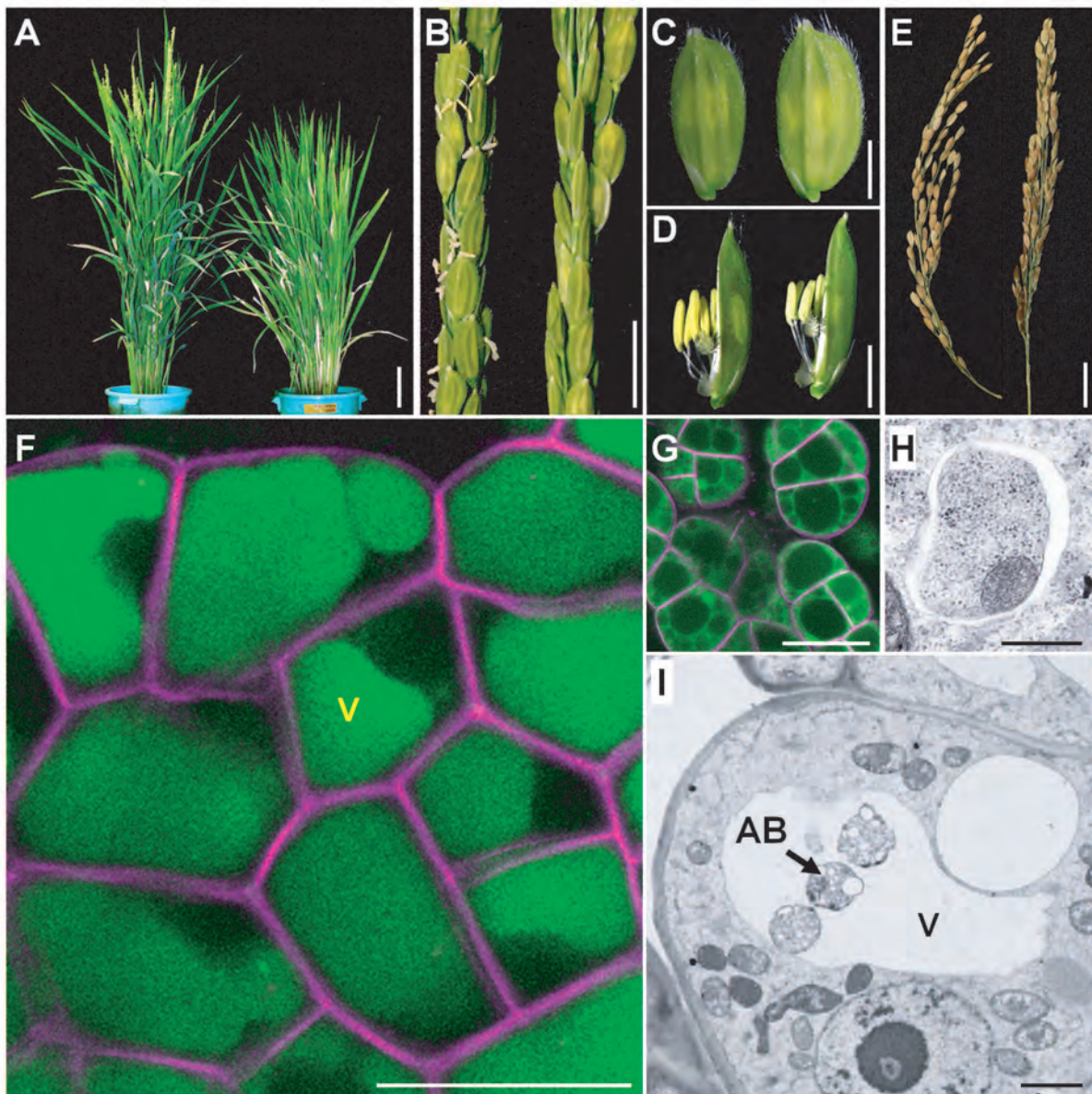


バイオイメージング

第 23 回学術集会 要旨集

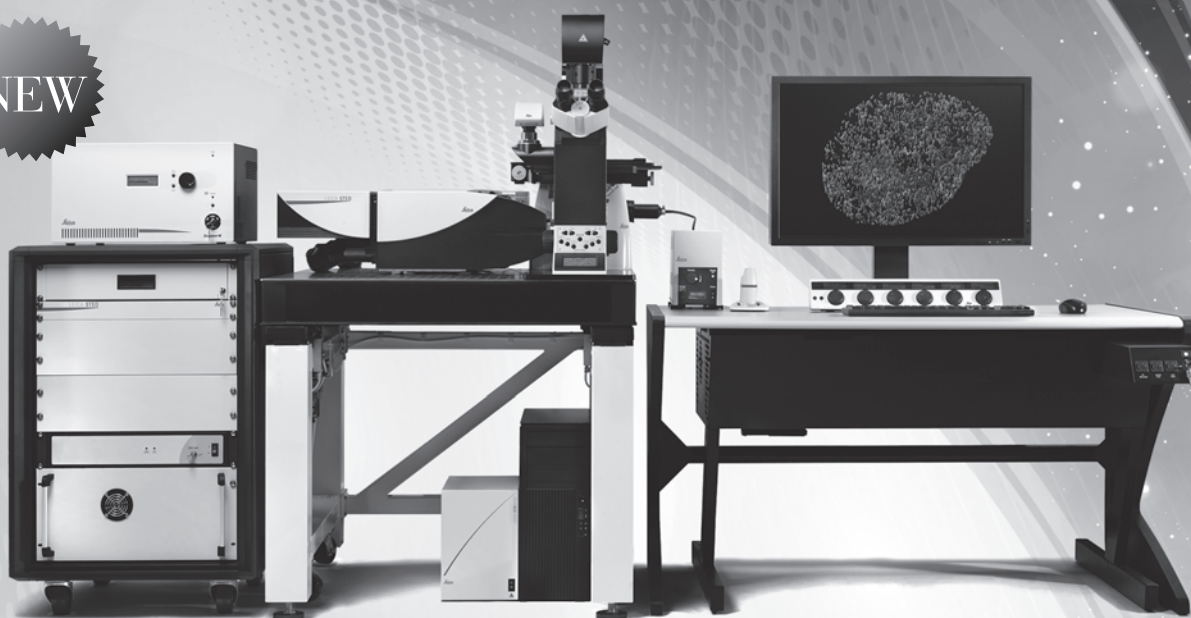
(第21回学術集会 ベストイメージング賞・カールツァイス賞)



「イネにおけるオートファジー動態の可視化と生理機能の解析」

ライカの超解像テクノロジーにより実現した
かつてない超解像モンスターシステム

NEW



ライカ TCS SP8 STED 3X

超解像レーザー顕微鏡

- 50nm以下のXY分解能と130nm以下のZ分解能で3次元超解像を実現
- マルチSTEDレーザー搭載によるマルチカラー超解像イメージング
- 共焦点撮影速度で超解像ライブセルイメージング
- 光学的に超解像を実現した唯一の超解像イメージングシステム
- オートアライメント機構搭載により常にパーフェクトパフォーマンス



(独)産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門
加藤 薫 先生

Leica
MICROSYSTEMS

ライカ マイクロシステムズ 株式会社

本社 〒169-0075 東京都新宿区高田馬場1-29-9 Tel.03-6758-5640 Fax.03-5155-4336
大阪 Tel.06-6374-9771 / 名古屋 Tel.052-222-3939 / 福岡 Tel.092-282-9771

URL <http://www.leica-microsystems.co.jp> E-mail: lmc@leica-microsystems.co.jp

