 1100 nm 付近に存在することからもわかるように、1000 nm を超える波長域での撮像はほとんど不可能である。

一方 21 世紀に入り、光通信デバイスの発達にけん引されて、InGaAs CCD カメラが市場に出回るようになった。このカメラを用いると、1000 nm 以上の波長域の撮像が可能である。したがって、さらに光損失の少ない SBW (1000-1600 nm)でのイメージングがにわかに注目を浴びている<sup>3)</sup>。この波長域では従来数 mm と考えられていた蛍光イメージングの観察深度が数 cmにおよぶことが証明され、さらにはこの波長域に特化した小動物イメージング装置が国内で市販化されるに至っている。

現在知られている SBW における蛍光プローブ用蛍光物質は、量子ドット、カーボンナノチューブ、希土類含有セラミックスナノ粒子(RED-CNP)である。特に RED-CNP については、新たなナノ温度イメージングや SPECT、MRT などとのマルチモーダルイメージングも提案されている。

SBW におけるイメージングは、プローブからシステムに至るまで世界に先駆けて日本が先行して研究開発を進めており、我が国が世界をリードするイメージング技術として活性化することが強く望まれる。本シンポジウムでは、蛍光イメージングプローブ開発者、イメージングシステム開発者、メディカルユーザー、環境バイオユーザーをパネラーとしたパネルディスカッションにより、SBW イメージングの現状と課題を掘り下げる。

1) 飯沼武 他編「医用物理学」(医歯薬出版、1998) p. 162.

2) R. R. Anderson, J. A. Parrish: *J. Invest. Dermatol.*, **77**, (1981) 13.

3) A. M. Smith et al., *Nat. Nanotech.*, **4** (2009) 710.

## カーボンナノチューブの SBW における蛍光

○岡崎 俊也

産業技術総合研究所ナノチューブ実用化研究センター

単層カーボンナノチューブ (SWCNT) は半金属であるグラファイトを筒状に巻いた構造をしており、巻き方によって、半導体にも金属にもなる。また、低次元性物質の特徴として、あるエネルギーにおいて状態密度が発散し (van Hove 特異点)、その状態間の遷移はあたかも分子のように共鳴効果を引き起こす。通常、可視から近赤外領域にある半導体 SWCNT の第 2 バンド間を光励起すると、エネルギー緩和後、SBW 域に位置する第 1 バンド間で発光が起こる。実験的には、SWCNT はバンドル状態では発光しないので、1 本 1 本の孤立したチューブに分散させる必要がある。このため分散剤を用い、液体中に分散させるという手法が通常用いられる。金属的 SWCNT についてはフェルミ面近傍にも状態密度が存在するため発光は観測されない。また、正しく光学的遷移エネルギーを再現するには、バンドギャップに相当するエネルギーに加え、励起子効果を考慮する必要がある。

一方、SWCNT 壁を適度に酸化することによって、高く 1% 程度の発光量子収率を 20 倍以上増加できることが明らかとなってきた [1,2]。それは、光励起によって発生する SWCNT 上の励起子が、酸素導入部位に効率的にトラップされ、0 次元励起子となって発光するため、発光収率が高まるという理由に依る。最近、我々は大気中で SWCNT の薄膜に紫外光を照射することにより、新しい酸化 SWCNT を合成できることを発見した。この酸化 SWCNT は従来法で得られる酸化 SWCNT よりも長波長で発光し、カイラル指数(6, 5)の SWCNT に対して適用した場合、

1300 nm 付近で発光し、生体中の蛍光プローブとしては最適であることが分かった (図 1)。ラマン散乱測定や光吸収スペクトルを測定したところ、これまでに報告されている酸化 SWCNT の特徴 [1] と類似しており、発光エネルギーシフトの値 [3] から、エポキシド型酸化 SWCNT であると結論付けた。この酸化 SWCNT をポリエチレングリコール (PEG) をもちいて水溶化し、抗体分子であるイムノグロブリン G (IgG) と化学結合させた。さらに、G タンパクとの免疫沈降反応をおこなったところ、通常の SWCNT と同様 [4] に非常に効率よく免疫沈降反応することが確認できた。さらに、本酸化 SWCNT を近赤外蛍光プローブとして、マウスをもちいた動物実験をおこなったところ、安全性が高く、輝度も桁違いに高いことが明らかとなった。これらの結果は、近赤外蛍光イメージングプローブとして、酸化 SWCNT のポテンシャルが極めて高いことを示唆している。

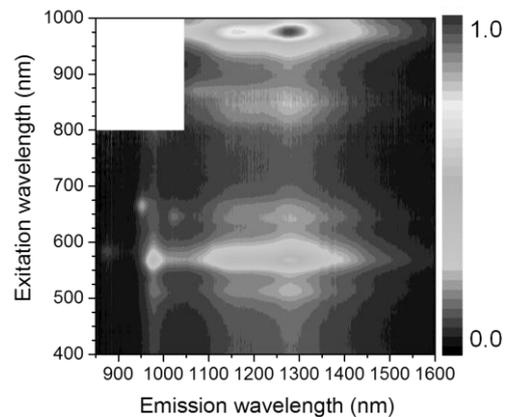


図 1. 酸化 SWCNT ミセル重水溶液から得られた 2 次元発光スペクトル

[1] S. Ghosh et al., Science, 330, 1656 (2010). [2] Y. Miyauchi et al., Nat. Photonics, 7, 715 (2013). [3] X. Ma et al., ACS Nano, 8, 10782 (2014). [4] Y. Iizumi et al., ACS Appl. Mater. Interfaces, 5, 7665 (2013).

## S2-3

### 第2の生体の窓(Second Biological Window)におけるマウスイメージング

○竹内 司

島津製作所 分析計測事業部

ライフサイエンス研究において生体内での様々なプロセスの可視化は重要な研究ツールとなる。対象を生きたままで観察する *in vivo* イメージングは、PET や SPECT、MRI、CT、超音波など、様々なモダリティーが存在するが、空間分解能、時間分解能、感度などそれぞれの手法が持っている特徴を活かしつつ、対象の機能情報や形態情報を得ることで達成される。その中でも簡便に短時間でデータ取得が可能な蛍光イメージングは既にツールとして取り入れている研究者も多い。現在行われている、蛍光イメージングの画像取得波長はおおよそ 800 nm 以下に限定される。しかし、短波長ほど強い光散乱と、可視光波長域を中心とする色素による自家蛍光等に起因するバックグラウンドノイズなどの影響があり、得られる画像の空間分解能には制限がある。

そこで我々はタイトルにもある第2の生体の窓、すなわち 1000~1600 nm の近赤外光を利用することによる、蛍光画像の取得に取り組んでいる。

現在の波長域に比べてより深部の観察が可能になるばかりでなく、散乱の低減により、これまでよりもはるかに高精細な画像の取得が可能になる。本講演ではそのアプリケーションを中心に島津製作所の取り組みを紹介したい。

## ナノ粒子環境問題と SBW（第2の生体の窓）イメージングへの期待

○梅澤 雅和

東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 戦略的環境次世代健康科学研究基盤センター

ナノ粒子は現代の産業活動の結果として環境放出が増え、人の触れる（曝露を受ける）機会が増えたものの一つである。人がその曝露を受けた場合に起こる生体影響を予防すべく、その詳細を明らかにするために、環境衛生学的視点からナノ粒子の動物体内における動態が研究されてきた。環境衛生学において大気中浮遊粒子の研究は、1950年台から活発に行われてきた。その中で特に、直径（動力的粒子径）10  $\mu\text{m}$  以下の粒子（ $\text{PM}_{10}$ ）、2.5  $\mu\text{m}$  以下の粒子（ $\text{PM}_{2.5}$ ）と小さな画分に焦点が移り、2000年頃からさらに小さいナノ粒子の研究が世界的に進んだという歴史がある。また、ナノマテリアルの医薬応用の観点からも、ナノ粒子の体内動態の検証技術の改善が求められる。これまでに、ナノ粒子は吸入すると呼吸器の深部に沈着しやすいこと、鼻腔から脳神経系に輸送されること、胎盤を通過すること、妊娠母体から胎児に移行し、成長後の次世代個体からも検出されることが明らかにされてきた。

一方で、ナノ粒子の検出技術には改善の余地が大きく残っており、特に高感度かつ定量的な検出技術の確立が課題である。生体内に分布したナノ粒子を感度良く検出するには電子顕微鏡による観察が必要であるが、ナノ粒子を観察可能な高倍率で、定量性を担保できる広視野を観察するには甚大な労力がかかってしまうことは言うまでもない。生体内の含有量が少ない元素から成るナノ粒子であれば、その体内分布を誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）で検出できる。ナノ粒子の注目される活性は粒子表面で起こる反応によるものであるが、ナノ粒子では比表面積（質量あたりの表面積）が大きいため、逆に表面積が大きくても質量は相対的に小さい。そのため、一般的には高感度に元素の定量分析が可能であるとされる ICP-MS や ICP 発光分光分析も、ナノ粒子の定量には感度が十分であるか疑問がある。すなわち、上記の元素定量はあくまで質量基準であるために、ナノ粒子の定量の感度については注意が必要である。従来汎用されている蛍光色素（FITC、Rhodamine など）により標識したナノ粒子の蛍光顕微鏡での検出も、生体組織に単分散で分布した粒子の検出には限界がある。

さらに、ナノ粒子の体内動態をクリアランスの過程まで簡便にスクリーニングするために、生体内分布のライブイメージングを可能にする非侵襲的検出技術の改善が望まれる。生体内に投与した物質の非侵襲的検出技術というと、X 線 CT (Computed Tomography)、核磁気共鳴画像解析 (MRI: magnetic resonance imaging)、陽電子放射断層撮影 (PET: Positron Emission Tomography) が挙げられるが、それぞれ頭蓋骨のある頭部に実験レベルでも適用できない、長いスキャン時間を要する、放射性核種をプローブとして要するという限界がある。これらにない利点をもつ高深度イメージングを実現すべく、近赤外波長域からなる「第2の生体の窓 Second Biological Window (SBW)」の蛍光検出技術の活用が期待される。本演題では、ナノ粒子の体内動態に関する知見と課題を概説し、その分析技術の改善の必要性を提示したい。

## 新たなイメージング内視鏡の開発 一次世代内視鏡への展望

○金子 和弘<sup>1)</sup>、佐藤 暁洋<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 国立がん研究センター東病院 消化管内視鏡科、<sup>2)</sup> 国立がん研究センター東病院  
臨床開発センター、臨床試験支援室、<sup>3)</sup> 東京理科大学基礎工学部

Image Enhanced Endoscopy (IEE)の登場により、消化管腫瘍に対する診断能が向上した。一方、専門性が高まっている現在では、さらに多くの診断・治療に関する情報が要求される。腫瘍のもつ形態的特徴だけにとらわれず、腫瘍を機能的な側面にとらえ、これをイメージングに変換する技術の開発が進められている。

癌における低酸素状態は、1960年代から研究が始まっており、癌のもつ生物学的な機能的特徴の一つとされている。しかし、酸素電極を腫瘍に刺入し、酸素分圧を測定する測定法（ポーラログラフィー）は点での計測であり、病変全体の酸素濃度を示すことは困難であった。一方、本システムは酸化・還元ヘモグロビンの吸収係数の違いに着目し、至適なレーザー光を照射することで腫瘍表面の酸素飽和度をリアルタイムに疑似カラー表示できる新規内視鏡であり、フジフィルムと共同で開発した。First in human 試験が終了したので報告する。また、現状は薬事申請に向け準備をしている。

近年、「生体の窓」と呼ばれる800～1500 nmの波長域にある近赤外光を利用した技術開発が進められており、光通信技術にも応用されている。生体内で近赤外光を使用する利点は、光散乱や赤外吸収といった光損失が極端に少なく、組織内でセンチメートルオーダーの高透過性を示し、かつ組織に対して非侵襲であり、医療への応用が期待されている。現在、アカデミアと共同研究を行い、1,000 nm以上の波長域にある近赤外光を用いたイメージング内視鏡の開発に着手している。組織透過性が良く、組織への非侵襲性から消化管癌の内視鏡治療を決める深達度診断や、粘膜下腫瘍の正確な診断等が挙げられる。

将来的な展望からは、内視鏡にレーザー光源を搭載した開発の成果は大きい。さらに波長域を近赤外光にまで拡大することで、組織深部の観察が可能となる。光学基盤技術を組み合わせた新規内視鏡機器開発では、効能・効果、毒性、性能試験等の非臨床試験を含め、超えていかなければならないハードルは多数存在するが、新たな機器開発には期待される成果も大きい。

## シンポジウム 3

## オーバービュー：「感染症を見る」を開催するにあたって

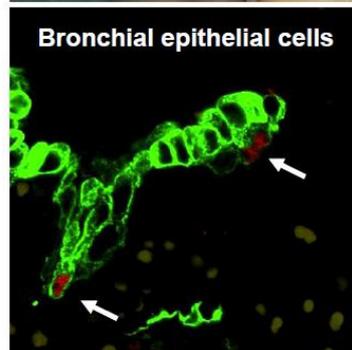
○鈴木 和男

帝京大学アジア国際感染症制御研究所

一口に感染症と言ってもその分野はとてつもなく広い。感染と感染症とは全く異なった分野であり、地球上に生きているバクテリアも含めすべての生き物は他の生物が感染している。では、感染症とは何かというと、感染源がホスト側との“仲の良い”関係がくずれホスト側の正常機能をおびやかして病的な状態を誘発し、それがひどくなれば死にいたらすことである。動植物界での両者の良い関係を保っているのは生体防御機能によっていて、高等生物になるにしたがい免疫機能として発達して「良い関係」を保っている。そのバランスがくずれると劇症型や高病原性として致死率を上げることになる。人類の歴史も感染症によって大きく変化してきている。ペスト、スペイン風邪（インフルエンザ）、赤痢、結核、コレラ、ポリオ、エイズ、エボラなどなどである。

世界の近代化によって、社会構造や流通・旅行の形態がこれらの感染症を誘発し、感染症の内、高病原性の感染症は世界規模で恐怖の的になっている。一時は、抗生物質により激減したことで感染症はすでに終わったかに見えたが、エイズの出現、SIRDS や H5N1 インフルエンザの出現とエボラで世界中が感染症対策に翻弄されている。そして、結核は、今でも東南アジアでも猛威を振るっている状況である。アジアでの感染症研究の発端となったのは、H5N1 の死亡例の病理標本を見ることから始まり、そのブロックを借り受け、解析したことであった（図）。

さて、以上のべたように感染症の研究では、感染源の特定とホスト側の両者からのアプローチがある。両者の間にある薬剤の3者からの研究を Bioimaging の観点から紹介してもらい、感染症への理解と今後の感染症研究や生体防御の視点をひもといてもらえることを期待している。



上段：ブロックを半分カットして借用

下段：上皮細胞核内で H5N1 増殖：←(1)

本シンポジウムは、

1. ホスト側からは、好中球などの細菌・ウイルスを不活化する活性酸素や OCl<sup>-</sup> にかかわるイオンチャンネルの制御機構の話題
2. インフルエンザウイルスと薬剤の耐性を分子構造からひもとく
3. 植物の感染防御はどうなっているか
4. 新しい蛍光顕微鏡でみる世界の視点で行う。

Reference: 1. Nguyen & Suzuki *et al.* Jpn. J. Infect. Dis., 2008; 61: 157-160.

### 最小イオンチャネル Hv1/VSOP による貪食細胞の活性酸素産生の多重制御

○岡村 康司<sup>1,2)</sup>、大河内 善史<sup>1)</sup>、荒谷 康昭<sup>3)</sup>、Hibret A. Adissu<sup>4)</sup>、鈴木 和男<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> 大阪大学大学院医学系研究科、<sup>2)</sup> 大阪大学大学院生命機能研究科、<sup>3)</sup> 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科、<sup>4)</sup> Physiol & Experimental Med, Hospital for Sick Children, Canada、

<sup>5)</sup> 帝京大学・アジア国際感染症制御研究所

電位依存性プロトンチャネルは貪食細胞において活性酸素を作る NADPH オキシダーゼの活性を制御する因子として知られてきたが、長い間分子実体が不明であった。我々は 2006 年にこの電位依存性プロトンチャネルの分子実体を同定した (Hv1/VSOP ; Sasaki et al., Science 2006)。

Hv1/VSOP は、プロトン透過、膜電位感知、pH センサー機能を有し、哺乳類ゲノムでコードされる分子量最小のイオンチャネル蛋白質である。Hv1/VSOP の機能が欠失したノックアウトマウスを作成して好中球における活性酸素の産生能を調べた結果、野生型と比較して、活性酸素スーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) および過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 量が低下していること、この異常がオキシダーゼの活性化に伴う細胞膜の過剰な脱分極および細胞内 pH の低下によって引き起こされることを明らかにし (Okochi et al., BBRC 2009, Chemaly et al., JEM 2010)、従来提唱されてきた NADPH オキシダーゼの制御因子仮説を実証した (図)。

最近、この研究の延長上で、好中球でのプロトンチャネルの新たな役割を見いだした。好中球では、活性酸素  $H_2O_2$  は強力な酸化剤である次亜塩素酸 (HOCl) に変換され、この過程には特殊な小胞に蓄えられているミエロパーオキシダーゼ (MPO) が細胞外へ分泌される必要がある。我々は、オキシダーゼを活性化する薬剤 PMA および抗体 IgG で好中球を刺激して HOCl の産生量を調べたところ、予想とは異なり、プロトンチャネルの機能が欠失した好中球において、HOCl の産生量が野生型よりも有意に増加するという奇妙な結果が得られた。この現象について詳細に解析したところ、プロトンチャネルの機能が欠失した好中球において、ミエロパーオキシダーゼを含む小胞の数が野生型よりも有意に低下し、細胞外に分泌される MPO の量が増加していた。すなわち、プロトンチャネルの機能が欠失した好中球では、小胞の分泌が促進されていることが明らかになった (Okochi et al., JLB 2015)。さらに、プロトンチャネルの阻害剤である亜鉛イオンや膜電位の上昇を抑制するバリノマイシンを用いた実験から、小胞の分泌抑制には、少なくとも、細胞膜上に局在するプロトンチャネルがオキシダーゼ活性化時に上昇する膜電位を抑制する必要があることが明らかになった。以上から、プロトンチャネルは、オキシダーゼの活性を助けるだけでなく、小胞の分泌を抑制することで、個々の活性酸素量を調節していると考えられる (図)。我々は、また、好中球機能異常と関連する個体レベルの表現型として、カンジダ菌感染時の肺において、炎症症状が野生型よりも強く現れる所見を見いだした (Okochi et al., JLB 2015)。

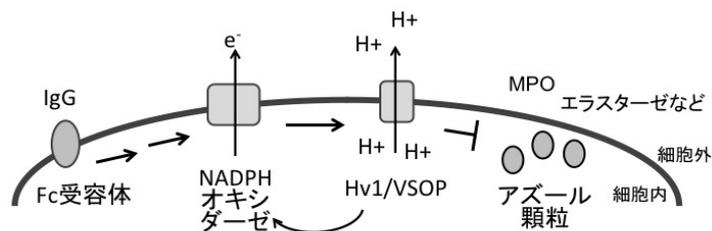


図: 好中球における活性酸素の産生を制御するHv1/VSOPの機能

### インフルエンザの薬剤耐性を見る

○加藤 有介<sup>1)</sup>、菱木 はるか<sup>2)</sup>、亀岡 洋祐<sup>3,4)</sup>、伊東 玲子<sup>3)</sup>、鈴木 章一<sup>3)</sup>、小川 知子<sup>5)</sup>、  
石和田 稔彦<sup>6)</sup>、鈴木 和男<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター、<sup>2)</sup> 千葉大学医学部附属病院小児科、<sup>3)</sup> 帝京大学アジア国際感染症制御研究所、<sup>4)</sup> A-CLIP 研究所、<sup>5)</sup> 千葉県衛生研究所、<sup>6)</sup> 千葉大学真菌医学研究センター

インフルエンザウイルスには A, B, C 型が知られており、B 型は A 型に比べて嘔吐や腹痛などの腹部症状が強く出る場合があるが、基本的な症状は A 型とよく似ていると言われてきた。しかし近年薬剤耐性を獲得することにより発熱遷延化し 100 時間以上の発熱が持続するケース等が国内でも報告されてきている。そこで我々は B 型インフルエンザ発熱遷延例について薬剤耐性化機構を検討した。薬剤耐性ウイルスゲノムの解析結果を、新たに構造モデリング等の *in silico* 手法により解釈することで機構面での解析をビジュアル的な観点から行うことで重要な変異箇所の絞り込みに応用した。

具体的にはノイラミニダーゼ阻害剤に対する薬剤耐性を示した 69 患者のうちウイルスゲノム解析解析に成功した 3 検体 (K41, Y2, M2) サンプルを対象とした。これらの変異を薬剤感受性株のノイラミニダーゼのアミノ酸配列と比較したところ、複数のユニークな変異が見いだされた。K41 では 5 カ所、M2 では 6 カ所、そうした変異が見いだされた。なお K41 は Oseltamivir (タミフル) に対する耐性、M2 は Zanamivir (リレンザ) に対する耐性をそれぞれ示した。

これらの変異箇所の中で特に薬剤耐性に重要な役割を果たす変異の箇所を予測するため、それぞれの変異がノイラミニダーゼの構造に与える影響について解析することを検討した。そのためにノイラミニダーゼタンパク質の *in silico* 分子モデリングを行った。タンパク質構造モデリングにはホモロジーモデリング法が適用され、得られた構造モデルに対してさらに *in silico* 薬剤ドッキングがなされた。

K41 ノイラミニダーゼと Oseltamivir の複合体構造モデルの観察によれば 5 カ所のユニークな変異のうち 3 カ所の変異は重要ではないと予測された。これらの残基は Oseltamivir 結合部位から遠く離れた位置にあるか、あるいはその側鎖が他の残基と相互作用していない。残りの 2 カ所、Q272 と K375 については薬剤耐性に対して重要な意味があるかも知れないと予測している。Q272 は Oseltamivir 結合ポケットの構造安定性に影響を与える可能性がある。また K375 については他の多くの株で M であり他の疎水性残基と相互作用しているのだが、K に変化することでそうした相互作用が変化する可能性がある。

M2 ノイラミニダーゼと Zanamivir の複合体構造モデルの観察によれば M2 で見られた 6 カ所の変異箇所のうち 5 カ所は重要ではないと予測される。残る 1 カ所、R295 は Zanamivir と直接相互作用する N294 のすぐ隣であり、周辺の構造の安定性に重要な意味があると予測された。

以上のように薬剤耐性変異解析と構造モデリング、ドッキングシミュレーションを組み合わせ、変異箇所の重要性をビジュアル的に判断する方法は、薬剤耐性化機構の解析に非常に有用である。

### 植物の感染防御応答の制御と細胞内の膜動態

○朽津 和幸<sup>1,2)</sup>、大滝 幹<sup>1)</sup>、羽山 大介<sup>1)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>1,3)</sup>、上田 貴志<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター、

<sup>3)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>4)</sup> 東京大院・理・生物科学

今後の人類が直面する重要な課題である食糧・環境・エネルギー問題の本質を考えると、人類がいかに多くを植物に依存しているかに気づく。世界の人口は未だに増加の一途をたどっており、穀物や青果物に代表される食糧の安定的な供給は、今後の人類にとって必要不可欠な課題である。農業による植物生産にとって、植物病原体による感染症は、未だに大きな脅威である。感染症に対する従来の農薬の大半は、病原体の増殖や感染を標的とし、それを抑制する殺菌剤であるが、ヒトの感染症の原因の大半がウイルスや細菌であるのに対して、植物病原体の約 8 割は真菌、卵菌等の真核生物である。そのため、感染症対策として殺菌剤を用いるアプローチには、人体や環境への影響や耐性菌の出現に対する配慮が必要であり、それに代わる方法論も求められている。

一方、植物も、病原体の感染を感知し撃退する、動物とは異なる高度な免疫系を発達させている。その過程では、NADPH oxidase による活性酸素種(ROS)の積極的生成(木村貴史 *et al.* 本学術集会)、抗菌性物質の合成、局所的プログラム細胞死(PCD)等が誘導され、分子機構の解明が進められつつある。植物の免疫力を増強する薬剤は、従来の殺菌剤や殺虫剤の欠点を克服できると期待される。これまでに数種の抵抗性誘導剤が実用化されているが、一部の作物と病原体にのみ有効なサリチル酸経路に作用する薬剤に限られている。我々は、植物培養細胞の ROS 生成を指標とした簡便な選抜・評価系(PCT 出願済)を考案し、「植物サプリ」とも呼び得る新規植物免疫活性化剤の探索を進めている。その過程で、phosphoinositide 3-kinase (PI3K)阻害剤が、感染シグナル誘導性 ROS 生成を亢進するなど、植物の感染防御応答の活性化能を持つことを見出した。

PI3K は種々の膜交通系の制御に関与することが知られている。我々は、タバコ培養細胞 BY-2 をモデル系として、オートファゴソーム等の細胞内膜系のイメージング実験系(花俣繁 *et al.* 本学術集会)を用いて解析した結果、卵菌由来の感染シグナル cryptogein により誘導される PCD を伴う感染防御応答過程において、液胞やオートファゴソーム等の細胞内膜系の動態が変化することを見出した(Higaki *et al. Plant Cell Physiol.* 2007; 桧垣 *et al.* 本学会学術集会 2007; Higaki & Kurusu *et al. J. Plant Res.* 2011; 岡田 *et al.* 本学会学術集会 2011)。

そこで、どの膜交通系の阻害が植物免疫の活性化に関与するかを明らかにするため、種々の膜交通系の変異体を用いて、感染シグナル誘導性 ROS 生成に対する影響を解析した。その結果、エンドソームと液胞の膜融合に関わる因子の変異体では野生型と比べて、感染シグナル誘導性 ROS 生成が亢進すると共に、阻害剤前処理による ROS 生成の亢進が抑制された。エンドサイトーシスを介した細胞膜タンパク質の液胞への輸送と分解が感染防御応答の制御に関与するとの作業仮説を立て、感染シグナル受容体タンパク質のイメージング実験系を構築し、感染シグナル受容後のエンドサイトーシスを介した動態解析を進めている(羽山大介 *et al.* 本学術集会)。細胞内膜系の動態について報告し、細胞内膜交通系を介した植物の感染防御応答の制御機構について議論する。

## クライオ蛍光顕微鏡で見る数ケルビンの世界

○藤芳 暁

東京工業大学 大学院理工学研究科 物性物理学専攻

あるタンパク質の生体内での働きを考えると、その機能は立体構造で一義に決まるような画一的なものではない。なぜならば、細胞内部の局所環境や、他の分子との相互作用が機能発現に不可欠だからである。しかし、こうしたタンパク質の細胞内における振舞いを、真に分子レベルで知るのはきわめて難しい。これを解明し、制御するための切り札となるのがタンパク質1分子分光であると私は考えている。この1分子分光の課題は、信号が非常に微弱であるため、精密な情報を得るためには、有限の測定時間（数分）がかかることである。数分という時間は、タンパク質の構造が変化したり、細胞中を移動したりする時間に比べ、桁違いに長い。そこで、私は、極低温にすることでタンパク質のあらゆる動きを封じ込める「数 K のタンパク質1分子分光」が有望であると考え、2004年に一連の研究をはじめた。

数 K のタンパク質1分子分光では、顕微システムの機械的安定性を確保するため、対物レンズと試料とを剛性の高いホルダーに設置し、共に極低温下に配置する。ところが、この配置を実現することは容易ではない。一般に使われている高性能な組レンズ型の対物レンズは極低温では動作しない。このため、市販品で極低温の使用に耐える単レンズが、一連の研究に用いられてきた。ところが、単レンズを使うと、色収差と呼ばれる波長の違いによる画像ぼけが深刻になり、非常に限られた系でしか研究ができなかった。そこで、我々は極低温用の反射対物レンズの独自開発から研究をはじめた。反射対物レンズを用いる利点は以下の2点である。（1）反射光学系は色収差が原理的に存在しないこと、（2）デザインを工夫すると1つの石英ガラスに一体成形できるため、低温に冷却しても室温と同じように動作する可能性があることである。（ちなみに、組レンズ型の対物レンズは複数枚のレンズから構成されるため、低温ではそれぞれの相対位置が歪み動作しない。）このような考えの元、開発を始めたものの、もともとレンズ設計の素人であった我々が、新しい反射対物レンズを作ろうということは簡単にいくわけが無く、苦労の連続であった。それでもあきらめず10年間研究を続けた結果、現在では、7つのデザインの反射対物レンズを完成している[1-2]。この開発した反射対物レンズ専用のクライオ顕微システムを独自開発することで、極低温であっても室温と同等のクオリティーの蛍光画像が撮れるようになってきた。一連の装置開発と平行して、ミドリムシの光活性化酵素の1分子分光[3]や、タンパク質の赤外1分子分光[4]、希土類イオンの1イオン光検出[5]などの物理化学的な成果もあがってきている。講演では、反射型蛍光顕微システムの構築にまつわる苦労話を交えながら、私の夢であるタンパク質1分子解析について語りたい。

1. Fujiyoshi, S. *et al.* Single-component reflecting objective for low-temperature spectroscopy in the entire visible region. *Appl. Phys. Lett.* **91**, 3,(2007).
2. Fujiyoshi, S., Fujiwara, M. & Matsushita, M. Visible fluorescence spectroscopy of single proteins at liquid-helium temperature. *Phys. Rev. Lett.* **100**, 4,(2008).
3. Fujiyoshi, S., Hirano, M., Matsushita, M., Iseki, M. & Watanabe, M. Structural Change of a Cofactor Binding Site of Flavoprotein Detected by Single-Protein Fluorescence Spectroscopy at 1.5 K. *Phys. Rev. Lett.* **106**, 4,(2011).
4. Fujiyoshi, S., Furuya, Y., Iseki, M., Watanabe, M. & Matsushita, M. Vibrational Microspectroscopy of Single Proteins. *J. Phys. Chem. Lett.* **1**, 2541-2545,(2010).
5. Nakamura, I., Yoshihiro, T., Inagawa, H., Fujiyoshi, S. & Matsushita, M. Spectroscopy of single Pr<sup>3+</sup> ion in LaF<sub>3</sub> crystal at 1.5 K. *Scientific Reports* **4**, 7364,(2014).

■ 一般演題（ポスター） ■

## タバコ培養細胞 BY-2 におけるオートファジーの細胞周期に依存した制御

○花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>2,3)</sup>、朽津 和幸<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京工科大・応用生物、

<sup>3)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター

真核生物の細胞内小器官や生体分子の主要な分解経路であるオートファジー(細胞内自食作用)は、真核生物の様々な高次生命機能に関与する。その実行に関与する ATG (Autophagy-related) 遺伝子群は、真核生物に共通に存在する。細胞内のオートファジー活性は生理状態や外部刺激により制御される一方、様々な生物において基底レベルのオートファジーが細胞のホメオスタシス維持に重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。しかし植物細胞では、オートファジーの動態を観察し、定量するための簡便な方法の確立が遅れていたことが研究の大きな障害となっていたため、基底レベルのオートファジー動態とその制御機構については不明な点が多い。本研究では、細胞内分子動態の可視化解析に適したタバコ培養細胞 BY-2 のオートファジーの動態の可視化・定量解析系[1,2]を用いて、同調培養細胞の細胞周期進行に伴うオートファジー動態を解析し、植物細胞におけるオートファジーと細胞周期との関係を解析した。

タバコ培養細胞 BY-2 のオートファジー動態を解析するため、オートファジー実行時に形成されるオルガネラ(オートファゴソーム)に直接局在化するタンパク質 NtATG8a と、黄色蛍光タンパク質(YFP)との融合タンパク質を発現させた形質転換細胞[1,2]を用い、細胞周期を同調させ、オートファゴソーム形成を *in vivo* で可視化し、経時的に解析した。その結果、オートファゴソームは G1 期と G2 期で増加し、S 期と M 期において減少することが明らかとなった(図1)。オートファゴソームの減少と細胞周期進行との関係を調べるため、Cdk (cyclin-dependent kinase) 阻害剤により G2/M 移行を阻害すると、オートファゴソームの減少が抑制されたことから、この減少は M 期への進行に伴い誘導されることが明らかとなった。一方、プロテアソーム阻害剤 MG-132 で処理すると、細胞周期の全ての時期において、迅速なオートファゴソームの増加が誘導されたが、M 期においてのみ、そのレベルは低かった。これらの結果から、植物の基底レベルのオートファジーは、細胞周期進行に伴い、各時期で異なるレベルに制御

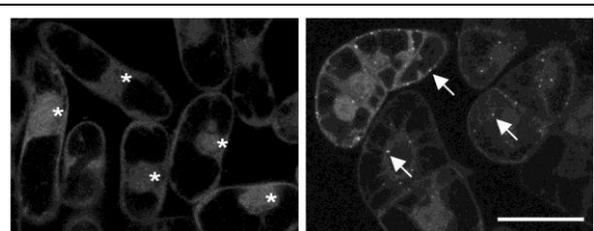


図 1: YFP-NtATG8a を発現させた BY-2 細胞オートファゴソーム(矢印で示す)は M 期(左)で減少し、G1 期(右)で増加した。bar=50 μm

され、分裂期では抑制される可能性が示唆された。複数の手法により多面的にオートファジー flux を解析し、細胞周期進行におけるオートファジー動態変化と、その生理的意義の解明を試みている。

[1] Hanamata, S., Kurusu, T., Okada, M., Suda, A., Kawamura, K., Tsukada, E., & Kuchitsu, K. (2013). *In vivo* imaging and quantitative monitoring of autophagic flux in tobacco BY-2 cells. *Plant Signaling & Behavior* 8(1): e22510.

[2] 花俣 繁, 来須 孝光, 朽津 和幸 (2014) 植物のオートファジー動態の簡便な定量解析, *バイオイメージング* 23(1): 23-27.

## 基部陸上植物ゼニゴケにおける活性酸素種生成酵素(NADPH oxidase)遺伝子の発現部位と機能の解析

○木村 貴史<sup>1)</sup>、橋本 研志<sup>1)</sup>、藪田 渉二<sup>1)</sup>、賀屋 秀隆<sup>1,2)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、石崎 公庸<sup>3)</sup>、西浜 竜一<sup>4)</sup>、河内 孝之<sup>4)</sup>、朽津 和幸<sup>1,5)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・院・理工・応用生物学、<sup>2)</sup> 農業生物資源研、<sup>3)</sup> 神戸大・院・理、

<sup>4)</sup> 京都大・院・生命、<sup>5)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター

電子伝達系や酸化活性を持つミトコンドリア、葉緑体、ペルオキシソーム等により、酸素呼吸や光合成等の代謝の副産物として生成される活性酸素種(ROS)は、毒性を持つため、生体は消去系を発達させている。一方で種々の真核生物は、NADPH oxidase (Nox)等の酵素により ROS を積極的に生成する。このうち植物の respiratory burst oxidase homolog (Rboh)は、Ca<sup>2+</sup>の結合と種々のプロテインキナーゼによるリン酸化により相乗的に活性化され(Ogasawara *et al.* *JBC* 2008; Kimura *et al.* *BBA* 2012)、それによる細胞壁空間(細胞膜の外側)への ROS 生成は、Ca<sup>2+</sup>制御系と共に細胞膜上でシグナルネットワークを形成し、免疫・ストレス応答、根毛・花粉管の先端成長(Takeda *et al.* *Science* 2008; Kaya *et al.* *Plant Cell* 2014; Kaya *et al.* *Plant Signal. Behav.* 2015)・発生・生殖、細胞壁制御(Kärkönen and Kuchitsu *Phytochem.* 2014)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に重要な役割を果たす(Kurusu *et al.* *Trends in Plant Sci.* 2013; Kurusu *et al.* *Front. Plant Sci.* 2015; 朽津 *et al.* 2014 年度本学会学術集会)。陸上植物の Rboh には、動物の Nox5 や Duox 等の制御ドメインとは異なる Ca<sup>2+</sup>結合性活性制御ドメインが高度に保存されている。しかし Rboh により生成された ROS が果たす生理機能の全貌や、その作用の分子機構は未解明である。

最近我々は、新たなモデル植物として注目を集めている基部陸上植物(苔類)ゼニゴケから 2 種の Rboh (MpRbohA, B) を同定した。HEK293T 細胞を用いた異種発現解析の結果、複数のプロテインキナーゼによるリン酸化と、EF-hand 領域への Ca<sup>2+</sup>結合により相乗的に活性化されることが明らかになり、その構造や活性制御機構は、被子植物の Rboh と類似性が高いと考えられた。本研究では MpRbohA, B の生理機能を明らかにするため、プロモーター領域の下流に GUS 遺伝子をマーカーとして持つ形質転換体を作成し、生活環を通じた MpRbohA, B の発現部位の解析を進めた。その結果、葉状体の成長点付近における局所的な発現が示された(図)。さらに ROS 消去剤や ROS 生成関連酵素の阻害剤を用いた実験から、ゼニゴケ葉状体の成長に MpRboh 由来の ROS が関与する可能性も示唆された。生きたままの細胞で、蛍光または発光プローブを用いて、ROS の局在のイメージング解析を試みており、分裂組織における ROS の積極的生成の生理機能に迫りたいと考えている。

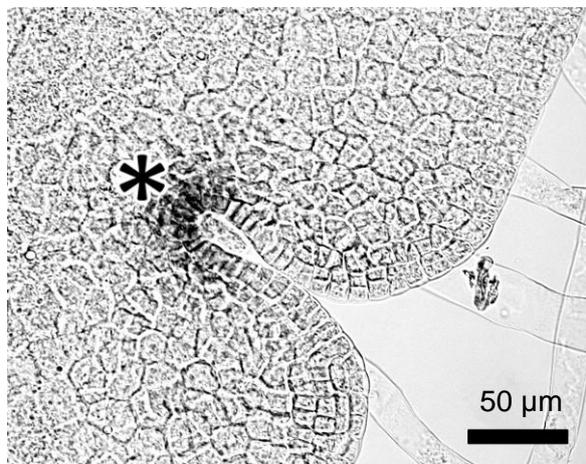


図. ゼニゴケ葉状体における MpRbohB プロモーター活性のイメージング。細胞分裂が盛んな成長点付近(\*)に発現が認められた。

## P-3

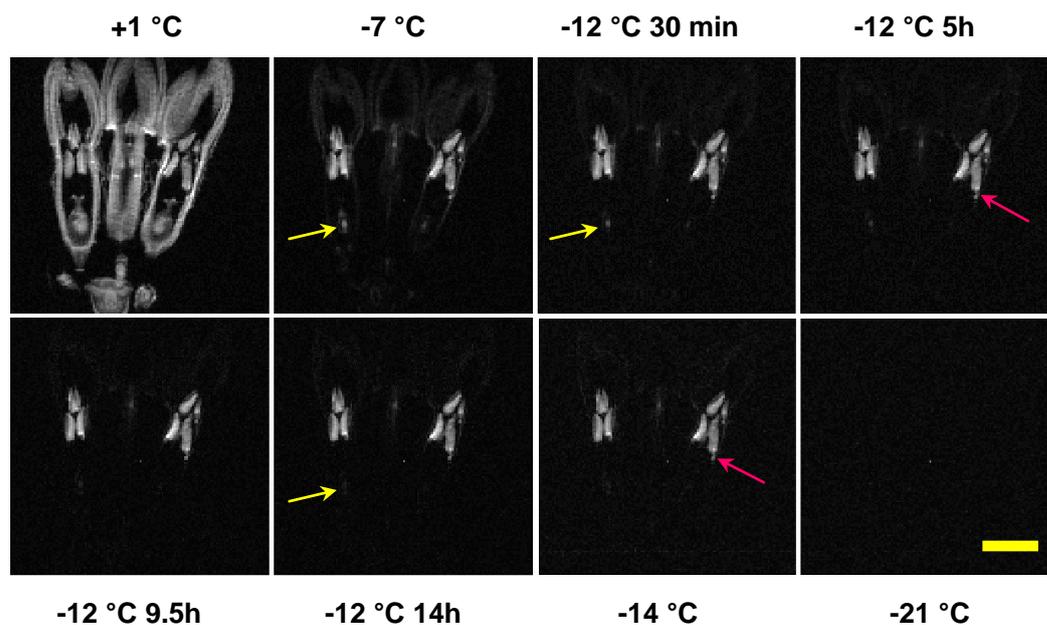
### Preferential freezing avoidance localized in the anthers and embryo sacs in wintering flower buds of *Daphne kamtschatica* var. *jezoensis* revealed by NMR micro-imaging

○Masaya ISHIKAWA<sup>1)</sup>, Hiroyuki IDE<sup>2,3)</sup>, Tetsuya TSUJII<sup>4)</sup>, William S. PRICE<sup>2,5)</sup>, Yoji ARATA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>National Institute of Agrobiological Sciences, <sup>2)</sup>Water Research Institute, <sup>3)</sup>Ajinomoto Co.,

<sup>4)</sup>PerkinElmer Japan, <sup>5)</sup>University of Western Sydney

To explore diversity in freezing behaviors in complex plant tissues, <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance (NMR) micro-imaging (aka MRI) was used to non-invasively visualize freezing behaviors in wintering flower buds of *Daphne kamtschatica* var. *jezoensis*, which have no bud scales surrounding the well-developed florets. The results showed that the anthers remained stably supercooled to  $-14 \sim -21^{\circ}\text{C}$  or lower whilst most of the other floral tissues had spontaneously froze by  $-7^{\circ}\text{C}$  in both hermaphroditic and female flower buds. Freezing of some anthers seen in NMR images at  $\sim -21^{\circ}\text{C}$  corresponded with numerous spike-like low temperature exotherms ( $-15 \sim -25^{\circ}\text{C}$ ) detected with differential thermal analyses and also with the “all or nothing” type of injuries in the anthers. The NMR images also indicated that the embryo sac remained supercooled at  $-7^{\circ}\text{C}$  or lower, but gradually dehydrated during further cooling. Microscopic observation revealed that the calyx tube and pistil readily froze by  $-7^{\circ}\text{C}$  with icicles in the cavities whilst no icicles were observed in the embryo sac or in the anthers. The distribution of ice nucleation activity in each floral tissue coincided with the tissue freezing behavior. The filaments that presumably work as the ice barrier lacked tracheary elements, which occurred in vascular network of the remaining floral tissues. Preferential freezing avoidance in male and female gametophytes and their surrounding tissues (by deep supercooling in anthers and slow dehydration in embryo sacs whilst the remaining floral tissues tolerating extracellular freezing) is a novel type of freezing behavior in flower buds.



寄生植物 *Striga hermonthica* 由来 D14L タンパク質の構造機能解析

○徐 玉群<sup>1)</sup>、宮川 拓也<sup>1)</sup>、中村 英光<sup>1)</sup>、中村 顕<sup>1)</sup>、大塚 淳<sup>1)</sup>、浅見 忠男<sup>1,2)</sup>、田之倉 優<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科、<sup>2)</sup> JST・CREST

「魔女の雑草」とも呼ばれるストライガ (*Striga hermonthica*) は、アフリカの農業生産に甚大な被害を及ぼす根寄生植物である。ストライガは、アフリカの農地に広く存在しており、休眠状態での寿命が長く、土壤中の種子を除去することは困難である。ストライガ種子は、適した条件下において、宿主（或いは一部の非宿主）植物の根から分泌されたシグナル物質のストリゴラクトン (SL) を感受して発芽することが知られている。一方、SL は植物内在性ホルモンとして働き、 $\alpha\beta$  加水分解酵素 D14 が SL の受容体として機能することにより、イネにおける SL シグナル伝達が行われる。また、シロイヌナズナの D14 様タンパク質 (D14L) の KAI2 は、植物を燃やした際に煙に含まれる発芽促進物質 *karrikin* の受容体として知られ、合成 SL アナログ GR24 との相互作用ならびに GR24 分解活性も認められている。したがって、種々の D14L タンパク質が SL シグナル伝達の制御に関与する可能性が考えられる。

本研究では、ストライガにおける D14 様タンパク質 ShD14L に着目し、SL 及び *karrikin* との相互作用とそのリガンド認識機構の解析に取り組んだ。相互作用解析の結果、ShD14L の SL との相互作用は認められず、*karrikin* のみと結合することが明らかになった。ShD14L が D14 及び KAI2 と異なるリガンド認識特異性をもつ構造基盤を調べるために、ShD14L 及び ShD14L-*karrikin* 複合体の結晶構造を解析した。ShD14L の結晶構造は、D14 及び KAI2 と同様に  $\alpha\beta$  加水分解酵素フォールドからなるコアドメインとキャップドメインで構成されていた。コアドメインは、7 つの  $\alpha$  ヘリックスと 7 つの平行した  $\beta$  ストランドからなり、キャップドメインは 4 つ  $\alpha$  ヘリックスを形成していた。ShD14L と KAI2 の結晶構造は、主鎖の炭素原子 ( $C_\alpha$ ) の平均二乗偏差 (RMSD) が 0.8 Å と高い類似度を示したが、ShD14L の *karrikin* 結合キャビティの入口にある  $\alpha$  ヘリックス ( $\alpha$ D1) の配向に違いが観測された。 $\alpha$ D1 の配向はリガンド結合ポケットの内側に向かってずれており、キャビティの入口が閉じられサイズが小さくなっていた。これにより、ShD14L は *karrikin* よりも分子サイズの大きな SL を受け入れることができなくなり、SL 結合能を失ったことが示唆された。また、ShD14L は apo 状態で 2 種類の結晶構造が解析され、 $\alpha$ D1 が柔軟に配向を変化できることが示唆された。 $\alpha$ D1 はリガンド選択性だけでなく、リガンドを受け入れる際のキャビティの開閉に関わっていると考えられる。一方、ShD14L-*karrikin* 複合体の結晶構造において、*karrikin* の結合様式が KAI2 のそれと大きく異なっていることが観測された。 $\alpha$ D1 と接している  $\alpha$  ヘリックス ( $\alpha$ D4) 上の Phe194 は、KAI2 の *karrikin* 結合時に側鎖が 90° 回転して *karrikin* を認識するが、ShD14L では Phe194 に隣接する Phe190 との立体障害のために Phe194 の回転が引き起こされないことが推定された。この Phe194 の配向制御が ShD14 と KAI2 において *karrikin* の結合様式が異なる構造基盤であると考えられた。

## エンドサイトーシスを介したシロイヌナズナの 感染防御応答の制御機構のイメージング解析

○羽山 大介<sup>1)</sup>、大滝 幹<sup>1)</sup>、北畑 信隆<sup>1)</sup>、花俣 繁<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>2,4)</sup>、  
海老根 一生<sup>3)</sup>、筒井 友和<sup>3)</sup>、上田 貴志<sup>3)</sup>、朽津 和幸<sup>1,4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・院・理工・応用生物学、<sup>2)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>3)</sup> 東京大・理・生物科学、

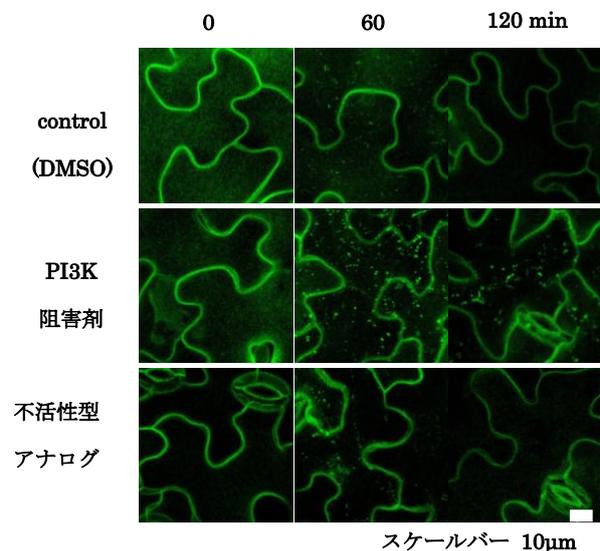
<sup>4)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター

エンドサイトーシス、エキソサイトーシスなどの細胞内膜交通系を介したタンパク質の細胞内輸送系は、真核生物に高度に保存されており、さまざまな高次機能に関与する。植物の感染防御応答の過程では、細胞内膜系の構造がダイナミックに変化する(Higaki *et al. Plant Cell Physiol.* 2007; 桧垣 *et al.* 本学会学術集会 2007; Higaki & Kurusu *et al. J. Plant Res.* 2011)。我々は、植物の感染防御応答を研究する過程で、細胞内膜交通系の制御に関与するホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ(PI3K)の阻害剤をタバコ培養細胞 BY-2 やシロイヌナズナ植物体に処理すると、感染シグナル誘導性の防御応答が亢進することを見出した。シロイヌナズナに細菌の鞭毛由来のペプチド flg22(微生物関連分子パターン=MAMP の一種)を処理すると、免疫応答の一環として活性酸素種(ROS)生成が誘導されるが、PI3K 阻害剤を前処理すると、flg22 誘導性 ROS 生成が亢進する。

flg22 の受容体 FLS2 は細胞膜上に存在し、ペプチドシグナルを受容すると、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ、最終的に液胞に輸送され分解される。阻害剤による防御応答の亢進効果が、膜輸送を介した FLS2 分解と関係しているのではないかと考え、FLS2-GFP 発現株を用いて、レーザー共焦点顕微鏡を用いた FLS2-GFP の細胞内動態観察実験系を構築し、flg22 受容後の FLS2-GFP の細胞内動態を定量的にイメージング解析することにより、PI3K 阻害剤の影響を詳細に解析した。その結果、PI3K 阻害剤処理により、FLS2-GFP を含むエンドソームが増加すると共に、肥大化した(図)。

以上から、PI3K 阻害剤による防御応答の亢進は、エンドソームと液胞との融合の阻害による、すなわち、エンドサイトーシスを介した感染シグナル受容体の液胞への輸送と分解

が感染防御応答を負に制御するとの作業仮説を立てた。そこで、分子機構の解明を目指して、エンドソームと液胞の膜融合に関わる各種因子の変異体を用いて、flg22 誘導性の感染防御応答及びそれに対する PI3K 阻害剤の効果や、病原細菌に対する耐病性への影響を解析した。さらに、変異体における膜動態変化の解析を進めている。こうした結果について報告し、エンドサイトーシスを介した植物の感染防御応答の制御機構について議論する。



## エンドサイトーシス経路におけるアクチン依存的なエンドソーム運動 のバイオイメージング解析

○益田 淳史<sup>1)</sup>、古屋 英里<sup>1)</sup>、堀込 知佳<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

細胞内輸送経路の一つであるエンドサイトーシス経路は細胞外物質や細胞膜成分をクラスリン小胞(CCV)を介して細胞内に取り込み、それらを初期エンドソーム(EE)、後期エンドソーム(LE)を経て、最終的にリソソームへと輸送する機構である。出芽酵母において、CCV から EE への輸送過程は、アクチン細胞骨格に依存していることが報告されており、さらに、EE 自体の運動もアクチン依存的であることが示唆されている。しかし、このアクチン依存的なエンドソーム運動の分子機構については全く明らかにされていない。本研究において、私達はエンドソームを幾つかの異なる蛍光マーカーで標識し、エンドソーム運動のイメージング解析を行った。まず、EE から LE のマーカーとして ESCRT-0 複合体サブユニットの一つである Hse1p を用い、Hse1-3GFP の動態を解析した。この結果、Hse1p は細胞質と液泡膜上に局在する 2 種類に分類されることが分かった。次に、これら 2 種類のエンドソームについて、アクチン重合阻害剤である LatrunculinA (LatA) による運動への影響を調べた。この結果、液泡膜上のエンドソームについては LatA による運動への影響が見られなかったのに対し、細胞質に局在するエンドソームは LatA によって運動速度の顕著な低下が見られた。このことから、細胞質と液泡膜上に局在するエンドソームの動態は異なる機構により制御されていることが示唆された。次に、EE 間の融合を仲介する単量体 GTPase Rab5 のエンドソーム運動における役割について調べた。興味深いことに、RAB5 遺伝子欠損変異体では、野生型に比べて EE 運動の著しい低下が認められた。これらのエンドソームの運動について、平均二乗変位量及び拡散係数を算出した結果、LatA 処理及び Rab5 欠損細胞におけるエンドソームはブラウン運動に近い動きをしていることが分かった。以上の結果は、アクチン細胞骨格および Rab5 タンパク質が EE の運動において、積極的に関与していることを示唆するものである。

## 細胞膜受容体のエンドサイトーシス-リサイクリング機構 のバイオイメージング解析

○佐藤 匠<sup>1)</sup>、長野 真<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

増殖因子受容体や GPCR などの細胞膜受容体の多くは、リガンドの結合により活性化されると、エンドサイトーシスにより細胞内へと取り込まれ、不活性化する。細胞内に取り込まれた受容体は初期-後期エンドソームを経てリソソームで分解されるか、もしくはエンドソームで選別され細胞膜へリサイクリングされる。近年の研究により、エンドサイトーシス機構はかなり解明されつつあるが、受容体のリサイクリング機構に関しては未だ不明な点が多く残されている。本研究において、私達は蛍光標識した出芽酵母の Ste2 GPCR のリガンドをマーカーとして用いて、受容体のリサイクリングに関わる因子の同定を試みた。この結果、Rab GTPase ファミリーの一種であり、哺乳類 Rab6p の酵母ホモログである Ypt6p の活性因子 Rgp1p が単離された。哺乳類 Rab6A は主に *trans*-Golgi に局在し、COPI 小胞を介した逆行性輸送に関わっていることが報告されている。Ypt6p はシスおよび中間 Golgi に局在するが、その遺伝子欠損変異体において、膜タンパク質のリサイクリング異常、液胞断片化が起こることが報告されている。本研究では、YPT6 遺伝子欠損変異体において、エンドソームからゴルジ体に逆行性輸送される液胞加水分解酵素カルボキシペプチダーゼ(CPY)の受容体である Vps10p のゴルジ体における局在率が低下し、タンパク質のプロテアーゼである Kex2p は液胞へと誤局在を示した。この結果より、Ypt6p の機能が初期/後期エンドソーム-Golgi の逆行性輸送に必要であることが示唆された。また、逆行性輸送を担うレトロマー複合体と YPT6 欠損変異体の二重欠損変異体において、相加的なリサイクリング異常が認められた。これらの結果より、Ypt6p はレトロマー複合体と協調的に機能することで、逆行性輸送を制御している可能性が示唆された。

## リン脂質フリッパーゼのエンドサイトーシス経路におけるバイオイメージング解析

○福田 志帆<sup>1)</sup>、小林 宣<sup>1)</sup>、仲田 瑛亮<sup>1)</sup>、富田 剛史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

生体膜の脂質二重層における脂質の非対称性は細胞極性の維持、膜輸送経路など様々な生物学的プロセスに関与することが報告されている。この脂質の非対称性は flippase などの酵素により維持されており、出芽酵母の flippase としては Drs2p、Dnf1p、Dnf2p、Dnf3p、Neo1p が報告されている。以前の研究で私達は、蛍光標識した酵母接合フェロモン $\alpha$ -factor のライブイメージング解析により、PS のフリッパーゼである Drs2p と複合体を形成する Cdc50p の遺伝子欠損変異体において、エンドサイトーシス経路に異常が生じることを見出した。また、Cdc50p の遺伝子欠損変異体では、蛍光標識した $\alpha$ -factor 受容体のリサイクリングにも異常を示すことが明らかとなった。そこで、本研究で、私達はエンドサイトーシス、およびリサイクリングにおけるフリッパーゼの役割と機能を明らかにするため、各フリッパーゼの欠損変異体でのエンドサイトーシス-リサイクリング経路への影響を解析した。私達はその結果、PE と PC のフリッパーゼである *dns1*、*dnf2*、*dnf3* 欠損変異体において顕著にエンドサイトーシスが阻害されることが分かった。また、*drs2*、*dnf3* 欠損変異体において、エンドソーム-ゴルジ体を経由した細胞膜へのリサイクリング経路に異常が生じていることを明らかにした。これらの結果は、特異的なフリッパーゼによる脂質の非対称性の維持がエンドサイトーシス-リサイクリング経路において非常に重要な働きをしていることを示唆している。

## 劇症型急性肺炎（FARDS）モデルマウスにおける免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析

○長谷川 明洋<sup>1)</sup>、荻野 英賢<sup>1)</sup>、中山 俊憲<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 山口大学大学院医学系研究科 ゲノム・機能分子解析学

<sup>2)</sup> 千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学

【背景・目的】急性呼吸促拍症候群(acute respiratory distress syndrome, ARDS)は、体内への何らかの侵襲が引き金となって発症し、激しい好中球浸潤と肺胞の広範な傷害(diffuse alveolar damage; DAD)を呈する病理像が特徴である。侵襲から発症までの期間は通常数日以内で、発症後の死亡率は50%を越えており有効な治療法が確立されていない。ARDSの発症にともない肺の毛細血管の内皮細胞や肺胞上皮細胞が傷害され、肺の浮腫や繊維化が誘導されて呼吸困難により死に至る。これまでの研究からARDSの発症には浸潤した活性化好中球が産生する脂質メディエーターやIFN $\gamma$ などのサイトカインが関与していることなどが報告されているが、その詳細な発症メカニズムは明らかになっていない。また最近鳥インフルエンザ(H7N9, H5N1など)のヒトへの感染と世界的な流行の兆候がみられ30~60%に達する高い感染致死率を示しているが、主な死因はウイルス感染による劇症型のARDS(Fulminant ARDS; FARDS)であることがわかってきた。本研究では新規に構築したFARDSモデルマウスと独自に開発してきたバイオイメージング技術を駆使してFARDSの発症・劇症化メカニズムの解析および免疫炎症細胞浸潤様式の解析を行った。

【方法】マウスでの劇症型急性肺炎モデル(FARDSモデル)として、 $\alpha$ -Galactosylceramideによる感作後にLPSを経鼻投与する系を用いた。GFPやRFPなどの蛍光を発するトランスジェニックマウスからT細胞やB細胞、好中球、NKT細胞などを個別に単離して同系統の野生型に移入した後、劇症型急性肺炎を誘導してタイムコースを追った実験を行い、肺への免疫細胞浸潤の動態を蛍光顕微鏡を用いて観察した。劇症型急性肺炎に対する新規治療ターゲット分子を見つけることを目的に抗体投与実験を行った。

【結果・考察】FARDSモデルの誘導により野生型マウスではヒトでのARDS/FARDSの病理組織像と同様に非常に激しい好中球浸潤を特徴とした肺の激しい炎症性変化とともに、2~3日で80%以上のマウスが死亡した。好中球の肺への集積はLPS投与6時間後から顕著となり48時間後までに最高レベルに達した。またLPS投与後に誘導される好中球の集積が $\alpha$ -Galactosylceramideなど他の刺激因子の作用によって飛躍的に増強されることが明らかとなった。さらに抗体投与実験により、抗TNF $\alpha$ 抗体などの投与により好中球の肺への集積が抑制され致死率が低下することが明らかとなった。

今後、この実験系を用いてノックアウトマウスやトランスジェニックマウスを解析することにより、劇症型急性肺炎の発症におけるターゲット分子の役割や機能を解析できると考えられる。また新薬開発をする上で、発症抑制効果やその作用機構を調べるための有用なツールになることが期待される。

Cell fate mapping of embryonic spleen primordium cells expressing  
the transcription factor Tlx1

○Toru KASAHARA, Akihisa ODA, Ryo GOITSUKA

Division of Development and Aging, Research Institute for Biomedical Sciences,  
Tokyo University of Science

Tlx1 is an essential transcription factor for spleen organogenesis, as its absence causes asplenia; however, the mechanisms of how Tlx1 regulates spleen development remain largely obscure. We have previously demonstrated by genetic lineage-tracing of *Tlx1*-expressing cells and their progeny using *Tlx1<sup>CreER-Venus</sup>;Rosa26-tdTomato* mice that Tlx1 deficiency causes many of these cells to change their fate and become incorporated into the dorsal pancreatic mesenchyme, where they give rise to desmin- and vimentin-positive mesenchymal cells scattering around the endocrine, exocrine and ductal cells. In the present study, we used a Matrigel-based embryonic gut organ culture system to monitor their behavior in developing spleen primordium, in which tdTomato fluorescence is used as a marker. Embryonic guts, including the stomach and spleno-pancreatic mesenchyme, were taken from E12.5 embryos pretreated with tamoxifen at E11.5, and then time-lapse imaging of the Matrigel-embedded explants was performed during the 48 hour-culture period. In the Tlx1-sufficient condition, *Tlx1*-expressing descendants expanded in spleno-pancreatic mesenchyme through the mesenchyme overlying the stomach from the posterior to anterior direction. In contrast, individual cells of the Tlx1-deficient spleno-pancreatic mesenchyme appeared to migrate rather randomly and did not show any directionality of the movement. These findings suggest that the Tlx1-deficient progeny derived from precursors, in which Tlx1 was once transcriptionally activated, fail to move out from spleno-pancreatic mesenchyme, thus being misallocated to the dorsal pancreas.

接着分子 CADM1 を介した細胞間接着による膵島  $\alpha$  細胞の分泌顆粒動態の制御○小栗 良介<sup>1)</sup>、横川 慧<sup>1,2)</sup>、伊納 義和<sup>1)</sup>、中西 守<sup>1)</sup>、古野 忠秀<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 愛知学院大・薬、<sup>2)</sup> 名市大・院薬

【目的】膵臓ランゲルハンス島（膵島）には、 $\alpha$  細胞、 $\beta$  細胞、D 細胞、PP 細胞が存在し、細胞間接着を介して相互に機能制御している。特に、 $\alpha$  細胞と  $\beta$  細胞からそれぞれ分泌されるグルカゴンとインスリンは、血糖の調節に重要な役割を果たしている。また、免疫組織化学的手法により、膵島に神経線維が伸長し、膵島細胞と接着していることも報告されている。このように、膵島細胞は多くの細胞と接着し、複雑にその機能が調節されていると考えられる。昨年の本学会で、我々は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子 CADM1 (cell adhesion molecule 1) が神経と  $\alpha$  細胞に発現しており、 $\alpha$  細胞間、あるいは、神経- $\alpha$  細胞間の接着に重要な役割を果たしていることを報告した。本研究では、CADM1 が  $\alpha$  細胞内の分泌顆粒動態に及ぼす影響を追究した。

【方法】膵島細胞として、マウス  $\alpha$  細胞株  $\alpha$ TC6 細胞を用い、RNA 干渉により CADM1 の発現を抑制した  $\alpha$ TC6<sup>siRNA-CADM1</sup> 細胞とそのネガティブコントロールとして  $\alpha$ TC6<sup>siRNA-scramble</sup> 細胞を作製した。 $\alpha$  細胞内酸性顆粒プローブとしてキナクリンを用い、共焦点レーザー顕微鏡にて  $\alpha$ TC6 細胞の顆粒動態を計測した。また、神経細胞として、新生児マウスから単離した上頸神経節 (superior cervical ganglia: SCG) 細胞を用いた。SCG と  $\alpha$ TC6 細胞を共存培養し、神経と接着している  $\alpha$  細胞の分泌顆粒の動態を解析した。

【結果及び考察】 $\alpha$ TC6 細胞はコロニーを形成して増殖する。30~50  $\mu$ m 平方の大きさのコロニーを対象に、細胞内顆粒の動態を観察したところ、顆粒の多くは定常状態でランダムに動いていた。そこで、その軌跡を 30 秒間測定したところ、その平均移動速度は  $0.126 \pm 0.042 \mu\text{m/s}$  であった。同様に、 $\alpha$ TC6<sup>siRNA-scramble</sup> 細胞の顆粒動態を測定したところ、平均移動速度は  $0.117 \pm 0.049 \mu\text{m/s}$  であった。一方、CADM1 の発現が抑制されている  $\alpha$ TC6<sup>siRNA-CADM1</sup> 細胞では、他の細胞と同様にコロニーを形成して増殖するが、細胞内顆粒の動きは抑制されており、その平均移動速度は  $0.038 \pm 0.017 \mu\text{m/s}$  と有意に小さかった。このことから、 $\alpha$  細胞に発現している CADM1 は、 $\alpha$  細胞コロニー内では細胞内分泌顆粒の動態に対して促進的に作用していることが示唆された。次に、SCG と  $\alpha$ TC6 細胞を共存培養し、SCG と接着している  $\alpha$ TC6 細胞の顆粒動態を計測した。その結果、SCG の神経突起と接着した  $\alpha$ TC6 細胞の分泌顆粒動態は顕著に抑制されており、平均移動速度は  $0.036 \pm 0.030 \mu\text{m/s}$  であった。神経突起と接着した  $\alpha$ TC6<sup>siRNA-CADM1</sup> 細胞の顆粒の平均移動速度は、 $0.053 \pm 0.032 \mu\text{m/s}$  であり、共存培養していないときと比べて大きな違いはなかった。CADM1 は SCG と  $\alpha$ TC6 細胞の接着部位、および、 $\alpha$ TC6 細胞間の接着部位に集積しており、これらの細胞間接着に密接に関与していると考えられる。しかし、CADM1 を介した細胞間接着は、 $\alpha$  細胞間の接着では  $\alpha$  細胞の分泌顆粒の移動速度を増強させ、神経細胞との接着では逆に減弱させた。これらのことから、CADM1 による  $\alpha$  細胞の分泌顆粒動態の制御機構の解明は、膵島からのホルモン分泌の調節に対する新たな知見を与える可能性があるかと期待された。

## モルモット摘出右心室筋の低酸素に対する反応性の発達変化

○濱口 正悟、宍戸 葵、行方 衣由紀、田中 光

東邦大学薬学部薬物学教室

【背景】心筋の急性障害の要因として代表的なものに虚血が知られている。成熟心筋では実験的な低酸素処理により活動電位持続時間短縮や収縮力減少が見られることが報告されている。その要因として、細胞内 ATP 濃度により調節される ATP 感受性カリウムチャンネルが直接的な調節因子として注目されている。しかし、胎仔心筋の興奮収縮機構に対する低酸素の影響については情報が少ない。そこで本研究では、モルモット胎仔心室筋の電気的および機械的活動に対する低酸素の影響を調べ、成体と比較検討した。

【方法】活動電位および収縮力測定は、ガラス微小電極法およびマグヌス法により測定した。実験的虚血状態は、栄養液中への通気ガスを通常の 95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub> から 95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub> に切り替えることにより行った。ATP 量は、摘出した心室筋を液体窒素により凍結・粉碎後、ATP を抽出し、ルシフェリン-ルシフェラーゼキットを用いた蛍光法により定量した。電顕観察は、摘出した心室筋を固定、脱水、エポキシ樹脂に包埋後、uranyl acetate と鉛で二重染色したのち、透過型電子顕微鏡で観察した。蛍光染色観察は、単離した心室筋細胞に TMRE によりミトコンドリアを、PKH67-GL により細胞膜を染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

【結果・考察】摘出心室筋の活動電位と収縮力を同時に測定し、実験的な虚血状態もしくは、酸化的リン酸化阻害薬 dinitrophenol (10 μM) を処置したところ、発達段階によって作用に違いが見られた。成体心筋では、活動電位持続時間および収縮力が顕著に減少し、その後 ATP 感受性カリウムチャンネル阻害薬 glibenclamide (10 μM) の追加投与によりこの反応が部分的に抑制された。一方、胎仔心筋では、活動電位持続時間および収縮力の減少は成体心筋に比べて小さく、glibenclamide の追加投与では活動電位および収縮力ともにほぼ影響を受けなかった。さらに 60 分間の低酸素暴露によって、成体心筋の ATP 量は顕著に減少したが、胎仔心筋ではわずかに減少傾向が見られたのみであった。しかし、ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬 cromakalim (30 μM) の処置では、胎仔および成体心筋のどちらでも、活動電位持続時間、収縮力が顕著に減少し、glibenclamide の追加投与によりこれらの作用はほぼ完全に拮抗され、発達段階による違いは見られなかった。胎仔および成体心筋の電顕像を観察したところ、ミトコンドリアは成体に豊富で、胎仔に乏しかった。対照的に、グリコーゲン顆粒は胎仔に豊富に見られたが、成体ではほとんど見られなかった。また、蛍光染色観察により単離心室筋細胞のミトコンドリア局在を観察したところ、成体に比べて胎仔ではミトコンドリアの染色領域が少なく、電顕像と同様の傾向が見られた。以上の結果から、胎仔心筋は低酸素および酸化的リン酸化阻害に強い抵抗性を示すことが明らかとなった。この特性は、ATP 感受性カリウムチャンネルの欠損ではなく、グリコーゲン顆粒が豊富に存在することに起因する高い嫌氣的代謝能によることが示唆された。

### 3次元仮想培養系での増殖モデルの検討

○立野 玲子<sup>1,3)</sup>、伊藤 文音<sup>2)</sup>、永山 勝也<sup>2)</sup>、小倉 潔<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都医学総合研究所、<sup>2)</sup> 九工大院・情報工学・機械情報、<sup>3)</sup> 関東学院大・工学総合研

3次元培養系では生体内に近い機能や挙動を示すスフェロイドが形成され、抗がん剤などのスクリーニングをはじめとして、細胞の機能解析や再生医療の研究において、スフェロイドは、有用な *in vitro* 実験系として期待されている。現在、スフェロイドの内部は、一般に切片試料での壊死などの確定や、共焦点顕微鏡による光学的断層像の3次元再構成像での観察も行われているが、詳細な定量的解析に耐える像を得るのは困難である。1細胞から始まる連続的な内部状態の変化を捉えることは不可能な状況にある。

そこで、培養過程のタイムラプス記録画像の解析結果を根拠として構築したスフェロイド形成シミュレーションによる計算空間内のスフェロイドを用いて内部状態を含めて推定評価するための3次元仮想培養系を検討している。2次元での記録画像に基づいた形成速度によって、細胞間力によって構造体を形成するスフェロイドモデルを構築し、スフェロイド深部での低酸素応答や薬物代謝などを推定するプラットフォームとなることをめざしている。

初期段階としては、細胞増殖だけで形成される軟寒天培地による培養系を対象とし、1細胞からの培養過程のタイムラプス画像のそれぞれからスフェロイド領域を抽出し、1細胞の大きさをもとにその構成細胞数を推定している。スフェロイドモデルには、細胞を粒子と見立てた粒子モデルを採用している。増殖は、スフェロイド表面に供給され、内部で拡散して各細胞に届けられた栄養とその細胞周辺の細胞密度によって細胞周期が決定される増殖モデルを採用している。

これまでに、軟寒天培地で HeLa 細胞を 15 日間培養した過程を 3 時間毎に記録したタイムラプス画像に基づく仮想培養系について、同じ培養条件でも対数期から静止期への移行が緩やかな場合と急速な場合があり、それぞれに対応する増殖モデルを整備し、静止期への移行によって増殖モデルを使い分けることで、仮想培養系で得られた増殖曲線と画像から推定した増殖曲線がそれぞれでほぼ一致することを報告してきた。

スクリーニングでの評価法では、汎用的な増殖モデルが求められることより、細胞がスフェロイドのどの位置に居るかで受けるストレスが異なる、すなわち表層の細胞はほとんどストレスを受けないが、中心部に向かうにつれてストレスは増大するとしたストレス項を増殖モデルに導入した。さらに、スフェロイド形成シミュレーションは、理論と条件設定で定められるパラメータを除き、栄養項とストレス項の 2 個のパラメータで制御される。パラメータの設定のために、画像推定とシミュレーションで計算された細胞数に対して評価関数を導入し、栄養因子とストレス因子の軸の平面上での評価関数の極小値の探索をパラメータの最適化とした。これらの検討により、画像解析では静止期がほとんど判別できない滑らかに移行する場合に、仮想培養系では静止期が認められる増殖曲線となったが、培養終了時の細胞数はほぼ一致していた。それ以外の場合では、両者の増殖曲線はほぼ一致し、汎用的な増殖モデルが得られたと考えている。

今後は、仮想培養系におけるスフェロイド内部状態の推定可能性を検討し、さらに、抗がん剤影響下でのがん細胞 3次元仮想培養系へと進めていく計画である。

## 成長円錐におけるアクチン関連蛋白質ファシンの FRAP 解析

○田中 みなみ<sup>1,2)</sup>、石川 良樹<sup>3)</sup>、加藤 薫<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup> 産総研・バイオメディカル、<sup>2)</sup> 筑波大大学院・生命環境、<sup>3)</sup> 群馬県立県民健康科学大

神経細胞の神経突起先端では成長円錐と呼ばれる原形質が広がった構造が形成される。この構造は、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。軸索や樹状突起の伸長メカニズムには反発因子や誘導因子といったガイダンス分子の関わりが知られており、成長円錐は、そうした因子に敏感に反応する。

成長円錐の運動には、内部のアクチン系細胞骨格の動態が関係している。成長円錐の先端部で G-アクチン (Globular Actin) が重合し、F-アクチン (Filamentous Actin) が形成され、後方へ移動し、中央部で脱重合する。先端部での G-アクチンの重合と、できあがった F-アクチンの後方移動は動的平衡状態にある。アクチンが重合する速度が後方移動し脱重合する速度より速ければ先進し、遅ければ後退する。このようにして、成長円錐の運動は決定する。アクチンには多くのアクチン関連タンパク質が存在し、それらは成長円錐においてもアクチン骨格の動態に関わると考えられる。

成長円錐のアクチン骨格の形態は細胞外マトリックスの影響を受ける。この過程には、アクチンの束化タンパク質であるファシンの Ser39 のリン酸化が関係している。つまり、細胞外マトリックスにより PKC が活性化すると、ファシンの Ser39 がリン酸化され、アクチンから解離し、アクチンの束が消える。脱リン酸化されるとアクチンに結合し、アクチンの束が形成される。このことは、GFP-ファシンの疑似脱リン酸化型 (Ser39Ala)、疑似リン酸化型 (Ser39Asp) のコンストラクトで確認されている。Ser39Ala ではファシンがアクチン骨格上に存在し、疑似リン酸化型 (Ser39Asp) ではファシンが拡散分布することからも確認されている。

この実験では細胞外マトリックスによるアクチン骨格制御における、ラメリポディアのファシンの動的な振る舞いを明らかにすることを目的とし、疑似リン酸化型、および疑似脱リン酸化型の GFP ファシンについて分子動態を調べた。手法としては FRAP (Fluorescence Recovery after Photobleaching) を用いた。疑似リン酸化型ファシン、疑似脱リン酸化型ファシン、野生型ファシンの 3 タイプの GFP ファシンで FRAP を行ったところ、蛍光回復までの速度に大きな違いが見られた。このポスターでは、ファシンのリン酸化、脱リン酸化と分子動態について議論したい。

ノックダウン細胞とコントロール細胞の同視野内観察：

アクアポリン 8 ノックダウンがラット膵臓β細胞株のカルシウムシグナルに与える影響

○柴田 みゆき、田中 直子

大妻女子大・家・食物

【序論】アクアポリン 8(AQP8)は水輸送に関わる膜タンパク質で、細胞膜型・ミトコンドリア型が報告されているが、その機能の詳細についてはまだ報告が少ない。われわれは、ラット膵臓β細胞株 INS-1 細胞にも AQP8 の発現が認められ、その発現抑制がインスリン分泌に影響を与えることを見出した。本研究では、AQP8 をノックダウンしたとき、インスリン分泌における最終的な制御因子である  $Ca^{2+}$ シグナルがどのような影響を受けるか調べる目的で、蛍光ラベルした siRNA を用い、ノックダウン細胞とコントロール細胞の細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度の変化を同視野内で観察することを試みた。

【方法】細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度の可視化は Fluo-4 蛍光色素を用いて行った。AQP8 のノックダウンは、AlexaFluor546 ラベルされた siRNA を用いて行い、siRNA 後にコントロール細胞と混合して蛍光観察用カバーガラス上に蒔いた。細胞は観察前に 5mM, 0mM と段階的にグルコース濃度を下げ、 $5\mu M$  Fluo-4 で室温 30 分間染色後緑色蛍光を観察した。グルコース刺激は 25mM で行った。

【結果および考察】INS-1 細胞内の  $Ca^{2+}$ 濃度は、グルコース刺激後 1~5 分でオシレーションしながら上昇し、ゆっくりと減少した後、15 分過ぎに再び小さく上昇する。このようなパターンは、INS-1 細胞でグルコース刺激後に観察される二相性のインスリン分泌と強く関連していた。これに対して、AQP8 処理した細胞では、グルコース刺激前から細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度が高い傾向が見られ、グルコース刺激後には  $Ca^{2+}$ レベルは少しずつ上昇し続け、10 分後以降もほとんど下がることなく 30 分後までそのレベルを保ち続ける傾向が見られた。何らかの原因で、本来の  $Ca^{2+}$ の流れが遮断されていると考えられた。

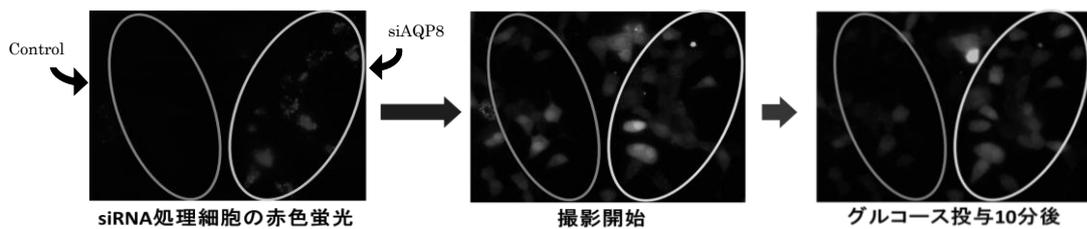


図 1. 混在させた細胞の蛍光画像と、グルコース刺激後の細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度変化の蛍光画像

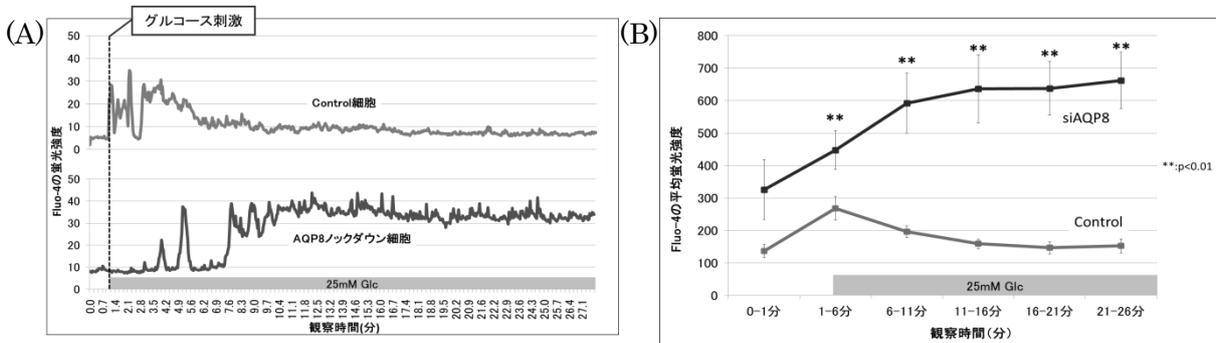


図 2. 細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度変化の代表例(A)および各細胞の 5 分間毎の平均値(B)の比較

## PET 分解酵素 Cut190 の活性化及び耐熱化における カルシウムの作用機序の解析

○宮川 拓也<sup>1)</sup>、水嶋 裕樹<sup>1)</sup>、大塚 淳<sup>1)</sup>、織田 昌幸<sup>2)</sup>、河合 富佐子<sup>3)</sup>、田之倉 優<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科、<sup>2)</sup> 京都府立大学大学院生命環境科学研究科、

<sup>3)</sup> 京都工芸繊維大学繊維科学センター

ポリエチレンテレフタレート (PET) は、ペットボトル等の容器から繊維に至るまで幅広く利用されているポリエステルである。PET はその物理化学的特性から極めて生分解され難い。近年、植物のクチンを分解するクチナーゼ様の酵素が PET を分解する活性をもつことが報告され、我々は *Saccharomonospora viridis* AHK190 からクチナーゼ様タンパク質 Cut190 を同定した。Cut190 の活性と熱安定性は高濃度のカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 存在下で上昇することが見出されており、これらの性状の向上は PET 分解に適している。本研究では Cut190 の活性化と耐熱化をもたらす  $\text{Ca}^{2+}$  の作用機序を明らかにすることを目的とし、Cut190 の  $\text{Ca}^{2+}$  結合型と非結合型の結晶構造を解析した。

Cut190 の耐熱化変異体 (S226P 変異体, Cut190<sup>S226P</sup>) を 100 mM  $\text{CaCl}_2$  存在下と非存在下で結晶化し、 $\text{Ca}^{2+}$  結合型と非結合型の結晶構造をそれぞれ分解能 1.75 および 1.45 Å で決定した。Cut190<sup>S226P</sup> はエステラーゼやリパーゼに見られる典型的な  $\alpha/\beta$ -hydrolase fold を形成し、触媒三残基 (Ser176, Asp222, His254) が空間的によく保存されていた。Phe106 の主鎖 NH 基は活性に必須な oxyanion hole として機能すると考えられたが、 $\text{Ca}^{2+}$  非結合型において、その配向は約 90° 異なっており oxyanion hole が崩れていた。また、Phe106 の側鎖フェニル基は触媒残基の Ser176 及び His254 の近傍に位置して活性部位を塞いでいた。これらの構造的特徴は、Cut190<sup>S226P</sup> が  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下で不活性状態をとり易いことを強く示唆する。一方、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下で取得した結晶の異常分散データに基づいて、 $\text{Ca}^{2+}$  は 2 つの  $\beta$  ストランド ( $\beta 1$  及び  $\beta 2$ ) をつなぐループ ( $\beta 1$ - $\beta 2$  ループ) に結合していることが明らかとなった。 $\text{Ca}^{2+}$  には  $\beta 1$ - $\beta 2$  ループ上の主鎖カルボニル基、Asn133 の側鎖カルボニル基、2 つの水分子が tetragonal bipyramidal array で配位していた。これらの相互作用により、 $\beta 1$  ストランドと  $\beta 1$ - $\beta 2$  ループが固定されることで、Cut190 の熱安定性が高まる機構が推定された。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$  の結合は  $\beta 1$ - $\beta 2$  ループに加えて隣接する 2 つのループに大きな構造変化を誘起した。これにより、Phe106 の側鎖が活性部位の外側に約 90° 回転するとともに、主鎖アミノ基の配向も変化して oxyanion hole が形成され、Cut190 は活性状態をとっていた。以上の結果より、 $\text{Ca}^{2+}$  がアロステリック制御因子として Cut190 の活性化に機能することが明らかになった。

1. Miyakawa T, Mizushima H, Ohtsuka J, Oda M, Kawai F, Tanokura M. Structural basis for the  $\text{Ca}^{2+}$ -enhanced thermostability and activity of PET-degrading cutinase-like enzyme from *Saccharomonospora viridis* AHK190. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99: 4297–4307 (2015).