表紙の図：

「イネにおけるオートファジー動態の可視化と生理機能の解析」
(第 21 回日本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・カールツァイス賞受賞)

小谷野智子¹⁾、来須孝光²⁾、花俣繁¹⁾、八木智華子¹⁾、
池田晃子¹⁾、野口祐平^{1,2)}、永田典子³⁾、朽津和幸^{1,2)}

¹⁾東京理科大学・理工・応用生物学、²⁾東京理科大学・総合研究機構、
³⁾日本女子大・理・物質生命科学

オートファジーは、細胞質中に内膜系(オートファゴソーム)が生成され、液胞やリソソームと融合することにより、細胞成分が分解される自食作用であり、近年、酵母や動物細胞を中心に分子機構の解明が進められている。しかしながら、植物の発生における役割は未解明な部分が多かった。

我々は、GFP-ATG8 タンパク質を用い、穀物モデルのイネにおけるオートファジー可視化実験系を構築すると共に、オートファジー欠損変異株利用し、その生理的役割の解明を目指した。生活環を通して変異体の表現型を観察した結果、ホモ変異体は、出穂や開花の遅延を示すと共に、劇的な不稔形質を示すことが明らかになった。電子顕微鏡法により、葯の各組織のオートファジー動態を解析した結果、花粉への栄養や表面構造の材料供給組織であるタペト細胞において、減数分裂期後にオートファジーが誘導されることが明らかになった。本研究の一部は、Kurusu *et al. Autophagy* 2014 10(5):878-888 に掲載され、画像は同論文から一部改変して掲載した。

(A, B) : オートファジー欠損による出穂・開花の遅延(野生型(左)と変異体(右))。

(C, D) : オートファジー能を消失させても、器官セットに影響は見られない(野生型(左)、変異体(右))。

(E) : オートファジー欠損は、穀物イネにおいて、劇的な不稔を引き起こす(野生型(左)、変異体(右))。

(F) : 飢餓条件による、GFP-AtATG8 蛍光の液胞への蓄積(野生型、コンカナマイシン A 存在下)。

(G) : 欠損株では、液胞への蛍光蓄積が観察されない (コンカナマイシン A 存在下)。

(H) : イネ培養細胞(野生型)において観察されたオートファゴソーム様構造体の透過電子顕微鏡像。

(I) : 液胞内に輸送された細胞質成分を含むオートファジックボディ(野生型、コンカナマイシン A 存在下)。

Sacale bar: (A) 10 cm, (B) 1 cm, (C, D) 2 mm, (E) 2 cm, (F, G) 20 μ m, (H) 500 nm, (I) 2 μ m, V; 液胞, AB; オートファジックボディ

■ 目 次 ■

第 23 回日本バイオイメージング学会学術集会	・ ・ ・ ・ ・	3 3
ご案内	・ ・ ・ ・ ・	3 5
第 23 回学術集会プログラム	・ ・ ・ ・ ・	4 0
要旨	・ ・ ・ ・ ・	5 2
発表者索引	・ ・ ・ ・ ・	1 2 8
総会資料	・ ・ ・ ・ ・	1 3 4
学会定款	・ ・ ・ ・ ・	1 4 9

■第 23 回日本バイオイメージング学会学術集会■

主催：日本バイオイメージング学会

会期：平成 26 年 9 月 4 日（木）～ 9 月 6 日（土）

◆学術講演会：9 月 4 日（木）13:30 ～ 9 月 6 日（土）12:00

◆公開講座：9 月 6 日（土）13:00 ～ 17:00

会場：大阪大学銀杏会館（大阪府吹田市山田丘 2-2）

(<http://www.office.med.osaka-u.ac.jp/icho/icho-jp.html> を参照)

大会長：菊地 和也（大阪大学大学院工学研究科・免疫学フロンティア研究センター）

学術集会ホームページ：<http://www-molpro.mls.eng.osaka-u.ac.jp/bioimage2014/>

参加費：公開講座（無料）

学術集会

一般（会員・協賛学会員：6,000 円、非会員：8,000 円）

学生（3,000 円）

協賛学会（五十音順）

応用物理学会

日本医学物理学会

日本磁気共鳴医学会

日本生物物理学会

日本蛋白質科学会

日本物理学会

日本分析化学会

日本レーザー医学会

化学工学会

日本化学会

日本神経科学学会

日本生理学会

日本超音波医学会

日本分光学会

日本免疫学会

可視化情報学会

日本細胞生物学会

日本神経化学会

日本組織細胞化学会

日本農芸化学会

日本分子イメージング学会

日本薬学会

■第 23 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：菊地 和也（大阪大学大学院工学研究科・免疫学フロンティア研究センター）

運営委員（五十音順）

上田 昌宏（大阪大学大学院理学研究科、理化学研究所生命システム研究センター）
岡田 康志（理化学研究所生命システム研究センター）
川西 徹（国立医薬品食品衛生研究所）
木原 裕（姫路日ノ本短期大学）
小島 正樹（東京薬科大学生命科学部）
小和田 俊行（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）
竹本 邦子（関西医科大学医学部）
永井 健治（大阪大学産業科学研究所）
樋口 ゆり子（京都大学大学院薬学研究科）
藤田 克昌（大阪大学大学院工学研究科）
渡邊 朋信（理化学研究所生命システム研究センター）

■ 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（一般）：会員・協賛学会員 6,000 円、非会員 8,000 円

参加費（学生）：3,000 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jing学会会員に限ります。

(4) 9月4日（木）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12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。また、演者の方は発表30分前までにパソコンあるいはUSBメモリーを講堂前受付へご持参ください。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。
- ・プロジェクタとパソコンとの接続は、D-sub15ピン端子（別名：アナログRGB端子・VGA端子）を使用します。Mac等の一部のノートパソコンは、別途コネクタが必要な場合がありますので、必ずご持参下さい。

(2) ポスター討論

- ・ポスター討論の時間には、発表者はパネルの前にいてください。
- ・ポスターパネルはW 90 cm × H 210 cmの大きさです。各パネルの左肩に演題番号が貼ってありますので、所定のパネルに展示して下さい。貼り付けに必要な押しピンは、ポスター会場に用意しています。
- ・ポスターは9月4日（木）12時30分以降、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6日（土）12～18時に行ってください。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jing賞

浜松ホトニクス晝馬賞、ニコン賞、カールツァイス賞、OLYMPUS賞という4つの賞が予定されています。参加者全員による投票により、ポスター発表の中から決定い

たします。

- ・受付時に審査用紙をお渡しいたします。
- ・9月5日（金）14時55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5日（金）17時35分よりホールにて行います。

4. 理事会、評議員会、総会

理事会	9月4日（木）17:30-19:30	三階 会議室C
評議員会	9月5日（金）11:30-13:00	三階 会議室C
総会	9月6日（土）11:20-11:50	三階 ホール