## 生細胞イメージングに向けた抗 CD3 抗体結合 CdSe/ZnS 量子ドットの エンドサイトーシスの検討

○宇高 光<sup>1)</sup>、福田 武司<sup>1)</sup>、鈴木 美穂<sup>1)</sup>、大倉 正道<sup>2)</sup>、中井 淳一<sup>2)</sup>、鎌田 憲彦<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 埼玉大学大学院理工学研究科、<sup>2)</sup> 埼玉大学脳末梢科学研究センター

【はじめに】半導体ナノ粒子である量子ドット (QD) は、光安定性に優れ、広い吸収領域にシャープな発光スペクトルを有する蛍光材料としてバイオイメージングへの応用が進められている。この場合、QD 表面のポリマーコートにより水系溶媒への分散性や生体適合性の向上、簡単なプロセスで表面に様々な分子の固定化を可能にしている。従って、機能性分子で化学修飾することで蛍光バイオプローブを作製できる。QD はその半径に応じて発光波長がシフトするが、近赤外領域に強い発光を示す QD は、生細胞の自家蛍光が少ない波長領域である事や生体組織透過性の高さより、バイオイメージングに向くと期待される。我々は生細胞でのイメージングを鑑み、QD が自発的に細胞に取り込まれる様な改変を試みた。ここで T 細胞表面に発現する CD3 への抗 CD3 抗体結合を介したエンドサイトーシスに着目した。即ち、発光波長およそ 600 nm の QD 表面に抗 CD3 抗体を固定化し、生細胞内への自発的取り込みが可能か検討した。エンドサイトーシス過程が有効であった場合、抗 CD3 抗体固定化 QD 基盤蛍光バイオプローブの生細胞への導入とイメージングを目指すため、抗体は部分還元し、生成するシステインの還元型チオール基による QD への固定化を行い、エンドサイトーシスの為の機能分子として効率の良い QD 表面占有を試みた。

【実験方法】カルボキシル基で表面修飾された CdSe/ZnS QD を 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC)により活性化、Hexanediamineにて QD 表面にアミノ基を導入した。アミノ基及びチオール基と反応する二架橋剤に Sulfo-SMCC を用い、アミノ基を導入した QD と反応させた。一方、抗 CD3 抗体を種々の濃度の Dithiothreitol (DTT) で処理した場合の生成分子を電気泳動にて確認し、重鎖及び軽鎖を 1 セット含む分子が最も多い条件を得た。この条件にて部分還元した抗体を二価橋剤修飾した CdSe/ZnS QD と結合させた。この反応混合溶液を CD3 陽性 Jurkat 細胞に加え 4°C で細胞表面に結合させ、過剰な混合液を除去した後 37°C にて培養、その時間経過を観察した。およそ 8 倍濃縮した未修飾 CdSe/ZnS QD 溶液を Jurkat 細胞に同様の処理をしたものをコントロールとした。

【結果】下図に示す通り、Jurkat 細胞への抗 CD3 抗体結合 QD の時間依存的取り込みを検出した。一方コントロール実験では QD の細胞への取り込みは殆ど検出できなかった。従って、この手法は抗 CD3 抗体固定化 QD 基盤蛍光バイオプローブの生細胞への簡便な導入法になり得る。

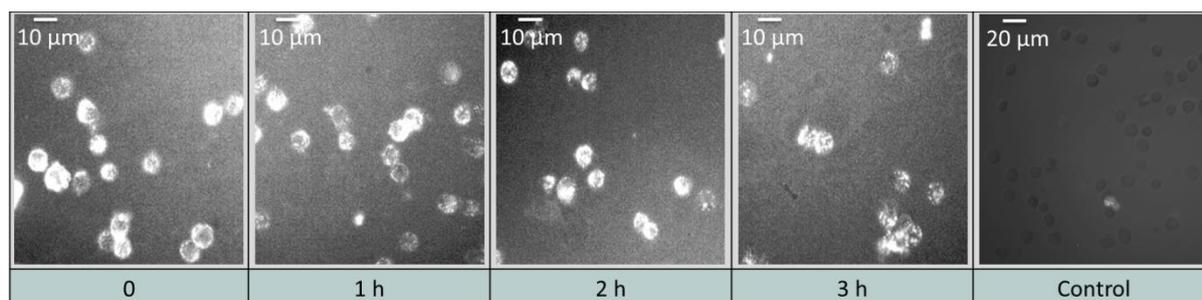


Fig. 1 CdSe/ZnS QD-抗 CD3 抗体結合体の Jurkat 細胞内取り込みの経時変化

## 出芽酵母 Rho GTPase ファミリータンパク質の局在と変異体のアクチン骨格 およびエンドサイトーシスのバイオイメージング解析

○小澤 彩夏<sup>1)</sup>、久保田 千尋<sup>1)</sup>、岡田 明日香<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

エンドサイトーシスは、細胞膜が細胞質側へと貫入することにより形成されるクラスリン小胞を介して細胞外物質を細胞内へと取り込む機構であり、様々な生命現象に関与している。近年の研究により、エンドサイトーシス部位における膜小胞の形成および小胞の輸送過程において、アクチンの一過的な重合と脱重合が必要であることが明らかにされている。また、私達は細胞表層に存在するアクチンフィラメントがエンドサイトーシスにおける小胞輸送に重要であることを明らかにした。しかしながら、これらの詳細な分子機構については不明な点が多く残されている。低分子量G蛋白質 Rho ファミリーは、種を越えたアクチン細胞骨格の制御因子であり、下流の様々なエフェクターを介して、アクチン骨格の再構成を制御している。以前の研究において、私達は出芽酵母の4種類の Rho ファミリータンパク質について、それらの変異体を解析し、Rho3p および Rho4p がクラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるアクチン骨格の制御、およびクラスリン小胞の取り込みに関与していることを示した。本学会では、これら Rho ファミリータンパク質の一つである Rho4p のエンドサイトーシスにおける役割について発表する。Rho4p は酵母 Formin のホモログの一つである Bnr1p、Hof1p を neck 部位に局在させ、細胞質分裂に関与していることが報告されている。Rho4p の活性型/不活性型変異体を作製し、それらのアクチン骨格への影響を調べたところ、活性型変異体においてアクチンケーブルの過形成が見られた。また、Rho4p の不活性型変異体を用いて、クラスリン仲介型エンドサイトーシスへの影響を調べたところ、積み荷分子の細胞内への取り込みに遅延が認められた。以上の結果より、Rho4p はエンドサイトーシスの積み荷のクラスリン小胞への輸送、もしくは細胞内への取り込み過程において機能している可能性がある。

## 出芽酵母を用いたヒト GPCR のリガンド応答性エンドサイトーシスのバイオイメーjing解析

○秋庭 涼<sup>1)</sup>、藤村 翔吾<sup>1)</sup>、境 未来<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は7回膜貫通型で、ヒトゲノムにおいて最大の受容体ファミリーを形成している。GPCR は様々な生命現象において重要な役割を果たしており、癌疾患とも深く関わっている。中でもヒトケモカイン受容体 CCR2B は腫瘍細胞や血管内皮細胞に発現し、ケモカイン CCL2 と結合することで癌の転移を引き起こす。GPCR はそれぞれ特異的なリガンドと結合すると、細胞内の3量体 G タンパク質の $\alpha$ サブユニットと結合、活性化し細胞内にシグナルを伝達する。活性化された GPCR は、GPCR kinase (GRK) によってリン酸化されると、足場タンパク質 Arrestin が結合することで脱感作され、クラスリン被覆小胞を介したエンドサイトーシスにより分解、リサイクリングされる。また、このようなリガンド応答性エンドサイトーシスによる不活性化機構とは別に、リガンド非存在化においても、細胞内領域にあるエンドサイトーシスモチーフにより GPCR は細胞内へと恒常的に取り込まれ、分解、リサイクリングされている。本研究において、私達はヒトケモカイン受容体 CCR2B をモデルとして用い、ヒト GPCR を出芽酵母に発現させ、リガンド非存在化における恒常的なエンドサイトーシス、およびリガンド応答性エンドサイトーシスによる CCR2B の不活性化機構を解析した。この結果、CCR2B のC末端領域に存在するエンドサイトーシスモチーフに変異を加えることで、CCR2B の恒常的なエンドサイトーシスが抑制されることが分かった。また、リガンドである CCL2 添加により、GRK2、および Arrestin を発現させた細胞で、CCR2B のエンドサイトーシスが亢進されることが明らかとなった。さらに、CCL2 に蛍光タンパク質を付加することにより、出芽酵母における CCR2B のエンドサイトーシスを可視化した。これらの結果は、ヒト細胞と出芽酵母における GPCR のエンドサイトーシス機構が高度に保存されていることを示唆するものである。

## 内在性 V-ATPase プロモーターを用いた出芽酵母へのヒト V-ATPase の発現と機能性のイメージング解析

○阿部 通子<sup>1)</sup>、塩川 舟華<sup>1)</sup>、斉藤 麻由<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

液胞型 ATPase (V-ATPase) はオルガネラ細胞膜に発現し、細胞内の pH 調節を担う膜貫通型プロトン輸送体であり、出芽酵母では 14 個のサブユニットから構成されている。また、V-ATPase はがん細胞や破骨細胞の細胞膜にも多く存在する為、V-ATPase の特異的阻害剤はこれらの疾患の治療薬開発に繋がる可能性がある。以前、本研究室では *TP11* プロモーター制御下でヒト V-ATPase サブユニットを出芽酵母に発現することに成功した。その結果、ヒト V-ATPase サブユニットの一部が対応するホモログの機能を一部相補することが明らかにされた。本研究で、私は酵母の V-ATPase サブユニット欠損変異体において出芽酵母サブユニットの内在性プロモーターを用いてヒトサブユニットを発現させ、生育の回復、液胞の酸性化、V-ATPase の構築の 3 方向からヒトホモログが酵母サブユニットを相補するか解析した。その結果、サブユニット A, B, E, F, c, c”では相補しない、サブユニット C, D, H, d では一部相補するという結果が得られた。これらは、これまで明らかにされた過剰発現プロモーターによる相補性解析において相補していたものは、本研究では一部相補、過剰発現において一部相補していたものは相補しないという結果を示していることから、過剰発現プロモーターによる相補性解析結果と今回の結果は整合性を持つことが示唆される。これらの結果は、出芽酵母で機能的なヒト V-ATPase の発現が可能であることを示唆している。

## がん診断用超音波造影を目的としたアクティブターゲティング型ナノバブルの開発

○影山 彩織<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>、小田 雄介<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,2)</sup>

宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD

【背景・目的】超音波造影剤（微小気泡）は、超音波造影効果を高めることが可能であるため、血行動態のリアルタイムイメージングに利用されている。また、近年では、腫瘍や血栓の効率的な超音波造影を可能とするアクティブターゲティング型微小気泡の開発が望まれている。このような背景のもと、これまでの我々は、様々な外殻組成のナノバブルを調製し、その安定性や超音波造影の特性を評価してきた。そして、ナノバブルの外殻成分に Distearoylphosphatidylglycerol (DSPG) を一定量添加することで顕著に安定性が向上することを見出してきた。さらに我々は、この DSPG を含有したナノバブルに腫瘍の新生血管内皮細胞に結合する cyclic RGD (cRGD) ペプチドを修飾したアクティブターゲティング型ナノバブルの開発を進めている。そこで本研究では、新たに調製した cRGD 修飾ナノバブルの血管内皮細胞への結合・取り込みを評価した。

【方法】脂質 (DSPC: DSPG: DSPEPEG2k: DSPEPEG3.4k-RGD=30:60:10、30:60:9:1 または 30:60:5:5 (モル比)) の懸濁液をパーフルオロプロパンガス環境下でプローブ型ソニケーターを用いてソニケーションすることで cRGD 修飾率の異なるナノバブルを調製した。調製したナノバブルの細胞への結合は、蛍光 (DiI) 標識した cRGD 修飾ナノバブルを用いて評価した。一晚培養しプレートに接着させたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に蛍光修飾ナノバブル添加し、37°C で 10 分間作用させた。細胞を洗浄し、トリプシンを用いて細胞を回収しフローサイトメーターにより細胞へのナノバブルの取り込みを評価した。また、超音波造影装置による細胞へのナノバブルの結合・取り込みは、浮遊させた状態の HUVEC にナノバブルを添加し 37°C で 10 分間培養後に洗浄した細胞の超音波イメージング輝度を指標に評価した。

【結果・考察】フローサイトメーターの結果から、cRGD 修飾率の増加に伴い、細胞の蛍光強度の増加が認められた。また、超音波イメージング輝度を測定した結果、cRGD 修飾率の増加に伴い、その輝度の増加も認められた。このことから、cRGD 修飾率に依存して細胞へのナノバブル結合・取り込み量が増大することが明らかとなった。また、このナノバブルはガスを保持した状態で細胞に接着・取り込まれているものと考えられた。このことから、cRGD 修飾ナノバブルががん組織の血管内皮細胞にアクティブターゲティングすることでがん組織の検出を可能とする有望ながん診断用超音波造影剤になるもの期待される。

【謝辞】本研究の一部は、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成 25-29 年度）によるものである。

## 超音波イメージングバブルを利用した *in vitro* 超音波遺伝子導入システムの開発

○星 成美<sup>1)</sup>、宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>、望月 剛<sup>2)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>

小田 雄介<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,4)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、榊田 晃司<sup>3)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> MU 研究所、<sup>3)</sup> 東京農工大学大学院生物システム応用科学府

<sup>4)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD

【背景・目的】近年、超音波造影剤として利用されている微小気泡を用いた超音波遺伝子デリバリーに関する研究が、新たな遺伝子導入法として注目されている。これまでに我々は、ナノバブルと超音波を用いてマイクロチューブ内に懸濁した細胞に対し遺伝子導入できることを見出し、てきた。しかし、この方法では一度に多くの細胞に遺伝子導入できないことが問題であった。この問題を解決するために我々は、ディッシュ底面から多くの細胞に対して一度に超音波照射できるディッシュ対応型超音波照射装置を開発した。そこで本研究では、本装置を用いた超音波遺伝子導入の有用性を評価した。

【方法】ナノバブルの調製方法：脂質（DSPC:DSPE:DSPE-PEG2000-OMe=30:60:10（モル比））の懸濁液をパーフルオロプロパンガス環境下でホモジナイザーにより攪拌しナノバブルを調製した。超音波造影：ディッシュ対応型超音波照射装置を用いてナノバブル懸濁液を超音波照射した。その後、超音波造影装置を用いて超音波照射前後のナノバブルを造影した。遺伝子導入方法：ディッシュにサル腎上皮細胞（COS-7）（ $2.0 \times 10^5$  cells/dish）を播種し、1 日培養後ルシフェラーゼ発現プラスミド DNA（pcDNA3-Luc）溶液とナノバブル懸濁液を添加し、超音波を照射した。その後、細胞を洗浄し、1 日培養後ルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果・考察】ナノバブルを用いた超音波遺伝子導入では、ナノバブルの圧壊で誘導されるジェット流が駆動力となり細胞内に遺伝子が導入される。そこでまずはじめに、本装置で超音波照射した際にディッシュ内のナノバブルに圧壊が誘導されるかどうか観察した。一般にナノバブルが圧壊すると超音波造影における輝度が顕著に減弱する。そこで今回は、この超音波造影輝度の変化を指標にナノバブルの圧壊を評価した。その結果、本装置で超音波照射したナノバブルの超音波造影輝度が顕著に減弱した。このことから、本装置での超音波照射によりディッシュに添加したバブルが効率よく圧壊したものと考えられた。次に、本装置とナノバブルの併用による超音波遺伝子導入を試みた。その結果、ナノバブルと超音波照射を併用した群において高いルシフェラーゼ発現が認められた。このことから、本装置での超音波照射によるナノバブルの圧壊で生じたジェット流が駆動力となり、細胞内に遺伝子が導入されたと考えられた。以上の結果から、本装置が、ナノバブルを利用した *in vitro* 超音波遺伝子導入ツールとして有用であることが示された。今後は、本装置による様々な細胞種に対する超音波遺伝子導入特性を検討していく予定である。

【謝辞】本研究の一部は、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（平成 25-29 年度）によるものである。

## ナノバブルと超音波による脳への薬物送達システムの開発およびその特性評価

○萩原 美美子<sup>1)</sup>、小俣 大樹<sup>1,2)</sup>、鈴木 亮<sup>1)</sup>、小田 雄介<sup>1)</sup>、Johan UNGA<sup>1)</sup>宇留賀 仁史<sup>1)</sup>、杉井 むつみ<sup>1)</sup>、丸山 一雄<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 帝京大学薬学部、<sup>2)</sup> 日本学術振興会特別研究員 PD

【背景・目的】脳には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が存在するため、脂溶性の低分子量物質以外は脳へ送達することが困難である。これが脳疾患の医薬品開発の一つの問題となっている。そのため、この問題を解決しうる新たな脳内への薬物送達法の開発が望まれている。現在、血液脳関門の透過性を亢進するための様々な方法が試行錯誤されているが、未だ画期的な方法が見出されていない。このような状況の中で、超音波造影剤（ナノバブル）への超音波照射で生じるバブルの圧壊現象により誘導されるマイクロジェット流を利用し、血液脳関門の透過性を一時的に亢進する技術が注目されている。そこで本研究では、我々の開発したナノバブルと超音波の併用による血液脳関門の透過性亢進の可能性について評価した。

【方法】モデル薬物のエバンスブルー（5 mg）とナノバブルの混合液を ddY マウスに尾静脈内投与（200  $\mu$ L）し、同時にマウスの脳の右半球に経頭蓋的に超音波（周波数：1 MHz または 3 MHz、照射強度：0.1、0.5、1.0、2.0  $W/cm^2$ ）を照射した。1 時間後に血液還流して脳を摘出し、脳内へのエバンスブルーの移行を脳の外観および冠状断スライスで観察した。さらに、エバンスブルーの移行量を検討するため、脳を右半球と左半球に分け、ホルムアミドに溶解し、その溶解液の吸光度（波長：620 nm）を測定した。また、脳への傷害性は、脳切片のヘマトキシリン・エオシン染色（HE 染色）により評価した。

【結果・考察】超音波照射強度について検討した結果、0.1  $W/cm^2$  と比べ 0.5  $W/cm^2$  において脳内へのエバンスブルー移行量が増加した。しかし、0.5  $W/cm^2$  以上では照射強度を高くしてもエバンスブルーの量に大きな変化は認められなかった。また、脳全体および冠状断スライスを観察したところ、超音波を照射した右半球においてエバンスブルーの移行が認められた。このことから、ナノバブルと超音波の併用により血液脳関門の透過性が亢進することが明らかとなった。一般的にエバンスブルーは生体内でほぼアルブミンと結合し、アルブミンの分布を表している。そのため、本技術により、アルブミンのような高分子量のたん白質が脳内に送達可能になったと考えられた。また、超音波照射後の HE 染色の結果から、1 MHz と比べ 3 MHz の超音波周波数において脳への傷害が減少した。以上の検討から、血液脳関門の透過性亢進のためには、照射強度 0.5  $W/cm^2$ 、周波数 3 MHz の超音波照射が、組織傷害性の観点から適しているものと考えられた。このように本技術は、血液脳関門の存在により脳への移行率の悪い薬物や高分子量物質に対する画期的な脳内薬物送達法になると期待される。

【謝辞】本研究の一部は、JSPS KAKENHI (15J10508)、文部科学省私立大学戦略的基盤形成事業（平成 25-29 年度）によるものである。

Mon1-Ccz1 activates Rab7 only on late endosome and dissociates from lysosome in mammalian cells

○Sayaka YASUDA<sup>1)</sup>, So MORISHITA<sup>1)</sup>, Akane FUJITA<sup>1)</sup>, Tomohisa NANAŌ<sup>1)</sup>, Naoyuki WADA<sup>2)</sup>, Satoshi WAGURI<sup>3)</sup>, Giampietro SCHIAVO<sup>4)</sup>, Mitsunori FUKUDA<sup>5)</sup>, & Takeshi NAKAMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Biosignaling, RIBS, Tokyo University of Science, <sup>2)</sup>Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, <sup>3)</sup>Department of Anatomy and Histology, Fukushima Medical University, <sup>4)</sup>UCL Institute of Neurology, University College London, <sup>5)</sup>Laboratory of Membrane Trafficking Mechanisms, Department of Developmental Biology and Neurosciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

The physiological and pathological importance of Rab7 GTPase in the endolysosomal system has been widely accepted. However, our understanding of the mechanism regulating Rab7 activation is still very limited. Mon1-Ccz1 is the only known Rab7 guanine nucleotide exchange factor (GEF), whose activity has been demonstrated in yeast and humans. In this study, we addressed the issue whether Mon1-Ccz1 activates Rab7 either on late endosomes (LEs) or lysosomes (or both) using a newly developed FRET sensor. Using FRET imaging, we demonstrated that Rab7 activity only on LEs, but not on lysosomes, depends on Mon1-Ccz1 in mammalian cells. This is supported by our findings that (i) Ccz1 depletion did not change Rab7 activity on lysosomes but only on LEs, and that (ii) lysosomes showed perinuclear accumulation irrespective of the presence or absence of Ccz1, while they dispersed throughout cells lacking Rab7. Consistently, Mon1 and Ccz1 were recruited to the late-endosomal state of macropinosomes and were released at later time points, correspondent to lysosomal state. Crucially, active Rab7 played distinct roles on lysosomes, such as their perinuclear accumulation, which is independent of Mon1-Ccz1. Hence, our findings imply that at least an additional and presently unknown Rab7-GEF is responsible for the Rab7 activation on lysosomes. Furthermore, by using Rab7 FRET sensors, we found that lysosomes in unstimulated COS-7 cells were separated into two populations which had different Rab7 activity. These results suggest an intrinsic lysosome heterogeneity that may have profound implications in terms of lysosome biogenesis and autophagy.

## The mechanism of stress granule formation induced by intracellular local thermogenesis

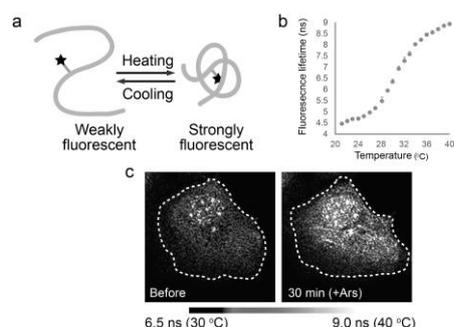
○Beini SHI<sup>1)</sup>, Kohki OKABE<sup>1,2)</sup>, Takashi FUNATSU<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo, Japan, <sup>2)</sup> JST, PRESTO

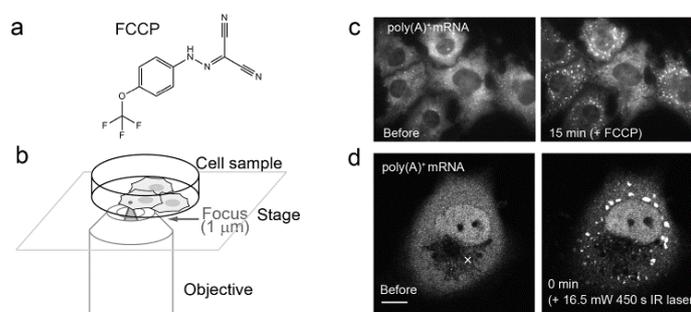
Under stress, eukaryotic cells form stress granule (SG) that contains mRNAs and translation-related factors. Although SG is recognized as a transient complex responsible for translation reprogramming, the mechanism of assembly is yet to be known. Previous researches of SG formation demonstrate that SG can dynamically and spontaneously assemble and disassemble, which indicates that there should be some physical parameters involved in these processes. Given the fact that SG can be induced by sodium arsenite (Ars), which targets on the mitochondria and functionally influences the respiratory chain, as well as heat shock, we hypothesized that stress-induced mitochondrial thermogenesis might play a critical role in triggering SG assembly. The objective of this study was to clarify the intrinsic relationship between intracellular thermogenesis and SG formation.

Firstly, we imaged intracellular temperature in stressed cells by using a fluorescent polymeric thermometer (FPT) and fluorescence lifetime microscopy (FLIM) (Fig. 1 **a, b**). The result demonstrated that intracellular temperature increases during SG formation (Fig. 1 **c**). Next, we found that cells containing abundant FPT could not assemble SG, which was due to the heat absorption. Moreover, the heat absorption by FPT specifically prevented the first step of SG formation, a critical stage for initiating SG assembly, indicating that intracellular thermogenesis is necessary for initiating SG assembly. Furthermore, to investigate the intrinsic relationship between intracellular local thermogenesis and SG formation, we introduced two methods of artificial heating: induction of mitochondrial thermogenesis by FCCP (Carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazone) (Fig. 2 **a**) and local heating system by infrared (IR) laser (Fig. 2 **b**). The results demonstrated that both of these two methods could induce the transient SG assembly (Fig. 2 **c, d**). Therefore, we confirmed that intracellular local thermogenesis is sufficient for SG formation.

In this study, we confirmed that intracellular thermogenesis was both necessary and sufficient to induce SG assembly, demonstrating SG formation has an intrinsic relationship with stress-induced heat generation, which may be a novel mechanism of this phenomenon.



**Figure 1. Intracellular temperature imaging in stressed cells using FPT.**



**Figure 2. SG formation induced by local thermogenesis.**

## Green-Red FRET センサー構築の試み

○田中 響<sup>1)</sup>、安田 さや香<sup>1)</sup>、須田 亮<sup>2)</sup>、中村 岳史<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京理科大学大学院生命科学研究科、<sup>2)</sup> 東京理科大学理工学部物理学科

FRET イメージングは生体内のタンパク質相互作用を可視化することが出来ることから、近年注目を集めている。しかし、生きた個体レベルで評価を行なう二光子励起を使った *in vivo* FRET イメージングにはいくつかの問題点が存在する。蛍光タンパク質の褪色が予想よりも激しいことがそのひとつである。また、汎用される CFP-YFP ペアの場合、ドナー分子のみを励起しようとしても、二光子励起によるイメージングでは YFP に大きなセカンドピークがあるため、アクセプター分子も強く励起されてしまうことが問題となる。そこで本研究では、アクセプター分子が励起される問題点を回避するため、FRET センサーに使用する蛍光タンパク質を、CFP-YFP から GFP-RFP の FRET ペアに組み替えることを試みた。mRuby2 は YFP よりも長波長側で励起でき、かつ、二光子励起スペクトルでも大きなセカンドピークがない。また CFP の代わりに、Clover または mNeonGreen を使う事によって、ドナー分子のみを励起することができる。本研究では、カルシウムイオン濃度を調べる YellowCameleon (YC3.6) と、MAP キナーゼの活性を調べる EKAREV の 2 つの FRET センサーについて、GFP-RFP の FRET ペアへの組み替え、二光子励起に適した FRET センサーへの改良を行った。まず、mNeonGreen, Clover, mRuby2 それぞれの組換え蛍光タンパク質を調製し、二光子励起スペクトルを測定した。mRuby2 には 450 nm 付近に目立ったサイドピークはなかった。mNeonGreen や Clover は従来の GFP の二光子励起スペクトルと大きな相違はない。この結果から GFP-RFP ペアの FRET センサーを構成して、450 nm 付近での励起を行えばアクセプターの cross excitation の問題は回避できると考えられる。次に、YellowCameleon (YC3.6) を GFP-RFP の FRET ペアへの組み替えを試みた。従来の CFP-YFP ペアである ECFP-cp173 と Venus のペアを GFP-RFP ペアに変更した。ドナーには mNeonGreen 及び Clover を用い、アクセプターには mRuby2 を用いた。作製した 4 つのセンサー(図 1)について、ヒスタミン刺激に対する GFP/RFP 比の変化量(ダイナミックレンジ)を比較したところ、CaM-NR が  $21 \pm 6\%$  と最も大きな値が得られた(図 2)。今後は、共同研究先の独自技術である超広帯域レーザーの位相制御と組み合わせることでさらに改良を図りたい。

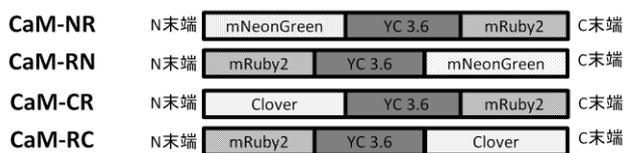


図 1. YellowCameleon (YC3.6) の ECFP-cp173 と Venus のペアをドナーに mNeonGreen 及び Clover を用い、アクセプターに mRuby2 を用いた 4 種類の FRET センサーを構築した。

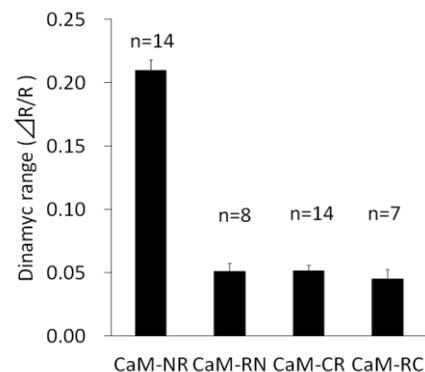


図 2. 一光子顕微鏡を用いて 15 秒間隔で撮影を行い、撮影開始から 5 分後にヒスタミンを添加し、評価を行った。

### FRET センサーによる Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討

○照井 翔<sup>1)</sup>、鯉沼 真吾<sup>1)</sup>、石田 彪馬<sup>1)</sup>、和田 直之<sup>2)</sup>、福田 光則<sup>3)</sup>、中村 岳史<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学生命医科学研究所、<sup>2)</sup> 東京理科大学理工学部、<sup>3)</sup> 東北大学大学院生命科学研究科

リサイクリング経路は、エンドサイトーシスされた膜タンパク質などを細胞膜に戻すことに加えて、新規合成されたタンパク質のゴルジ体から細胞膜への輸送にも使われている。Rab ファミリーGタンパク質に属する Rab11 はリサイクリング経路を制御するマシナリーの中心因子のひとつであり、リサイクリング経路に関わるさまざまな細胞機能への関与が報告されている。そのひとつが神経突起伸展であり、その促進にはリサイクリング経路による膜の付加が必要であることがわかっている。本研究では、神経突起伸展時の膜制御において Rab11 が組み込まれているマシナリーがどう働いているかを明らかにすることを目的として、生きた細胞で Rab11 の時空間的な活性変化を可視化する FRET センサーの作製を試みた。

4 種類の基本デザインと複数の Rab11 エフェクターを使って、100 個を超える Rab11 センサーの候補を作成し (図 1)、それぞれについてダイナミックレンジ (Rab11 の恒常活性型と優勢劣性型を組み込んだセンサーの FRET/CFP 比の変化幅) を蛍光分光光度計で評価した。一定以上のダイナミックレンジを持つ候補センサーについては、Rab11 の GAP に対して量依存的な応答を示すかどうかについてさらに検討した。現時点では Raichu-A658 が最も高い性能を示す。Raichu-A658 センサーは、細胞体での局在にやや異常があり、本来の Rab11 陽性小胞の一部にしか局在しないという問題点があるが、神経細胞株の突起ではほぼ全ての Rab11 陽性小胞に存在するので、神経突起伸展過程での検討には使用可能である。現在、この Raichu-A658 センサーを使って、神経細胞株の突起での FRET イメージングを行い、突起上を移動する小胞間での Rab11 活性の時空間的な変化を検討している。また、同じ Rab ファミリーGタンパク質に属する Rab10 が、やはり神経突起伸展時の膜の付加に働いているという報告があり、Rab11 と Rab10 の機能連関を検討するための基礎情報として、伸展中の神経突起での Rab11 と Rab10 の共局在の検討を行ったので、その結果についても報告する。

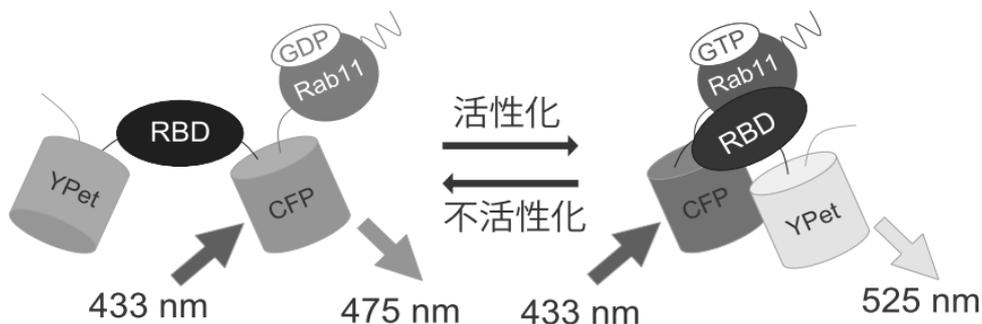


図 1. FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) の原理に基づいて Rab11 の活性を可視化するセンサー

## 二光子励起に伴う eGFP の光褪色の定量的評価

○神山 直人、砂入 允哉、戸田 圭亮、須田 亮

東京理科大学 理工学部物理学科

蛍光分子の光褪色は、タイムラプスイメージングや FRET 計測におけるレシオイメージングの定量的な解析を妨げる重大な問題である。特に、二光子励起では著しく褪色が生じるため、そのメカニズムの解明と抑制が強く求められている。我々はフーリエ変換分光法を応用した測定により、緑色蛍光タンパク質 eGFP の光褪色が二光子吸収に続いて起こる励起状態吸収 (ESA) に端を発していること、また光褪色を誘起する ESA のスペクトルを測定し、およそ 750 nm 付近の波長が ESA に寄与していることを明らかにした [1]。しかし、蛍光分子は項間交差により三重項状態などの準安定な暗状態に遷移するが、eGFP における暗状態の挙動は明らかでなく、ESA による光褪色の定量的な評価には至っていない。そこで本研究では、eGFP の暗状態の挙動を蛍光強度の過渡的な変化から推測した上で、光褪色の速度を測定し、それに基づいて ESA から光褪色に至る分岐比を算出した。

暗状態の観測には、光褪色を抑えるために連続波レーザー（出力：10 mW、波長：473 nm）を用い、音響光学素子で照射時間を制御することで、一光子励起蛍光の過渡応答をマイクロ秒からミリ秒の範囲で観測した。試料は精製された緑色蛍光タンパク質 eGFP (60 mg/ml) の HEPES 溶液と Mowiol を 1:7 で混合したものをを用い、試料内での分子の拡散を抑制した。観測結果は、それぞれ 350  $\mu$ s と 15 ms の寿命を持つ、二つの暗状態を仮定することで説明することができた。

光褪色速度の測定では、光源に超広帯域 Ti:S レーザー（平均出力：100 mW、繰り返し周波数：80 MHz、スペクトル帯域：650-1100 nm）を用い、チャープミラー対と空間光位相変調器を用いた 4f 光学系のパルス整形器で分散補償した後、対物レンズ（40 倍、NA 0.9）で試料に照射した。試料には、暗状態の観測と同様に作製したものをを用いたが、拡散の影響が少なからず残ったため、蛍光強度が減衰する様子と併せて回復する様子も測定し、それより光褪色速度を抽出した。励起光パワーが対物レンズ前で 8 mW の際は、褪色の時定数が数秒程度で、拡散の時定数は数 10 秒程度であった（図 1）。

二光子励起に続く励起状態吸収による光褪色として、最も単純なモデルは一重項第一励起状態 ( $S_1$ ) からの ESA によるもので、このモデルに基づく光褪色の分岐比は  $10^{-8}$  と計算された。発表では暗状態から ESA が起こると仮定した場合の光褪色に至る分岐比についても報告する。

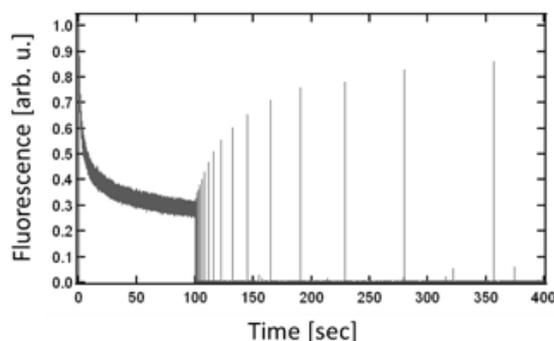


図 1 光褪色による蛍光強度の減衰と試料拡散による蛍光強度の回復

## 参考文献

- [1] 高橋 他, 第 73 回応用物理学会学術講演会 14p-B2-3 (2012).

## タンパク質ラベル化プローブの開発および多色 1 分子イメージングへの応用

○佐藤 亮太<sup>1)</sup>、吉村 彰真<sup>1)</sup>、小塚 淳<sup>2)</sup>、熊谷 雄太郎<sup>3)</sup>、水上 進<sup>1,3)</sup>、菊地 和也<sup>1,3)</sup><sup>1)</sup> 阪大院工、<sup>2)</sup> 理化学研究所生命システム研究センター、<sup>3)</sup> 大阪大学免疫学フロンティア研究センター

生体内においてタンパク質は代謝や様々な生体反応に関わっており、生命現象を理解する上で、その機能解明は重要である。蛍光性小分子を用いたタンパク質の蛍光イメージング技術は、タンパク質動態の解析に寄与する有力な技術であり、その中でも特に、タグタンパク質とその蛍光性小分子を用いた蛍光標識法は、タグタンパク質に融合させた標的タンパク質を特異的に生細胞イメージングすることができるため、大きな注目を集めている。我々は変異体β-ラクタマーゼ (BL-tag) をタグとするタンパク質ラベル化システムの開発を行っており、BL-tag に特異的に結合するβ-ラクタム環構造を有し、様々な色素やスイッチ機構を付与した蛍光性小分子の合成に成功している<sup>1-3)</sup>。

我々はこれまで、共焦点蛍光顕微鏡を用いてタンパク質の局在や挙動を追跡するリアルタイムイメージングに取り組んできた。この手法では多数の分子の集団的な挙動を観察しているため、計測されるタンパク質の特性は、分子集団として平均化されたものであった。しかし、複雑な生命現象を解明するためには、生細胞におけるタンパク質の挙動をより詳細に解析する技術が必要となる。そこで本研究では、BL-tag 技術を用いてタンパク質を 1 分子レベルで観察し、分子ごとの変位や拡散係数など、より詳細な分子特性を計測するために、全反射照明蛍光顕微鏡を用いた 1 分子イメージングに取り組んだ。

細胞内 1 分子イメージングを行うにあたって、高い光安定性を示す蛍光色素を組み込んだ細胞膜透過性プローブが必要となる。そこで、色素部位に光安定性の高いローダミン骨格の蛍光色素を導入し、さらに細胞内で適切に機能させるために分子構造の最適化を行い、新たな BL-tag ラベル化プローブの開発を行った。このプローブを用いて、生細胞内に発現するタンパク質のラベル化を試みたところ、バックグラウンド蛍光を抑え、高い S/N 比でイメージングが可能であることがわかった。さらに、全反射照明蛍光顕微鏡を用いて、細胞内に発現するタンパク質の 1 分子イメージングを試みたところ、標的タンパク質 1 分子ずつの輝点の検出・解析に成功した。

本研究ではさらなる応用として、受容体膜タンパク質のリガンド応答による挙動変化の解析を行ったので、その詳細について発表する。

## [References]

1. S. Mizukami, S. Watanabe, Y. Hori, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5016.
2. S. Watanabe, S. Mizukami, Y. Hori, K. Kikuchi, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 2320.
3. S. Mizukami, S. Watanabe, Y. Akimoto, K. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1623.

Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with broad, high dynamic range, and rapid response

○Masahiro NAKANO<sup>1)</sup>, Yoshiyuki ARAI<sup>1)</sup>, Ippei KOTERA<sup>2)</sup>, Takuya IWASAKI<sup>2)</sup>, Yasuhiro KAMEI<sup>3)</sup>,  
Takeharu NAGAI<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University

<sup>2)</sup> Research Institute for Electronic Science, Hokkaido University

<sup>3)</sup> Spectrography and Bioimaging Facility, National Institute for Basic Biology

Heat is an essential and fundamental matter for all of biological activities such as enzymatic reaction, cell metabolism, and gene expression. To understand the mechanism of heat-related system, investigating the temperature inside cells are indispensable. Here, we developed a genetically encoded ratiometric fluorescent temperature indicator, gTEMP, which allows quantitative temperature measurement and can be applied to most of living things in the environment between 5°C and 50°C with high dynamic range. gTEMP could detect rapid temperature increase in mitochondria upon proton uncoupler stimulation. We have also measured the temperature differences between cytoplasm and nucleus, suggesting the different heat capacity of them. gTEMP would be useful for monitoring temperature dynamics in not only mammalian cells but also species living under the temperature at 30°C such as plant and fish.

## ラスタ画像相互相関分光法を用いた生細胞内外来 DNA 分解活性イメージング

○佐々木 章<sup>1,2)</sup>、山本 条太郎<sup>3)</sup>、神 隆<sup>2)</sup>、金城 政孝<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門、<sup>2)</sup> 理化学研究所 生命システム研究センター、  
<sup>3)</sup> 北海道大学大学院 先端生命科学研究院

外来核酸を体内に導入し、タンパク質を発現させたり目的遺伝子をノックダウンしたりする遺伝子治療・核酸医療は難治性疾患の治療法の 1 つとして期待されている。これらの技術の実用化において、遺伝子導入効率の向上は極めて重要な課題である。本来、外来遺伝子の発現は厳重に防御されるべきであり、細胞はバリアー機構として外来 DNA 分解活性を持つ。このような防御機構を理解し、発現効率を向上させるには生きた細胞内に導入された外来 DNA の運命を定量化し、分子メカニズムに迫ることが不可欠である。本研究では、近年開発された画像ベースの相関解析法の一つラスタ画像相関分光法 (RICS) の拡張法であるラスタ画像相互相関分光法 (ccRICS) を適用し、生きた単一細胞内における外来 DNA の局在や分解過程を時空間的かつ定量的に可視化することを試みた。我々は、開発した蛍光性 DNA プローブをマイクロインジェクションした細胞を経時的に観察し画像相関解析によって DNA プローブの分解度合を定量し、時間的かつ空間的にマッピングした。その結果、細胞株によって細胞質内の DNA 分解活性が大きく異なっていることを見出した。更に、観察された細胞内の DNA 分解活性とそれらの細胞株における遺伝子発現効率には相関が見られた。細胞生物学分野において、細胞株によって外来遺伝子発現効率が異なることが広く知られている。すなわち、この結果は細胞質における外来 DNA 分解活性が外来遺伝子発現の経路で重要な役割を占めていることを示す。本研究は生きた細胞内における酵素活性を定量解析する手法を提供するとともに、外来遺伝子発現効率の向上に対して新しいストラテジーをもたらす。

## PEG 脂質誘導体を利用した細胞の蛍光標識法の開発

○樋口 ゆり子<sup>1,2)</sup>、杉田 かおり<sup>2)</sup>、山下 富義<sup>2)</sup>、橋田 充<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 京都大学学際融合教育研究推薦センター、<sup>2)</sup> 京都大学大学院薬学研究科

細胞追跡において蛍光標識は有効な手法である。遺伝子導入法により蛍光タンパク質の発現を誘導する方法が一般的であるが、トランスフェクション効率が低い細胞や短時間で修飾したい場合は、蛍光色素が結合された脂質誘導体による修飾の方が適している場合がある。これまで、PEG 脂質とペプチドの結合体を培地に添加して培養すると、ペプチド-PEG 脂質が細胞膜と相互作用し細胞膜の表面にペプチドが修飾されることが報告されている。そこで、ペプチドの代わりに蛍光タンパク質を PEG 脂質に結合させた蛍光タンパク質-PEG 脂質を用いて細胞を蛍光標識できると考えた。タンパク質と PEG 脂質を結合させる場合、タンパク質の立体構造に影響を及ぼさないような箇所と選択して結合させる必要がある。さらに、PEG 脂質との結合反応には、タンパク質を変性しない溶媒を選択しなければならない。しかしながら、構成するアミノ酸の数が少ないペプチドの場合と異なり、タンパク質の場合は特定の箇所のアミノ酸の官能基と結合させるのは困難である。

本研究では、アジド基を有する非天然アミノ酸フェニルアジドアラニン(AzF)をタンパク質中のフェニルアラニンと置換することにより、アミノ酸中の特定の箇所で PEG 脂質と結合させる方法を選択した。遺伝子工学的手法を用いて、蛍光タンパク質 mKO2 のフェニルアラニン 1 個を、AzF に置換した mKO (AzF)を合成した。一方、NH<sub>2</sub>-PEG 脂質と dibenzylcyclooctyne (DBCO)-NHS を 0.2%triethylamine 含有 tetrahydrofuran 中で脱水縮合し、カイザーテストで未反応のアミノ基が無いことを確認した後、水中で未反応の DBCO-NHS を析出させ、得られた上清を透析して DBCO-PEG 脂質を得た。DBCO は水溶液中でアジド基と特異的に結合することが知られているので、mKO2 (AzF)と PEG 脂質を PBS 中で反応させ、限界濾過により未反応の mKO2 を除去した。SDS-PAGE により分子量を確認したところ、mKO2(AzF)と PEG 脂質の反応物のレーンには mKO2(AzF)より分子量の大きなバンドが確認できた。さらに、電気泳動後のゲルを Fluorescein-phosphine を含む水溶液中で反応させると、fluorescein の蛍光のバンドは mKO2(AzF)のバンドの位置にのみ観察された。分子量の大きい方の分子にはアジド基がなく、mKO2 (AzF)のアジド基を介して PEG 脂質と結合したことが確認できた。mKO2-PEG 脂質を含む培地中で MSC 細胞を培養後、顕微鏡で観察すると、細胞膜表面に mKO2 の蛍光シグナルが認められたが、mKO2 を含む培地中で培養した場合には蛍光シグナルは認められなかった。

以上、AzF を介して結合した mKO2-PEG 脂質を合成し、細胞膜表面に mKO2 を修飾できた。

## 発光蛋白質を用いた生体脳内 CREB リン酸化の可視化

○石本 哲也、森 寿

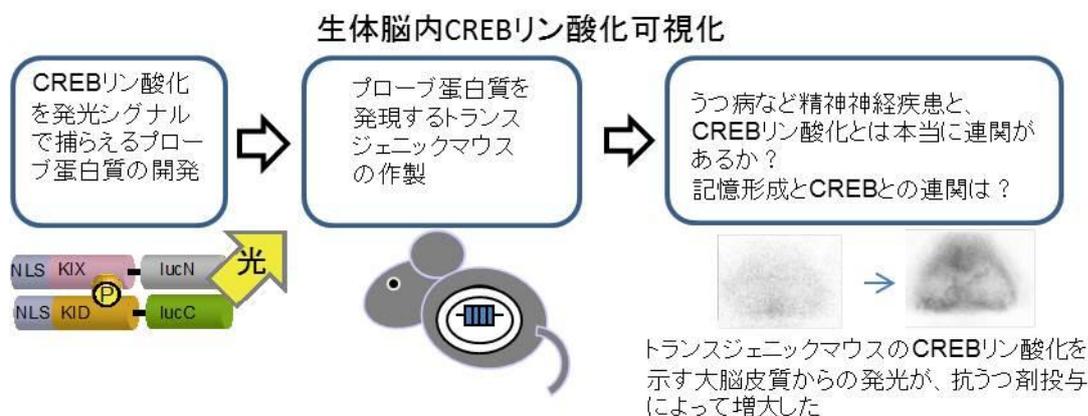
富山大学 大学院医学薬学研究部 分子神経科学講座

【背景】転写因子 cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化とそれに続く転写活性上昇は、記憶形成に重要な役割を担うことが知られている。また、CREB リン酸化が精神神経疾患にも関係するという報告も多い。CREB の活性化（リン酸化）がいつどこで起きているか、生きたマウス脳内で解析することが、記憶形成や精神神経疾患のメカニズムを解析する上で必要であるが、今までそれは不可能であった。

【結果】CREB の KID ドメインがリン酸化されると、結合相手である CREB binding protein (CBP) の KIX ドメインに結合することを利用して、それぞれのドメインを、N,C 末端に分割したホタルルシフェラーゼに融合させ、KID と KIX が結合することで発光するプローブ蛋白質を構築した。そのプローブ蛋白質を発現させた培養細胞で forskolin 処理によって細胞内の cAMP 量を上げると、内在性 CREB リン酸化と並行してプローブ蛋白質からの発光上昇が観察された。また、CREB の 133 番目のセリンをアラニンに置換することでその発光上昇が消えることから、このプローブ蛋白質は CREB リン酸化を検知できると結論した。

この発光プローブ蛋白質を発現するトランスジェニックマウスに、ルシフェラーゼの基質であるルシフェリンを腹腔内注射することにより、無麻酔トランスジェニックマウスの頭蓋骨を透過する光を計測することに成功した。さらにトランスジェニックマウスに抗うつ剤を投与すると、一過的に脳からの発光が上昇し、同時に内在性 CREB のリン酸化も亢進していた。またうつ症状を誘導するレセルピンを投与すると、脳内の CREB リン酸化を示す発光パターンが変化した。発光パターンの変化とうつ症状重篤度の相関を解析したところ、前頭の特定位で正の相関が見出された。つまりこの部位での CREB リン酸化がうつ症状の原因である可能性がある。

【結論】今まで不可能だった、マウス生体脳内の特定の蛋白質（CREB）のリン酸化を可視化することに初めて成功した。脳内のどこでいつ CREB がリン酸化されることが、特定の病態や薬物応答において重要性を持つか解析することが可能になった。



Ishimoto et al., Sci. Rep., 5:9757, 2015.