5. 奨励賞受賞者講演

9月5日（金）16:55-17:25 三階 ホール

■会場案内■

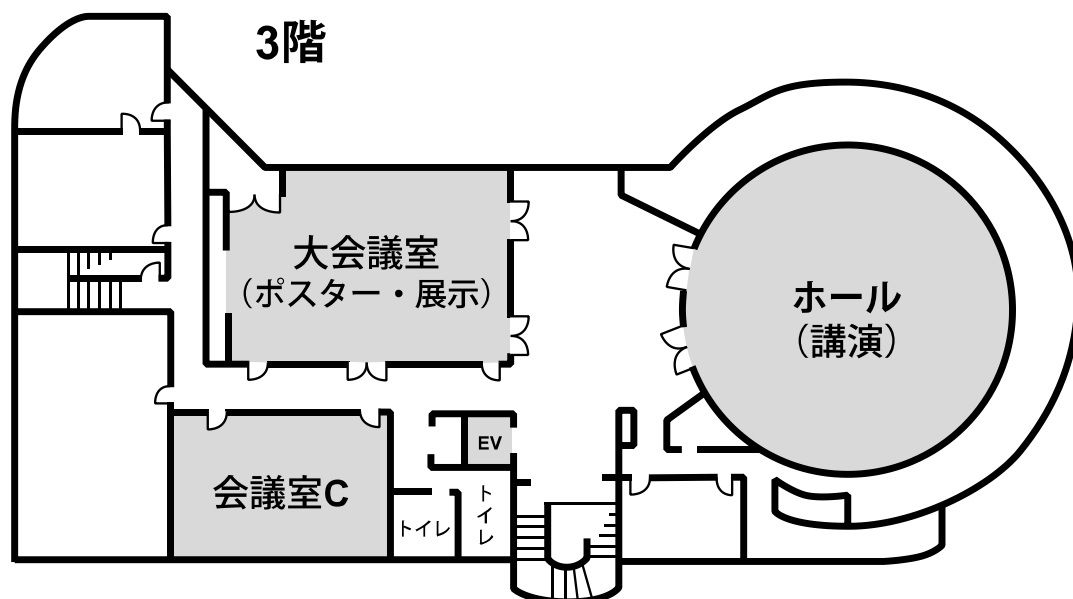
特別講演・シンポジウム：ホール

ポスター討論：大会議室

企業展示：大会議室

懇親会：産業科学研究所（次頁参照）

理事会・評議員会：会議室C

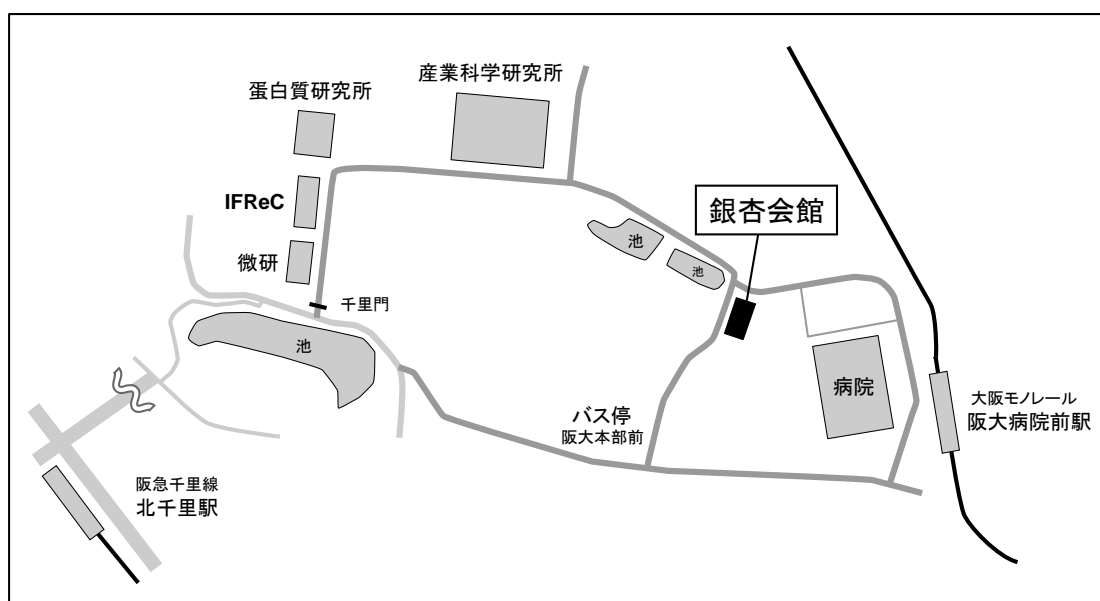


銀杏会館 3階見取り図

■交通機関案内■

本会は大阪大学銀杏会館（吹田キャンパス）で開催されます。

- ①大阪モノレール：阪大病院前駅から徒歩約5分
- ②阪急電鉄：阪急千里線北千里駅から徒歩約25分
- ③バス：北大阪急行千里中央駅、阪急茨木市駅、JR茨木駅から「阪大本部前」で下車し（約15～25分）、徒歩3分



大阪大学銀杏会館へのアクセス

【大阪モノレール】

「万博記念公園駅」で彩都線に乗り換え、「阪大病院前駅」で下車 徒歩約5分

【阪急千里線】

「北千里駅（終点）」で下車 東へ徒歩約25分

【阪急バス】

北大阪急行千里中央駅から「阪大本部前行」または「茨木美穂ヶ丘行」で「阪大本部前」で下車 徒歩3分

【近鉄バス】

阪急茨木市駅から近鉄バス「阪大本部前行」（JR茨木駅経由）で「阪大本部前」で下車 徒歩3分

■ 展示企業一覧 ■

展示の御協力に厚く御礼を申し上げます

株式会社アルゴ

アンドール・テクノロジーPLC

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

株式会社生体分子計測研究所

ソーラボジャパン株式会社

株式会社日本レーザー

株式会社日本ローパー

浜松ホトニクス株式会社

平成 26 年 7 月 25 日 現在

* 50 音順、敬称略

第23回バイオイメージング学会学術集会
ベストイメージング賞スポンサーよりのメッセージ

OLYMPUS 賞



オリンパス株式会社

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

ニコン賞



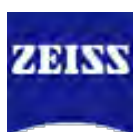
ニコンは、優れた顕微鏡画像を通じ人々に新鮮な驚きや感動を与えるとともに、最先端の科学技術の重要性を伝えてきました。新たな感動を与えてくださる研究者とその画像に対して、ニコン賞を贈呈いたします。

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。



(掲載は順不同です)

■ プログラム ■

第23回日本バイオイメージング学会学術集会 日程表					
9月4日(木)		9月5日(金)		9月6日(土)	
		9:00		9:00	
			受付		受付
		9:30		9:30	
			シンポジウム3 「脱ラベル化イメージング」		シンポジウム4 「おもろいイメージング」
		11:30		11:10	休憩
			休憩	11:20	総会
				11:50	閉会の辞
12:30				12:00	受付(公開講座)
	受付	13:00		13:00	
			ポスター討論 前半:奇数 後半:偶数		公開講座 「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～」
13:30	開会の辞	14:40			
13:40			休憩		
	シンポジウム1 「生命・イメージング・ データベース」	14:55		15:00	休憩
			特別講演 三浦 正幸(東大・薬)	15:15	
15:40		15:45			公開講座 「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～」
15:50	休憩	15:55			
	シンポジウム2 「20年後に見えるもの」		特別講演 難波 啓一(阪大・生命機能)	16:45	閉会
		16:45		17:00	
		16:55	休憩		懇談会
			奨励賞受賞者講演		
17:30		17:25			
		17:35	休憩		
			ベストイメージ賞授賞式		
		17:50			
		18:00	休憩	18:00	
			懇親会		
		19:30			

第 23 回日本バイオイメーjing学会学術集会プログラム

◎学術講演会プログラム

日時：9月4日（木）13:30 ～ 9月6日（土）12:00

会場：大阪大学銀杏会館 3階（大阪府吹田市山田丘 2-2）

9月4日（木）

13:30

【開会】

会場：ホール

第23回学術集会大会長 菊地 和也

13:40～15:40

【シンポジウム1】「生命・イメージング・データベース」

会場：ホール

オーガナイザー：木原 裕（姫路日ノ本短期大学）、小島 正樹（東京薬科大学生命科学部）

S1-1. 普遍生物学—生きていることの動的状態論

金子 邦彦

東京大学・大学院総合文化研究科・複雑系生命システム研究センター

S1-2. 階層間をつなぐ細胞ダイナミクス

澤井 哲

東京大学・大学院総合文化研究科・複雑系生命システム研究センター、JST さきがけ

S1-3. 加速器をベースにした構造生命科学

若槻 壮市

スタンフォード大学医学部 構造生物学科、SLAC 国立加速器研究所、高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所

S1-4. 生命動態に対する動画データと定量データの統合データベース

○京田 耕司¹⁾、遠里 由佳子¹⁾、ケネス・ホー¹⁾、大浪 修一^{1,2)}

¹⁾理化学研究所生命システム研究センター、²⁾科学技術振興機構バイオサイエンスデータベースセンター

15:40～15:50

<休憩>

15:50～17:30

【シンポジウム2】「20年後に見えているもの」

会場：ホール

オーガナイザー：樋口 ゆり子（京都大学大学院薬学研究科）

S2-1. 細胞の個性を創る、探す、使う

合田 圭介

東京大学大学院理学系研究科、カリフォルニア大学ロサンゼルス校工学部

S2-2. 脳活動のモデル化と知覚体験の可視化：現在と未来

西本 伸志

情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター、大阪大学大学院生命機能研究科

S2-3. X線光学はどこまですすむか？

玉作 賢治
理化学研究所

S2-4. 超高速分光の未来～アト秒・zeptasecondとイメージング～

新倉 弘倫
早稲田大学 先進理工学部

9月5日(金)