## ナノ医薬品の特性解析における走査型プローブ顕微鏡の利用

○加藤 くみ子、原矢 佑樹、阿部 康弘、合田 幸広

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

ナノメートルサイズの構成要素を有する医薬品(以下、ナノ医薬品と称する)の開発が国際的に進展しており、その特性解析手法研究も進んでいる。ナノ医薬品の特性解析の中でも、サイズ及び形態は、有効性や安全性に関わる重要な品質特性の1つである。汎用されているサイズ解析手法は動的光散乱法であるが、動的光散乱法ではナノ粒子間の凝集の有無等に関する情報を得ることができない。従って、形態のより詳細な情報を得るためには、画像解析を組み合わせ特性解析を行うことが重要である。ナノサイズの画像解析法としては電子顕微鏡による解析が主流であるが、一般的に試料の固定や真空環境が必要となるため、電子顕微鏡による試料の形態と、生体試料中に存在する試料の形態が異なる可能性が否定できない。

走査型プローブ顕微鏡 (scanning probe microscope; SPM) は微小な探針(プローブ)で試料をなぞり、その際に試料—プローブ間に働く微小な力である原子間力や電流、電位などの信号を高感度に検出し、試料表面の三次元凹凸形状や各種物性の情報を得ることが可能な装置の総称である。SPMは大気中、溶液中などの環境中での観察が可能であり、より生体環境に近い条件下での形態を観察できる可能性が高い。そこで我々は、代表的なナノ医薬品キャリアであるリポソームについて SPM(SPM-9700, Shimadzu)を用いた形態解析を行い、特性解析評価手法としての有用性を調べた。

PEG 修飾リポソームを、エクストルージョン法により作製した。脂質濃度 5mM のリポソーム懸濁液を BSA でコーティングしたガラス基板上に滴下して 5 分間静置し、その後溶媒を加えて観察用サンプルとした。溶媒は 1 mM EDTA/5% glucose 水溶液を使用した。

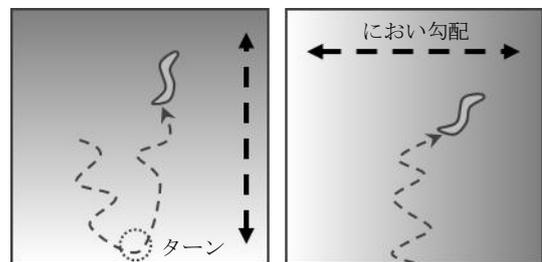
ダイナミックモードで観察を行い、リポソームのサイズを計測したところ、幅  $83\pm 29$  nm、高さ  $33\pm 19$  nm であり、基板への吸着により扁平な形状であった。また、いずれの値も、動的光散乱で測定した粒子サイズ値 (拡散係数の等しい球として当てはめた流体力学的半径) 108 nm より小さい結果となった。リポソームを水溶液中で形状観察するには、ベシクル形状を維持した状態でリポソーム表面と基板との静電的相互作用等による吸着が可能となるような基板選択が重要である。しかし、現時点では、脂質組成の違いによる基板の選択に明確な基準は得られておらず経験値によるところが大きい。SPM は、in situ でプローブと試料の距離を変えながらプローブに働く力を測定することで、試料の吸着力や表面緩和力の測定を行い、表面物性に関する特性値を得ることも可能である。今後は、このようにして得られたリポソームの表面特性も考慮し、サイズや形態の測定条件を最適化していきたい。

線虫 (*C. elegans*) のにおい感度を行動と神経活動から評価する

○設楽 久志、牧野 多成、堀田 耕司、岡 浩太郎

慶應大・理工・生命

線虫は 302 個しか神経細胞を持たず、その行動はシンプルであり、さらに遺伝子導入が容易であることから、行動と神経系の関係を理解する上で有用なモデル生物として利用されてきた。これまでの研究から、線虫は特定のにおい物質を好み化学走性を示すことが知られており、この化学走性は klinokinesis (Pierce-Shimomura et al., 1999) と klinotaxis (Iino and Yoshida, 2009) という 2 つの行動戦略からなることが明らかにされている。Klinokinesis は線虫の進行方向に対して平行な濃度勾配がある際に、濃度が高い方向へ進もうと大きくターンを行う戦略である (図 1a)。一方、klinotaxis は線虫の進行方向と垂直に濃度勾配がある際、首を振りながら濃度勾配を感受し、におい濃度が高い方向へ進む戦略である (図 1b)。この様に、線虫は微妙な濃度勾配の差を感受しながらより濃度の高い方向へ進むが、実際にどれだけの濃度差を線虫が正確に感じ取れるのかということを示した研究はない。そこで、我々は行動と  $\text{Ca}^{2+}$  イメージングの 2 つの側面から、どれだけ線虫がにおい物質であるイソアミルアルコール (IAA) の濃度差を感受することができるのか調べた。



(a) klinokinesis (b) klinotaxis

図 1 線虫の行動戦略

はじめに、線虫がどれだけのにおいの差を感受することができるのかを、線虫の首振り行動を観察することで調べた。首振りの観察には図 2 に示したマイクロ流体デバイスを用いた。デバイス内で線虫は自由に頭部を振ることができるため、そこに 2 層のにおい刺激を与えることでどちらのにおいに線虫が誘引されるかを調べることができる。最初に 2 層とも同じ濃度 (基準濃度) で刺激を与え、次に片側の層だけ基準濃度と異なる濃度のにおい刺激を与えた。線虫が首を振った角度から、2 層のうちどちら側に誘引されているのか算出した。

次に、感覚神経細胞がどれだけの感度を持っているのか調べた。線虫は IAA を AWC 感覚神経細胞で感受することが知られている。そこで、AWC 神経細胞に  $\text{Ca}^{2+}$  インディケータである GEM-GECO を発現させ神経活動を可視化した (図 3)。刺激直後の AWC 内  $\text{Ca}^{2+}$  変化より、AWC がどれほどの濃度差を識別しているかを明らかにした。

行動と神経活動で見られたそれぞれのおい濃度差に対する感度を比較してみると、感覚神経細胞の方がより感度が高いことがわかった。これらの結果は感覚神経で入力された情報が神経回路内で閾値処理され、首振りとして表現されていることを示唆している。

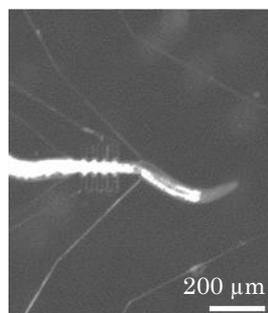


図 2 首振り観察

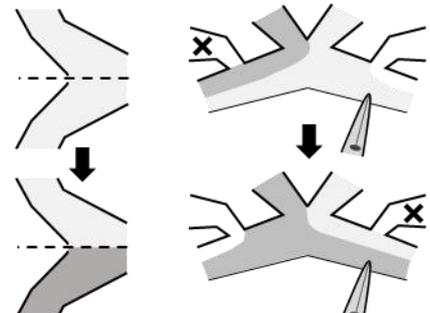


図 3 におい刺激

## 線虫における感覚神経細胞と介在神経細胞の同時イメージング

○芦田 慶太、設樂 久志、堀田 耕司、岡 浩太郎

慶應義塾大学大学院基礎理工学専攻

線虫の神経細胞は 302 個と非常に少なく、またそれらの解剖学的なシナプス接続関係もすでに明らかになっている。線虫は、そのシンプルな神経回路にも関わらず、匂いに対して適応、馴化などの学習を行う。さらに、体は透明であることから、カルシウムイメージングによる神経活動可視化法により神経回路レベルでの記憶・学習メカニズムの解明に非常に適している。今回、誘引性の匂い物質である isoamyl alcohol (IAA) に対して応答を示し、かつ、適応に関与していることが知られている感覚神経細胞 AWC とその AWC からシナプス入力を受けている介在神経細胞 AIY の同時カルシウムイメージングを行うための系を作製した。

AWC は IAA 除去時に、AIY は IAA 添加時に細胞内カルシウム濃度上昇する (Chalasan *et al.*, 2007)。また、AWC は 1 時間程度匂いに曝露した際に、匂いに対する誘引性を失う long-term adaptation に関係し、AIY は 5 分程度曝露した際に誘引性を失う short-term adaptation に関与している (Colbert & Bargmann 1995, Hirotsu & Iino 2005)。これらの学習に対する両神経細胞の寄与は神経細胞活動レベルでは明らかにされていない。これを明らかにするためには両神経細胞の同時イメージングが不可欠である。しかしながら、AIY は神経突起のみでカルシウム応答を示し、細胞体で応答しない (Chalasan *et al.*, 2007)。また両神経細胞にカルシウムインジケータを発現させると、両神経細胞の神経突起が重複しているために、応答を分離することができない。そこで、我々は核に局在させるカルシウムインジケータ (Schrödel *et al.*, 2013) を用いた。AWC には核局在シグナルを結合したカルシウムインジケータを、AIY に対しては通常のカルシウムインジケータを発現させた (図 1)。これによって、両神経細胞の応答部位が重複しないことを確認した。実際にこの手法を用いて、マイクロ流体デバイス (Chronis *et al.*, 2007) 中で IAA 刺激を与えた際の、カルシウム応答を得た。先行研究通りに、AWC は匂いの除去に対して応答を示し、また AIY は匂い添加時に応答した。このことは、核局在型のカルシウムインジケータを用いることで、AWC と AIY の同時イメージングに成功したといえる。今後はこのイメージングシステムを用いて両神経細胞の応答の変化を観察することで、線虫の学習の神経細胞応答レベルのメカニズムを明らかにできると考えている。

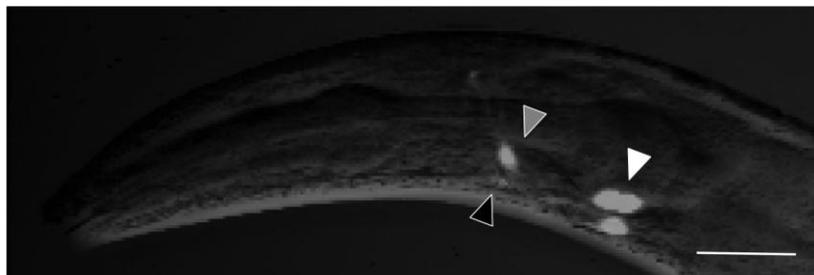


図 1 AWC と AIY の同時イメージング系の共焦点画像

白い矢頭 AIY の細胞体、黒い矢頭が AIY の応答部位、灰の矢頭が AWC の細胞体。両神経細胞の応答部位が重複していないことがわかる。スケールバーは 20  $\mu\text{m}$ 。

### 神経細胞の微細構造イメージングに基づく 中枢神経系有害反応 *in vitro* 評価系の開発

○佐藤 薫<sup>1)</sup>、清水 英雄<sup>1)</sup>、小針 彩奈<sup>2)</sup>、花村 健次<sup>3)</sup>、白尾 智明<sup>3)</sup>、田辺 光男<sup>2)</sup>、関野 祐子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立医薬品食品衛生研究所、<sup>2)</sup> 北里大学薬学部、<sup>3)</sup> 群馬大学大学院医学系研究科

現在、創薬過程における中枢神経系有害反応の *in vitro* 評価は、そのほとんどが細胞死あるいは神経突起の退縮といった、不可逆的な有害反応パラメーターを用いて評価が行われている。しかし、実際に創薬過程で問題となる有害反応は細胞死に至らない機能の低下であり、より実際の *in vitro* 評価パラメーターが求められている。そこで我々は機能的シナプスを可視化することにより、神経細胞機能の低下を検出できる新たな中枢神経系有害反応 *in vitro* 評価系の開発に取り組んだ。

生後 1 日齢ラットの海馬神経細胞を cell desk-U 法により 21 日間培養した。過剰な細胞外グルタミン酸は神経細胞に興奮毒性を引き起こすことから、陽性対照物質として 10 nM から 100  $\mu$ M グルタミン酸を 24 時間適用した。機能的シナプスはシナプス後部構造であるスパインへのドレブリンのクラスタリングを免疫染色することにより可視化した。細胞体から 20  $\mu$ m の同心円内の樹状突起から突出しているドレブリンクラスター数を計数した。生存細胞数および樹状突起面積についても定量し、これまでの有害反応パラメーターとドレブリンクラスター数の感度の違いについて比較検討した。前述の 3 種パラメーター（生存細胞数、樹状突起面積、ドレブリンクラスター数）に基づく用量作用性を確認したところ、IC50 は 生存細胞数評価 > 樹状突起面積 > ドレブリンクラスター数、となり、ドレブリンクラスター数がこれまでの有害反応パラメーターに比較して感度の高いパラメーターであることが示された。

ベンゾジアゼピン系薬剤（抑制性神経伝達物質受容体である GABA<sub>A</sub> 受容体の機能を亢進する）は不安や不眠症治療などに使用される向精神薬であるが、記憶障害等の副作用発現事例が報告されている。そこで、作用強度の異なる複数のベンゾジアゼピン系薬剤（ジアゼパム、トリアゾラム、等）を用いてグルタミン酸と同様の検討を行い解析を進めている。これらの検討結果についても報告する。

Neurotoxic and nontoxic A $\beta$ <sub>1-42</sub> assemblies are commonly composed of  $\beta$ -sheet structures but have different CD spectra pattern in the short wavelength

○Yoshitaka MATSUMURA<sup>1,2)</sup>, Tomoya SASAHARA<sup>1,2)</sup>, Takayuki OHNISHI<sup>1,2)</sup>, Eri SAIJO<sup>1,2)</sup>,  
Kaori SATOMURA<sup>1,2)</sup>, Michio SATO<sup>3)</sup>, and Minako HOSHI<sup>1,2,4)</sup>

<sup>1)</sup>TAO Health Life Pharma Co., Ltd., <sup>2)</sup>Institute of Biomedical Research Innovation,

<sup>3)</sup>Meiji University, <sup>4)</sup>Kyoto University

In order to reveal the change in a secondary structure of amyloid  $\beta$ -protein<sub>1-42</sub> (A $\beta$ <sub>42</sub>) during the course of self-assembly process induced by a slow rotation method, we monitored the time-dependent change in the circular dichroism (CD) spectra of the human A $\beta$ <sub>42</sub> solutions. In the present study, in-house produced synthetic A $\beta$ <sub>42</sub> peptides were dissolved in 0.5x phosphate buffer saline (-) containing 1% acetonitril/dioctyl phthalate and slowly rotated for 16 hrs at 4°C. At each time point, aliquots were collected and analyzed. In most cases, the CD spectra of the slowly rotated-A $\beta$ <sub>42</sub> solutions showed a unique pattern, which had a small hill between 200-210 nm and a valley around 215-220 nm. In contrast, when we used different synthetic lots of A $\beta$ <sub>42</sub>, their CD spectra showed a typical  $\beta$ -sheet structure pattern. In spite of this difference in the CD spectra, the CONTIN analysis indicated that both assemblies lack  $\alpha$ -helix but consist mainly of  $\beta$ -sheet structure. Interestingly, the former A $\beta$ <sub>42</sub> assemblies showed neurotoxicity against primary rat hippocampal neurons, but the latter have little neurotoxicity. These results suggest that neurotoxic and nontoxic A $\beta$ <sub>42</sub> assemblies might contain different types of  $\beta$ -sheet structure, which were detected as different CD spectra patterns in the short wavelength.

乳酸水溶液における透過赤外吸収スペクトルの pH 依存性

○米山 靖子<sup>1)</sup>、宇部 卓司<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,2)</sup>

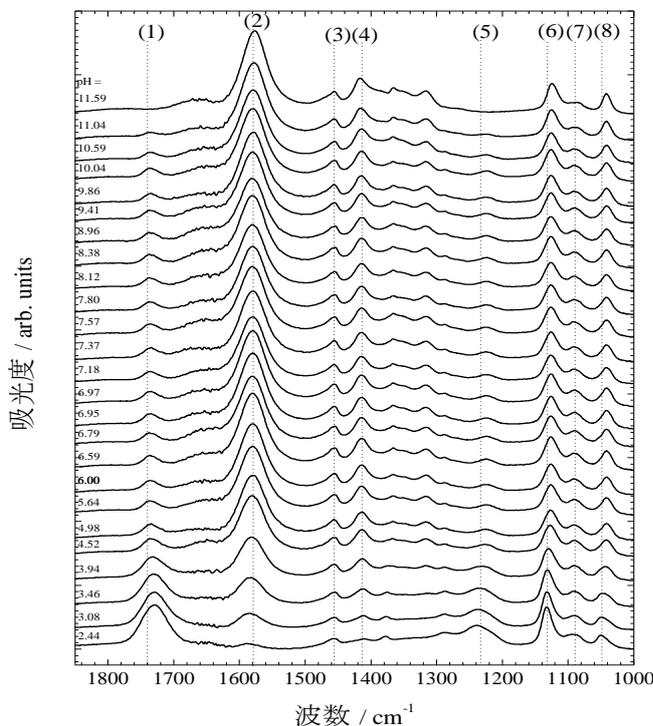
<sup>1)</sup> 東京理科大学 基礎工学研究科 材料工学専攻 石黒研究室

<sup>2)</sup> 東京理科大学総合研究院 イメージングフロンティアセンター

乳酸は細胞の代謝産物の1つである。よって、乳酸の生成量の違いにより細胞の代謝(嫌気性もしくは好気性)の区別が可能となる。赤外分光は分子の同定に有効であるが、通常水の吸収が強すぎるため透過赤外分光法は困難であるとされている。これに対し、我々は光路長を 12 $\mu\text{m}$  と短くすることでこの困難を回避した。既に G.Cassanas ら<sup>[1]</sup>が乳酸水溶液の赤外分光を行っているが、彼らの測定条件は 40%乳酸(約 4.7M)で、非常に高濃度であり酸性状態であった。しかし、細胞内の pH は 7.4 付近とされており、かけ離れていた。そこで本研究では、pH = 2.44~11.59 と広く変化させて赤外分光スペクトルを測定した。

図 1 に乳酸水溶液の pH 変化によるグラフを示す。pH = 2.44 から 4.98 になる過程で、乳酸のカルボキシ基の H が解離していき、ピーク(1)が高波数側にシフトしている。加えて、ピーク(2)の強度が増加している。これは中和反応による水分子の増加に対応している。pH = 6.95~7.57 の中性付近におけるスペクトルに変化はなかった。また、10 mM~1 M まで濃度変化についても測定したが、強度の変化のみで波数位置における変化は見られなかった。

本実験によって、そして、酸性領域から塩基性領域までの系統的な変化を測定することができ、中性付近の乳酸のスペクトルが安定して得られた。



No.	exp.
波数 / cm <sup>-1</sup>	
1	1740 v C=O
2	1578 $\delta$ H-bonded H <sub>2</sub> O
3	1455 $\delta$ H-C-H
4	1414 $\gamma_{as}$ H-C-H
5	1228 $\delta$ C-O-H
6	1130 $\delta$ C-O-H
7	1086 v C-O
8	1045 $\delta$ C-C-H

v : 伸縮振動  
 $\delta$  : 変角振動  
 $\gamma_{as}$  : 面外変角振動

参考文献

[1] G.Cassanas et al. J. Raman Spectrosc. vol.22 409-413 (1991)

水中で生きている細胞の非侵襲その場赤外分光

○宇部 卓司<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学基礎工学部 材料工学科

<sup>2)</sup> 東京理科大学総合研究院 イメージングフロンティアセンター

医学分野においては病理組織診断においては染色法が用いられ、一方細胞変異は蛍光物質を修飾する等の侵襲的前処理を経て可視化することが一般的であるが、生体への影響、前処理の必要性から生体内で生きたまま非侵襲で病変部位を可視化する診断技術の開発が求められている。化学種を同定する技法としては、赤外分光法やラマン散乱分光法が用いられる。しかし前者では生体内の主成分である水による入射赤外線の大吸収があり、後者では測定可能な散乱光を得るために強力なレーザー光照射が必要で、それによるダメージの問題点がある。また、周囲に存在する水分子の影響を受けている生体分子の研究を行った例は報告されていない。

本研究では細胞を含めた培地を 12 μm の厚さに保持することで赤外光が透過する光学セルを作製し、顕微赤外分光装置を用いて培地中で生きた細胞を非侵襲で直接透過測定した。まず、正常細胞としてマウスの胚由来の繊維芽細胞である(NIH3T3)とガン細胞としてマウス由来繊維肉腫の(MCA205)(図 1)の赤外吸収スペクトルを測定し、スペクトルの同定には予想される化学種水溶液の実測スペクトルと、密度汎関数法を用いた第一原理計算によるシミュレーション結果を用いて比較を行った。

図 2 に正常細胞とガン細胞の赤外吸収スペクトルの比較を示す。図中 A,B で示した吸収ピークがガン細胞に特異に検出されることが示された。これは Warburg 効果で知られるガン細胞の嫌気性解糖反応に起因していると考えられることができる。

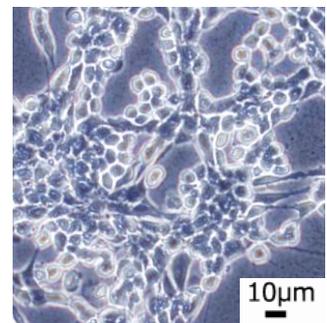
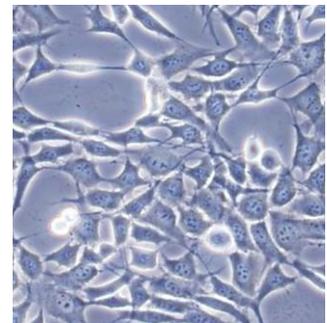


図 1 培地内で生きた細胞の位相差顕微鏡像 (左:正常細胞、右:ガン細胞)

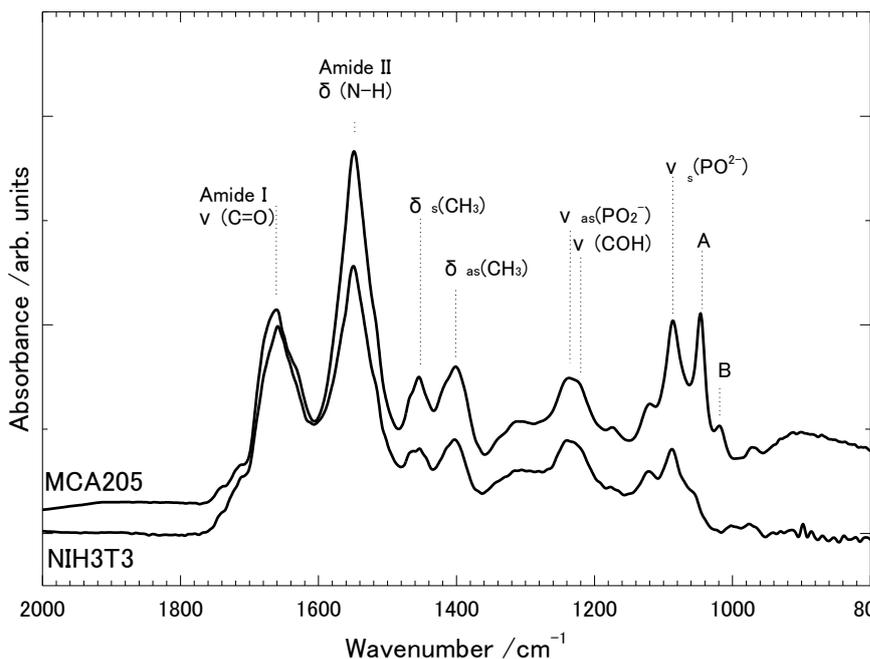


図 2 正常細胞(下)とガン細胞(上)の赤外吸収スペクトル

## P-41 (T-1)

### 細胞質分裂の収縮環の超解像顕微鏡による観察

○加藤 薫<sup>1)</sup>、上条 桂樹<sup>2)</sup>、高橋 正行<sup>3)</sup>、細谷 浩史<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 産総研・バイオメディカル、<sup>2)</sup> 東北大・医・人体構造、<sup>3)</sup> 北大・理・化学、<sup>4)</sup> 広島大・理・生物

超解像は光の回折限界で決まる分解能を超えて、微細構造を観察する技術である。半導体の製造装置や軍事衛星などで使われてきた。この方法は顕微鏡にも応用され、2000年代後半に実用化され始めた。

成長円錐は、伸張している軸索や樹状突起の先端部に見られる構造で、アクチン系の細胞骨格の動態が運動を担う。従来は、アクチンの網目構造の動態はぼんやりとした雲状の蛍光に対しFRAPを行ったり、アクチン系骨格の1分子観察をすることで解析がされてきた。ところが、超解像光学顕微鏡を用いると、アクチンの網目を直接観察できるようになり始めた。今年の学会では成長円錐のアクチン骨格を中心に、STEDとSIMの分解能や特徴を報告した、今回は、超解像の手法により、収縮環の構造を観察したので報告する。

超解像光学顕微鏡は、SIM（ニコン製、産総研に設置）及びSTED 3X（ライカ製、ライカマイクロシステムズ東京本社に設置）を用いた。固定細胞ではAlexaファロイジンでアクチン間接蛍光抗体法でミオシンを染色したを染色した。細胞には、HeLa細胞及び、LLCPK1細胞を用いた。収縮環の収縮に伴う、アクチン、ミオシンの分布を捉えたので報告する。

詳細は、ポスター発表にて示す。

## P-42 (T-2)

### 長円形マイクロチャンバー内における微小管の動的不安定性

小野寺 優<sup>1)</sup>、中山 莉奈子<sup>2,3)</sup>、島 知弘<sup>4,5)</sup>、岡田 康志<sup>5)</sup>、○政池 知子<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・総合研究院、<sup>3)</sup> JST・さきがけ、

<sup>4)</sup> 東大院・理学・生物科学、<sup>5)</sup> 理研・生命システム研究センター

細胞内に普遍的に存在する微小管は、線維状に重合したタンパク質である。有糸分裂においては微小管が紡錘体の骨格を形成し、繊毛運動においては複数の微小管から成る繊毛軸糸の変形が鞭打ち運動をもたらすことが知られている。また神経細胞では、軸索中に存在する微小管上でのモータータンパク質の運動により小胞輸送が起こる。このように多岐にわたる役割を担う微小管は、GTP加水分解に伴う重合・脱重合を巧みに利用して骨格やレールとしての機能を実現していると考えられる。

本研究では、微小管が細胞内で置かれている狭小な環境を模倣して再現しさらに強調する *in vitro* の実験系を構築し、立体障害や溶液中に存在する分子の急激な濃度変化が重合・脱重合に及ぼす影響を調べることを目的とした。1×1×15 μm の直方体の突起が多数並んだ鋳型を用いて作成した PDMS 樹脂製の長円形マイクロチャンバーアレイをガラス基板に押し付けて溶液を封入し、ガラス基板上での蛍光標識微小管の挙動を全反射型顕微鏡で観察した。その結果、従来の数〜十 μL 容積のフローセル中での微小管重合の観察が PDMS チャンバー内でも可能であることがわかった。ビオチンアビジン結合により PEG コートガラスに固定した GMP-CPP 結合微小管をシードとして、GTP を結合した微小管 2 量体が重合・脱重合を繰り返す。本実験系では天井の高さが 1 μm の長円形マイクロチャンバーを用いているため、試料面に垂直な方向の微小管のばたつきを抑えることができ、脱重合との区別がしやすくなった。また、細長い形状により伸長方向を揃えることで微小管同士の交差や衝突が少ない条件で重合の観察ができる優れた系であることがわかった。得られた動画について kymograph と長円形近似を用いた解析を行い、微小管の長さや位置を定量した。

これまでのところ、微小管がチャンバーの先端に到達して PDMS の壁に当たると重合・脱重合しにくくなる傾向が示唆されている。現在、チャンバー内と従来のフローセルで重合・脱重合の頻度を比較し、チャンバー内の微小管等の濃度の劇的な変化が重合・脱重合サイクルに及ぼす影響を調べている。

今後の展望として、微小管から GTP 加水分解産物として放出されるリン酸の位置をチャンバー内でマッピングし、GTP 加水分解サイクルと微小管の動的不安定性の関係を明らかにすることも目標としている。そのために、蛍光標識したリン酸結合蛋白を長円形チャンバーに封入してリン酸濃度を決定する試みについても報告する。

## P-43 (T-3)

### 超微小粒子の胎児期曝露に伴う脳血管周辺異常の赤外顕微法による可視化

○小野田 淳人<sup>1,2,5)</sup>、川崎 平康<sup>3)</sup>、築山 光一<sup>3,4)</sup>、武田 健<sup>2)</sup>、梅澤 雅和<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大院・薬、<sup>2)</sup> 東京理大・総研・環境次世代、<sup>3)</sup> 東京理大・総研・IR-FEL センター、  
<sup>4)</sup> 東京理大・理・化学、<sup>5)</sup> 学振特別研究員 DC

PM<sub>2.5</sub>に代表される大気環境中の粒子状物質の健康影響が問題視されている。なかでも、直径が1-100 nm と定義される超微小粒子 (ナノ粒子) は、質量あたりの反応性の高さや特殊な体内動態により動物やヒトに対する数多くの生体影響が報告されている。とくに、妊娠母体に投与されたナノ粒子は血液胎盤関門を通過した後、胎児の中枢神経系に到達し、出生後の神経細胞に残留することが明らかになっている。そのため、ナノ粒子の胎児期曝露が産児中枢神経系に及ぼす影響の解明が求められている。ところが、生体内に散ったナノ粒子の分布を直接、定量的に評価することは極めて困難であるため、ナノ粒子の動態をもとにした影響評価とは別の視点からアプローチする必要がある。そこで、中枢神経系の異物や老廃物を血管周囲隙へ排出する Glymphatic system に着目し、脳血管周辺に絞った組織学的解析を行った。本研究では、脳組織の連続切片に対して赤外顕微分析を中心に特殊染色や免疫染色を行い、ナノ粒子胎児期曝露の影響を受ける中枢神経系の標的領域や細胞、血管周辺に認められる組織学的異常の同定と可視化を目的として行った。

炭素ナノ粒子 (CB-NP) 懸濁液を妊娠 5, 9 日目の ICR 系マウスに点鼻投与 (73 µg/kg) し、出生児 (6 週齢) から全脳を摘出した。この脳組織の連続切片を作製し、赤外顕微法、PAS 染色法、免疫染色法を実施した。赤外顕微法では、日本分光の IRT-7000 及び FT/IR-6100 を用いて血管を中心に 7×7 区画 (1 区画: 30×30 µm<sup>2</sup>) の赤外吸収スペクトルを測定し、タンパク質二次構造のマッピング解析を行うことで血管周辺組織の異常を可視化した。さらに 7×7 区画を血管からの距離に応じて 3 つのグループに分け、タンパク質や脂質等の生体内高分子の詳細な比較解析を行った。

赤外顕微法の多点測定によるタンパク質二次構造解析の結果、CB-NP 曝露群において血管周辺に近付くほどに  $\alpha$ -helix 構造を持つタンパク質が減少し、 $\beta$ -sheet 構造を持つタンパク質が増加することが示された。とくに、血管の最も近い区画における  $\beta$ -sheet 構造の割合は、対照群の 13% に対して曝露群では 22% まで亢進した。Amyloid  $\beta$  に代表される中枢神経系の老廃物の多くは変性によって  $\alpha$ -helix 構造から  $\beta$ -sheet 構造へ変化するため、この結果はナノ粒子の胎児期曝露によって産児中枢神経系のタンパク質が変性し、脳血管周辺に蓄積した可能性を示唆している。赤外顕微分析を行った切片と隣接する切片に対して PAS 染色と免疫染色を施した結果、CB-NP 曝露群の  $\beta$ -sheet 構造タンパク質が増加している血管周辺において脳血管周囲マクロファージ (PVM) の消化顆粒肥大化、アストロサイト末端足のグリア線維酸性タンパク質 (GFAP) の発現亢進が認められた。PVM 消化顆粒の肥大化と GFAP 発現亢進は血管周辺組織の傷害を示唆する所見であるが、これが血管周辺の  $\beta$ -sheet 構造を持つタンパク質の増加に起因する可能性がある。今後、血管周辺に蓄積する老廃物や異物の同定を目的とした詳細な解析が求められる。本研究の成果は、ナノ粒子に限らず、環境汚染物質や医薬品の中枢神経系への毒性・薬理効果に対する脳血管周辺に着目した解析の重要性を示唆すると共に、赤外顕微法による脳血管周辺のタンパク質二次構造の変化は簡便な測定が可能な新規指標となりうることを明らかにした。

## P-44 (T-4)

### 新規動体追跡技術により可能になる 3D imaging による自由行動マウスの 全身の遺伝子発現追跡定量法の開発

○浜田 俊幸<sup>1)</sup>、石川 正純<sup>1,2)</sup>、Kenneth SUTHERLAND<sup>2)</sup>、宮本 直樹<sup>2)</sup>、  
白土 博樹<sup>3)</sup>、本間 さと<sup>4)</sup>、本間研一<sup>4)</sup>  
北海道大学医学研究科 <sup>1)</sup> 分子追跡医学分野、<sup>2)</sup> 医学物理工学分野、  
<sup>3)</sup> 放射線医学分野、<sup>4)</sup> 時間生理学講座

時計遺伝子は全身の活動リズムを制御する視交叉上核だけでなく、他の脳部位および種々の臓器など体全身に存在する。全身に広く存在する時計遺伝子の生体リズムに対する役割を明らかにするためには、多数の組織の時計遺伝子発現を同時に記録でき、リアルタイムで遺伝子発現と行動を解析できるシステムが必要である。

今回、我々は自由行動条件下、real time-gene expression tracing (RTGT) 技術を用いて多数の組織の遺伝子発現を解析する新規 3 次元イメージング装置を開発し、RTGT システムにより全身 6 部位（嗅球、左大脳皮質、右大脳皮質、左耳、右耳、背中皮膚）の時計遺伝子発現リズムと種々の行動リズム（睡眠覚醒、摂食、飲水、自発行動、3次元行動パターン）を光イメージングの技術のみで1個体のマウスからリアルタイムで測定、解析できることを示す。

時計遺伝子 *Per1* プロモーターに *luciferase* 遺伝子を結合させた *Per1-luc* トランスジェニックマウスを用いて、生物発光を遺伝子発現マーカーとして用いて、時計遺伝子発現リズムを計測した。RTGT システムの長期間の遺伝子発現定量プログラムは独自に開発した。RTGT プログラムはターゲット部位を自動認識し、自動追跡、そして飼育ケージ内でその場に応じた発光量補正を行い自動定量する 3 つのプログラムから成り立つ。RTGT により測定した自由行動条件下の嗅球の時計遺伝子発現リズムはスライス培養下での時計遺伝子発現リズムの位相、および嗅球での時計遺伝子 mRNA 発現、ルシフェラーゼ蛋白質発現の位相とほぼ一致した。さらにルシフェラーゼの基質であるルシフェリン濃度が血中で長期間一定であり、ターゲット部位の 3 次元空間での位置は誤差 1mm 以内で同定した。今回、RTGT システムを用いて数日間連続的に *Per1* の発現リズムを上記 6 部位から定量測定し、これらの発現リズムが *Cry1,2* ノックアウトマウスでは全ての部位で消失していることを明らかにした。さらに長時間の光照射 (8hr)による体内時計の位相後退時の *Per1* 遺伝子発現の位相変化が上記 6 部位で異なることを明らかにした。

以上、本研究結果は RTGT 技術を用いて自由行動マウスの複数ターゲット部位の遺伝子発現定量法の確立と体内時計関連疾患で観察される時計遺伝子発現リズムの生体内脱同調現象の形成過程を初めて個体レベルで可視化に成功した事を示す。

## P-45 (T-5)

### 細胞内グルタチオンとの求核付加・解離平衡反応を利用した 超解像蛍光イメージングプローブの開発

○両角 明彦<sup>1,4)</sup>、神谷 真子<sup>2,5)</sup>、宇野 真之介<sup>1)</sup>、梅澤 啓太郎<sup>1)</sup>、吉原 利忠<sup>3)</sup>、飛田 成史<sup>3)</sup>、  
浦野 泰照<sup>1,2,4)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院薬学系研究科、<sup>2)</sup> 東京大学大学院医学系研究科、<sup>3)</sup> 群馬大学大学院理工学府、  
<sup>4)</sup> AMED CREST、<sup>5)</sup> JST さきがけ

【背景・目的】超解像蛍光イメージング法は、光学顕微鏡の空間分解能の限界を突破した画期的なイメージング技法であり、生命現象の解明にさらなる飛躍をもたらす技術として期待されている。本研究では、超解像蛍光イメージング法の中でも、1分子毎の位置決定に基づく手法である single-molecule localization microscopy (SMLM) に着目した。SMLM では蛍光プローブを空間的に重ならないように確率的に明滅させることでその中心位置を高精度に決定し、得られた分子の位置情報を重ね合わせるにより数十 nm という高解像度の画像を構築する。しかしながら、市販の一般的な蛍光色素を用いた場合、蛍光明滅を生じさせるためには高濃度のチオール等還元剤の添加や測定前からの強いレーザー光照射が必要であり、細胞毒性や蛍光色素の光褪色が懸念される。当研究室ではこれまでに、分子内スピロ環化平衡を蛍光明滅の原理として用いることで、添加物や高強度レーザーによらず自発的に明滅し、温和な条件下で使用できる新たな超解像蛍光イメージングプローブを開発した(*Nature Chem.* **6**, 681–689 (2014))。本研究では、上記の分子設計法をさらに拡張することで、望みの光特性を示す超解像蛍光イメージングプローブを効率よく開発するための新たな設計指針の確立を試みた。

【方法・結果】本研究では、蛍光色素と生理的条件下で生細胞内に存在する濃度の求核種（グルタチオン：GSH）との分子間求核付加・解離平衡反応に着目し、その反応性を最適化することで、新たな蛍光明滅原理に基づく超解像蛍光イメージングプローブの開発を目指した。具体的には、ピロニン類やローダミン類等のキサンテン系色素が GSH の求核付加を受けると、 $\pi$  電子共役系が切断されて可視光領域の吸収・蛍光が消失し、その後付加した GSH が再度解離することで吸収・蛍光が回復する現象を蛍光明滅原理として利用した。そこでまず、蛍光明滅特性が超解像蛍光イメージングに適するよう、色素分子構造の最適化を図った。平衡状態における無蛍光性状態分子の割合は GSH との解離定数から、蛍光性状態の持続時間はレーザーフラッシュフォトリシスによる過渡吸収減衰からそれぞれ算出・評価した。その結果、生細胞内と同程度の GSH 濃度（数 mM）下で大部分が無蛍光性の求核付加体として存在し、かつミリ秒の付加反応時定数すなわち蛍光性状態持続時間を示すピロニン誘導体 SiP650 を見出した。さらに、SiP650 の1分子の蛍光挙動を全反射蛍光顕微鏡下で観察した結果、生細胞内程度の GSH 存在下で超解像蛍光イメージングに適した蛍光明滅を示すことを確認した。そこで、SiP650 誘導体を固定細胞における微小管の観察に適用したところ、数 mM の GSH 存在下で微小管の超解像イメージングに成功した。今後は SiP650 を用いて生細胞における超解像イメージングに取り組むとともに、今回開発した蛍光明滅原理に基づく超解像蛍光イメージングプローブの開発展開を目指す。

## P-46 (T-6)

### Study on the Role of Cytoskeletal Networks in Single Cells to Their Viscoelastic Properties with the Laser-induced Surface Deformation Microscopy

○Toshinori MORISAKU, Yuhei WADA, and Hiroharu YUI

Department of Chemistry, Tokyo University of Science

Recently, it has been recognized that viscoelastic properties of cell membranes play an important role for cell activities such as cell migration and tissue morphogenesis. As cellular components for the expression of the viscoelastic properties, cytoskeletal networks (e.g., actin filaments and microtubules) have been focused. It has been shown by atomic force microscope that actin filaments contributed to elasticity of cell membranes [1]. However, there is controversy on the contribution of microtubules to the elasticity [1]. In addition, it has not been reported yet whether actin filaments and microtubules contribute to viscosity of cell membranes. Recently, we have developed the laser-induced surface deformation (LISD) microscope that allows us to measure the dynamic viscoelastic properties of cell membranes in single living cells in a non-contact manner [2]. Here, we investigated the roles of actin filaments and microtubules to viscoelastic properties of cell membranes by the LISD microscope.

The principle of the LISD microscope is as follows. Application of the light pressure of a pump beam on cell membranes induces their deformation. The membranes are forced to oscillate by the periodic control of pump beam intensity by acoustic-optical device. The dynamic response of the deformation of the membranes depends on their viscoelastic properties. We monitored the dynamic changes of the deformation by another probe beam reflected from the deformed surface. As a model, we used 3T3 fibroblast cell, which has a developed cytoskeletal network. Actin filaments and microtubules were disrupted with cytochalasin D and nocodazole, respectively.

The signal intensity of the LISD power spectrum in an actin-disrupted cell was increased and was kept in lower and higher frequency region than that of a normal cell, respectively. Since response area of samples is changed from their whole area to localized one as the increase in applying frequency, the obtained result showed that actin filaments contributed to the elasticity of the whole of the cell. In addition, the displacement of the normal cell was not able to follow at about 1 kHz, while the displacement in the actin-disrupted cell was not at about 0.4 kHz. Viscous nature of samples highly depends on the applying frequency of external force. Thus, the decrease in the displacement at the lower frequency observed in the actin-disrupted cell showed that the cell had higher viscosity than the normal cell. It is considered that the increase in viscosity is caused by the relative increase of the amount of non-cross-linked actin filaments. As with the actin-disrupted cell, the disruption of microtubules gave the decrease of the elasticity of the whole of the cell and the increase in viscosity. From the measurements of the power spectra by the LISD measurements, we found that the contribution of actin filaments to viscosity and that of microtubules to elasticity and viscosity.

[1] M. Radmacher *et al.*, *Biophys. J.* **78**, 520–535 (2000). [2] T. Morisaku, Y. Wada, Y. Kido, and H. Yui, 63rd Annual Meeting of Japan Society for Analytical Chemistry (2014).

## P-47 (T-7)

### 葉におけるジグゾーパズル型表皮細胞の形態計測と数理モデル

○桧垣 匠<sup>1)</sup>、今村 寿子<sup>2)</sup>、秋田 佳恵<sup>1)</sup>、朽名 夏磨<sup>1,3)</sup>、小林 亮<sup>4)</sup>、馳澤 盛一郎<sup>1)</sup>、三浦 岳<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大・院・新領域、<sup>2)</sup> 九州大・院・医学、<sup>3)</sup> LPixel Inc.、<sup>4)</sup> 広島大・院・理学

多くの双子葉植物の葉表皮細胞は、細胞壁が湾曲したジグゾーパズル状の形態を示す(図1)。本研究では葉表皮細胞の形態形成におけるセルロースの重要性を理解するため、外生的なセルロース分解酵素処理によりセルロース量を低減させたシロイヌナズナ子葉の表皮細胞の形態を解析した。1.0% cellulase Y-C を含む液体培地で7日間水耕栽培したところ、対照区に比べて子葉の表皮細胞数が減少した。その一方で、細胞面積の平均値は増加し、子葉全体の面積は対照区とほぼ同等であった。次に、cellulase Y-C 処理時に特徴的な細胞形状を客観的に評価するため、表皮細胞の面積・縦横比・稠密度に基づく画像クラスタリング解析を行った。その結果、細胞壁がほとんど湾曲せずに頂部-基部方向に伸長した細胞が異所的に出現することを見出した。

一方、私たちは葉表皮細胞の形態形成を座屈現象により再現する数理モデルを構築した(図2)。その数理モデルによる解析の結果、細胞壁の成長速度や力学的強度の変化だけでは細胞伸長はほぼ起きないことが判明し、セルロースの分解により表皮細胞の二方向性の伸長極性が顕在化した可能性が考えられた。さらに、原子間力顕微鏡を用いて cellulase Y-C 処理により出現した伸長細胞の表面構造を調べたところ、表層微小管と同様に、細胞長軸に対して垂直に配向した構造が見出された。一連の結果から、セルロースは葉表皮細胞の成長方向の制御を介して細胞壁の湾曲に寄与することが示唆された。

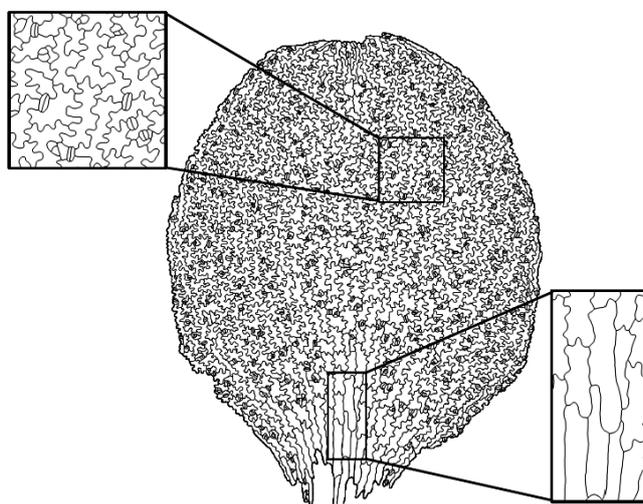


図1.シロイヌナズナ子葉における表皮細胞。葉柄近くでは頂部-基部軸方向に伸長した表皮細胞が、葉身の中央部ではジグゾーパズル型の表皮細胞が観察される。

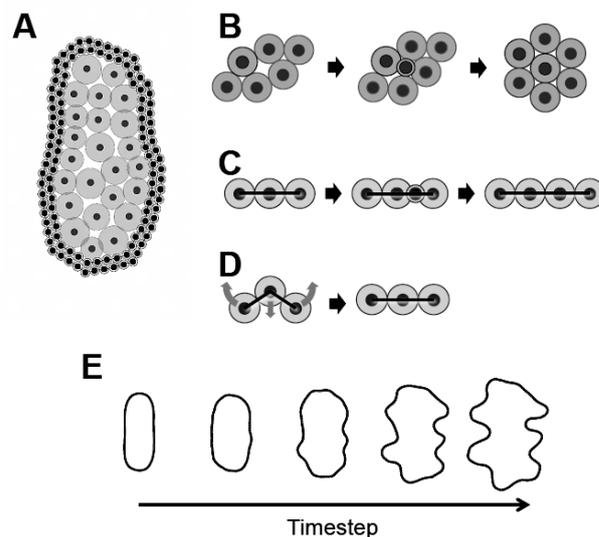


図2. 葉表皮細胞形態形成のための数理モデル。細胞壁の伸長速度や力学的強度がジグゾーパズル型の細胞形態に及ぼす影響を推定することができる。

## P-48 (T-8)

### イネの花粉・種子形成および代謝制御におけるオートファジーの役割

○来須 孝光<sup>1,2)</sup>、陶 文紀<sup>3)</sup>、花俣 繁<sup>3)</sup>、岡咲 洋三<sup>4)</sup>、二平 耕太郎<sup>3)</sup>、小嶋 美紀子<sup>4)</sup>、  
徳永 京也<sup>5)</sup>、北畑 信隆<sup>3)</sup>、榊原 均<sup>4)</sup>、斉藤 和季<sup>4)</sup>、多田 雄一<sup>1)</sup>、小関 泰之<sup>5)</sup>、朽津 和幸<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター、

<sup>3)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>4)</sup> 理研・環境資源科学、<sup>5)</sup> 東京大院・工・電気系工学

オートファジーによる細胞質成分の分解は、多くの真核生物の発生・分化や代謝制御、プログラム細胞死(PCD)に重要な役割を果たす。我々は最近、イネのオートファジー欠損変異株(*Osatg7-1*)の表現型を解析した結果、花粉への栄養供給を担い、最終的にはPCDにより消失する葯のタペート細胞において、PCD開始期である小孢子一核期前後でオートファジーが誘導されること、欠損株では野生型株と比べて脂肪滴の分解が遅延し、花粉壁異常・成熟不良による雄性不稔形質を示すことを明らかにした(Kurusu *et al.*, 2014 *Autophagy*; Hanamata *et al.*, 2014 *Front. Plant Sci.*)。脂質の網羅的なメタボローム解析の結果、葯における脂質代謝にタペート細胞内のオートファジーが重要な役割を果たすことが示唆された。一方、変異株では、タペート細胞のPCDによる消失が不完全で、開花期でも残存しており、このPCDにオートファジーが関与する可能性が示唆された。

さらに、*Osatg7-1* 変異体において低頻度で稔実した種子は、デンプン蓄積に異常がある、くず米様の表現型を示したことから、イネにおいてオートファジーは、花粉形成過程以外に、受精後の種子登熟過程における栄養供給に重要な役割を果たす可能性が考えられる。

本研究では、GFP-ATG8 タンパク質発現株を用いて、花粉発達期におけるタペート細胞内のオートファジー動態を解析する実験系を構築すると共に、誘導ラマン散乱顕微鏡イメージングにより、タペート細胞内の脂質動態を解析した。さらに、葯や葉等の各器官・発達ステージの脂質成分や植物ホルモンの解析結果についても報告し、脂質・植物ホルモン代謝制御、タペート細胞のPCD制御、種子登熟等のイネ生活環におけるオートファジーの生理学的役割についても議論する。

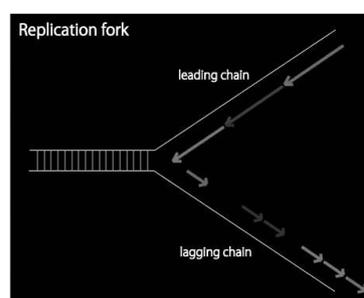
## P-49 (T-9)

### 蛍光標識による DNA の可視化を利用した「DNA 複製」実験教材の開発

○武村 政春

東京理科大学理学部第一部教養学科

【背景・目的】現行の高等学校理科学習指導要領に基づく生物教育では、多くの生徒（8割～9割）が履修する「生物基礎」（2単位）において、DNA複製、転写、翻訳などセントラルドグマを中心とした分子生物学の内容が充実した。DNA複製は、遺伝情報を次世代に伝えるメカニズムとして高校生物教育においても重要であり、さらにDNA複製の際に生じる複製エラーは生物進化へとつながる新たな突然変異を提供するため、現行の学習指導要領が掲げる「ミクロレベルとマクロレベルの連結」を理解する上でも、DNA複製の理解を促進する教材の開発は重要である。そこで本研究では、蛍光物質によりDNAをスライドグラス上で可視化する「DNAファイバー法」を応用した、新たなDNA複製実験教材を開発した。この実験教材は、HeLa細胞がDNA複製を行っている間にbiotin-16-dUTPをチミンのアナログとして複製DNAに取り込ませ、細胞を破砕、DNAをスライドグラス上で直線状に引きのばした後、蛍光物質（Alexa Fluor 488）を結合させたstreptavidinを反応させ、蛍光顕微鏡で観察するというものである（右図：矢印で表した新生DNAが蛍光物質で標識される）。



【方法】分子生物学（DNA複製）研究等で用いられているDNAファイバー法のプロトコルを生徒実験向けに改変した。スライドグラスの洗浄操作の省略、本来は複数種類用いる蛍光物質を1種類（Alexa Fluor 488）に限定、ブロッキング操作の省略、streptavidin反応時間の短縮などを行い、本来は観察も含めて8～9時間程度かかっていた全工程を、観察も含めて5時間程度に短縮させた。次に、SPPによる高校生に対する実践を、25名の高校1年生を2人ずつの班に分けて行った（一班のみ3人）。その後、質問紙調査により本教材が生徒にもたらした影響を調査した。

【結果・考察】改変の過程で、biotin-16-dUTP添加後の細胞培養時間が短縮できること、一部の洗浄操作を省略できること、ブロッキング操作も省略できることがわかった。さらに、スライド上にDNAをファイバー状に引きのばす過程で、ピペットを用いた細胞溶解液の数度の「流しかけ」が、効果的なDNAファイバー作成に有効であることがわかった。SPPによる実践では、すべての班が全工程を終えることができ、複製DNA鎖が蛍光標識された蛍光顕微鏡像を取得することができた（右図：生徒が蛍光顕微鏡で観察している様子）。質問紙調査では、本実験教材に関する技術面において、86%の生徒が「大変理解できた」「ある程度理解できた」と回答し、DNA複製の知識面において、81%の生徒が「大変理解できた」「ある程度理解できた」と回答した。自由記述では、「いつもイメージで描かれていることを、実際に色をつけて見られるというのがとても画期的だと思った」などの記述が見られたことから、分子の世界を実際に目で見るのが、少なくとも生徒の情動面でプラスの効果となって現れることが示唆された。



## 「バイオイメーjing」を女子中高校生達へ伝えて ～「女子中高校生夏の学校」の10年～

○田中 直子<sup>1)</sup>、橋本 香保子<sup>2)</sup>、朽津 和幸<sup>3)</sup>、洲崎 悦子<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 大妻女子大学家政学部、<sup>2)</sup> 千葉工業大学工学部、<sup>3)</sup> 東京理科大学理工学部、<sup>4)</sup> 就実大学薬学部

日本バイオイメーjing学会は、2005(H17)年に男女共同参画学協会連絡会に加盟をし、それが契機となって学会内に男女共同参画委員会(男女委員会)が発足した。この年は、アインシュタインによる大いなる科学発展 100 年を記念する世界物理年にも当たり、物理系学会を中心に理工系分野を学生に広く紹介する活動が活発に行われた年でもあった。その潮流の中で、連絡会・国立女性教育会館等の主催により、「女子高校生夏の学校～科学・技術者のたまごたちへ～」が初めて開催され、現在の「女子中高校生夏の学校～科学・技術・人との出会い～」へと継続している。

「夏の学校」のメインイベントの 1 つが、連絡会に加盟する学会によるポスターセッションである。本学会が連絡会に加盟をした年に「夏の学校」が始まったこともあり、これへの参加を男女委員会の大事な行事と位置づけて、継続して協力をしてきた。1 年 1 年は年行事として過ぎてきたが、振り返ればちょうど 10 年が経っており(表参照)、延べ 24 名もの学生が協力参加してくれており、年々の蓄積された重みを感じている。ポスターは、「バイオイメーjing」について女子中高生に分かりやすく伝えられるものとなるよう、委員が工夫をしながら作製をしてきた。当初は委員の研究内容を中心に作製をしていたが、4 回目からは、前年度の大会でベストイメーjing賞を受賞した 4 名の先生方から画像の提供を受け、まさに学会を代表する画像を紹介してきた。また会場では委員と協力学生とが、「バイオイメーjing」に関する装置やプローブの開発、応用例等を様々に紹介し、また、自らがロールモデルの 1 例として、参加している女子中高校生にロールモデルと出会い語る機会を提供しながら、理工系分野の面白さを伝えてきた。

この活動を通じ、女子中高校生の理工系分野への進路選択促進に貢献できただけでなく、協力参加してくれた学生にとっても進学や就職における進路選択につながっている。1～3 回を連続して手伝ってくれた女子学生は、理工系分野の面白さを伝えていくことにやりがいを感じ、教育教材開発関連の会社に進路を決めた。また、4～5 回を手伝ってくれた男子学生は、自身がベストイメーjing賞を受賞し、自分の画像を使って説明をすることで、大学院への進学や研究へのモチベーションの向上につながった。「バイオイメーjing」を通じて、伝えられる側、伝える側どちらの学生達も、新たな将来を見つけることができた本活動に、参加・関与できてよかったと思ってくれていると期待している。

回	年・月	男女委員会出席委員	協力参加学生				ポスター画像提供者
			田中研	橋本研	朽津研	計	
1	2005 年 8 月 22～23 日	—			1	1	朽津
2	2006 年 8 月 17～19 日	田中			1	1	学会員
3	2007 年 8 月 16～18 日	田中			2	2	学会員
4	2008 年 8 月 14～16 日	田中、橋本		2		2	ベストイメーjing賞受賞者
5	2009 年 8 月 13～15 日	田中、橋本		3		3	ベストイメーjing賞受賞者
6	2010 年 8 月 12～14 日	田中、橋本	1	2	1	4	ベストイメーjing賞受賞者
7	2011 年 8 月 18 日	震災の影響で変則的となり、不参加				0	
8	2012 年 8 月 9～11 日	橋本				0	ベストイメーjing賞受賞者
9	2013 年 8 月 8～10 日	田中、橋本	1	1	1	3	ベストイメーjing賞受賞者
10	2014 年 8 月 7～9 日	田中、橋本	1	2	1	4	田中、橋本、朽津
11	2015 年 8 月 6～8 日	田中、橋本	1	2	1	4	ベストイメーjing賞受賞者
						24	

## 蛍光顕微鏡イメージングの教育・サイエンスコミュニケーションへの活用

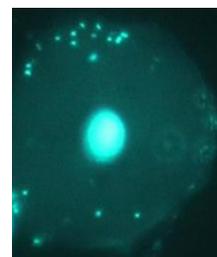
○朽津 和幸<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・イメージングフロンティアセンター

蛍光イメージングに代表されるバイオイメージング技術の発展により、顕微鏡は、「かたち」を見る道具から、特定の生体分子のみを光らせて観察したり、機能的な情報を得る道具へと進化し、生物研究の広範な分野に革命的变化をもたらした。それに伴い、日本バイオイメージング学会の20年を超える歩みの中で、最先端の技術講習会が企画されて来た。しかし、蛍光顕微鏡等の機器が高価なこともあり、研究者コミュニティ以外では、未だにあまり活用されているとは言い難い。

近年、日本において、科学研究に対する関心や科学リテラシーの低さ、学生の学力低下、最先端研究の後継者不足等が問題になりつつあり、サイエンスコミュニケーション(SC)の重要性が高まっている。筆者は、蛍光・発光イメージングの研究を続ける傍ら、夜空に瞬く星のように美しく光るイメージング画像を、さまざまなレベルの SC に活用することを発想し、一般向アウトリーチプログラムと、学部学生の必修の学生実験教育[1]の両面から実践を続けて来た[1-4]。

参加者自身の体から細胞を採取してもらい、DNA を蛍光染色し、蛍光顕微鏡で観察する(図)と共に、写真撮影して参加者にお持ち帰りいただく実験カリキュラムの工夫を重ね、これまでに1万人近くの方に体験していただいている。今回の学術集会の前日の2015年9月26日に開催予定の日本バイオイメージング学会公開講座「私たちのくらしとバイオイメージング～見えるからわかるバイオの世界～」[4]でも実施予定であり、御意見をいただければ幸いである。子供から大人まで誰でも、自分自身の遺伝子やミトコンドリアを目の当たりにできることは、遺伝子リテラシー教育[2,3]の観点からも有効と考えられる。ミトコンドリア DNA の母性遺伝について議論すると、女子中高生からの反響が特に大きい。本学会の男女共同参画委員会で10年に渡り進めている女子学生の理系進路選択支援事業の観点からも有効と考えられる。



小学生を対象にした講座では、絵本[5]と一緒に読み、遺伝子について共に考えるカリキュラムが有効で、「親子科学教室」などの機会に実施している。中等教育における活用については、科学技術振興機構(JST)グローバルサイエンスキャンパスの場で、高校生向カリキュラムを工夫し実施すると共に、JSTサイエンス・リーダーズ・キャンプ([http://www.jst.go.jp/cpse/slc/teacher/h27/h27link/h27rika\\_kikakugaiyo.pdf](http://www.jst.go.jp/cpse/slc/teacher/h27/h27link/h27rika_kikakugaiyo.pdf))等の機会を通じて、教員との意見交換を進めている。実施には、イメージング機器が高価なことや、機器の取扱に習熟したスタッフの確保等が大きな障害となるが、機器を研究や学部学生の教育と共用し、学生を訓練することにより克服でき、継続した実践の中でノウハウが蓄積されて来た。本プログラムに参加する大学院生や学部学生に対する教育効果も大きく、そのことがきっかけとなって教育・SC の道に進んだ卒業生も少なくない。今後、初等中等教育におけるバイオイメージング教育カリキュラムの開発と普及は、大きな可能性を秘めていると期待される。

- [1] 朽津 和幸、郷 達明、青木 優和、小笠原 よう子 (2003) 生物科学分野の学生実験における、蛍光顕微鏡・レーザー共焦点顕微鏡を用いたバイオイメージング教育の試み 日本バイオイメージング学会 2003 年度学術集会
- [2] 朽津 和幸 (2007) 蛍光顕微鏡イメージングを用いた遺伝子リテラシー教育の試み 日本バイオイメージング学会 2007 年度学術集会
- [3] 朽津 和幸 (2008) 自分の DNA が見えたよ！～バイオイメージングによる遺伝子リテラシー教育～ *実験医学* 26(16):2596-2597
- [4] 朽津 和幸 (2015) 人と人を結ぶバイオイメージング *日経バイオテク* 2015.6.29 p. 36-37
- [5] なかむら のりこ 「せいめいのおてがみ～いでんしのふしぎ～」 くらしとバイオプラザ 21

### 脂肪滴の成熟過程におけるミトコンドリアの役割：ペリリピンが与える影響

○長谷川 千織<sup>1)</sup>、伊香賀 玲奈<sup>2)</sup>、田中 光<sup>3)</sup>、田中 直子<sup>1)</sup>

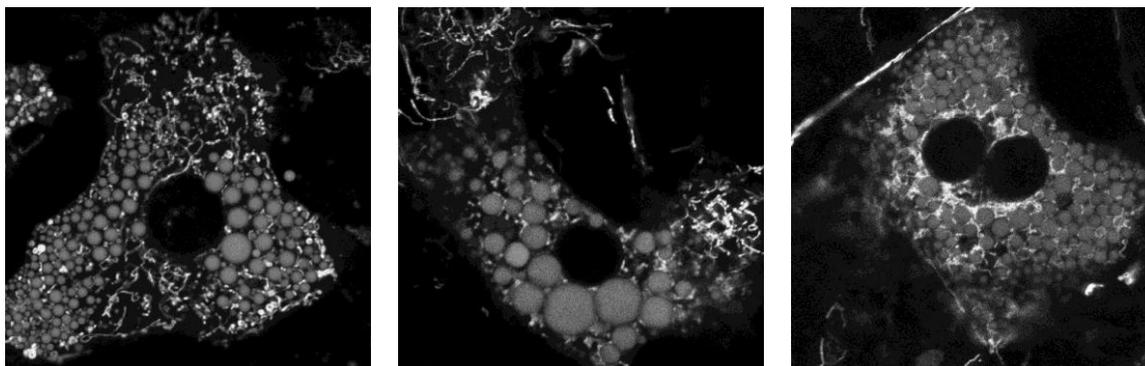
<sup>1)</sup> 大妻女子大院・健康栄養、<sup>2)</sup> お茶女大院・理学、<sup>3)</sup> 東邦大・薬

【序論】脂肪細胞の肥大化はサイトカインの合成・分泌を促し、脂肪細胞周辺の炎症を引き起こして生活習慣病の原因になると言われている、ミトコンドリアについては近年活発に研究が進められ、周囲の状態に合わせて形態を変化させながら積極的に細胞内の機能をコントロールする細胞内小器官であることがわかってきているが、脂肪細胞においてどのような役割を担っているかについての研究はまだ非常に少ない。

本研究では脂肪滴とミトコンドリアの関係を明らかにする手がかりとして、脂肪滴表面に存在するペリリピンに着目した。ペリリピンの中でも、脂肪滴の成熟過程に関わりがあると考えられるペリリピン1または4をノックダウンしたときのミトコンドリアの形態変化について調べたので報告する。

【方法】細胞はマウス線維芽細胞 3T3-L1 を用いた。脂肪細胞に分化させ、分化誘導後 10 日目に siRNA を用いてペリリピン1および4の一時的なノックダウンをした。siRNA 処理の3日後に、ミトコンドリアを MitoTracker Green-FM、脂肪滴を Nile Red で染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察を行った。

【結果および考察】ペリリピン1ノックダウン細胞ではコントロールと比較して脂肪滴のサイズが大きい傾向がみられ、ペリリピン4ノックダウン細胞ではミトコンドリアが細く広がった形になっている様子が観察された。ペリリピン1は脂肪滴の成熟に、ペリリピン4はミトコンドリアの形態に何らかの影響を与えることが示唆されたが、その相互作用の詳細は不明である。siRNA を用いたノックダウンは一時的なものであるため、現在 shRNA を用いて持続的なペリリピンのノックダウンを行い、これらの細胞を用いて解析を行っている。ペリリピンと脂肪滴、ミトコンドリアの関係性を探っていきたい。

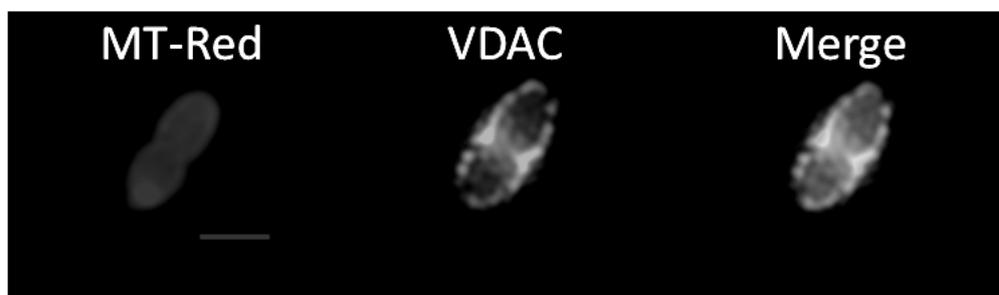


左：コントロール、中央：ペリリピン1ノックダウン細胞、右：ペリリピン4ノックダウン細胞  
ミトコンドリアを MitoTracker Green-FM（白）、脂肪滴を Nile Red（グレー）で染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。黒く抜けている部分は核。

## 超解像光学顕微鏡観察によるミトコンドリア単離法の検討

○柴田 貴弘<sup>1)</sup>、山下 紗季<sup>1)</sup>、加藤 薫<sup>2)</sup>、太田 善浩<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京農工大・大学院工学府・生命工学専攻、<sup>2)</sup> 産総研・バイオメディカル部門

ミトコンドリアは ATP や活性酸素の産生、細胞死の実行において、重要な役割を果たしている細胞内器官である。細胞内でさまざまな要因に応答して機能しているが、そのメカニズムには不明な点が多い。単離ミトコンドリアは、周囲の環境を自在に制御できるため、ミトコンドリアの外部要因に対する応答やそのメカニズムを調べるのに適した系である。しかし、従来の単離法では、細胞をすりつぶしてミトコンドリアを取り出し、沈殿・再懸濁を経てミトコンドリアを集めていたため、ミトコンドリアは細胞内では細長い形態をとっているにも関わらず、単離ミトコンドリアは短く断片化しており、大きなダメージを負っているように見えた。そこで、本研究では、ストレプトリシン O を用いて細胞膜だけを穏やかに壊し、ミトコンドリアを取り出した。この方法で得られたミトコンドリアには、従来の単離法で調製される球状のミトコンドリアに加え、形態が細胞内に類似した細長いミトコンドリアが含まれていた。超解像顕微鏡を用いて細長いミトコンドリアを観察すると、どのミトコンドリアも外膜と内膜を保持していた。外膜では細胞内と同様に VDAC 3 のクラスターが観察され、インタクトであることが示唆された。一方、球状のミトコンドリアでは、外膜が損傷したものや内膜が縮んだ構造をとっているミトコンドリアが多く存在した。次に、ミトコンドリア内膜の損傷を、膜電位感受性蛍光色素で調べると、細長いミトコンドリアではほぼ全てが分極した内膜を持つのにに対し、球状のミトコンドリアでは半数程度しか分極した内膜を持たなかった。さらに、ミトコンドリアに ATP センサーである GO-ATeam2 を発現させて、ADP や基質を添加した際のミトコンドリア内 ATP 濃度を調べた。細長いミトコンドリアでは、細胞内のミトコンドリアと同様に、ADP の添加でミトコンドリア内 ATP 濃度が減少し、基質とリン酸の添加により上昇した。一方、球状ミトコンドリアでは、さまざまな応答が観察され、細胞内とは状態が異なることが示唆された。以上から、本方法で得られた細長いミトコンドリアは、細胞内と同様の構造・活性を持つと考えられる。



単離ミトコンドリアの超解像光学顕微鏡像 Bar 1  $\mu\text{m}$ 。ミトコンドリア内膜を MitoTracker-Red(MT-Red)で、外膜を抗 VDAC 抗体で標識した。

転写因子キメラリプレッサー過剰発現シロイヌナズナ系統を利用した  
植物免疫応答のプログラム細胞死制御機構の解析

○高林 宏樹<sup>1)</sup>、市田 佳菜絵<sup>2)</sup>、光田 展隆<sup>3)</sup>、高木 優<sup>3,4)</sup>、多田 雄一<sup>1)</sup>、来須 孝光<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京工科大・応用生物、<sup>2)</sup> 東京工科大院・バイオニクス、

<sup>3)</sup> 産総研・生物プロセス、<sup>4)</sup> 埼玉大院・理工

植物免疫の強化は、病害抵抗性の向上に有効であり、その中核を成す病原菌を道連れにした感染部位特異的なプログラム細胞死(PCD)は、その重要性から遺伝的に厳密に制御されている。植物免疫における PCD 制御の研究は、病斑異常や疑似病斑を示す変異体群による遺伝学的解析や、病原菌感染部位の細胞における液胞動態・細胞骨格変化等のイメージング解析により、多様な植物種で進められて来た。

本研究では、植物免疫応答の PCD 制御過程における転写ネットワークの解明を目指し、転写因子(TF)の機能解析において有効なサイレンシング技術である CRES-T 法(Chimeric repressor silencing technology)を用いて作製された、1680 種類のシロイヌナズナ TF 機能抑制ライブラリー系統から、PCD 低感受性株を網羅的に探索した。カビ毒フモニシン B1(FB1)による成長抑制やイオン漏出を PCD 指標にスクリーニングを進めた結果、NAC や MYB 等を含めた多様な TF をコードする系統群を複数同定した。本発表では、同定された系統群に関して、FB1 や flg22 を含む複数の感染シグナル誘導性の活性酸素種生成等の一連の免疫応答への影響についても報告するとともに、*N. benthamiana* を用いた TF キメラリプレッサーの一過性発現による PCD や免疫応答性の解析結果から、植物感染防御の PCD 誘導過程において、転写ネットワークが果たす生理学的役割について議論したい。

### 植物における透明化と深部イメージングへの挑戦

○長谷川 淳子<sup>1)</sup>、坂本 勇貴<sup>2)</sup>、中上 知<sup>3)</sup>、勝山 雄喜<sup>2)</sup>、澤 進一郎<sup>3)</sup>、松永 幸大<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・大学院・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大学・理工・応用生物科学、

<sup>3)</sup> 熊本大学・大学院・自然科学・理学

17世紀に顕微鏡による細胞レベルの観察が可能になってから現在に至るまで、顕微鏡観察によって得られた発見は生物学の発展に大きく貢献している。21世紀に入るまで、厚みのあるサンプルは動植物問わず切片化を行い観察されていた。しかしながら、切片化によって位置情報が消失してしまうという問題点があった。この問題を解決する手法としてマウスの脳の透明化手法 Sca/e (Hama et al. 2011)が確立され、切片化を経ない深部観察が可能になった。Sca/eを端緒として、現在ではマウスの脳だけではなく全身を透明化する方法が世界中のグループから報告されている。一方植物でも、深部観察手法の確立が試みられてきた。細胞壁を染色し植物の形態学的な特徴をとらえる手法 (Truernit et al. 2008) は、動物よりも先に確立されていたが、蛍光タンパク質の観察には至っていなかった。昨年に蛍光タンパク質を観察する手法も報告されたが (Warner et al. 2014) , サンプルを固定してから最低でも2週間はかかるといった問題点を抱えていた。そこで私たちは短時間で植物の蛍光染色・蛍光タンパク質を深部まで観察できる手法の確立を目指した。

様々な条件検討の結果、サンプル調製から観察までを1日で行うことのできる深部観察手法 TOMEI (Transparent plant Organ MEthod for Imaging) を確立した。シロイヌナズナの蕾、茎、葉、カルス、根こぶ、イネの葉の細胞核と細胞壁の2重染色と、蛍光タンパク質の深部観察に成功した。本発表では、各サンプルの撮影画像と取得した画像を解析した例について報告する。

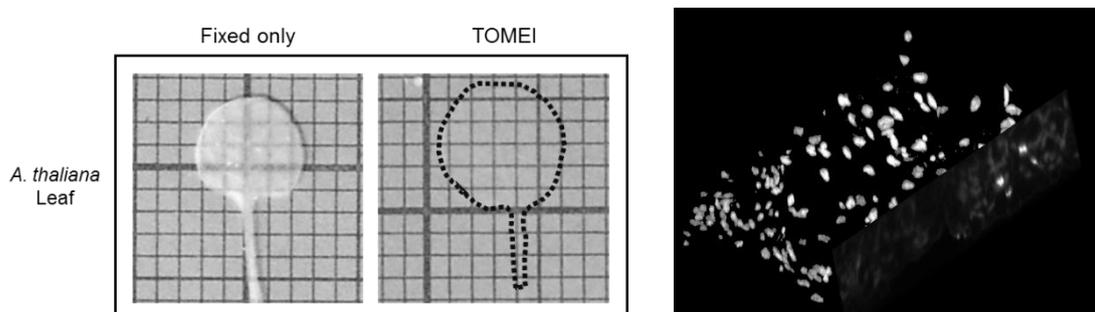


図 左：シロイヌナズナの第一本葉を固定したもの。固定により、白色化する  
 中央：シロイヌナズナの第一本葉を固定後、TOMEI 処理したもの。点線部は葉が置いてある部分を示す。透明化により、写真では見えにくくなっている。  
 右：DAPI 染色を行ったシロイヌナズナ第一本葉の立体構築画像。白い楕円状の立体が DAPI によって染色された細胞核を示す。

## スクロース水溶液水浸処理による植物の気孔分布パターンの攪乱

○秋田 佳恵、桧垣 匠、馳澤 盛一郎

東京大・院・新領域

気孔は、植物の生長に欠かせない水の蒸散やガス交換を行う重要な器官である。気孔は一对の孔辺細胞に挟まれてできる小孔であり、葉に多く存在する。多くの双子葉植物では、気孔は隣接しないよう分布しており、この気孔配置の規則は *one-cell spacing rule* と呼ばれている。これまでの分子遺伝学的な研究から気孔分布を制御する遺伝子が複数同定されているが、外的要因が気孔分布に及ぼす影響については知見が乏しい。私たちは 1-5% スクロース水溶液に水浸処理したシロイヌナズナの子葉において、気孔分布パターンが攪乱され、気孔クラスターが形成されることを見出した (Akita et al. 2013、図 1)。気孔のクラスター化は 3% グルコース水溶液および 3% フルクトース水溶液における水浸処理でも観察されたが、3% マンニトール水溶液では確認されなかった。また GFP-ER により気孔系譜細胞を特異的に標識するエンハンサートラップライン E1627 (Gardner et al. 2009) を 3% スクロース水溶液で水浸処理したところ、GFP-ER の発現は気孔に隣接する表皮細胞様形状の細胞においても確認された。この結果から気孔系譜細胞のみで発現する遺伝子が、スクロース水溶液水浸処理により気孔系譜以外の細胞でも発現することが示唆された。さらにアニリンブルー染色により、メリステモイドを仕切る細胞板におけるカロース沈着量がスクロース処理によって減少する傾向が認められた。

次に、スクロース水溶液水浸処理によりクラスター化した孔辺細胞の性質をより詳細に検討するため、孔辺細胞に特徴的な細胞内構造に着目した。孔辺細胞は (1) 脂質染色試薬 Nile red により腹側の細胞壁が明瞭に染色されること、(2) 表層微小管が腹側から背側へと明確な方向性をもって伸長して放射状に配向することが知られており、同様の特徴はクラスター化した孔辺細胞においても確認された。一方、透過型電子顕微鏡を用いた観察から、スクロース水溶液水浸処理により液胞の体積が減少することが確認された。またデンプン粒を過剰に蓄積した葉緑体が体積増加し形態異常を起こすことが確認された。

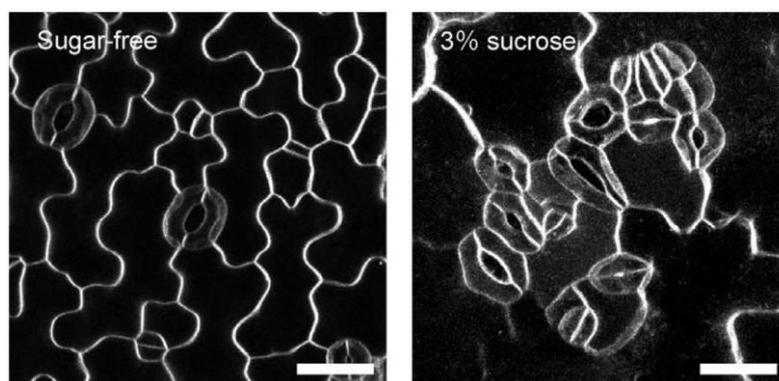


図 1. シロイヌナズナ子葉の表皮組織

糖を添加せずに水耕栽培した葉では、気孔は隣接せずに分布しているが (左)、3% スクロース水溶液水浸処理では気孔クラスターが形成され *one-cell spacing rule* が破綻している (右)。

### 三次元で見た ATP 依存的な繊毛運動の $\text{Ca}^{2+}$ による制御

○岩瀬 寿仁<sup>1)</sup>、末柄 祐明<sup>1)</sup>、中山 莉奈子<sup>2,5)</sup>、加藤 孝信<sup>3)</sup>、  
瀬藤 光利<sup>4)</sup>、西坂 崇之<sup>3)</sup>、池上 浩司<sup>4)</sup>、政池 知子<sup>1,2,5)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup> 東京理科大・総合研究院、<sup>3)</sup> 学習院大・理・物理、  
<sup>4)</sup> 浜松医大・解剖学・細胞生物学、<sup>5)</sup> JST・さきがけ

気管繊毛は微小管ダブルレット 9 組が中心の微小管 2 本を取り囲む 9+2 構造からなる。微小管上を多数のモーター蛋白ダイニンが協同的に ATP 依存運動を起こすことで繊毛が変形し、鞭打ち運動が生まれる。この運動の周波数は細胞外の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化に応答することが知られている<sup>1,2)</sup>が、その因果関係や異物排出に至るメカニズムの詳細は未だ明らかになっていない。そこで、本研究ではマウスの気管から繊毛軸糸を単離し、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度による運動の調節を光学顕微鏡下で直接調べた。

まずマウス気管から繊毛を摘出して界面活性剤により細胞膜を除去し、繊毛軸糸を単離した。次に軸糸の根元をガラス基板に固定し先端には蛍光ビーズを結合して、ATP で再活性化した繊毛軸糸の運動を三次元位置検出顕微鏡下で観察した。最後に遊離  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 10~1000 nM 存在下での運動を撮影して動画から得られた軌跡を球面近似し、新規に定義した 3 つの軸で繊毛運動を定量的に解析した。その結果、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度に依存して振幅と速度の違いがみられたが、周波数には有意な差がみられず、一見前述の先行研究とは異なる結果となった。

ここで着目すべき点は、本研究では繊毛を脱膜しているため、繊毛軸糸は流し込んだ溶液そのものに直接さらされる点である。一方、先行研究では細胞内外が膜で隔てられていたため、細胞内溶液組成を外部から制御するのは困難であったと考えられる。このことから、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加<sup>1)</sup>による周波数の増加は直接的なものではなかった可能性がある。

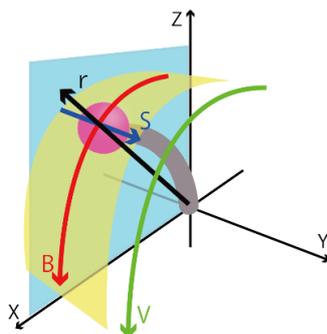


図 1 蛍光ビーズが結合した繊毛軸糸の模式図と球面近似における軸の定義

B 軸：球面に沿った鞭打ち運動方向の軸  
S 軸：球面に沿い B 軸に対し垂直方向の軸  
r 軸：球の中心からの法線方向の軸  
V：鞭打ち速度 (B 軸への射影)

これを検証するため本研究では ATP 濃度増加による繊毛運動の変化も計測し、高濃度 ATP 存在下では周波数が大きくなるという結果も得た。上記の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度応答と考え合わせると、細胞を用いた先行研究においては  $\text{Ca}^{2+}$  の細胞内流入が引き金となり ATP 生産が充進しその結果鞭打ち運動の周波数が増加したと考えることができる。

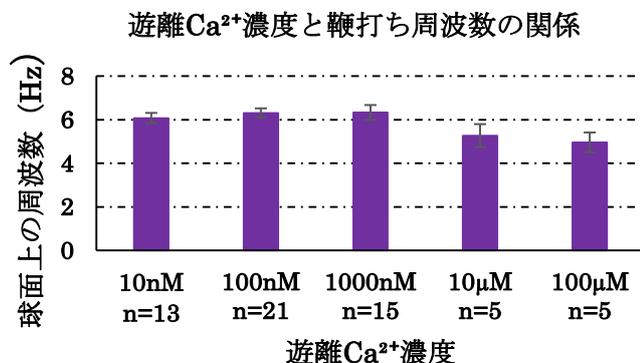


図 2 繊毛軸糸の鞭打ち運動と  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の関係

1. Shah, A.S. et al Science, 325, 1131-1134, 2009
2. Evans, J.H., Sanderson, M.J. Cell Calcium 26, 103-110, 1999

## 成長円錐における ATP レベル - 形態変化相関の評価

○鈴木 李夏、堀田 耕司、岡 浩太郎

慶應義塾大学大学院 理工学研究科 生命システム情報専修 生物物理・神経情報学研究室

生体のエネルギー物質アデノシン三リン酸 (ATP) は筋収縮や神経活動など様々な生命現象に用いられている。細胞レベルでも、1)長時間の ATP 産生抑制は神経形態変化を抑制する、2)ミトコンドリア係留部分で分岐形成が起こるなどの報告から、細胞形態、ATP 産生、ミトコンドリア動態には関係があると考えられている。しかし先行研究では ATP 産生を人工的に乱した際のふるまいを観察しており、生理的条件下における知見は乏しい。我々は、生理的条件下における、神経形態と ATP の関係解明を目的に研究を行った。

まずラット胎児後根神経節由来神経細胞に蛍光タンパク質型 ATP センサー ATeam を発現させ、生理的条件下の神経突起伸長における成長円錐の形態変化と ATP レベルを同時観察した。得られた蛍光画像を画像処理することで、Central domain (C ドメイン) と Peripheral domain (P ドメイン) の区分けを行い、各ドメインにおいて種々の形態指標や ATP レベルを定量化した。

生理的条件下では、一方向性を持って伸長する細胞 (伸長群) と、方向性のある伸長はしないものの形態変化する細胞 (探索群) が見られた。これら 2 群間で比較すると、形態変化量と ATP レベルはいずれも、伸長群では C、探索群では P ドメインで相対的に高かった。さらに形態変化量と ATP レベルを相互相関関数で評価すると、伸長群においては両者に相関があった。これらの結果は生理的条件下でも形態変化と ATP レベル変動の間に関係があることを示している。

次に、形態と ATP の間に相関が見られた背景に迫るために、まず ATP 消費に着目した。細胞内でアクチン重合は ATP 消費要因の候補として知られていることから、アクチン重合阻害剤 Latrunculin A が細胞内 ATP レベルへ及ぼす影響を検証した。Latrunculin A を添加すると、P ドメインの形態変化は抑制され、また ATP レベルは成長円錐全体で増加した。さらにこの時の ATP レベルの増加量と形態変化指標の低下には相関があった。以上より、成長円錐内では、P ドメイン形態変化に伴うアクチン重合が ATP 消費の一因であることが示唆された。

次に ATP 産生に着目するため、ATP 産生器官ミトコンドリアに着目した。ミトコンドリアは神経突起内を移動することが知られていることから、ミトコンドリア局在 ATeam (ATeam-mito) を用いてミトコンドリアの移動度、ATP 産生レベルそして神経動態の同時観察を行った。伸長群と探索群でミトコンドリア移動度を比較すると、伸長群では成長円錐方向に動くミトコンドリアの割合が探索群と比べて高かった。また、伸長群では成長円錐付近のミトコンドリアほど ATP 産生レベルが高かった。これらの結果は、伸長群に特徴的なミトコンドリアの移動・ATP 産生レベルがあることを示している。

以上より、生理的条件下の突起には伸長と探索の 2 動態があり、成長円錐の形態変化量、ATP レベルは共に伸長群では C ドメイン、探索群では P ドメインで相対的に高く、伸長群では両者に相関があることが分かった。また、成長円錐内 ATP 消費の一因に P ドメインでのアクチン重合があることが示された。さらに、伸長群では探索群と比べてミトコンドリアの成長円錐方向への輸送が多いこと、成長円錐に近いミトコンドリアほど ATP 産生レベルは高いことが明らかになった。

リポソーム中溶液反応の直接電顕観察

○阿井 晴佳<sup>1)</sup>、森屋 直人<sup>1)</sup>、石黒 孝<sup>1,4)</sup>、村田 和義<sup>2)</sup>、新井 善博<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科

<sup>2)3)</sup> 自然科学研究機構 生理学研究所 テラベース株式会社

<sup>4)</sup> 東京理科大学 総合研究院 イメージングフロンティアセンター

細胞はリン脂質二重層に囲まれたカプセルである。本研究では人工的に水及び塩化ナトリウムを内包したリポソームを作製し、透過型電子顕微鏡(TEM)で観察することを目的とした。

水内包リポソームの作製は溶媒は超純水を用いて、バンガム法で作製した 30mol% コレステロールリポソームをマイクログリッドに吸着捕獲した。染色剤として 0.5% TI ブルーを使用した。NaCl 水溶液内包リポソームの作製は溶媒は NaCl 水溶液を用いて、バンガム法で作製したリポソームをマイクログリッドに捕獲した。