9:30～11:30

【シンポジウム3】「脱ラベル化イメージング」

会場：ホール

オーガナイザー：藤田 克昌（大阪大学大学院工学研究科）

S3-1. ラベルフリーイメージングの医療応用

高松 哲郎
京都府立医科大学大学院医学研究科

S3-2. 非標識光学イメージングで細胞状態を測る

○市村 垂生¹⁾、渡邊 朋信^{1,2)}
¹⁾理化学研究所生命システム研究センター、²⁾大阪大学生命機能研究科

S3-3. 吸収増幅顕微鏡による無染色細胞イメージング

○新井 由之¹⁾、山本 高之¹⁾、南川 丈夫²⁾、高松 哲郎²⁾、永井 健治¹⁾
¹⁾大阪大学産業科学研究所、²⁾京都府立医科大学大学院医学研究科

S3-4. Multimodal Raman and phase imaging for maximal information retrieval from cellular targets

Nicholas Smith^{1,2,3)}, Nicolas Pavillon¹⁾, Katsumasa Fujita³⁾
¹⁾Immunology Frontier Research Center, Osaka University, ²⁾PRESTO, JST, Tokyo,
³⁾Department of Applied Physics, Graduate School of Engineering, Osaka University, Japan.

S3-5. Digital Holographic Microscopy: Applications in Coherent Superresolution and Monitoring of Neuronal Dynamics

Nicolas Pavillon^{1,2)}, Pascal Jourdain³⁾, Yann Cotte^{2,4)}, Pierre Marquet^{3,5)}, Christian Depeursinge²⁾
¹⁾Immunology Frontier Research Center, Osaka University, ²⁾Science and Technology Institute,
³⁾Brain and Mind Institute, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, ⁴⁾Nanolive SA, ⁵⁾Centre de Neurosciences Psychiatriques, Hopital universitaire de Lausanne

11:30～13:00

<休憩>

13:00～14:40

【ポスター討論】（前半：奇数、後半：偶数）

会場：大会議室

P-1. THz波を用いた種子および植物葉内の水分の動態の可視化

丹野 剛紀¹⁾、平塚 明²⁾、○松嶋 卯月³⁾、河村 幸男³⁾、倉林 徹¹⁾
¹⁾秋田大学、²⁾岩手県立大学、³⁾岩手大学

- P-2. 近赤外分光イメージングおよび重水トレーサによる植物内水移動の可視化
○松嶋 卯月, 庄野 浩資, 岡田 益己
岩手大学農学部
- P-3. モルモット肺静脈心筋の細胞内 Ca^{2+} 依存性電氣的自発活動
○恒岡 弥生^{1,2)}、行方 衣由紀¹⁾、川西 徹³⁾、田中 光¹⁾
¹⁾東邦大学薬学部、²⁾東京理科大学薬学部、³⁾国立医薬品食品衛生研究所
- P-4. β -グルコシダーゼ酵素反応の1分子蛍光イメージング
○飯塚 怜¹⁾、利光 郁美¹⁾、荒井 啓克²⁾、手塚 俊博²⁾、松岡 浩司²⁾、劉 曉宇³⁾、
大久保 幸太郎³⁾、谷井 孝至³⁾、五十嵐 圭日子⁴⁾、鮫島 正浩⁴⁾、船津 高志¹⁾
¹⁾東大・院薬、²⁾埼大・院理工、³⁾早大・理工、⁴⁾東大・院農生科
- P-5. 結像軟X線CTによる3次元構造観察
大東 琢治^{1,2)}、吉村 真史²⁾、○竹本 邦子³⁾、難波 秀俊⁴⁾、木原 裕²⁾
¹⁾分子科学研究所 UVSOR、²⁾立命館大学SRセンター、³⁾関西医科大学 物理学教室、
⁴⁾立命館大学理工物理
- P-6. 細胞性粘菌の多細胞体における全細胞3次元運動追跡法の構築
○橋村 秀典¹⁾、安井 真人²⁾、上田 昌宏²⁾、井上 敬¹⁾
¹⁾京都大学理学研究科、²⁾大阪大学理学研究科 生物科学専攻
- P-7. 空間光変調器を用いた多点2光子励起蛍光顕微鏡の検討
○松本 直也¹⁾、岡崎 茂俊²⁾、井上 卓¹⁾、田中 博¹⁾、大林 寧¹⁾、寺川 進²⁾
¹⁾浜松ホトニクス株式会社中央研究所、
²⁾浜松医科大学 メディカルフォトンクス研究センター
- P-8. 一細胞発光測定で明らかにするウキクサにおける細胞概日振動子集団の振る舞い
○村中 智明、岡田 全朗、小山 時隆
京都大学・院・理
- P-9. 細胞概日リズム可視化による植物細胞時計の時刻合わせ機構の解析
○岡田 全朗、村中 智明、小山 時隆
京都大学・院・理
- P-10. 植物の NADPH oxidase による活性酸素種の積極的生成のイメージング解析
○朽津 和幸¹⁾、簗田 涉二¹⁾、中内 愛由子¹⁾、橋本 研志¹⁾、木村 幸恵¹⁾、
河原崎 朋子¹⁾、賀屋 秀隆¹⁾、Maria Drerup^{1,2)}、Jörg Kudla²⁾、金岡 雅浩³⁾、東山 哲也³⁾、
岩野 恵⁴⁾、高山 誠司⁴⁾
¹⁾東京理科大・理工・応用生物科学、²⁾ミュンスター大、³⁾名古屋大・理、
⁴⁾奈良先端大・バイオ
- P-11. PYP タグラベル化法を利用した DNA メチル化の発蛍光可視化技術の開発研究
○乙村 法道¹⁾、堀 雄一郎^{1,2,3)}、菊地 和也^{1,2)}
¹⁾大阪大学大学院工学研究科、²⁾大阪大学免疫学フロンティア研究センター、
³⁾JST さきがけ