水内包リポソームの観察は 200kV 加速電圧の、TEM(JEOL,JEM-2000FX), cryo-TEM を用いて行った。cryo-TEM で観察したリポソームを図 1 に示す。図 1 ではサイズの大きい真円型のリポソームに対し、サイズが小さいものはフットボール型のリポソームが観察された。また、リポソームに電子線を照射した際に発生したガスの分析は、TEM に取り付けられていたガス分析装置(835 Vacuum Quality Monitor System, MKS instruments)で行った。NaCl 水溶液内包リポソームは 200kV 加速電圧の TEM を用いて行った。電子線照射リポソームの観察結果を図 2 に示す。図 2 より NaCl 水溶液を内包したリポソームに電子線を照射すると、(a)内包溶液のコントラストに揺らぎが生じ、(電子線密度: $1.7 \times 10^4$  electrons/nm<sup>2</sup>)(b)リポソームの縁から NaCl ナノ結晶が析出した(電子線密度: $6.8 \times 10^4$  electrons/nm<sup>2</sup>)ことが観察できる。また、拡大図では結晶のファセットが確認できた。図 3 は NaCl 水溶液内包リポソームの回折像であり、析出した結晶は単結晶であることが確認できた。

以上のことから、リポソームは高真空でも水を内包して存在し、電子線照射下は水溶液を観察できることが分かった。

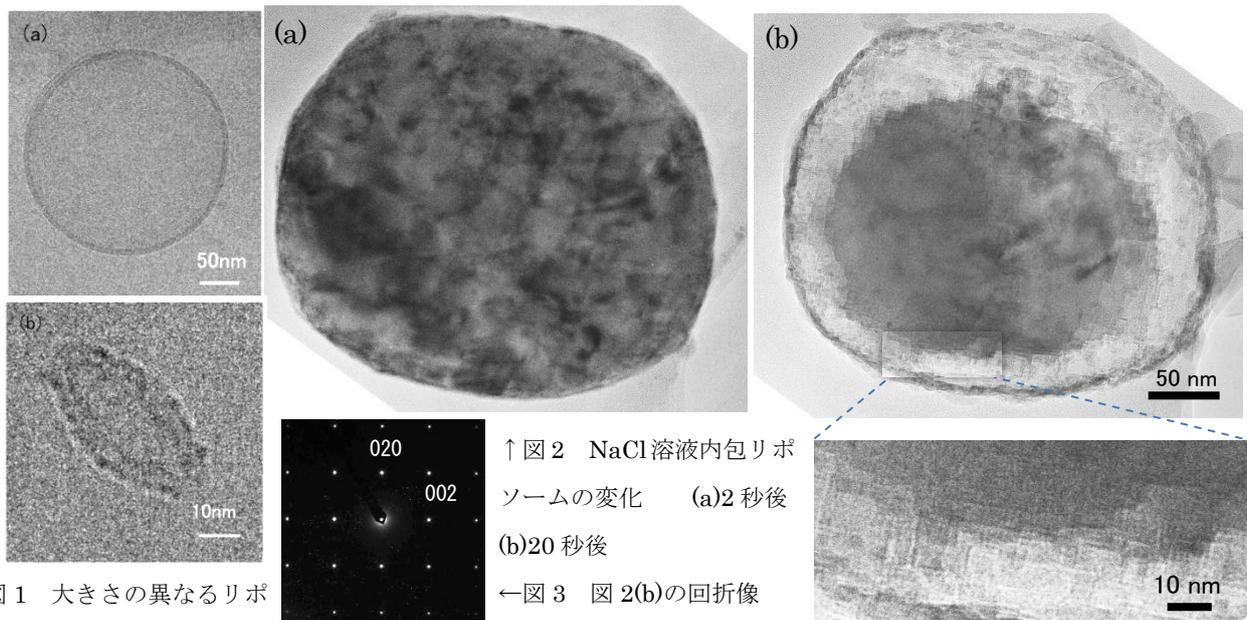


図 1 大きさの異なるリポソームの形状変化

↑ 図 2 NaCl 溶液内包リポソームの変化 (a)2 秒後 (b)20 秒後  
← 図 3 図 2(b)の回折像 beam//[100]

## 材料結合性アミノ酸配列導入によるタンパク質と カーボンナノチューブの複合体形成

○二井 大輔<sup>1)</sup>、嶋田 友一郎<sup>2)</sup>、細川 茜<sup>2)</sup>、野沢 陽佑<sup>3)</sup>、伊藤 雅弘<sup>1)</sup>、本間 芳和<sup>1)</sup>、池平 秀<sup>4)</sup>、  
西織 大輝<sup>4)</sup>、宮地 麻里子<sup>4)</sup>、山野井 慶徳<sup>4)</sup>、西原 寛<sup>4)</sup>、靱 達也<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学大学院理学研究科物理学専攻、<sup>2)</sup> 東京理科大学工学部工業化学科、

<sup>3)</sup> 東京理科大学理学部物理学科、<sup>4)</sup> 東京大学大学院理学研究科化学専攻

カーボンナノチューブ(CNT)は電気伝導性に優れた性質を有しているナノ材料であるため、この性質を生かした応用研究が盛んに行われている。また表面に生体分子を吸着させられることから、複合化したセンシングデバイスの開発など、新しいナノデバイスの作製が期待できる。

本研究では、CNT 表面に特異的に結合するペプチド(CNT 結合配列)を用いることによりタンパク質-CNT 複合体作製を目的とした。この複合体を素子として利用する場合、タンパク質の活性を維持したまま CNT 表面に配向性をもって結合しなければならない。そこで、緑色蛍光タンパク質(GFP)に遺伝子組換えにより CNT 結合配列を導入し、CNT 表面との結合について検証を行った。

嶋田らによって同定された CNT 結合配列を GFP の N 末端近傍に導入し、CNT 結合配列を有する GFP を調製した。この GFP と CNT を混合したところ、CNT 表面に GFP が有意に結合する事が蛍光測定、透過型電子顕微鏡(TEM)観察により示された。図 1 に界面活性剤により分散させた CNT と CNT 結合配列を導入した GFP を添加した場合の例を示した。CNT の直径は 1~2 nm であるが、GFP を添加した場合には 10 nm を超える大きさのものが観察された。このため GFP は CNT 表面に対し全体的に結合していると考えられる。また CNT 結合配列は GFP の N 末端近傍に導入している事から、配向を維持し、CNT 表面に結合していると考えられる。

また光エネルギー電子変換素子を作製する事を目的とした、光合成光化学系 I-CNT 複合体作製を同様の方法により試みた。転換可能な *Synechocystis* sp. PCC6803 の PsaE タンパク質に CNT 結合配列を導入し形質転換体を作製した。この部位はフェレドキシン結合部位の近傍にあり、この複合体形成により光励起によって光化学系 I の還元側に位置する Fe-S クラスターから CNT への電子移動が期待できる。この光化学系 I と CNT の複合体形成を蛍光測定、光励起による発光現象(photoluminescence: PL)測定等により確認した。CNT の PL 測定では、最大の発光強度を与える励起・発光波長が CNT のカイラリティにより決まっている。そこに光化学系 I を添加した場合には、低エネルギー側に CNT の励起・発光波長が遷移していることが観察された。これは、光化学系 I の CNT 結合配列が有効に機能し、CNT 表面に結合していることによると考えられる。本会では、これらタンパク質-CNT 複合体について報告を行う。

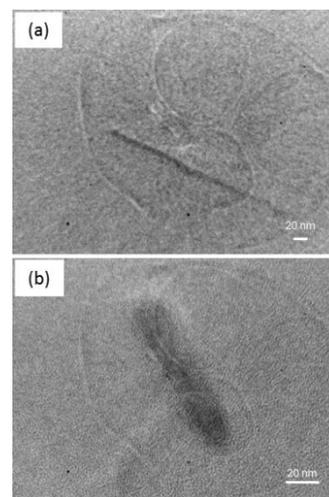


図. CNT(a)及び GFP-CNT 複合体(b)の TEM 画像  
CNT に対し全体的にタンパク質が結合していることが確認できる。

## 近赤外蛍光セラミックスナノ粒子による生体内がん転移挙動の追跡

○福島 理人、須鎗 聡、上村 真生、曾我 公平

東理大・基礎工

### 【緒言】

蛍光バイオイメージングはバイオ研究や医療診断における重要技術であるが、波長の短い紫外光や可視光を励起光として使用するため、生体へのダメージや自家蛍光、低い生体透過性が問題となっている。これらの問題点を解決するために、近赤外(NIR)光を用いた蛍光バイオイメージングの研究が盛んに報告されている。さらに近年、波長約 800 ~ 1700 nm の「第2の生体の窓(Second Biological Window : SBW)」と呼ばれる波長域を利用した NIR 蛍光バイオイメージングが報告されている。この SBW の波長域では、生体組織の透過性が極めて高く、既往の研究で用いられていた波長 700~900 nm 付近の「第一の生体の窓(First Biological Window)」を利用した NIR 蛍光イメージングと比較して、より生体の深部を観察することが可能となる<sup>1)</sup>。希土類含有セラミックスナノ粒子 (RED-CNP) は NIR(980 nm)励起光により SBW の波長域で蛍光を示すため、この RED-CNP を蛍光プローブに利用することで、既往の蛍光イメージングと比較してより生体深部の観察が可能となる<sup>2)</sup>。そこで本研究では、この RED-CNP をがん細胞内に導入し、*in vivo* におけるがん細胞の転移を NIR 蛍光により観察することで、がん細胞の腫瘍形成および転移挙動の追跡をおこなうことを目指した。

### 【実験方法】

熱分解法<sup>3)</sup>を用いて、OA が粒子表面に配位したイッテルビウム(Yb)、エルビウム(Er)共ドーブ NaYF<sub>4</sub>(OA-NaYF<sub>4</sub>)ナノ粒子(平均粒径 50 nm)を合成した。既報<sup>4)</sup>のリガンド置換法に従い、この OA-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子表面を PEG の片末端にポリアクリル酸(PAAc)のブロック構造を有するポリマー(PEG-*b*-PAAc)(Mn = 5000/2800)で修飾した PEG 化 NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子を作製した(PEG-NaYF<sub>4</sub>)。次にこの PEG-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子を、マウス由来直腸がん細胞である Colon-26 細胞に播種しインキュベートすることで、細胞内に PEG-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子を導入した。

### 【実験結果及び考察】

PEG-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子を導入した Colon-26 細胞を NIR 蛍光顕微鏡により観察したところ、NIR 蛍光を観察できたことから、PEG-NaYF<sub>4</sub> を Colon-26 細胞に導入できていることが示唆された(Fig. 1)。この PEG-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子導入 Colon-26 細胞をマウスに投与して NIR 蛍光の経時変化を観察することで、*in vivo* 環境におけるがん細胞の転移を追跡することが可能になると考えられる。

### 【参考文献】

- 1) A. M. Smith *et al.*, *Nat. Nanotechnol.*, **4** (2009) 710.
- 2) E. Hemmer *et al.*, *Nanoscale*, **5** (2013) 11339.
- 3) Z. Li *et al.*, *Nanotechnology*, **19** (2008) 345606.
- 4) A. Dong *et al.*, *JACS.*, **133** (2011) 998.

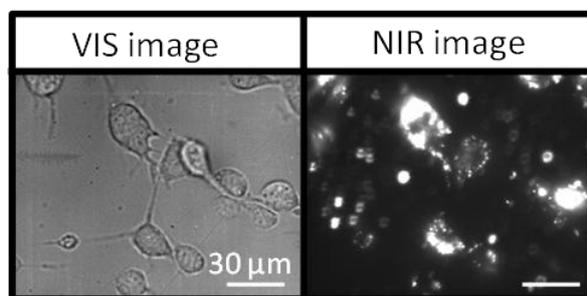


Fig. 1 PEG-NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子導入  
Colon-26 細胞の NIR 蛍光顕微鏡観察像  
(Ex. 980 nm, Em. 1550 nm)

## Mn<sup>2+</sup>ドープ NaYF<sub>4</sub>アップコンバージョン発光ナノ粒子を用いた 近赤外光フォトダイナミックセラピー

○大本 歩<sup>1)</sup>、上村 真生<sup>1)</sup>、邱 信程<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大・基礎工学部、<sup>2)</sup> 台湾國立清華大學・生醫工程與環境科學系

### 【緒言】

フォトダイナミックセラピー (PDT) とは、光感受性物質を体内の腫瘍部位に集積させ、レーザー照射により一重項酸素を発生させることで腫瘍を壊死させる治療法である。近年、生体透過性の高い近赤外光を励起光として赤色光 (660 nm) および緑色光 (540 nm) の可視アップコンバージョン (UC) 発光を示す NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> ナノ粒子の PDT への応用が提案されている<sup>1)</sup>。この手法は NaYF<sub>4</sub> ナノ粒子表面に光感受性物質である chlorin e6 (Ce6) を固定し、NaYF<sub>4</sub> 粒子の赤色発光により Ce6 を活性化させることで生体透過性の高い近赤外光励起によって一重項酸素 (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) を発生させることができるため、生体深部の腫瘍組織の治療が可能になると期待されている。しかし、一般的に用いられる NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> 粒子 (UNP1) は赤色発光の強度が低く、Ce6 の活性化が不十分であることが問題となっている<sup>1)</sup>。一方で、Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> に加えて Mn<sup>2+</sup> を共ドープした NaYF<sub>4</sub> 粒子 (UNP2) は Er<sup>3+</sup>-Mn<sup>2+</sup> 間のエネルギー移動により緑色発光強度に対する赤色発光強度の比 (R/G 比) が高いことが報告されている<sup>2)</sup>。そこで本研究では、ポリエチレンイミン (PEI) 被膜 UNP2 合成時の含水率と Mn<sup>2+</sup> 濃度を制御することで、強い赤色発光を示す UNP2 の作製を試みた。さらに、Ce6 を UNP2 表面に固定し (Ce6-UNP2)、近赤外光励起による一重項酸素 (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) の生成を評価した。

### 【実験方法】

水熱合成法<sup>2)</sup>により、含水率と Mn<sup>2+</sup> の仕込み濃度を変化させて UNP2 サンプルを作製した。作製したサンプルの結晶相を XRD により相同定し、980 nm の励起光を用いて緑色光 (540 nm) と赤色光 (660 nm) の UC 発光スペクトルを測定した。さらに UNP2 表面に Ce6 を固定し、<sup>1</sup>O<sub>2</sub> の生成によって、ヒスチジン存在下の吸光度 (440 nm) が低下することが知られている *N,N*-ジメチル-*p*-ニトロソアニリンを用いて、<sup>1</sup>O<sub>2</sub> 生成の評価を行った。

### 【結果および考察】

含水率の低下に伴い R/G 比が増大することが明らかになった (図 1)。さらに、Mn<sup>2+</sup> の仕込み濃度の増大に伴い R/G 比が増大することがわかった。しかし、Mn<sup>2+</sup> の仕込み濃度が 54 mol% では R/G 比が低下しており、これは、緑色発光の強い β-NaYF<sub>4</sub> 相の析出による影響であると考えられる。次に、Ce6 固定 UNP2 に 980 nm 励起光を照射した際の <sup>1</sup>O<sub>2</sub> の生成を評価した (図 2)。この結果、Ce6 のみおよび Ce6-UNP1 の場合、<sup>1</sup>O<sub>2</sub> の生成は確認できなかったが、Ce6-UNP2 の場合、励起光照射時間に依存した <sup>1</sup>O<sub>2</sub> の生成がみられた。これは UNP2 の強い赤色発光により Ce6 が活性化されたためであると考えられる。これらの結果から、Ce6-UNP2 の PDT プロブへの応用が期待される。

### 【参考文献】

- 1) C. Wang *et al.*, *Biomaterials*, **32** (2011) 6145.
- 2) E. He *et al.*, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **14** (2014) 4140.

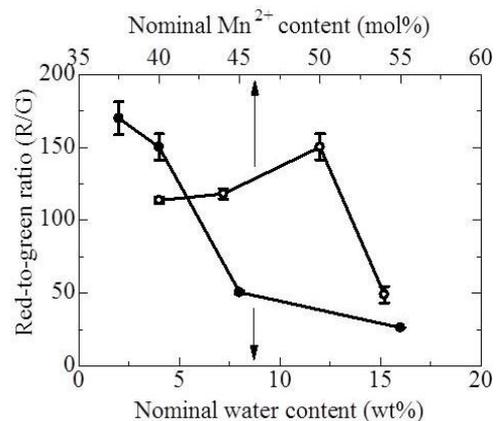


図 1 含水率、Mn<sup>2+</sup> の仕込み濃度と R/G 比の関係

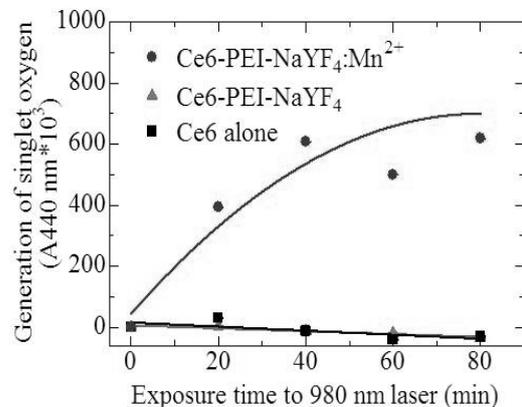


図 2 980 nm 励起光下における一重項酸素の生成

## 希土類含有セラミックナノ粒子（RED-CNP）による小動物を用いた NIR-II 蛍光イメージングならびにマルチモーダルイメージングの可能性

○大谷 敬亨<sup>1)</sup>、北川 寛之<sup>1)</sup>、服部 正泰<sup>1)</sup>、竹内 司<sup>2)</sup>、渡邊 重明<sup>3)</sup>、上村 真生<sup>4)</sup>、曾我 公平<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 片山化学工業株式会社 開発課、<sup>2)</sup> 島津製作所 分析計測事業部、

<sup>3)</sup> 住商ファーマインターナショナル 創薬推進部、<sup>4)</sup> 東京理科大学 基礎工学部

生体内での分子の動きや状態を可視化するためのバイオイメージング技術は、診断・治療をはじめ生命現象の解明の為に不可欠な要素技術である。既に、NIR-I と区別されうる 900 nm 以下の近赤外蛍光色素を利用した蛍光イメージングは、PET、CT、MRI など他のイメージングと比べると安価で、利便性が良く、時間および空間分解能に長けている反面、画像の解像度が劣る。そのため、複数のイメージング手法を組み合わせること（マルチモーダルイメージング）により、情報の高度化、分析精度の向上が試みられている。

従来、蛍光イメージングにおける画像の取得波長はおおよそ 800 nm 以下に限られているが、生体における光損失は、短波長ほど強い光散乱と、可視域を中心とする色素による吸収、さらには近赤外域においては長波長ほど強くなる分子内振動に伴う赤外吸収によって主に決定づけられる。最大の障壁となる光散乱は可視光域および近傍では強く、より高解像、高深度のイメージングを達成するためには可視光を越える長波長の OTN-NIR (over-1000-nm near infrared red) 蛍光を用いる方が望ましい。また励起波長も 900~1200 nm の近赤外光を利用することにより、外部からの励起光がより高深度で到達できる。1200 nm を超える近赤外を蛍光画像の取得に活用すれば、現在の波長域に比べてより深部の観察が可能になるばかりでなく、散乱の低減により、これまでよりもはるかに鮮明な画像の取得が可能になると期待されるため、従来の近赤外蛍光波長領域より長い NIR-II 蛍光イメージングが近年着目されてきている。

我々は、昨年の本会で、水溶液において単分散安定性が高く、従来の生体内蛍光イメージング波長領域を大きく超える 1500 nm 付近に近赤外蛍光を発する RED - CNP 分散液の調製に成功し、既存の波長領域における *In vivo* 蛍光イメージングと比べ、非常に精彩な血管造影に成功したことについて報告した。

今回、1000 nm 以上の蛍光波長領域での撮像およびイメージング解析が可能な、可搬型小動物蛍光イメージング装置 SAI-1000（島津製作所製）を用いて、マウスの *in vivo* イメージングならびに臓器を摘出した *ex vivo* について評価検討を行った。更に、マルチモダリティイメージングの可能性として RED - CNP を用いた MRI の可能性についても検討を行ったので合わせて報告する。

Nanoparticle distribution in mouse airways and plant leaves detected  
by near-infrared fluorescence analysis

○Masakazu UMEZAWA<sup>1)</sup>, Masao KAMIMURA<sup>2)</sup>, Nobutaka KITAHATA<sup>3)</sup>, Bunki TOU<sup>3)</sup>,  
Rihito FUKUSHIMA<sup>2)</sup>, Ayumu OMOTO<sup>2)</sup>, Yuya YASUDA<sup>2)</sup>, Takeaki HARADA<sup>2)</sup>, Ken TAKEDA<sup>1)</sup>,  
Kazuyuki KUCHITSU<sup>3,4)</sup>, Kohei SOGA<sup>2,4)</sup>

<sup>1)</sup>The Center for Environmental Health Science for the Next Generation, RIST, Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science; <sup>2)</sup>Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology, Tokyo University of Science; <sup>3)</sup>Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology; <sup>4)</sup>Imaging Frontier Center, RIST, Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science

*In vivo* kinetics of nanoparticles (NPs) in humans, animals and plants are difficult to evaluate because of the lack of sensitive and quantitative detection technique. In particular, most of imaging techniques by using ultraviolet and visible lights cannot be applied to plant cells which contain various autofluorescent compounds, such as cell wall polymers and chlorophyll, that affect the spectral detection of some fluorophores. We hypothesized a novel deep *in vivo* imaging technique using NPs with the over 1000-nm near-infrared fluorescence (OTN-NIR) may be applicable to real-time imaging and improve the kinetics study. The distribution of NPs in the mouse airways after intranasal instillation and in the plant leaves after infiltration through stomata was focused because the NPs in the atmosphere are the major issue in environmental health and hygiene science.

Monodisperse NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> NPs (1–100 mg/mL; 40 nm or 120 nm in diameter) were administered to adult BALB/c *Slc-nu* mice by intranasal instillation (40 μL/mouse) and to the leaves of *Nicotiana tabacum* from stomata by infiltration (100 μL). The distribution of NPs were investigated in the mice and the leaves at 1–24 hours and 7 days post-treatment. The NPs were detected in the isolated lung at 1 and 24 hours post-treatment, but not detected without isolation. The NPs (40 nm and 120 nm) were detected in the region near the injection sites of the leaves, and showed a sign of aggregation at 7 days post-treatment. The diffusion of the NPs (40 nm) was a little greater than the 120-nm NPs. The research will focus on NP distribution in woody plants as well as in the brain of mice, and kinetics study by real-time imaging.

## 希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外蛍光強度比によるナノ温度イメージング

○須鎗 聡、松本 泰来、上村 真生、曾我 公平

東京理大・基礎工

## 【緒言】

微小空間の温度イメージングは、生体内で起こる様々な現象の解明だけでなく、温度変化を利用した薬物送達やがん温熱治療の制御への応用が期待されている。一方で近年、近赤外 (NIR) 光励起・発光が可能な希土類含有セラミックスナノ粒子 (RED-CNP) は、その NIR 励起・発光波長域の生体組織への透過性の高さから、次世代の蛍光イメージングプローブとしての利用が期待されている。代表的な RED-CNP である希土類含有  $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子は、ドープする希土類イオンの種類を選択することで、近赤外光 (980 nm) 励起によって波長 1200~1550 nm の領域の近赤外発光を得ることができる。この波長域は、“Second Biological Window (第二の生体の窓)” と呼ばれる、生体組織への光の透過性が最も高い波長域のひとつであり、既往の NIR 光イメージングに用いられる波長 700-900 nm 付近の “First biological window (第一の生体の窓)” と比較して、より生体組織の深部のイメージングが可能となる。そこで、本研究では、イッテルビウム ( $\text{Yb}^{3+}$ )、ホルミウム ( $\text{Ho}^{3+}$ )、エルビウム ( $\text{Er}^{3+}$ ) 共ドープ  $\text{NaYF}_4(\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}/\text{Er}^{3+})$  ナノ粒子を作製し、同一励起光照射下で異なる発光波長を示す  $\text{Ho}^{3+}$  と  $\text{Er}^{3+}$  の蛍光強度比の温度依存性を測定することで、ナノ温度計への応用を検討した

## 【作製方法】

熱分解法<sup>1)</sup>を用いて平均粒径 60 nm のオレイン酸被膜  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$  (OA- $\text{NaYF}_4$ ) ナノ粒子を作製した。また、粒子表面を poly(ethylene glycol)-*b*-poly(acrylic acid) (PEG-*b*-PAAc) にリガンド置換<sup>2)</sup>することで親水化粒子を作製した (PEG- $\text{NaYF}_4$ )。これらの  $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子のシクロヘキサン、蒸留水中の温度を 25~50 °C の範囲で変化させ、波長 980 nm の励起光を照射した際の蛍光スペクトルを測定した。

## 【結果および考察】

シクロヘキサン中における OA- $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子、および蒸留水中における PEG- $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子の  $\text{Ho}^{3+}$  (1200 nm) と、 $\text{Er}^{3+}$  (1550 nm) の蛍光強度比の温度依存性を図 1 に示す。図 1 より、シクロヘキサン中における蛍光強度比は温度上昇とともに増加することがわかった。これは  $\text{Yb}^{3+}$  から  $\text{Ho}^{3+}$  へのエネルギー移動は温度依存性を示すフォノン介助エネルギー移動が支配的であるのに対し、 $\text{Yb}^{3+}$  から  $\text{Er}^{3+}$  へのエネルギー移動は温度依存性を示さない共鳴エネルギー移動が支配的であることが原因と考えられる。一方蒸留水中における蛍光強度比は温度上昇とともに減少することがわかった。これは水中では分散媒中の極性分子による振動緩和により、励起準位から熱失活するため、 $\text{Ho}^{3+}$  の蛍光強度は変化せず、 $\text{Er}^{3+}$  の蛍光強度が増加したことが原因と考えられる。以上より OA- $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子、PEG- $\text{NaYF}_4$  ナノ粒子のそれぞれ疎水性溶媒および水中における  $\text{Ho}^{3+}$  と  $\text{Er}^{3+}$  の蛍光強度比は温度に対して一律に変化することがわかった。そのため  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$  ナノ粒子の波長 1000 nm 以上の近赤外光を利用した温度測定が可能であると期待される。

## 【参考文献】

- 1) Z. Li *et al.*, *Nanotechnology*, **19**, (2008) 345606-345610
- 2) M. Kamimura *et al.*, *J. Photopolym. Sci. Technol.*, **28** (2015) 711-713

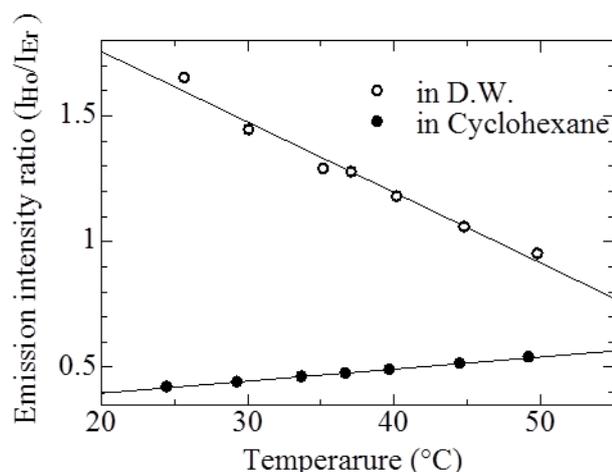


図1  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$  の各分散媒における蛍光強度比の温度依存性

## 近赤外ハイパースペクトルイメージングによるがん診断システムの構築

○安田 裕哉<sup>1)</sup>、河西 真依<sup>2)</sup>、上村 真生<sup>1)</sup>、金子 和弘<sup>3)</sup>、竹村 裕<sup>2)</sup>、曾我 公平<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東理大・基礎工・材料工、<sup>2)</sup> 東理大・理工・機械工、<sup>3)</sup> 国立がんセンター東病院・消化管内視鏡

### 【緒言】

近赤外分光法は近赤外光の高い生体透過性によって、生体深部の組成解析が可能になると期待されている分光法である。このため、近赤外分光カメラによるハイパースペクトルイメージングは画素単位で吸収スペクトルを測定できるため、組成分布の画像化を容易におこなうことが可能となる<sup>1)</sup>。また、がん細胞の代謝物や構成成分は正常細胞とは異なり、これらの物質が特異的な光吸収特性を示すことが知られている<sup>2)</sup>。したがって、がん細胞と正常細胞の吸収スペクトルにおける特徴量を抽出し、近赤外分光カメラを用いてがん組織と正常組織の識別および画像化をおこなうことができると考えられる。そこで本研究では、機械学習によりがん組織の吸収スペクトルから特徴量を抽出することで、近赤外分光カメラによるがん組織の画像診断システムを構築することを目指した。

### 【実験方法】

マウス (BALB/cSlc-nu/nu、雄、7 週齢) の左背部の皮下にマウス由来大腸がん細胞 (colon-26) を投与し ( $1 \times 10^6$  cells/200  $\mu$ L)、投与 21 日後に近赤外分光カメラを用いて担がんマウスにハロゲンランプ光を照射した際のハイパースペクトルイメージング (1000-2350 nm) をおこなった。教師データ用に測定したマウスのがん組織と正常組織のそれぞれから 1500 のスペクトル、バックグラウンドから 500 のスペクトルを抽出し、これらのクラスを "cancer"、"normal"、"background" として support vector machine (SVM) により学習をおこなった。さらに、テストデータ用のマウスのハイパースペクトルイメージの解析をおこない、がん組織と予測された領域を画像化した。

### 【実験結果及び考察】

教師データ用マウスのがん組織、正常組織の吸収スペクトルを SVM により学習し、学習結果の検証用マウスのがん組織を検出したところ、実際のがん組織とハイパースペクトルより予測されたがん組織の領域が一致していることが確認できた (Fig.1)。これらの結果から機械学習を用いることで近赤外分光カメラによるがん組織の画像診断が可能になると期待される。

### 【参考文献】

- 1) H. Ishikawa *et al.*, *SEI Tech. Rev.*, **73** (2013) 95.
- 2) G. Lu *et al.*, *J. Biomed. Opt.*, **19** (2014) 010901-2.

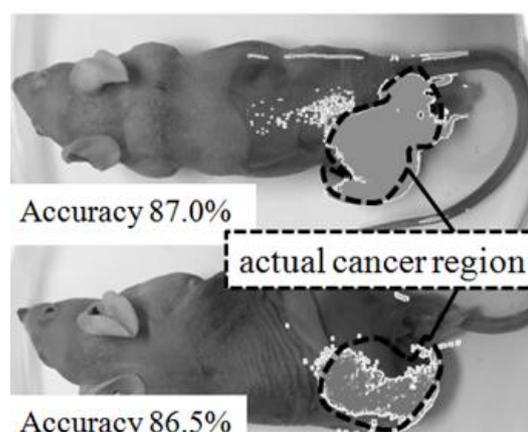


Fig.1 検証用マウス 2 匹のハイパースペクトルの識別結果 (着色部分) と実際のがん組織の領域

## 生物・医用画像処理・解析のためのクラウド・コンピューティング 4DICP: 4D Image Communication Platform

○森田 正彦<sup>1)</sup>、俵 丈展<sup>1)</sup>、西村 将臣<sup>1)</sup>、井尻 敬<sup>3,1)</sup>、吉澤 信<sup>1)</sup>、趙 武魁<sup>2)</sup>、  
舛本 現<sup>2)</sup>、辻村 有紀<sup>1)</sup>、姫野 龍太郎<sup>2)</sup>、横田 秀夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理化学研究所 光量子工学研究領域 画像情報処理研究チーム、

<sup>2)</sup> 理化学研究所 情報基盤センター、<sup>3)</sup> 立命館大学 情報理工学部

共焦点レーザー顕微鏡、CT、MRIなどの画像撮影技術の発展により、現代生物学では、大規模画像データの管理と解析を効率的かつ簡便に行える環境が求められている。しかしながら、既存の画像処理システムは、非常に性能の高い計算機を必要とするものや高度な画像処理・解析の機能が不足しているものがほとんどであった。

本発表では、我々の開発した生物・医用画像のためのクラウドに基づく新しい処理・通信システム「4D Image Communication Platform (4DICP) [1, 2]」を紹介する。提案システムの特徴は、ユーザが操作するクライアントに既存のウェブブラウザを用い、画像の共有管理・画像処理・可視化・領域分割・処理履歴管理・処理手順作成支援など、様々なサービスを提供する仕組みにある。提案システムは、画像処理に関する計算のほとんどがサーバ上で行われるため、ユーザは、ウェブブラウザのインストールされた性能の低い計算機のみを利用して、高度な画像処理解析ツールを利用できる。

**クラウドベースのインタラクティブ技術：**操作画面の圧縮のみではウェブブラウザと計算サーバ間の通信が非効率となり、ネットワーク環境によっては大きな遅延が発生する。本システムは通信の効率化として、①画面更新の要否を検出し必要な際に更新する機能、②操作中の画面圧縮率を上げ通信容量を下げる機能、③分割画面上で①・②の機能を実行する仕組み、の3点を実現することにより、遅延の少ない画像処理・解析の環境をユーザに提供する。

**処理手順の作成を支援する機能：**撮影された画像中の関心領域を分割・可視化・解析するには、フィルタリング処理、特徴抽出、機械学習・Deep Learningなどの多岐にわたる処理技術を組み合わせる利用するのが一般的である。生物・医用画像を対象とした場合、目的の結果を得るための処理手順は未確定であることが多く、処理手順の作成には多くの試行錯誤とその処理を行う計算リソースを必要とする。本システムでは、画像処理エンジンとしてVCAT [3]を用いることにより、処理手順・パラメータの自動記録・管理・再利用する機能をクラウド上の計算リソースと共に提供する。これにより画像処理の知識に乏しいユーザであっても、様々な処理を組み合わせた処理手順の作成が可能となる。

### Reference

- [1] M. Morita, et al., "Biomedical Image Communication Platform", Proc. of International Symposium on Computing and Networking (BIR'13), pp. 281-287, 2013.
- [2] M. Morita, et al., "Communication Platform for Image Analysis and Sharing in Biology", International Journal of Networking and Computing, 4(2):369-391, 2014.
- [3] 森田 正彦, 西村 将臣, 横田 秀夫, "画像処理統合プラットフォーム VCAT5", バイオ画像解析 手とり足とりガイド, 羊土社, pp. 208-218, 2014.

## 軟 X 線顕微鏡による糸状性シアノバクテリアの窒素マッピング

○寺本 高啓<sup>1)</sup>、吉村 真史<sup>2)</sup>、浅井 智広<sup>3)</sup>、  
寺内 一姫<sup>3)</sup>、難波 秀利<sup>2)</sup>、太田 俊明<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 立命館大学理工学部、<sup>2)</sup> 立命館大学 SR センター、<sup>3)</sup> 立命館大学生命科学部

窒素は窒素分子として大気の約 8 割を占めているが、動植物は窒素分子の形としては利用できず、アンモニアや硝酸の形に「固定」されて始めて利用できるようになる。窒素分子のアンモニアへの変換には、ハーバー・ボッシュ法に代表されるような工業的方法と酵素ニトロゲナーゼの触媒反応による生物的固定が知られている。特に後者の生物学的窒素固定は化石エネルギーを使わないクリーンなプロセスであり、生体に貯蓄された窒素を必要なだけ供給できるため、昨今の食料、環境、エネルギーの各種問題に対する解決策になりうるとして着目されている。

本研究の対象であるシアノバクテリア *Anabaena* sp. PCC7120 は窒素固定を行う原核光合成生物である。その形態は細胞が 1 次元に連なった糸状体（フィラメント）であり、多くは光合成を担う栄養細胞であるが、窒素欠乏環境下では 10 個に 1 個程度の割合で栄養細胞が窒素固定に特化した異型細胞（ヘテロシスト）に分化する。ヘテロシストと栄養細胞は、どちらも単独では窒素欠乏環境下で生育できず、ヘテロシストが固定した窒素をアミノ酸として栄養細胞に供給し、栄養細胞はヘテロシストに糖などの光合成産物を供給している。ヘテロシストへの分化には、細胞内の炭素窒素比（C/N 比）が深く関わっていると考えられているが、これまでにヘテロシストと栄養細胞の C/N 比の違いを実測した例はなく、ヘテロシストへの分化の誘導に必要な閾値など、細胞内の C/N 比と細胞分化の定量的な関係は不明である。

本研究では、*Anabaena* sp. PCC7120 の栄養細胞とヘテロシストの C/N 比の違いを単一細胞レベルで明らかにするため、軟 X 線顕微鏡を用いて窒素の K 吸収端前後における細胞の透過率変化のイメージ画像の取得を行った。観察に用いた軟 X 線顕微鏡（立命館大学 SR センター BL12）は、空間分解能 100 nm および焦点深度 15  $\mu\text{m}$ 、倍率約 600 倍の明視野顕微鏡であり、試料の有無による透過光量の差から各細胞の吸光度イメージが取得できる。光源の波長は窒素の K 吸収端前後に対応する 3.11 nm および 2.98 nm を選び、細胞毎の窒素含有量の違いを観察した。観察試料には、窒素欠乏培地で培養した *Anabaena* sp. PCC7120 を超純水中に分散し、2 枚の  $\text{Si}_3\text{N}_4$  膜（厚さ 100 nm）に挟み込むことで、単一細胞の厚みでフィラメントが平面的に広がった試料を用意した。 $\text{Si}_3\text{N}_4$  膜上での栄養細胞およびヘテロシストの位置は、光学顕微鏡および蛍光顕微鏡による観察で予め特定しておいた。また細胞の内部構造を詳細に観察するため、トモグラフィー画像の撮影を行った。1 個のフィラメントのみをガラスキャピラリー（内径約 8  $\mu\text{m}$ ）に封入し、鉛直方向に固定したキャピラリーを 4 度間隔で水平面内回転させながら 45 点の画像を取得した。得られた画像から逆ラドン変換を行うことで細胞の 3 次元画像を構築した。

発表では軟 X 線顕微鏡観察で得られたヘテロシストおよび栄養細胞の画像を紹介し、各細胞の吸光度変化データを統計解析した結果、トモグラフィー画像構築で見えてきた細胞内部の構造について議論したい。

## 核小体ストレス応答の可視化レポーターシステムの構築と バイオイメージングによる新たな生理作用の解明

○河原 康一<sup>1)</sup>、川畑 拓斗<sup>1,2)</sup>、上條 陽平<sup>1,3)</sup>、白石 岳大<sup>1,4)</sup>、堀口 史人<sup>1,3)</sup>、山本 雅達<sup>1)</sup>、  
新里 能成<sup>1)</sup>、南 健太郎<sup>1)</sup>、有馬 一成<sup>5)</sup>、濱田 季之<sup>5)</sup>、古川 龍彦<sup>1)</sup>  
鹿児島大学 <sup>1)</sup> 大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学、<sup>2)</sup> 大学院理工学研究科生命化学、<sup>3)</sup> 大学院理  
工学研究科システム情報科学、<sup>4)</sup> 理学部生命化学有機生化学、<sup>5)</sup> 学術研究院理工学域理学系

様々な障害から生体を防御するストレス応答の仕組みは、生体の恒常性維持や疾患の発症抑制に必須であり、生命活動を支える基本原理の一つである。DNA 損傷や発がんストレスに応答する p53 経路はストレス応答の中心的な役割を担う。近年、p53 経路は核小体ストレス応答機構によって制御されることが分かってきた。この応答は、薬剤や栄養飢餓等のリボソーム構築障害によって起こる。結果として、リボソーム蛋白質が核小体から放出され、これが核小体外にある MDM2 と結合し、MDM2 による p53 の分解が抑制され、細胞増殖が停止する。我々はこれまで PICT1 遺伝子の解析から、PICT1 遺伝子欠損や発現低下により起こる核小体ストレス応答が、胎生早期の致死や、T 細胞形成障害を誘導すること、また DNA 損傷なしに p53 を増加させ腫瘍細胞の増殖や個体の腫瘍化進展を抑制すること、腫瘍患者の良好な予後と相関すること等を見出した。このことから、核小体ストレス応答は生体の恒常性維持や腫瘍化進展の抑制に極めて重要であると考えられた。

そこで新たにタンパク質間の相互作用を検出する Fluoppi 法を用いて、精度、感度ともに優れた核小体ストレス応答の可視化レポーターシステムを構築し、約 400 種の阻害剤をスクリーニングした。その結果、既知の作用化合物である Actinomycin D 等に加え、HDAC、Cdc2、Aurora キナーゼ、mTOR 阻害剤を含め核小体ストレス応答への作用が未知のヒット化合物を多数得た。ヒット化合物は DNA 損傷なしに p53 を増加させ、核小体ストレス応答に依存して細胞増殖を抑制した。Cdc2 及び Aurora キナーゼは細胞周期 M 期の進行を制御する。古くから M 期の進行に伴い核小体は消失/再構築されることが知られている。このことから核小体ストレス応答は M 期の核小体ダイナミクスを制御する新たな機構と考えられ、新規制御機構や新たな役割の解明を進めている。

一方、核小体ストレス応答は DNA 損傷なしに癌の進展を抑制できることから、これまでにない魅力的な抗癌治療標的になると考えられた。本レポーターシステムは核小体ストレス応答を誘導する薬剤を正確に単離できることから、約 1300 種類の既承認薬、及び天然有機抽出物を対象にスクリーニングを行い、ヒット物質として抗炎症剤や、抗マラリア薬、さらに複数の天然有機抽出物を得た。今後、ヒット低分子化合物や天然化合物は、抗癌薬理作用を解析し、核小体ストレス応答を特異的に誘導する抗癌剤として開発を行う。

今回の検討から、1)核小体ストレス応答の可視化レポーターシステムを新規に構築できたこと、2)この応答が M 期の進行や、エピジェネティクス制御、mTOR シグナルから制御を受けること、3)この応答を誘導する抗癌剤の候補化合物や、天然物抽出物の同定を示した。今後、バイオイメージングによって核小体ストレス応答を視ることで未知なる作用機序の解明や、この応答を標的とした革新的抗癌剤の開発が期待される。

## D-アミノ酸酸化酵素調節因子 G72 のドメインモデリング

○加藤 有介、福井 清

徳島大学疾患酵素学研究センター

一般に生体内には L-アミノ酸が豊富だが、その光学異性体である D-アミノ酸にも重要な生理的役割がある。特に D-セリンは NMDA 受容体の働きを調節することで中枢神経系の神経伝達を制御する。D-アミノ酸酸化酵素(DAO)は D-セリンの中枢神経系での濃度を調節している。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。

ところが G72 の立体構造が明らかではないために G72 による DAO 活性調節機構の詳細は不明である。そこで我々は G72 の立体構造を予測するために構造モデリングの手法の適用を考えた。G72 には 82, 125, 153 残基のアイソフォームが存在するが、統合失調症の感受性変異が報告された 30 番目のアルギニンを含むものは 153 残基のアイソフォームのみであるため、153 残基のアイソフォームの構造モデリングを目指すことにした。

G72 の 153 残基のアイソフォームのホモログタンパク質を実験的な手法で構造解析した報告例はこれまでにない。したがってホモロジーモデリング法を適用することは難しいと判断した。既知構造とのアミノ酸相同性に依存しないモデリング原理として *ab initio* モデリングあるいは threading といった予測原理が知られている。これらの原理を利用したプログラムとして Rosetta, Quark, I-TASSER といったものが知られている。近年の構造予測手法の発展によりこれらのプログラムによる予測の正解率は高まっている。本研究では複数の構造予測プログラムによる構造解が収束するかどうかという点を基準の 1 つとして構造モデリングを行うことにした。

NCBI Blast によれば G72 は少なくとも 2 つのドメイン構造を持つという解析結果が示されている。それにしたいが G72 を 2 つのドメインに分割して構造モデリングを試みることにした。まず我々はそのうちの N 末端側のドメイン(ND)の構造モデリングを試みた。ND は G72 の 1-71 番目のアミノ酸までの領域に相当する。I-TASSER, Quark, Rosetta で構造モデリングを試みたところそれぞれの手法から複数の構造解の候補モデルが得られた。これらの解に共通する構造が見られなにか調べるために構造クラスタリングを行うことで、これらのモデル構造を分類した。その結果、I-TASSER, Quark, Rosetta の 3 つの手法により作られたモデルが共通して含まれるクラスターが得られた。このクラスターに含まれるモデルのうち構造エネルギーの安定性などの指標から最も優れているモデルを 1 個に絞り込むことに成功した。

このようにして得られたモデルの構造を観察したところ、統合失調症患者に見られる SNP 部位である Arg30 は分子表面に位置し Arg15 の近傍に位置することが明らかになった。Arg30 が存在する側の分子表面には他にも塩基性のアミノ酸が見られ正電荷が豊富であることが予測された。一方でヒト DAO の分子表面には酸性アミノ酸が多く見られることから負電荷が豊富であることが結晶構造から予測された。これらのことから G72 による DAO の活性調節には G72 と DAO の間の静電的な相互作用が重要であることが示唆された。

## Sirt4 複合体構造モデリング

○小島 正樹<sup>1)</sup>、加藤 有介<sup>1,2)</sup>、木原 裕<sup>3)</sup><sup>1)</sup> 東京薬科大学生命科学部、<sup>2)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター、<sup>3)</sup> 姫路日ノ本短期大学ライフサイエンス研究センター

心臓病のうち約8割は虚血性心疾患であり、その多くがメタボリックシンドロームにより引き起こされる。虚血性疾患では心筋細胞が低酸素状態にさらされ細胞死を引き起こすことで心筋の機能障害が生じ生命に重篤な危機を生じる。H9c2 cardiomyoblast cells (心筋芽培養細胞) を利用した実験で、Sirt4 は低酸素状態における細胞死に対して抵抗性を示すことが既に報告されている。Sirt4 はミトコンドリアに存在し ADP リボシル化反応を触媒し、非肝臓組織において Sirt5 とともに TCA サイクル、細胞内 ATP/ADP 比、窒素代謝、オートファジーを制御する。また mTORC1 による抑制が弱まるとアンチエイジング効果を発揮し発癌をも抑制する。これらのことから Sirt4 は心筋の代謝回転と細胞死を直接結びつけ制御する重要な因子であることが示唆される。したがって Sirt4 の機能を制御することが虚血性心疾患の治療に重要な意義を持つことが予想されるが、Sirt4 の立体構造が未解明であることからその分子機構が不明であり Sirt4 活性化薬剤の創薬上の1つの妨げとなっている。

Sirt4 はミトコンドリアでグルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GDH/GLUD1)を ADP リボシル化することにより上記機能を発現している。そこで本研究においては Sirt4 単体の構造モデリングならびにその動作機構の解明のために NAD<sup>+</sup>および GDH の部分構造との複合体モデリングを試みた。

Sirt4 単体のモデリングを行うに当たってはホモロジーモデリングおよび threading といった手法を試みることにした。ホモロジーモデリングではアミノ酸配列相同性の高い鋳型構造が必要であることに対して threading では相同性は必要条件ではない。Sirt4 は Sir2 ファミリータンパク質の一員であるが、これまでに結晶構造が報告された Sir2 ファミリータンパク質は Sirt4 と最高でも 30% 程度の相同性に留まることから、ホモロジーモデリングの適用範囲として境界領域に位置する。そこでホモロジーモデリングと threading のさまざまな手法から得られたモデル構造の類似性が高ければ構造解が1つの方向に収束していると考えられるため、複数の手法を試すことにした。その結果、複数の構造予測法によるモデルがすべてよく似た構造に収束した。これらのモデルをエネルギースコア等で評価し NAD<sup>+</sup>とのドッキングシミュレーションなどの結果を踏まえ最適な Sirt4-NAD<sup>+</sup>複合体モデルを選択した。

GDH の ADP リボシル化サイトは GDH 活性中心近傍のヘリックス-ループ部位に位置する。この部位を含む領域を GDH 結晶構造の pdb 座標から切り出してドッキングシミュレーションを行ったところ、この GDH ペプチド構造は Sirt4 分子表面の NAD<sup>+</sup>近傍の領域にはまり込んだ。このドッキングモデルでは ADP リボシル化サイト(Cys119)の隣に位置するアセチル化 Lys118 のアセチル基が NAD<sup>+</sup>のニコチンアミド基の近傍に位置する。このことからこのアセチル基が一時的に ADP リボシル化される中間体を経由したのちに Cys119 が ADP リボシル化されるという反応機構モデルが予測される。このような仕組みにより GDH 活性が阻害され、上記のようなさまざまな生理的変化が引き起こされるのではないかと考えられる。

## Abl-Abi 複合体の構造モデリング

○鈴木 貴裕<sup>1)</sup>、清野 翔平<sup>1)</sup>、加藤 有介<sup>1,2)</sup>、谷 佳津子<sup>1)</sup>、小島 正樹<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京薬科大学生命科学部、<sup>2)</sup> 徳島大学疾患酵素学研究センター

Abl-interactor (Abi) は、プロリンリッチ領域や SH3 ドメインをもつアダプタータンパク質であり、哺乳類 Abi ファミリーとして Abi-1、Abi-2、Abi-3 (NESH) が報告されている。このうち Abi-1 と Abi-2 は非受容型チロシンキナーゼである c-Abl と相互作用するタンパク質として同定され、アクチン細胞骨格の調節に働くことにより、癌の浸潤に関わることが示唆されている。一方、Abi-3 は、配列の相同性からファミリーに加えられたが、その作用機作は他の Abi ファミリーと異なることが示唆されている。

Abl との相互作用では、Abi の SH3 ドメインが重要である。そこで、Abi-1 と Abi-3 の SH3 ドメインの立体構造を予測した。既知の結晶構造に対して BLAST 検索を行ったところ、Abi-1 および Abi-3 の SH3 ドメインともに、Abi-2 の SH3 ドメインと高い相同性が得られた。そこでこれを鋳型として、ホモロジーモデリング法により両タンパク質の立体構造を構築したところ、主鎖構造に関してはほとんど差が見られなかった (RMSD は 0.19 Å)。

以上により、Abi-1 および Abi-3 の c-Abl 相互作用の違いは、SH3 ドメイン以外の立体構造に起因していると考えられたため、Abi-1 および Abi-3 の全長構造の予測を行った。ただし、両者とも配列全体に相同性のあるタンパク質は存在しないため、以下の方法により立体構造を構築した。

まず Abi-1 の全長構造を、Robetta サーバを用いて ab initio 法により計算した。得られた 5 個の候補をペアフィットにより重ね合わせて、最も妥当性の高いモデルを採択した。この Abi-1 の全長構造を鋳型として、Abi-3 の全長構造をホモロジーモデリング法により構築した。こうして構築した Abi-1 と Abi-3 の全長構造を比較したところ、N 末端側ドメイン、C 末端側ドメイン (SH3) でよく重なり (SH3 ドメインのみの RMSD は 0.10 Å)、両ドメインの介在配列の違いが全長構造の違いをもたらし、それが Abi-1 と Abi-3 の c-Abl との相互作用の違いの原因であることが示唆された。

また鋳型構造のない場合の立体構造予測の精度を高めるため、他のアルゴリズムに基づくプログラムや、I-TASSER を用いたスレッディング法により、Abi-1 および Abi-3 の全長構造を構築し、得られたモデルどうしの比較・解析を進めている。

## 細胞膜タンパク質リサイクリングにおける Arf GTPase 活性化因子 Glo3p のイメージング解析

○小林 宣<sup>1)</sup>、河田 大樹<sup>1)</sup>、長野 真<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

Arf タンパク質は低分子量 GTPase ファミリーの一つであり、細胞膜、ゴルジ体、およびエンドソームにおいて被覆小胞の形成に関与している。出芽酵母の Arf GTPase 活性化タンパク質 (GAP) の一種として知られる Glo3p はゴルジ体において Arf1/2p を制御し、COPI 被覆小胞による逆行性輸送に関わっていることが知られている。しかし、細胞膜タンパク質のトランスゴルジ網 (TGN) を介したリサイクリング経路における Glo3p の役割については不明な点が多い。私達は、以前の研究において、GLO3 遺伝子欠損変異体 (*glo3Δ*) では、細胞膜受容体のリサイクリングに異常が生じていること、またその結果、受容体がリソソーム/液胞へ誤輸送されていることを明らかにした。Glo3p には Arf1/2p の GDP 型への変換を仲介する GAP ドメインと、積荷や SNARE に結合する BoCCS 領域が存在する。本研究において、私達は Glo3p の各ドメインの欠損がリサイクリング経路に与える影響を調べた。その結果、GAP ドメイン変異体と BoCCS 領域変異体の両方で細胞膜受容体の細胞膜への輸送に異常が生じている事を明らかにした。また、後期エンドソーム-TGN 間のマーカータンパク質の局在を調べたところ、GAP ドメイン変異体と BoCCS 領域変異体の双方でエンドソーム-TGN 間の輸送が阻害され、受容体が液胞へ誤局在していることが分かった。これらの結果からどちらのドメインもリサイクリング経路における後期エンドソーム-TGN 間の輸送に必須であることが示された。さらに BoCCS を欠損した Glo3p が細胞質に拡散したことから、BoCCS 領域が Glo3p のゴルジ体への正常な局在に必要なことが示唆された。

## FYVE ドメインタンパク質 Pib2p のバイオイメージング解析

○瀬戸 貴成<sup>1)</sup>、仲田 瑛亮<sup>1)</sup>、富田 剛史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

FYVE (Fab1, YGL023, Vps27, EEA1) ドメインは約 60-70 アミノ酸残基からなるシステインリッチな亜鉛結合ドメインであり、酵母からヒトに至る真核生物において約 300 種類以上同定されている。FYVE ドメインは細胞膜成分であるホスファチジルイノシトール 3 リン酸(PI(3)P)に結合し、このドメインを有するタンパク質は様々な細胞内輸送経路に関わっていることが明らかにされている。出芽酵母において、FYVE ドメインを持つタンパク質は 5 種類存在し、Vac1p, Vps27p はエンドソーム-液泡間の輸送に関わること、また Fab1p は PI3P5 キナーゼであることが報告されている。さらに Pib1p(PI(3)P-binding protein1)は E3 ユビキチンリガーゼであり、エンドソームと液胞膜に局在することが報告されているが、Pib2p については、その局在および機能は不明である。本研究において、私達は Pib2p の C 末端に GFP を付加し、その内在性局在を調べ、Pib2p は液胞膜に局在することを明らかにした。また、*PIB2* 遺伝子欠損変異体について、その細胞内輸送経路に与える影響を調べた結果、エンドサイトーシス経路における小胞輸送に遅延があることが分かった。さらに Pib2p のエンドサイトーシス経路における役割を明らかにするために、エンドサイトーシス関連遺伝子と *PIB2* 遺伝子の二重欠損変異体を作製し、その生育およびエンドサイトーシス経路への影響を調べた。この結果、Pib2 変異体は、HOPS サブユニットなどのエンドソームタンパク質をコードする遺伝子との 2 重変異体により、相加的な異常を示すことが分かった。これらのことは Pib2p がエンドソーム経路における、後期-液胞間輸送に関わっていることを示唆している。

## アクチン重合制御因子 Srv2/CAP とコフィリンによる クラスリン仲介型エンドサイトーシスの協調的制御機構

○堀込 知佳<sup>1)</sup>、岡田 明日香<sup>1)</sup>、益田 淳史<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

エンドサイトーシスは細胞が外界の物質や細胞膜成分を細胞内へと取込む機構であり、細胞膜の陥入により形成されるクラスリン被覆小胞 (CCV) を介して起こる。近年の研究において、CCV の形成、および細胞内への輸送はアクチン細胞骨格を介して行われることが明らかにされている。また、私達は以前の研究において、これらの過程において単量体アクチン結合タンパク質である Srv2p が関与していることを明らかにした。Srv2 は HFD、CARP という異なる機能を持つアクチン結合ドメインを持ち、これらのドメインを介して、ADP-アクチンからコフィリンの解離、およびプロフィリンを介した ATP-アクチンへの変換を促進することによりアクチンフィラメントのターンオーバーを調節している。本研究において、私達は Srv2 タンパク質のドメイン欠損変異体を作製し、そのエンドサイトーシスにおける機能を解析した。CARP ドメインを欠失した変異体におけるエンドサイトーシスへの影響を調べた結果、小胞の形成、および細胞内への輸送過程に著しい遅延が認められた。これに対して、HFD ドメインの欠損変異体では主に、細胞内への輸送過程に異常が見られた。Srv2 は HFD ドメインを介してコフィリンと結合し、活性化することが報告されている。このため、HFD ドメインの欠損変異体と Cofilin の局在を比較したところ、Srv2p とコフィリンの共局在が顕著に低下していることが分かった。これらの結果より、Srv2p は HFD ドメインを介したコフィリン活性の調節が、CCV の細胞内への輸送過程において重要であることが示唆された。また、CARP ドメインを介したアクチンのヌクレオチド変換が、クラスリンの形成過程において重要であることが明らかとなった。

## クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるホスホイノシチド(PIs) および PI4 キナーゼ Stt4p のイメージング解析

○山本 航<sup>1)</sup>、十島 純子<sup>2)</sup>、十島 二郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理大・基礎工・生物工、<sup>2)</sup> 東京工科大・教養学環

ホスファチジルイノシトール (PI) は細胞膜内に微量に含まれる脂質であり、様々な PI キナーゼによりリン酸化されイノシトールリン脂質になる。いくつかのエンドサイトーシス関連タンパク質は ENTH ドメインなどの PIP2 結合ドメインを有しており、PI(4,5)P2 に依存してエンドサイトーシスを制御している。細胞内輸送におけるイノシトールリン脂質の重要性は広く知られており、特にエンドサイトーシスにおいては PI(4,5)P2 を中心とする、リン脂質の代謝が必要であることが報告されている。細胞膜に含まれる PI4P は PI(4,5)P2 をつくるための中間代謝物であると考えられている。出芽酵母には 3 種類の PI4 キナーゼ (Stt4p, Pik1p, Lsb6p) をコードする遺伝子が存在する。PI(4,5)P2 のエンドサイトーシスにおける役割はこれまでに明らかにされているが、Stt4p または Stt4p より産生される PI4P のエンドサイトーシスにおける重要性はまだ明らかにされていない。クラスリン仲介型エンドサイトーシスは、細胞膜への集積より開始され、その後 60 種類を超えるタンパク質間の相互作用により、被覆小胞の形成・成熟および取り込みにより起こる。これらの中で、クラスリンアダプタータンパク質は ENTH もしくは ANTH と呼ばれるドメイン構造を有している。このドメインを有する 5 種類のタンパク質 (Ent1p/2p, Yap1801p/ 1802p, Sla2p) は PIs を介して、細胞膜にリクルートされ、初期段階のクラスリン小胞形成に寄与する。私達は過去の研究において、STT4 遺伝子ノックダウン (*stt4 kd*) 細胞では、クラスリン被覆ピットへの積み荷の輸送に異常が生じることを明らかにした。また、私達は *stt4 kd* 細胞における ENTH/ANTH ドメインを有するタンパク質への影響解析を行ったところ、これらのタンパク質の局在または細胞膜への集積時間に異常を生じることを明らかにした。これらの結果は、Stt4p による PI4P の産生がクラスリン被覆小胞の一部に関与し、積み荷のクラスリン被覆ピットへの輸送を制御することを示唆している。

■ 公開講座 ■

「私たちの暮らしとバイオイメージング

～見えるからわかるバイオの世界～」

あきらめない雌しべ：秘められた花の力を映像で解き明かす

○東山 哲也<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所、<sup>2)</sup> 名古屋大学大学院理学研究科、  
<sup>3)</sup> ERATO 東山ライブホロニクスプロジェクト

花の力は、人類に欠かせません。花から作られる穀物は、70 億人を突破した人類の食糧を支えています。花の美しさや香りによる癒しの力も大切です。そもそも花は何のために咲くのでしょうか。それは、受精により種子を作るために他なりません。花粉が雌しべにつくと種子や果実が実ることは、多くの皆さんが知っていると思います（図1）。古代アッシリアの彫像にも、ナツメヤシの雄花を雌花につける儀式の様子が



図1. 植物の受精で作られる穀物、野菜、果実

描かれています。しかし、裸の卵と精子で行われる動物の受精に比べて、雌しべの組織内部で行われる複雑な受精の様子やしくみは、長いあいだ明らかにされませんでした。

私たちは、リアルタイムで植物の受精を研究することに取り組んできました。たとえば、花粉から伸長する花粉管という細胞が、卵組織にガイドされる花粉管ガイダンスについて、ライブイメージングと鍵分子の同定に成功してきました。花粉管は、卵細胞のとなりには2つある助細胞という細胞が分泌する誘引物質「ルアー」により、正確に誘引されます（図2）。ライブイメージング（またはライブセルイメージング）とは、生きた細胞をもちいて、生命現象を映像としてとらえる解析技術です。生きた細胞の挙動を映像で捉えることで背後にひそむ生理活性分子の存在を明らかにし、生きた細胞を用いた解析によりその分子が何かを同定できます。このようなアプローチを私たちはライブセル生物学と呼んでいます。ライブイメージングを基盤に、化学や工学の研究者とも連携しながら新しい研究が展開しています。こうした研究から次々に明らかになってきているのが、1つ

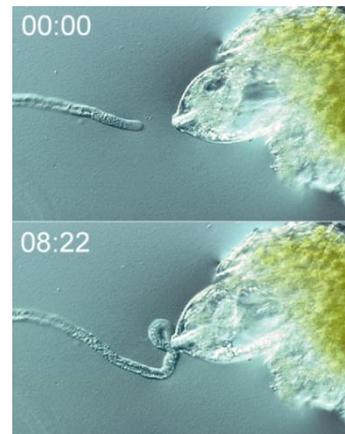


図2. 卵組織に誘引される花粉管（数字は分：秒）

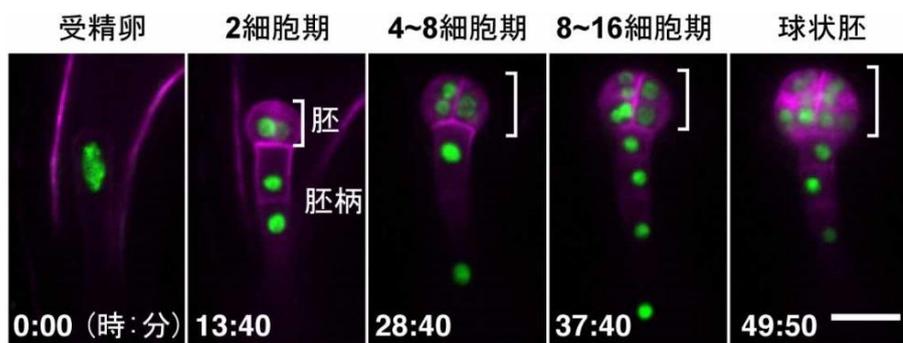


図3. 種子内部で受精卵が分裂する様子

## K-1

でも多くの種子をつけようと、あの手この手で対応する雌しべの力です。複数の鍵分子を使いながら、雌しべは花粉管を卵に導きます。花粉管が到達しても、花粉管が放出した精細胞（動物の精子と違い自ら泳ぐことはできない）が受精に失敗すると、別の花粉管をおびき寄せて受精を回復します。一方、受精に成功すると、細胞融合という驚くべき方法で、助細胞の誘引機能を停止します。さらには、種子内部で受精卵の分裂する様子を捉えて解析を進めたところ（図3）、受精卵から生じる大切な細胞を失っても、細胞の運命転換という離れ業で、胚の発生を回復することもわかりました。こうした雌しべの知られざる能力が、最先端技術で捉えた映像から、次々と明らかになってきているのです。今後さらにその分子的背景の理解や、農業への応用とつながっていくものと期待しています。本講演では、こうした最新の知見を、映像とともに紹介したいと思います。

## 見えないものを見る： 画像処理によるバイオイメーjingの展開

○横田 秀夫

理化学研究所・光量子工学研究領域・画像情報処理研究チーム

百聞は一見にしかず。観察は科学の窓口といいます。では、皆さんは物を見るときにどの様になっているのでしょうか。目で見ると答える方が多いのではないのでしょうか。ものを見るためには、目を使います。また、小さなものを見るためには、虫眼鏡や顕微鏡を使って、眼の機能を補助します。見ることをもう少し細かく考えると、眼を使って、網膜に写った画像を電気信号として視神経を通して、脳に伝えます。脳に伝わった信号は、脳の中で認知識別され、目の前にものが有ると初めて理解するのです。つまり、イメージングとは、映像を見るだけではなく、脳で理解できるようにする“観る”事が出来るまでの行程、可視化一般を指しています。近年、バイオイメーjingの分野では、顕微鏡技術や映像デバイスの技術革新に伴い、これまでに視ることが出来なかった現象を観察することが出来るようになりました。

従来、写真として撮影されてきた顕微鏡の観察画像は、レーザー顕微鏡などの新たな装置の出現により、単なる画像を得るのではなく、X,Y,Z の 3 次元空間における物理量を定量収集する装置に進化しています。これらの計測データは 3 次元空間に時間軸を付加した 4 次元などの多次元数値情報に拡大しています。一方、この情報を見て判断するヒトは、画像を見る器官は眼で、対象物の表面までの色と距離情報による 2.5 次元に限定されています。そのために、脳の認知システムも 2.5 次元の情報に特化しているために、3 次元、4 次元、5 次元などの多次元情報を直接判断する事は困難です。また、計測装置の進展により、顕微鏡により得られる情報量は 1 日に数百 GB もの大量のデータが生み出されるようになってきました。そのために、バイオイメーjingの分野では、計測装置から生み出される情報を人が目で見て判断する能力を遙かに凌駕しています。我々は、この問題を解決する手段にはコンピュータによる画像処理技術しか無いと考えている。多次元のバイオイメーjingデータをヒトが判断できる情報に作り替えて、現象を理解するためには、画像処理を基盤とした Bio image recognition の技術を確認することが必要であると考えます。私たちの研究グループでは、Making the invisible visible を標語に、複雑な生命現象に対して、バイオイメーjingデータを通じて可視化する仕組みを開発している。本シンポジウムでは、我々が開発している機械学習や情報処理を駆使した画像処理技術と解析結果についても紹介する。

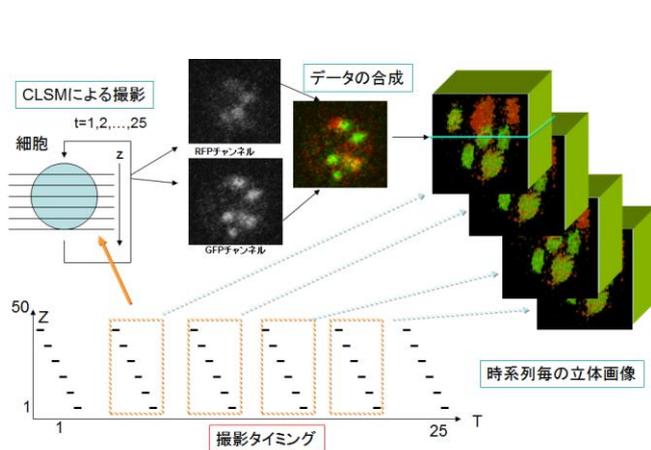


Fig.1 多次元バイオイメーjingデータ

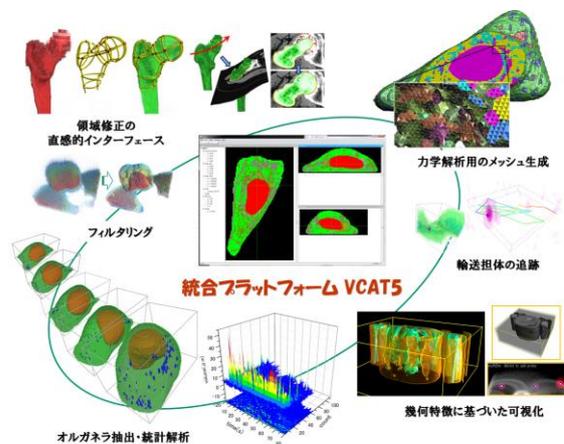


Fig.2 画像処理統合プラットフォーム

## K-2

また、これらの画像処理の結果を可視化して、理解するための方法として、web ベースの3次元図鑑の開発を行っている。このシステムは、3次元のボクセルデータ（色つきのさいころの集合）に対して、3次元画像として表示したり、特定の部位を画像処理により抽出して表示する機能、さらには、任意の断面をユーザーが可視化することが可能である。我々は、未来の3次元図鑑として、システムを開発して、無償で公開をしている。インターネットのweb ブラウザーであるインターネットエクスプローラーのプラグインとしてプログラムを開発し、データとシステムを公開しており、Windows のPCで簡単に観察対象を可視化することが可能である（図3、4）。理化学研究所の広報のホームページから公開をしているので、興味のある方はご自分のPCで試して欲しい<sup>3)</sup>。シンポジウム会場では、立体的がねと組み合わせた飛び出す立体図鑑として公開をする。是非とも未来の図鑑を体験していただきたい。



Fig.3 なかみが見える 3D 図鑑 HP(理研広報ページ)

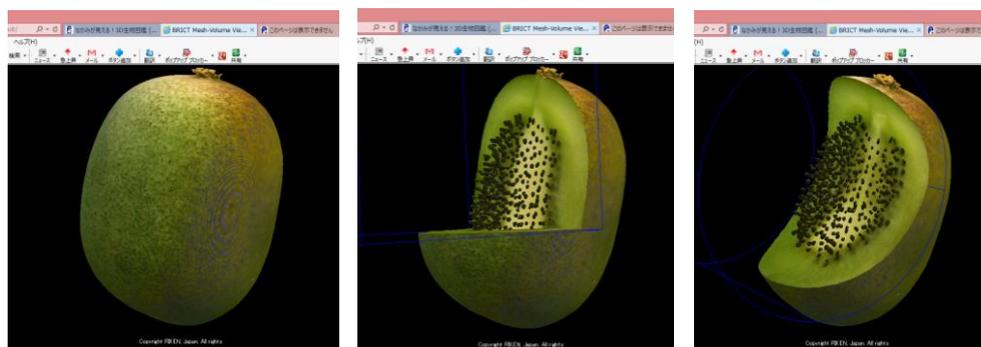


Fig.4 キューイフルーツの可視化結果

- 1) T. Ijiri, H. Yokota "Contour-based Interface for Refining Volume Segmentation" Computer Graphics Forum, 29,7,pp.2153-2160. (2010)
- 2) M. Morita, et al. "Communication Platform for Image Analysis and Sharing in Biology", Int. J of Networking and Computing, 4(2):369-391, 2014.
- 3) <http://www.riken.jp/pr/fun/3d/plung/>

## イラストがいざなう科学の入り口

○ウチダヒロコ<sup>1,2)</sup><sup>1)</sup>イラストレーター、<sup>2)</sup>神戸大学内海域環境教育研究センター

イラストはさまざまな自然現象の仕組みや自然物そのものを視覚的に表現する手法として、科学分野においても重要な役割を持っています。それらは、私たちが普段目に見ているものから、世界中でまだ誰も見たことのないものまで、あらゆるものを形にします。恐竜やアンモナイトのような絶滅した古生物、肉眼では見えないミクロの生物や化学物質の分子構造、なかなか目にする機会のない人体の内部構造や病巣の様子、宇宙・深海・極地といった極限環境にある物質や生命、言葉と数字だけで書き表された概念—こうした「普段目にするものの出来ないモノの形」を可視化し、人々が知識として共有する手助けをすることが、イラストの持つ大切な役割の一つです。また、イラストはその多様な表現手法によって、数多の情報とそこに広がる世界観を同時に人々へ伝えます。私たちは日々さまざまなイラストを通して、科学の世界に触れているのです。

お気づきの方も多いでしょうが、科学の入り口は非常に身近なところにあります。幼児向けの絵本には、動物・植物・鳥・昆虫などが色鮮やかに描かれ、子どもも大人もワクワクさせてくれます。動物園・植物園・水族館・科学館・博物館などでは、展示物の説明のためにたくさんのイラストが掲示されているでしょう。図鑑や辞書にも、言葉と写真だけでは説明のできない現象を分かりやすく解説するためのイラストが数多く載っています。病院へ行けば廊下や待合室に、病気のしくみと予防方法を紹介したイラストのポスターがいくつも貼ってあるはずですが。(ちなみに医学の分野では、メディカルイラストレーションという独立したジャンルが確立されています。)小学校・中学校・高校の理科の教科書や資料集を開けば、そこには「児童・生徒らに、より親しみを持って自然科学を学んでもらうため」の工夫を凝らしたイラストがちりばめられています。こうしたイラストを専門に描いているのが、サイエンス・イラストレーターと呼ばれる人々です。サイエンス・イラストレーターは、ただ自然科学のイラストを描くだけではなく、描く対象となる自然科学を専門的に学び、イラストを通して科学と社会をつなごうと日々努力しています。もちろん、そこにはイラストと自然科学、双方への強い愛情があります。本講演では、こうしたサイエンス・イラストレーターの仕事とともに、職業人として科学分野にどう関わりを持とうとしているのかを、さまざまな作品例とともにご紹介します。

科学分野のイラストは、ただ見た目が美しいだけでは成り立ちません。科学的に正しい内容が盛り込まれ、最新の知見をふまえて可能な限り正確に描く必要があります。そのために、さまざまな資料を集め、ときにはその研究分野の専門家とともに描く内容を検討し、どうすれば正確かつ分かりやすい形に表現できるかを考え抜きます。その最たる例が、教科書にある模式図のようなイラストです。理科という学問に初めて真正面から向き合う子ども達には、かならず科学的に正確な内容を伝えなければなりません。最初に間違った知識を得てしまうと、それを訂正することは非常に困難だからです。したがって、教科書用のイラストを描く際には細部の表現までとても気を遣いますし、分かりやすさと正確さのバランスが上手く取れるよう、執筆・監修担当の先

### K-3

生と出版社の編集者、サイエンス・イラストレーターが連携して、ひとつひとつの図を丁寧に描きあげます。また、研究分野の進展に合わせて教科書の内容が変わる場合には、イラストもそのつど描き変えることになります。

例えば、これまで細胞内の微細構造は、多くの研究者やイラストレーターによって描かれてきました。教科書や事典などで紹介される細胞の模式図は、さまざまな研究結果をもとに少しずつ改良が加えられ、より実物の形や働きを視覚的に読者へ伝えるよう、常に工夫がなされています。ひとくちに「細胞」といっても、その形と働きは生き物の種類や体の場所によって大きく異なります。それらを一つの細胞の絵にまとめるためには、「どの種類の細胞をモデルにするべきか」「どの微細構造を描き、どの微細構造を省くべきか」「平面的に描くべきか、立体的に描くべきか」「どのような質感に仕上げるべきか」などの試行錯誤を繰り返しながら、より良いイラストを模索しなければなりません。私が今までに描いてきた細胞の模式図も、構図や微細構造の配置等にまだまだ改良の余地があり、この先ずっと表現方法の工夫を続けていく必要があります。

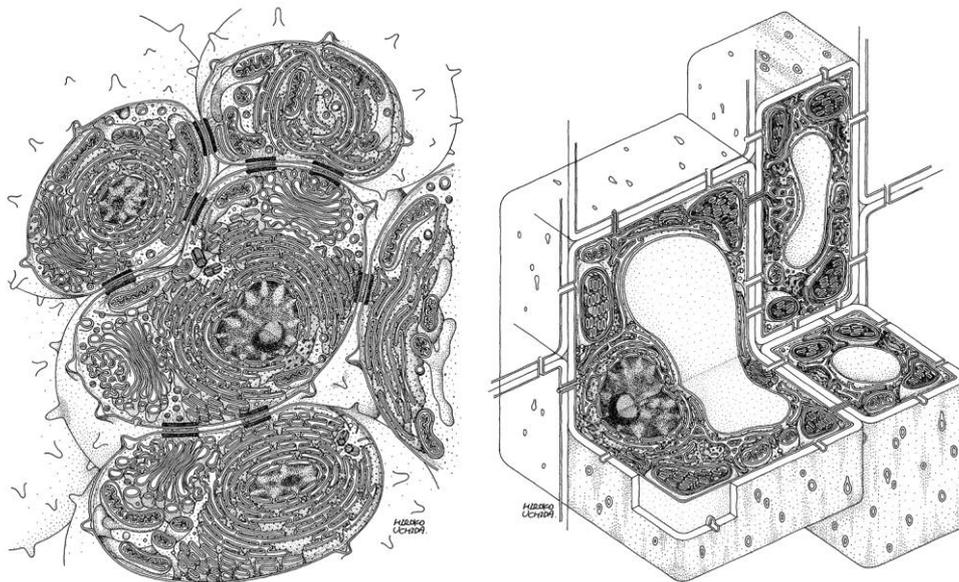


図1 模式的に描いた細胞 (左:動物細胞の特徴をまとめた図、右:植物細胞の特徴をまとめた図)

バイオイメージング技術の進歩は、科学分野のイラストに多大な恩恵をもたらしました。サイエンス・イラストレーターは、イラストにおいて「自然現象を正確に描き表す」ことを第一義としているため、基本的に見たことのあるものしか描けません。見たことのないものは、いかに努力をしても正確には描きようがないのです。まだ顕微鏡が発明されていなかった時代、生物が細胞で出来ているという事実を、当時の人々が知る由はありませんでした。顕微鏡が発明され、改良を重ねるごとに「見る技術」は飛躍的に進歩し、これまで知ることのできなかつた自然現象が次々と発見されるようになります。より小さいものをより鮮明に、見る術さえなかつたものをこの目で捉えるための技術は、まさに研究者と技術者の執念の賜物です。そうして私たちの前に提示された新たな知見をもとに、サイエンス・イラストレーターはイラストを描いています。

## 生物発光が拓く未来の生活

○永井 健治

大阪大学産業科学研究所

地球上にはホタルをはじめヤコウタケやオワンクラゲ等々、無数の発光生物が存在することが知られています。多くの場合ルシフェラーゼと呼ばれる酵素タンパク質がルシフェリンと呼ばれる発光物質に酸素を結び付ける事で光ることが明らかになっています。今では、ルシフェラーゼを遺伝子工学技術で改変すると、<sup>ほの</sup>仄かな光を<sup>きら</sup>煌めく光に変えることができます。また、光る色を変えることだってできるのです。このような技術を我々の生活に応用しない手はありません。本講演会では、私たちの研究室で進めている生物発光の生命科学研究への応用のみならず、電力を必要としない次世代照明灯 LEP の開発について紹介し、30 年後の未来社会に皆さまをいざないたいと思います。

### 参考文献、新聞報道等

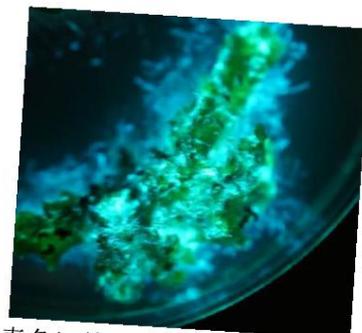
1. 永井健治「なぜなぜ生物学」日本分子生物学会編, 第 12 章, 153-167, 2010
2. 中野雅裕、永井健治「肉眼でも観察できる！3 色（水色、黄緑色、橙色）の高光度発光タンパク質」O plus E, 428, 505-506, 2015
3. 永井健治、齋藤健太、初谷紀幸「化学発光タンパク質の高輝度化とバイオイメージングへの展開」顕微鏡, 48, 1-3, 2013
4. 「がん細胞を肉眼で、光るタンパク質開発-阪大」読売新聞、2012 年 12 月 14 日
5. 「明るく光るコケを開発」日本経済新聞、2014 年 12 月 1 日
6. 「究極のエコ 光る街路樹」読売新聞、2015 年 3 月 23 日



ヤコウタケの生物発光



様々な色の光を放つ化学発光タンパク質“ナノランタン”



青色に煌めくナノランタンの遺伝子が導入されたゼニゴケ

## いのちが透けてみえるミジンコから思うこと

○坂田 明

ミュージシャン、東京薬科大学生命科学部客員教授  
広島大学大学院生命圏科学研究科客員教授

### 講演要旨：

- 1、 わ、ミジンコだ！美しい！凄い！感動！
- 2、 いのちが透けてみえる！！！！ 体が透明だから！
- 3、 ミジンコはミジンコをしている。学校にも行かないし親も何も教えないけど、立派に生きています。 では人間はどうなのか？
- 4、 コップの中に宇宙が見えた。びっくり！！！！！！
- 5、 ミジンコとは何か。漢字で書くと微塵子！甲殻類 エビやカニの仲間である。
- 6、 プランクトンとは？ 日本語では「浮遊生物」という。他は遊泳生物と底生生物である
- 7、 今日も楽しく暮らすミジンコたち：動画
- 8、 ミジンコの採集： ミジンコは湖沼、河川、海洋、世界中のあらゆるところに棲息している
- 9、 今年の外房御宿での採集観察風景 動画
- 10、 ミジンコの大きさは？ 多くは1mm～3mmの間にいるが・・・
- 11、 ミジンコは食べられても食べられても滅びない。そのわけは？？
- 12、 ミジンコの生殖の仕方は二通りある。処女生殖と両性生殖の両方を行い種を存続させてきた。
- 13、 其々の種は種の都合で生きている。あなたにはあなたの都合がするように
- 14、 ミジンコに愛は通じない。実はほとんどの愛は幻想かもしれない。
- 15、 生物多様性とはせめぎあいであり、支え合う関係である。多様性とはすなわち“豊かさ”のことである。
- 16、 人間はいったい何をしているのか????????
- 17、 なぜかわからないけど夕焼けを見ると美しいと感動する。  
人間以外の生き物はすべて“黙って生きている”  
この世に生まれたものは、加齢とともにエントロピーが増大して死ぬ。
- 17、 私たち一人一人はいつもジグソウパズルの一コマのように役割を持って生きている。安心して死ぬまでじたばたしましょう。

K-5



*Daphnia ezoensis*(エゾハリナガミジンコ)♀ 体長 1.6 mm

## ■特別展示のご案内■

### ■ 1. 公開講座実験・特別展示

K-5 : 忍足 和彦<sup>1)</sup>、奥 修<sup>2)</sup>、田中 亨<sup>3)</sup>、坂田 明<sup>4, 5), 6)</sup>

1) グレンデル、2) ミクロワールドサービス、3) カールツァイスマイクロコピー(株)、  
4) ミュージシャン、5) 東京薬科大学・生命科学部、6) 広島大学大学院・生物圏科学研究科  
「顕微鏡の世界の覗いてみよう！」

L-1 : 東京理科大学

「東京理科大学のご案内」

「東京理科大学理工学部応用生物科学科のご案内」

L-2 : 東京理科大学理工学部応用生物科学科朽津研究室

朽津和幸（東京理科大学理工学部・教授）他

バイオイメーjing体験実験

「自分の DNA を見てみよう！」「光るクラゲ、青いカーネーションを見ながら、バイオテクノロジーについて考えてみよう！」

### ■ 2. 公開講座および学術集会特別展示

G-1 : 岩崎秀雄（早稲田大学理工学術院・教授）ほか

「metaPhorest: バイオメディアアートの今日的試み」

G-2 : 横田秀夫（理化学研究所光量子工学研究領域・チームリーダー）

バイオイメーjing体験「なかみが見える！3D 生物図鑑」

G-3 : 東京理科大学総合研究院・イメージングフロンティアセンター

「東京理科大学総合研究院・イメージングフロンティアセンターのご紹介」

G-4 : クドウミツコ（立教大学理学部・特任准教授）

「研究者イメージング～研究コンセプトをイラスト化」

G-5 : ウチダヒロコ（イラストレーター）

「イラストがいざなう科学の入り口」

G-6 : 佐々木克友（農業・食品産業技術総合研究機構花き研究所）ほか

「光る花の開発—樹脂標本および動画の展示—」

## 顕微鏡の世界を覗いてみよう！

忍足 和彦<sup>1)</sup>、奥 修<sup>2)</sup>、田中 亨<sup>3)</sup>、坂田 明<sup>4,5)</sup>

<sup>1)</sup> グレンデル、<sup>2)</sup> ミクロワールドサービス、<sup>3)</sup> カールツァイスマイクロスコピー(株)

<sup>4)</sup> 東京薬科大学・生命科学部、<sup>5)</sup> 広島大学大学院・生物圏科学研究科

1600 年代にレーベンフック、ロバートフック、ヤンセン親子が顕微鏡を発明したことにより、それまで肉眼では見る事が出来なかったミクロの世界を観る事ができるようになりました。初期の顕微鏡観察で有名な発見として、ロバートフックが 1665 年に発刊したミクログラフィアという図譜で示した「コルクを観察して小さな部屋がいっぱいあるのを見つけ、それを Cell (細胞) と名付けたこと」や、レーベンフックが「シングルレンズの顕微鏡で微生物を発見したこと」などをご存じの方も多いのではないでしょうか。

光学顕微鏡は 1800 年代後半にエルンスト・アッペが理論的な定義づけをしたことをきっかけに飛躍的に進歩し、新たな光学系や試薬の開発、記録装置などの周辺機器も進歩を重ねて現在でも iPS 細胞をはじめ多くの最先端研究で欠かせない存在となっています。

今回の展示ではレーベンフックの顕微鏡 (レプリカ) をはじめ倍率 1.6 倍のヘッドルーペ、数倍から 50 倍程度の実体顕微鏡、数十倍から数百倍程度で子供でも簡単に覗けてスマートフォンや携帯電話のカメラでも撮影ができる簡単な顕微鏡や、研究者が実際に研究所で使っている顕微鏡などで様々な倍率や観察方法をご案内します。普段は写真でしか見られないミジンコや、ボルボックスの生き活きとした姿や、0.1 ミリメートル以下の珪藻や放散虫を手作業で並べたプレパラートのアートなど、「ミクロのワンダーランド」をご自身の眼で感じていただきたいと準備しています。

また、公開講座の坂田明さんの講演でご紹介するミジンコ等の画像がいかにかに撮影されたか。今年の春に千葉県御宿の海沿いのホテルに顕微鏡を持ち込んで撮影した「ミジンコ合宿」の舞台裏の様子もご紹介いたします。 <参考 URL>グレンデル <http://www.grendel-j.com>

ミクロワールドサービス <http://micro.sakura.ne.jp/mws/>



図 1. ミジンコ (暗視野像)



図 2. 珪藻アート (明視野像) 幅 約 2mm

## バイオイメージング体験実験「自分の DNA を見てみよう！」

朽津 和幸<sup>1,2)</sup>、朽津研究室の愉快的仲間たち<sup>1)</sup>

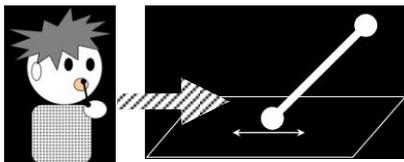
<sup>1)</sup>東京理科大・理工・応用生物科学、<sup>2)</sup>東京理科大・イメージングフロンティアセンター

### 1. 「自分の DNA を見てみよう！」

自分の体の設計図である遺伝子は、DNA という物質でできています。DNA ってどこにあるのでしょうか？自分の体の細胞を取り、DNA を光らせ、蛍光顕微鏡を使って、自分の DNA を実際にこの目で見てみましょう。痛くないから大丈夫ですよ！(笑)自分の DNA を記念撮影しましょう！そして、生命の神秘やバイオテクノロジーについても考えてみましょう！

### ～実験の方法～

- ① 綿棒でほっぺの裏を軽くなでて、細胞を掻き取る。      ③ 蛍光顕微鏡で観察する。



- ② 取った細胞をスライドガラスに乗せて固定液と DNA 染色液をたらす。



### 2. 光るクラゲ、光る花、青いカーネーションを見てみよう！

2008年にノーベル化学賞を受賞された下村脩博士が発見されたオワンクラゲの蛍光タンパク質 GFP は、遺伝子工学技術を使ってありとあらゆる生物のバイオイメージング研究に応用されています。生きたオワンクラゲを光らせて、GFP の蛍光を観察してみましょう！(協力：山形県鶴岡市立加茂水族館 館長 奥泉 和也 氏)