- P-12. 黄砂現象による細菌の長距離移動 - バイオイメージングによる細菌の可視化 -
 ○山口 進康、一條 知昭、馬場 貴志、那須 正夫
 大阪大学大学院薬学研究科
- P-13. 培養記録画像に基づく3次元仮想培養系の検討
 ○立野 玲子¹⁾、伊藤 文音²⁾、永山 勝也²⁾、小倉 潔¹⁾
¹⁾東京都医学総研・病院等連携研究支援センター、²⁾九工大院・情報工学・機械情報
- P-14. ヤム塊茎貯蔵タンパク質 dioscorin の炭酸脱水-デヒドロアスコルビン酸還元共役反応の解析
 ○宮川 拓也¹⁾、薛 友林¹⁾、中村 顕¹⁾、秦野 賢一²⁾、澤野 頼子³⁾、田之倉 優¹⁾
¹⁾東京大学大学院農学生命科学研究科、²⁾群馬大学理工学部、³⁾東京医科歯科大学教養部
- P-15. 透過型電子顕微鏡画像に基づく葉緑体微細構造異常の自動分類
 ○桧垣 匠¹⁾、加藤 綾²⁾、明賀 史純³⁾、朽名 夏磨¹⁾、馳澤 盛一郎¹⁾、永田 典子²⁾
¹⁾東京大・院・新領域、²⁾日本女子大・理、³⁾理研・環境資源科学研究センター
- P-16. 励起レーザー光学系の最適化による多点走査方式2光子顕微鏡法の改良
 ○渡邊 裕貴^{1,2)}、大友 康平²⁾、日比 輝正^{1,2)}、村田 隆³⁾、川上 良介^{1,2)}、中山 博史⁴⁾、根本 知己^{1,2)}
¹⁾北海道大院・情報科学研究科、²⁾北海道大・電子研、³⁾基生研、⁴⁾横河電機
- P-17. 新しいタイプの超解像光学顕微鏡によるアクチン及び関連する構造等の観察
 ○加藤 薫^{1,2)}、三松 沙織^{1,2)}
¹⁾産総研・バイオメディカル、²⁾筑波大大学院・生命環境
- P-18. RED-CNP（希土類含有セラミックナノ粒子）を用いた OTN-NIR（over-1000-nm near infrared red）蛍光プローブの次世代イメージングに向けた可能性
 ○大谷 敬亨¹⁾、北川 寛之¹⁾、服部 正泰¹⁾、竹内 司²⁾、上村 真生³⁾、曾我 公平³⁾
¹⁾片山化学工業株式会社 研究開発課、²⁾島津製作所 分析計測事業部、
³⁾東京理科大学 基礎工学部
- P-19. 細胞内局所でのマグネシウムイオン濃度変化の計測
 ○新藤 豊¹⁾、藤井 智彦²⁾、山中 龍¹⁾、堀田 耕司¹⁾、西山 繁³⁾、
 ダニエル・チッテリオ⁴⁾、鈴木 孝治⁴⁾、岡 浩太郎¹⁾
¹⁾慶大・理工・生命情報、²⁾東大院・薬学、³⁾慶大・理工・化学、⁴⁾慶大・理工・応化
- P-20. 赤外イメージングによる魚類ウロコの状態解析
 ○奈良 雅之¹⁾、丸山 雄介¹⁾、服部 淳彦¹⁾、赤塚 陽子²⁾、大西 晃宏²⁾
¹⁾東京医科歯科大教養部、²⁾(株)パーキンエルマージャパン
- P-21. 高い光安定性と pH 感受性を有する蛍光プローブを用いた生体内破骨細胞活性の二光子励起ライブイメージング
 ○前田 拓樹¹⁾、小和田 俊行²⁾、菊地 和也^{1,2)}
¹⁾阪大院工、²⁾阪大免疫学フロンティア研究センター
- P-22. 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^{1,2)}、陳 挺¹⁾、大野 工司³⁾、吉田 慎一⁴⁾、多胡 善幸⁴⁾、小橋 昌司⁵⁾、
畑 豊⁵⁾、吉岡 芳親^{1,2)}