遺伝子工学技術を応用して開発された、「光る花」(展示 G-6; 農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所 佐々木 克友 博士) や、「青いカーネーション」(サントリー 田中 良和 博士 提供) を観察しながら、バイオテクノロジーやバイオイメージングの未来について考えてみましょう！

# G-1

## metaPhorest: バイオメディアアートの今日的試み

○metaPhorest (生命美学プラットフォーム, 早稲田大学岩崎秀雄研究室)

[info@metaphorest.net](mailto:info@metaphorest.net)



AKI INOMATA

『やどかりに宿をわたしてみる』

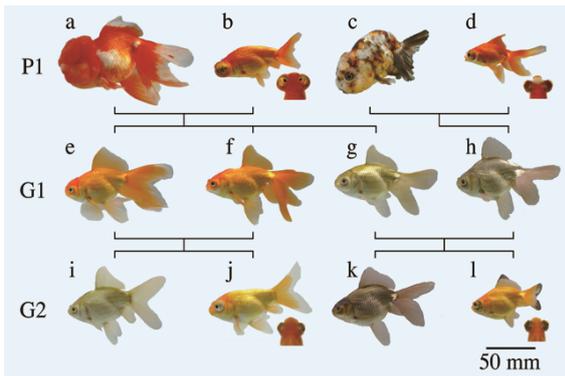
[www.aki-inomata.com](http://www.aki-inomata.com)



石塚千晃

『<Form> Synthesis』

[www.iamas.ac.jp/exhibit15/works/student/ishizuka](http://www.iamas.ac.jp/exhibit15/works/student/ishizuka)



石橋友也

『金魚解放運動』

[www.roomie.jp/2015/04/247350](http://www.roomie.jp/2015/04/247350)



岩崎秀雄

『Culturing <Paper>cut』

<https://vimeo.com/120692060>



斎藤帆奈+吉岡裕記

『Time-Poiesis』

<http://timepoiesis-jpn.tumblr.com>



BCL (Georg Tremmel, Shiho Fukuhara, Yuki Yoshioka)

『Common Flowers White Out』

<http://bcl.io/project/whiteout>

## G-1

私たち metaPhorest は、生命科学や生命論の展開を参照しつつ、「生命」を巡る美学・芸術（生命美学）の実験・研究・制作を行うためのプラットフォームです。2007 年から、早稲田大学先端生命医科学研究施設（TWIns）の生命科学系の研究室に設置されています。「生命とは何か？」という間に根源的な興味を持つアーティスト・表現者が、比較的長期に亘って滞在し、生命科学研究の現場で、実験設備やセミナーなどを科学者たちと共有しながら、それぞれの研究・創作活動するための機会を提供しています。

生命の探究は、生物学が制度化する 19 世紀より遙か昔から、哲学や芸術の主題であり続けてきました。生命を巡る視点と、アートを巡る視点には、本質的な共通点があるように思えます。たとえば、日常のコミュニケーションにおける生命概念は、「かけがえのなさ」「本質」「ぬくもり」「きらめき」といった「印象」と不可分です。それは、ある作品や造形に出会ったときに、それをヴィヴィッド（生命的）なものとして感得できるか、という状況と殆どパラレルなのではないか。こういった体得的生命観を、単に「個人の主観性・恣意性」として捉えることには限界があります。むしろ広い共同体・歴史・思想の中で緩やかに共有されているものとして捉えることが適切でしょう。つまり、これは主観の問題というより、私たちを取り巻く（そして私たち自身が生きている）文化的条件・文脈の問題です。

アートと学芸の本質的な共通点は、それが「世界をどう認識し、どう表現するか」を巡る真剣勝負にあります。画像や映像を重視する中で鍛えられてきた生命科学の研究・発表様式は、生物学者・医学研究者が共有する視覚表現文化ですし、「できるだけ単純な方程式で世界を記述したい」とか「主観を極力排除して記述したい」というのも、科学者あるいは研究者と呼ばれる人々が共有する文化（美学）に他なりません。

芸術家・作家の中には、生命科学の進展や、きわめて論理的・数学的な生命の記述様式に強い関心を持つ人々がいます。生命科学・生命理論に着想を得たり、科学技術を取り込んだり、あるいは科学技術の文化的・社会的側面を鋭くえぐりだすような表現を模索するアーティストたちは、いわば現代の生命科学を取り巻く状況のアンテナであるだけでなく、より深い次元で「現代の生命観」の構築と分析に関わりつつあるのです。

今回、大会長のお声がけにより、バイオアートに関する展示をさせていただけることになりました。会期やメンテナンスの都合上、実物を展示することはできませんが、映像に纏めたものと、ポスターで展示をさせていただきます。バイオイメージングでアートと言うと、美しい蛍光顕微鏡写真や画像を連想する方が多いかもしれません。しかし、表面的なヴィジュアルの美しさよりも、僕たちの既存の感覚や見方にちょっと揺さぶりをかけたり、捉えなおしてみたりすることにこそ、芸術的な価値はあります。新たな生命像を指し示す試みであればこそ、バイオイメージング学会での数々の研究発表は既に十分に表現文化の最先端の試みであるでしょう。それに加えて私たちが展示する意義があるとすれば、科学的な成果の二次使用ではない、オルターナティブな生命に関する探究の一端を、いくつかご紹介することにあると思いました。なにか感じて頂いたり、考えていただいたり、味わっていただければ、と思っています。

（岩崎秀雄）

## 研究者イメージング～研究コンセプトをイラスト化

○クドウミツコ<sup>1)</sup>、ウチダヒロコ<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 立教大学理学部共通教育推進室、<sup>2)</sup> イラストレーター

文部科学省科学研究費補助事業として進めている新学術領域研究「植物細胞壁の情報処理システム」では、サイエンスコミュニケーションを専門とする班員を広報担当者とし、積極的に国民への成果還元を行っている。活動の柱は、全国を巡回する移動型展示（パネル＋模型＋iPad ゲーム）と領域 HP の2本である。領域 HP は、一般向けと研究者向けの切り替え型となっていて、同じ内容を違う表現で伝えるものになっている。

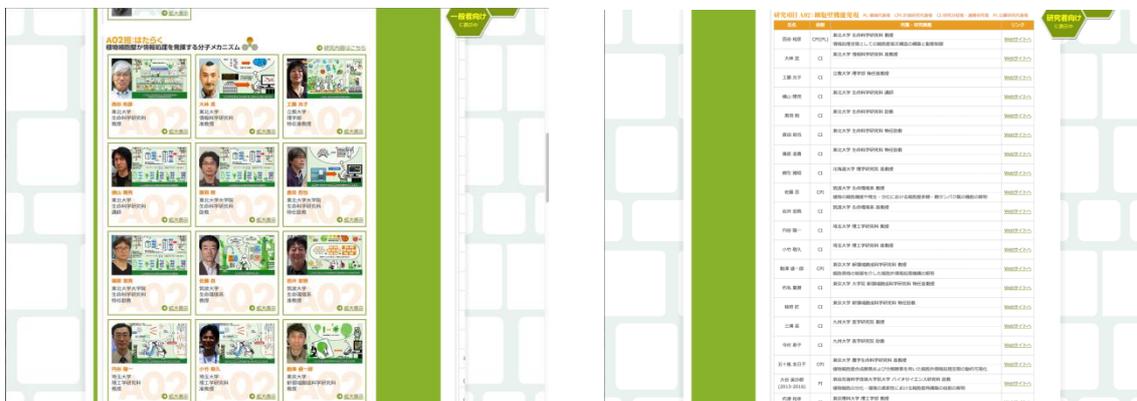


左：東北大学植物園での展示 中：細胞壁のビーズの模型・撮影大西成明 右：北海道大学総合博物館での展示



領域 HP <http://www.plantcellwall.jp> 左：一般向けトップページ 右：研究者向けトップページ

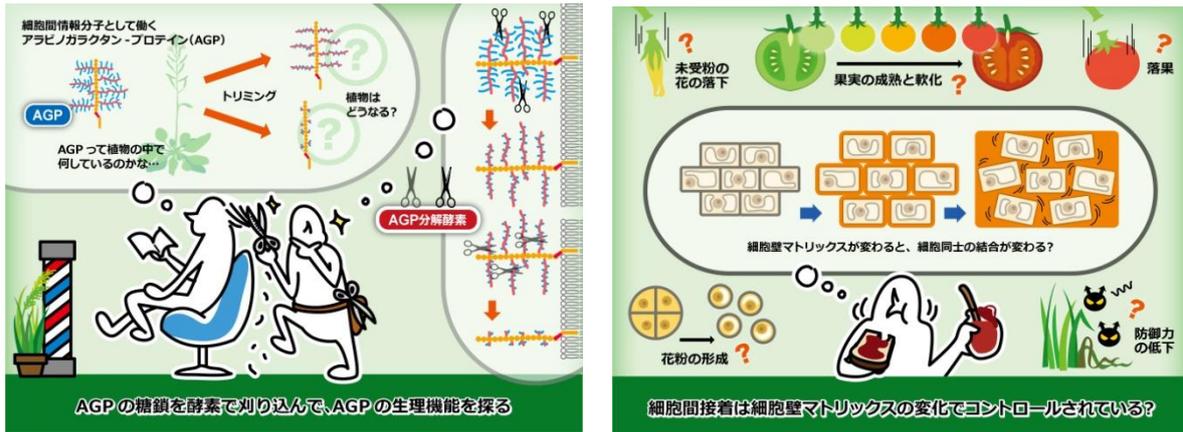
今回は、バイオイメーキング学会ということで、イメーキングはイメーキングでも「研究者イメーキング」を展示する。領域 HP の一般向けとして制作したコンテンツで、計画班員の紹介のイラストを19点一挙に公開する。このイラストは一般の方に、各班員の研究をイメージしてもらいたいと一人一人長時間の取材を行い、イラストを描き起こしてもらったものである。



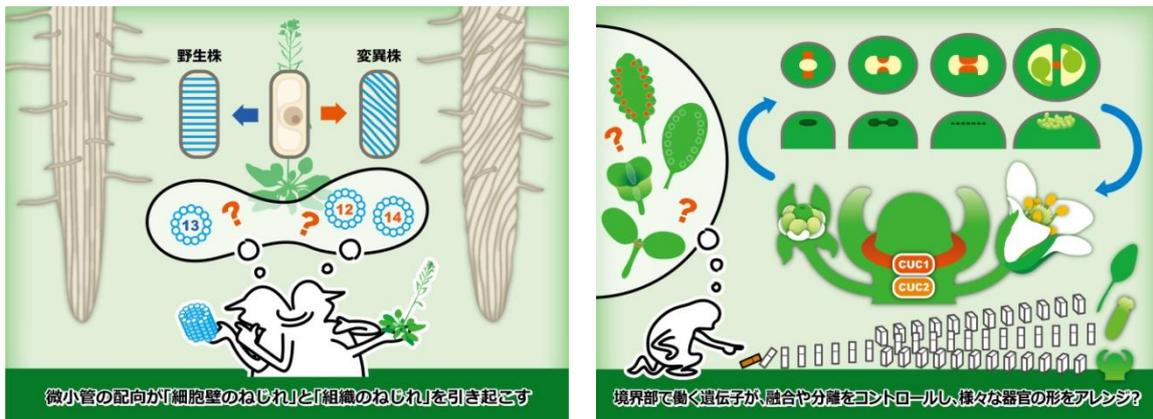
左：一般向け班員紹介 右：研究者向け班員紹介

## G-4

新学術領域とは同じ領域の研究者が集まるものではなく、分野をまたいで班員が集まり新しい学術領域を生み出そうという研究資金だ。その領域が目指すことを理解してもらうためには、個々の班員の研究内容を理解してもらわねば、その先の、集まって目指す新しい領域を想像することは不可能である。しかし、個々の研究内容をつつらと文章で表現しては、イメージがわからないどころか眠くなる。〇〇大学〇〇学部の誰々というだけでなく、少しでも班員の研究内容をイメージしてもらいたいという思いから、説明図でも、イメージ図でもない、研究コンセプトをビジュアル化するという事に挑戦してみた。バイオイメージングならぬ研究者イメージングである。



キャプションを読みながらコンセプトイラストを絵解きしてもらうと、ぼんやりと研究の内容がイメージできれば幸いである。なお、イラスト制作は長期に亘ったため、最初の作品と最後の作品ではイラストに入る文字の量が異なっている。初期はイラストのみで実現したいと考えていたので、文字を極力排除していたのだが、途中から文字を入れるとグンとわかりやすさが増すことが分かり、躊躇せず文字を入れたことを補足しておく。コンセプトイラストが文字入りであるべきなのかどうかは、他の人の似たような作品が出てきたときに考えたい。



初期作品 前出の後半の作品に比べ文字数が極端に少ない。

### 光る花の開発—樹脂標本および動画の展示—

○佐々木克友<sup>1)</sup>、加藤晃<sup>2)</sup>、三島博<sup>3)</sup>、高根健一<sup>4)</sup>、吉岡佐知子<sup>1)</sup>、大坪憲弘<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>農研機構・花き研、<sup>2)</sup>奈良先端・バイオ、<sup>3)</sup>NEC ソリューションイノベータ、<sup>4)</sup>インプラントイノベーションズ、<sup>5)</sup>農研機構・本部

GFP 等の蛍光タンパク質は可視化マーカーとして遺伝子機能解析に生物種を超えて幅広く用いられており、由来する生物種や遺伝子配列への変異導入により様々な波長特性のものが開発されている。一方、これらの蛍光タンパク質を導入した組換え植物では、肉眼で観察可能なほど強い蛍光活性を有する花についてこれまで報告されてなかった。我々は植物での利用に適した蛍光特性を有する蛍光タンパク質を用い、さらには転写および翻訳の効率を同時に改良することで蛍光タンパク質を効率良く植物体に蓄積させて、肉眼での簡易な観察を可能にした『光る花』の作出に成功した。

海洋カイアシ類の *Chiridius poppei* から単離した CpYGFP は、励起極大 509nm で蛍光極大 517nm の波長特性を有した黄緑色の蛍光タンパク質である。一般的なオワンクラゲ (*Aequorea victoria*) の AvGFP と比較して低 pH でも活性が安定していることから、植物での観察に適した蛍光タンパク質と考えられる。この蛍光タンパク質を植物体に高度に蓄積させるため、シロイヌナズナ由来の新型 HSP ターミネーターおよび新型 ADH 翻訳促進因子を CpYGFP に付加した後に（プロモーターには構成的高発現型である CaMV 由来 35S プロモーターを利用）、このコンストラクトを 3 重連結させた CpYGFP 高発現ベクターを開発した。このベクターをアグロバクテリウム法により、夏の花壇用の花としてホームセンター等で一般に流通しているトレニア (*Torenia fournieri*、和名；夏スミレ) の白花系統を用いて組換えトレニアを作出した。

CpYGFP 高発現ベクターを導入したトレニア組換え体では、植物体全体で強い黄緑色の蛍光が観察された。蛍光活性は細胞増殖が盛んな組織で強い傾向が認められたことに加え、花卉においても一般的な青色 LED 光源(470nm)と観察用のフィルターとの組合せにより肉眼での明瞭な蛍光活性が認められた。一方で、観察用フィルターとして透明オレンジアクリル板を用いた場合、野生型トレニアにおいて CpYGFP 由来の蛍光と異なる弱い蛍光（花卉における微弱な蛍光や、葉におけるクロロフィルの赤色蛍光等）が観察されており、『光る花』の観賞性の阻害要素となることが懸念された。我々は『光る花』の実用化に向けてこの問題を解決するため、青色 LED 光源の種類、観察用フィルターおよび励起光源に対するフィルターを組み合わせた観察方法の検討を進めている。また、『光る花』は、ドライフラワーや樹脂に封入しても蛍光活性を維持しており、これらの手法の組合せにより、教材、インテリア、グッズ、商業ディスプレイ等での幅広い利用の可能性を検討している。

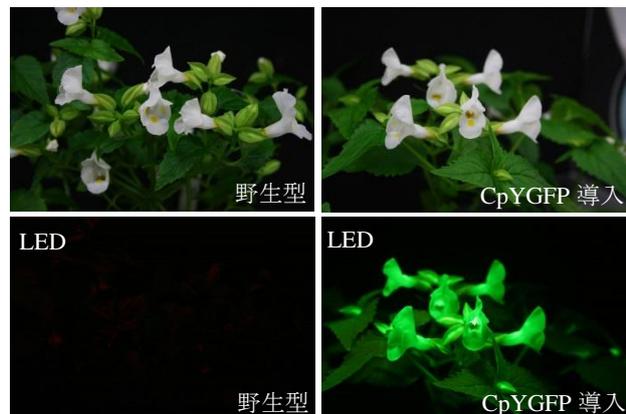


図 野生型トレニア（左上）は蛍光を示さないが（左下）、CpYGFP を導入した組換えトレニア（右上）は、LED 照射下（右下）で蛍光が観察される。

## ■ 発表者索引 ■

あ		岩瀬 寿仁	P-57
阿井 晴佳	P-59		
秋田 佳恵	T-47, P-56	う	
秋庭 涼	P-19	上田 泰己	特別講演
浅井 智広	P-68	上田 貴志	S3-4, P-5
浅見 忠男	P-4	宇高 光	P-17
芦田 慶太	P-36	宇野 真之介	T-45
阿部 通子	P-20	宇部 卓司	P-39, P-40
阿部 康弘	P-34	梅澤 啓太郎	T-45
新井 善博	P-59	梅澤 雅和	S2-4, T-43, P-64
荒谷 康昭	S3-2	浦野 泰照	T-45
有馬 一成	P-69	宇留賀 仁史	P-21, P-22, P-23
い		え	
伊香賀 玲奈	P-51	海老根 一生	P-5
石川 正純	T-44		
石川 良樹	P-14	お	
石崎 公庸	P-2	大倉正道	P-17
石黒 孝	P-39, P-40, P-59	大河内 善史	S3-2
石田 彪馬	P-27	太田 俊明	P-68
石本 哲也	P-33	太田 善浩	P-53
石渡 信一	S1-2	大滝 幹	S3-4, P-5
石和田 稔彦	S3-3	大谷 敬亨	P-63
池上 浩司	P-57	大塚 淳	P-4, P-16
池平 秀	P-60	大本 歩	P-62, P-64
井尻 敬	P-67	岡 浩太郎	P-35, P-36, P-58
板橋 岳志	S1-2	岡崎 俊也	S2-2
市田 佳菜絵	P-54	岡咲 洋三	T-48
伊藤 雅弘	P-60	岡田 明日香	P-18, P-75
伊藤 文音	P-13	岡田 康志	T-42
伊東 玲子	S3-3	岡村 康司	S3-2
伊納 義和	P-11	小川 知子	S3-3
今村 寿子	T-47	荻野 英賢	P-9

小倉 潔	P-13	北川 寛之	P-63
小栗 良介	P-11	北畑 信隆	S3-4, P-2, P-5, T-48,
小澤 彩夏	P-18		P-64
小関 泰之	T-48	木原 裕	P-71
織田 昌幸	P-16	木村 貴史	P-2
小田 雄介	P-21, P-22, P-23	清野 翔平	P-71
小野田 淳人	T-43	清光 智美	S1-1
小野寺 優	T-42	邱 信程	P-62
小俣 大樹	P-21, P-22, P-23	金城 政孝	P-31
<b>か</b>		<b>く</b>	
影山 彩織	P-21	朽津 和幸	S3-4, P-1, P-2, P-5,
河西 真依	P-66		T-48, P-50, P-51, P-64
加藤 薫	P-14, T-41, P-53	朽名 夏磨	T-47
加藤 孝信	P-57	久保田 千尋	P-18
加藤 有介	S3-3, P-70, P-71, P-72	熊谷 雄太郎	P-29
加藤 くみ子	P-34	栗原 大輔	S1-4
金子 和弘	S2-5, P-66	来須 孝光	S3-4, P-1, P-5, T-48,
勝山 雄喜	P-55		P-54
鎌田 憲彦	P-17	<b>こ</b>	
上條 陽平	P-69	鯉沼 真吾	P-27
上条 桂樹	T-41	合田 幸広	P-34
上村 真生	P-61, P-62, P-63, P-64,	河内 孝之	P-2
	P-65, P-66	小島 正樹	P-71, P-72
神谷 真子	T-45	小嶋 美紀子	T-48
神山 直人	P-28	小塚 淳	P-29
亀岡 洋祐	S3-3	小林 宣	P-8, P-73
賀屋 秀隆	P-2	小林 亮	T-47
河合 富佐子	P-16	小針 彩奈	P-37
川崎 平康	T-43	<b>さ</b>	
河田 大樹	P-73	斉藤 麻由	P-20
河原 康一	P-69	斉藤 和季	T-48
川畑 拓斗	P-69	境 未来	P-19
<b>き</b>		榊原 均	T-48
菊地 和也	P-29	坂本 勇貴	P-55
岸本 英博	S2-1		

佐々木 章	P-31	須鎗 聡	P-61, P-65
笹部 美知子	S1-4		
佐藤 暁洋	S2-5	せ	
佐藤 薫	P-37	関野 祐子	P-37
佐藤 匠	S-7	瀬戸 貴成	P-74
佐藤 亮太	P-29	瀬藤 光利	P-57
澤 進一郎	P-55		
		そ	
し		曾我 公平	S2-1, S2-5, P-61, P-62, P-63, P-64, P-65, P-66
塩川 舟華	P-20		
設楽 久志	P-35, P-36		
柴田 貴弘	P-53	た	
柴田 みゆき	P-15	高木 優	P-54
島 知弘	T-42	高橋 正行	T-41
嶋田 友一郎	P-60	高林 宏樹	P-54
清水 英雄	P-37	竹内 司	S2-1, S2-3, P-63
徐 玉群	P-4	武田 健	T-43, P-64
白石 岳大	P-69	竹村 裕	P-66
白土 博樹	T-44	武村 政春	T-49
白尾 智明	P-37	多田 雄一	T-48, P-54
新藤 豊	奨励賞受賞者講演	田中 直子	P-15, P-50, P-51
神 隆	P-31	田中 光	P-51
新里 能成	P-69	田中 みなみ	P-14
		田中 響	P-26
す		田辺 光男	P-37
末柄 祐明	P-57	谷 佳津子	P-72
杉井 むつみ	P-21, P-22, P-23	田之倉 優	P-4, P-16
杉田 かおり	P-32	立野 玲子	P-13
洲崎 悦子	P-50	俵 丈展	P-67
鈴木 和男	S3-1, S3-2, S3-3		
鈴木 貴裕	P-71	ち	
鈴木 章一	S3-3	趙 武魁	P-67
鈴木 美穂	P-18		
鈴木 李夏	P-58	つ	
鈴木 亮	P-21, P-22, P23	築山 光一	T-43
須田 亮	P-26, P28	辻村 有紀	P-67
砂入 允哉	P-28	筒井 友和	P-5

て		西浜 竜一	P-2
寺内 一姫	P-68	西原 寛	P-60
寺本 高啓	P-68	二平 耕太郎	P-48
照井 翔	P-27	西村 将臣	P-67
と		の	
陶 文紀	P-48, P-64	野沢 陽佑	P-60
徳永 京也	P-48		
十島 純子	P-6, P-7, P-8, P-18, P-19, P-20, P-73, P-74, P-75, P-76	は	
十島 二朗	P-6, P-7, P-8, P-18, P-19, P-20, P-73, P-74, P-75, P-76	萩原 芙美子	P-23
戸田 圭亮	P-28	橋田 充	P-32
飛田 成史	T-45	橋本 香保子	P-50
富田 剛史	P-8, P-74	橋本 研志	P-2
鞆 達也	P-60	長谷川 明洋	P-9
な		長谷川 淳子	P-55
中井 淳一	P-17	長谷川 千織	P-51
中上 知	P-55	馳澤 盛一郎	S1-4, T-47, P-56
仲田 瑛亮	P-8, P-74	服部 正泰	P-63
中西 守	P-11	花俣 繁	S3-4, P-1, P-5, P-48
長野 真	P-7, P-73	花村 健次	P-37
中村 颯	P-4	濱口 正悟	P-11
中村 岳史	P-26, P-27	浜田 俊幸	T-44
中村 英光	P-4	濱田 季之	P-69
中山 俊憲	P-9	羽山 大介	S3-4, P-5
中山 莉奈子	T-42, P-57	原田 文明	P-64
永山 勝也	P-13	原矢 佑樹	P-34
難波 秀利	P-68	ひ	
に		桧垣 匠	S1-4, T-47, P-56
二井 大輔	P-60	東山 哲也	S1-4
西織 大輝	P-60	樋口ゆり子	P-32
西坂 崇之	P-57	菱木 はるか	S3-3
		姫野 龍太郎	P-67
		ふ	
		福井 清	P-70
		福島 理人	P-61, P-64

福田 志帆	P-8	宮川 拓也	P-4, P-16
福田 武司	P-17	宮地 麻里子	P-60
福田 光則	P-27	宮本 直樹	T-44
藤芳 暁	S3-5		
藤村 翔吾	P-19	む	
古川 龍彦	P-69	村田 和義	P-59
古野 忠秀	P-11	村田 隆	S1-3
古屋 英里	P-6		
		も	
ほ		望月 剛	P-22
星 成美	P-22	森 寿	P-33
細川 茜	P-60	森田 正彦	P-67
細谷 浩史	T-41	森屋 直人	P-59
堀口 史人	P-69	両角 明彦	T-45
堀込 知佳	P-6, P-75		
堀田 耕司	P-35, P-36, P-58	や	
本間 研一	T-44	安田 さや香	P-26
本間 さと	T-44	安田 裕哉	P-64, P-66
本間 芳和	P-60	藪田 渉二	P-2
		山野井 慶徳	P-60
ま		山下 紗季	P-53
牧野 多成	P-35	山下 富義	P-32
政池 知子	T-42, P-57	山本 条太郎	P-31
榊田 晃司	P-22	山本 雅達	P-69
益田 淳史	P-6, P-75	山本 航	P-76
舛本 現	P-67		
町田 泰則	S1-4	よ	
松永 幸大	P-55	横川 慧	P-11
松本 泰来	P-65	横田 秀夫	S2-1, P-67
丸山 一雄	P-21, P-22, P-23	吉澤 信	P-67
		吉村 彰真	P-29
み		吉村 真史	P-68
三浦 岳	T-47	吉原 利忠	T-45
水上 進	P-29	米山 靖子	P-39
水嶋 裕樹	P-16		
光田 展隆	P-54	わ	
南 健太郎	P-69	渡邊 重明	P-63

和田 直之	P-27	Masahiro Nakano	P-30
		Takeharu Nagai	P-30
A		O	
Hibret A. Adissu	S3-2	Akihisa Oda	P-10
Yoji ARATA	P-3	Kohki Okabe	P-25
Yoshiyuki Arai	P-30	Takayuki Ohnishi	P-38
F		P	
Akane Fujita	P-24	William S. Price	P-3
Mitsunori Fukuda	P-24		
Takashi Funatsu	P-25	U	
G		Johan Unga	P-21, P-22, P-23
Ryo Goitsuka	P10	S	
H		Eri Saijo	P-38
Minako Hoshi	P-38	Tomoya Sasahara	P-38
I		Michio Sato	P-38
Masaya ISHIKAWA	P-3	Kaori Satomura	P-38
Hiroyuki IDE	P-3	Giampietro Schiavo	P-24
Takuya Iwasaki	P-30	Beini Shi	P-25
K		Kenneth Sutherland	P-44
Toru Kasahara	P-10	T	
Ippei Kotera	P-30	Tetsuya TSUJII	P-3
Yasuhiro Kamei	P-30	Y	
M		Sayaka Yasuda	P-24
Yoshitaka Matsumura	P-38	Hiroharu Yui	T-46
So Morishita	P-24	W	
Toshinori Morisaku	T-46	Naoyuki Wada	P-24
N		Yuhei Wada	T-46
Tomohisa Nanao	P-24	Satoshi Waguri	P-24
Takeshi Nakamura	P-24		

## ■ 2015 年度 日本バイオイメーjing学会総会資料 ■

2015 年 9 月 27 日

日本バイオイメーjing学会

会長 川西 徹

会場： 東京理科大学葛飾キャンパス

議題： 2014 年度事業報告、2015 年度事業経過報告および 2016 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. 広報委員会「バイオイメーjing」
6. 編集委員会「Bioimages」
7. 集会委員会
8. 賞選考委員会
9. 研究助成選考委員会
10. 講習会委員会
11. 国際交流委員会
12. 新技術情報委員会
13. 男女共同参画委員会
14. 人事
15. その他

### 各委員会資料

#### 1. 庶務報告(船津)

##### 14 年度事業報告

- 1) 公開シンポジウム準備（第 23 回大会長と協力）
- 2) 会報などを各委員会と協力して発送
- 3) 公開講座、科学研究費補助金（研究成果公開促進費）14 年度申請（採択）
- 4) 会員情報の管理・更新
- 5) その他

## 15 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) 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）15 年度申請（採択）
- 4) 会員情報の管理・更新
- 5) その他

## 16 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）16 年度申請
- 4) 会員情報の管理・更新
- 5) その他

## 2. 財務報告（岡）

### 14 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

### 15 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

### 16 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（大幡）

- 1) 監査結果の報告

## 4. 企画委員会（太田）

### 14 年度事業報告

- 1) 賛助会員への勧誘
- 2) 会報「バイオイメージング」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

### 15 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

#### 16 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. 広報委員会(朽津)

#### 14 年度事業報告

- 1) 会報発行 和文誌「バイオイメーキング」第 23 巻 2 号まで発行
- 2) 集会への協力
- 3) 和文誌「バイオイメーキング」の投稿規定の改訂
- 4) 和文誌「バイオイメーキング」の A4 サイズへの変更
- 5) 投稿呼びかけ、各種公募、特集記事の充実
- 6) 編集・査読体制の充実、広報委員会の体制強化

#### 15 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 24 巻 2 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」の J-STAGE 掲載申請準備
- 4) 集会への協力
- 5) 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
- 6) 編集・査読体制の充実、広報委員会の体制強化

#### 16 年度事業計画

- 1) 和文誌「バイオイメーキング」第 25 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) 集会への協力
- 4) 投稿呼びかけ(総説・解説、原著論文、研究室紹介等)、特集記事の充実

### 6. 編集委員会(小島)

#### 14 年度事業報告

- 1) Bioimages Vol. 22 までの論文のアップロード完了
- 2) 論文および Abstract 印刷体の廃止

#### 15 年度事業経過報告

- 1) Bioimages Vol. 23 の論文のアップロード準備中
- 2) 英文誌「Bioimages」のホームページの改定

#### 16 年度事業計画

- 1) Bioimages Vol. 24 の論文のアップロード

- 2) Bioimages Vol. 9 (2001)以前のバックナンバーのオンライン化を継続
- 3) 編集・査読体制の充実
- 4) 投稿呼びかけ、奨励賞受賞者に対する総説依頼

## 7. 集会委員会（高松）

### 14年度事業報告

第23回大会 日程：2014年9月4日（木）～6日（土）

会場：大阪大学銀杏会館

大会長：菊地 和也（大阪大学）

- ・参加費： 一般(正会員：6,000円、非会員：8,000円)  
学生：3,000円

- ・公開講座：(科学研究費補助金（研究成果公開促進費）)

「融合研究が拓くバイオイメージング  
～物理学・化学の生命科学研究への新展開～」

- ・参加費：（無料）
- ・会期：2014年9月6日(土) 13:00～17:00
- ・会場：大阪大学銀杏会館

### 15年度事業経過報告

第24回大会 日程：2015年9月26日（土）～28日（月）

会場：東京理科大学葛飾キャンパス

大会長：朽津 和幸（東京理科大学・理工学部・応用生物科学科/  
東京理科大学イメージングフロンティアセンター）

- ・参加費： 一般(正会員：5,000円、非会員：8,000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：(科学研究費補助金（研究成果公開促進費）)

「私たちのくらしとバイオイメージング ～見えるからわかるバイオの世界～」

- ・参加費：（無料）
- ・会期：2015年9月26日(土) 12:00～18:30
- ・会場：東京理科大学葛飾キャンパス 図書館ホール及びホワイエ

### 16年度事業計画

第25回大会日程：2016年9月4日（日）～6日（火）を予定

会場：名古屋市立大学 田辺通キャンパス

大会長：加藤 晃一（自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター、  
名古屋市立大学・大学院薬学研究科）

8. 賞選考委員会(浜口)

14 年度事業報告

- 1) 奨励賞：来須 孝光（東京工科大学）

15 年度事業経過報告

- 1) 奨励賞：新藤 豊（慶應義塾大学）

16 年度事業計画

- 1) 奨励賞：学会ホームページと和文誌「バイオイメーキング」に、推薦のお願いを掲載予定

9. 研究助成選考委員会（南谷）

特になし

10. 講習会委員会（加藤 薫）

14 年度事業報告

- 1) ライカによる STED 講習会、ニコンによる SIM 講習会を協賛

15 年度事業経過報告

- 1) 超解像イメージング講習会 2015

日時：2015年9月26日（土）

場所：筑波大学東京キャンパス文教校舎、東京大学医科学研究所、顕微鏡メーカーシヨールームなど

16 年度事業計画

- 1) 未定

11. 国際交流委員会（鈴木）

14 年度事業報告

- 1) 特になし

15 年度事業経過報告

- 1) 特になし

16 年度事業計画

- 1) 特になし

12. 新技術情報委員会（小島 清嗣）

14 年度事業報告

- 1) 特になし

15 年度事業経過報告

- 1) 特になし

16 年度事業計画

- 1) 特になし

### 13. 男女共同参画委員会（洲崎）

#### 14 年度事業報告

- 1) 男女共同参画学協会連絡会 12 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 23 回学術集会における公開講座運営補佐
- 4) 女子中高校生夏の学校(8 月 7-9 日)、協賛及びポスター参加

#### 15 年度事業経過報告

- 1) 男女共同参画学協会連絡会 13 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) 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
- 4) 第 24 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

#### 16 年度事業計画

同様の活動を継続予定

### 14. 人事

### 15. その他

#### 審議事項：

- 1) 第 25 回学術集会の準備について
- 2) 役員の変更、名誉会員について
- 3) その他

## 2015年度の各委員会：名簿

○：委員長、Editor-in-Chief

1. 会 長 : 川西 徹
2. 副 会 長 : 浜口 幸久、船津 高志
3. 庶 務 : ○船津 高志
4. 財 務 : ○岡 浩太郎
5. 企 画 : ○太田 善浩、加藤 晃一、木原 裕、楠見 明弘、西村 智  
\* 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. 広 報 : 池水信二、菊地 和也、○朽津 和幸、洲崎 悦子、曾我 公平、桧垣 匠、  
古野 忠秀
7. 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
8. 集 会 : 岡 浩太郎、加藤 薫、○高松 哲郎、南谷 晴之
9. 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
10. 研究助成選考 : 新井 孝夫、川西 徹、鈴木 和男、船津 高志、○南谷 晴之
11. 講 習 会 : 新井 孝夫、○加藤 薫、櫻井 孝司、企業から（カールツァイス、ニコン）
12. 国 際 交 流 : 朽津 和幸、木原 裕、○鈴木 和男  
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  
\* 国際バイオイメージング学会の対応を含む
13. 新技術情報 : 加藤 薫、○小島 清嗣、後藤 英一、富岡 研、晝馬 亨
14. 男女共同参画 : 朽津 和幸、○洲崎 悦子、田中 直子、橋本 香保子

## 【付属資料】

### 1. 役員

#### 1) 評議員（2018. 12. 31まで）

新井 孝夫、池水 信二、太田 善浩、岡 浩太郎、加藤 薫、加藤 晃一、加藤 有介、川西 徹、菊地 和也、木原 裕、楠見 明弘、朽津 和幸、小島 清嗣、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、寺川 進、富岡 研、富田 光子、永井 健治、中村 岳史、中山 俊憲、西村 智、橋本香保子、長谷川 明洋、浜口 幸久、樋口 ゆり子、晝馬 亨、船津 高志、古野 忠秀、南谷 晴之、宮川 拓也

#### 2) 監 事（2名：2016. 12. 31まで）

大塩 力、大幡 久之

#### 3) 理 事（16名：4年任期、2年毎半数改選、評議員により互選）

2016. 12. 31まで

太田 善浩、岡 浩太郎、加藤 薫、小島 正樹、中山 俊憲、浜口 幸久、船津高志、南谷 晴之

2018. 12. 31まで

川西 徹、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

#### 4) 特任理事（2年任期）

2016. 12. 31まで

新井 孝夫、田之倉 優

#### 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：2016. 12. 31まで： 川西 徹

副 会 長：2016. 12. 31まで： 浜口 幸久、船津 高志

庶務担当理事：2016. 12. 31まで： 船津 高志

財務担当理事：2016. 12. 31まで： 岡 浩太郎

### 2. 名誉会員（非役員）

荒田 洋治、石村 翼、大木 和夫、柏木 浩、関塚 永一、脊山 洋右、中西 守、眞島 利和、安岡 則武

## 2014年度決算書（2014年1月1日～2014年12月31日）

### 日本バイオイメージング学会

会長                      川西 徹                      印

理事(財務担当) 岡 浩太郎                      印

#### 一般会計

##### 収入

2013年度より繰越	2,412,510
利息	217
会費	1,031,000
23回学術集会余剰金	1,286,697
懇談会費	30,000
<b>収入計</b>	<b>4,760,424</b>

##### 支出

バイオイメージング印刷費	189,832
ジャパンメディカル英文校正	39,294
通信・郵送費	59,108
謝金・人件費	225,998
男女共同参画	7,000
奨励賞	100,000
会議費	107,272
振込手数料	3,975
23回学術集会準備金	300,000
雑費	5,692
<b>小計</b>	<b>1,038,171</b>
2015年度へ繰越	3,722,253
<b>支出計</b>	<b>4,760,424</b>

#### 特別会計

##### 収入

2013年度からの繰り越し	5,000,000
<b>収入計</b>	<b>5,000,000</b>

##### 支出

2015年度への繰越	5,000,000
<b>支出計</b>	<b>5,000,000</b>

監査                      2015年    4月    20日

監事    大塩    力    印

監事    大幡    久之    印

2016年度予算案(2016年1月1日～2016年12月31日)			
<b>一般会計</b>			
<b>収入</b>		<b>支出</b>	
繰り越し	3,722,253	バイオイメージング印刷費	400,000
会費	1,100,000	Bioimages 発行費	300,000
広告	30,000	謝金・人件費	250,000
		英文校閲費	80,000
		会議費	120,000
<b>収入計</b>	<b>4,852,253</b>	通信・郵送費	100,000
		奨励賞・研究助成	100,000
		男女共同参画(分担金 他)	7,000
		学術集会準備金	300,000
		雑費	30,000
		予備費	2,165,253
		国際学会準備金積立	1,000,000
		<b>支出計</b>	<b>4,852,253</b>
<b>特別会計</b>			
<b>収入</b>		<b>支出</b>	
繰り越し	5,000,000	2017年度への繰越	6,000,000
国際学会準備金積立	1,000,000		
<b>収入計</b>	<b>6,000,000</b>	<b>支出計</b>	<b>6,000,000</b>

---

## 日本バイオイメージング学会入会のお願い

日本バイオイメージング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

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1  
東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室内  
日本バイオイメージング学会事務局  
TEL: 03-5841-4760  
FAX: 03-5802-3339  
E-mail: [bioimage@nih.go.jp](mailto:bioimage@nih.go.jp)  
郵便振替:00130-3-73565  
名 義:日本バイオイメージング学会事務局

---

## 日本バイオイメージング学会賛助会員入会のお願い

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います。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  
日本バイオイメージング学会事務局

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 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1  
東京大学大学院薬学系研究科生体分析教室内  
日本バイオイメージング学会事務局  
TEL: 03-5841-4760 FAX: 03-5802-3339  
E-mail: [bioimage@nih.go.jp](mailto:bioimage@nih.go.jp)

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://www0.nih.go.jp/niid/bioimaging/>

No. \_\_\_\_\_

## 入会申込書 (FAX / e-mail でも可)

20\_\_年\_\_月\_\_日

日本バイオイメーjing学会定款を認め、日本バイオイメーjing学会に入会いたします。

(○をつけてください)

1. 正会員 : 5,000 円

学生 : 2,000 円

団体 (図書館) : 10,000 円

賛助会員 : 100,000 円 (1口)

2. 入会に際しては予め送金してください

送金金額 : ¥\_\_\_\_, \_\_\_\_\_

但し \_\_\_\_\_ として郵便振替にて送りました

ふりがな :

氏名 :

(賛助会員の場合連絡者)

所属 : 機関名 :

身分 :

部科名 :

(学生の場合 : 学年)

住所 : 〒

電話 :

ファックス :

e-mail :

賛助会員の場合口数 : \_\_ 口

3. 学生会員の場合のみ、ご記入ください

指導教員の氏名 :

指導教員の e-mail :

4. 研究分野 : (○をつけてください、複数可)

1. 分子生物・生化

5. 分子構造・分子モデル・ドラッグデザイン

2. 生物物理

6. コンピューターソフトウェア

3. 細胞生物

7. コンピュータハード・機器開発

4. 医学・生理

8. その他 (具体的に記入してください)

申込先 : 日本バイオイメーjing学会事務局

E-mail: bioimage@nih.go.jp

郵送、FAX :

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

東京大学大学院薬学系研究科

生体分析化学教室 内

Tel: 03-5841-4760, Fax: 03-5802-3339

会費振り込み先

郵便振替 : 00130-3-73565 (料金振込人払い)

名義人名 : 日本バイオイメーjing学会事務局

# 日本バイオイメーキング学会定款

## 第1章 総 則

- 第1条 この学会は、日本バイオイメーキング学会という。
- 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、バイオイメーキ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 バイオイメーキ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、バイオイメーキ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 バイオイメーキ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キング研究の学術的交流と連携を図り、国際バイオイメーキ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受けて、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、日本バイオイメージング学会定款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（〒113-0033 東京都文京区本郷7丁目3番1号 東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室）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、常務理事と広報委員会委員長、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、広報、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、2013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 27 年 8 月 5 日現在

---

アブカム株式会社

アンドール・テクノロジーLtd.

株式会社 A-CLIP 研究所

片山化学工業株式会社

株式会社島津製作所

スペクトラ・フィジックス株式会社

住商ファーマインターナショナル株式会社

ソーラボジャパン株式会社

中立電気株式会社

浜松ホトニクス株式会社

松浪硝子工業株式会社

ラド デバイス株式会社

※50 音順、敬称略

日本バイオイメーjing学会

<http://www0.nih.go.jp/niid/bioimaging/index.html>

学会誌 “Bioimages”

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/bioimages>

学会誌「バイオイメーjing」

<https://sites.google.com/site/bioimagingmag/>

「バイオイメーjing」投稿規定

<https://sites.google.com/site/bioimagingmag/instruction>

第24回日本バイオイメーjing学会学術集会

<http://www.rs.tus.ac.jp/ambs15/index.html>

<https://www.facebook.com/ambs15>

公開講座「私たちの暮らしとバイオイメーjing  
～見えるからわかるバイオの世界～」

<http://www.rs.tus.ac.jp/ambs15/os.html>

バイオイメーjing 第24巻第2号

平成27(2015)年9月15日発行

発行所：日本バイオイメーjing学会

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学大学院薬学系研究科 生体分析化学教室内

電話：03-5841-4760 ; FAX：03-5802-3339

E-mail: bioimage@nih.go.jp

URL: <http://www0.nih.go.jp/niid/bioimaging/>