¹⁾大阪大学免疫学フロンティア研究センター、²⁾(独)情報通信研究機構・大阪大学 脳情報通信融合研究センター、³⁾京都大学化学研究所 材料機能化学研究系、⁴⁾(株)カネカフロンティアバイオ・メディカル研究所、⁵⁾兵庫県立大学大学院 工学研究科

P-23. 生細胞内における発熱のイメージング

○岡部 弘基^{1,2)}、船津 高志¹⁾

¹⁾東京大学大学院薬学系研究科、²⁾JST さきがけ

P-24. スーパーコンティニューム光を用いた多色励起高速共焦点顕微鏡法

○伊藤 里紗^{1,2)}、日比 輝正^{1,2,3)}、大友 康平^{2,3)}、一本嶋 佐理^{1,2)}、大嶋 祐介^{3,4)}、
今村 健志^{3,4)}、根本 知己^{1,2,3)}

¹⁾北海道大院・情報科学研究科、²⁾北海道大・電子研、³⁾JST・CREST、
⁴⁾愛媛大院・医学研究科

P-25. 希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外光バイオイメージングへの応用

○上村 真生、曾我 公平
東京理大基礎工

P-26. 膵島 α 細胞の細胞内顆粒動態の解析

○篠原 惇宏¹⁾、古野 忠秀¹⁾、横川 慧²⁾、伊納 義和¹⁾、鈴木 亮²⁾、平嶋 尚英²⁾、
中西 守¹⁾

¹⁾愛知学院大・薬、²⁾名市大・院薬

P-27. 成長円錐におけるアクチンおよびアクチン関連蛋白質の FRAP 解析

○田中 みなみ^{1,2)}、東ヶ崎 健³⁾、海老原 利枝⁴⁾、加藤 薫^{1,2)}

¹⁾産総研・バイオメディカル、²⁾筑波大大学院・生命環境、³⁾ファンケル・総合研、
⁴⁾産総研・幹細胞センター

P-28. 電子伝達系および解糖系阻害剤が脂肪細胞におけるミトコンドリア形態および炎症性サイトカインの分泌に与える影響

○長谷川 千織¹⁾、伊香賀 玲奈^{1,2)}、行方 衣由紀³⁾、田中 光³⁾、田中 直子¹⁾

¹⁾大妻女子大院・健康栄養、²⁾お茶女大院・理学、³⁾東邦大・薬

P-29. 希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外発光を用いたナノ温度計の開発

○松本泰来、上村真生、曾我公平
東理大・基礎工・材料工

P-30. 細胞内滞留性の向上を目指したレゾルフィン誘導体の開発と過酸化水素蛍光検出への応用

○宮地 亮昌、武安 俊幸、高野 弘都、村本 瑞宜、小寺 政人、人見 穰
同志社大院理工

P-31. バブルリポソームと超音波による脳選択的遺伝子導入と発現評価

○小俣 大樹¹⁾、鈴木 亮^{1,2)}、小田 雄介¹⁾、Johan Unga¹⁾、宇留賀 仁史¹⁾、関 むつみ¹⁾、

根岸 洋一³⁾、丸山 一雄¹⁾

¹⁾帝京大学 薬学部、²⁾University of Virginia、³⁾東京薬科大学 薬学部

P-32. トリインフルエンザ劇症化における NS1 分子機構

○加藤 有介¹⁾、鈴木 和男²⁾

¹⁾徳島文理大学健康研、²⁾帝京大アジア国際感染研

P-33. アポトーシス誘導過程に関与する信号伝達の上流から下流の単一細胞内における応答パターンの可視化

○鈴木 美穂¹⁾、新藤 豊²⁾、山中 龍²⁾、岡 浩太郎²⁾

¹⁾埼大院・理工、²⁾慶大・理工・生命情報

P-34. 共焦点顕微鏡法と自動パッチクランプ法による hERG チャネルの電流および細胞膜への移動に対する薬物作用の解析

○田中 光¹⁾、高橋 由紀子¹⁾、濱口 正悟¹⁾、飯田-田中 直子²⁾、岡 貴之¹⁾、西尾 将人¹⁾、大槻 篤史¹⁾、行方 衣由紀¹⁾

¹⁾東邦大学薬学部、²⁾大妻女子大学家政学部食物学科

P-35. グルコース感受性を示すラット膵臓β細胞 INS-1 のカルシウムシグナルとインスリン分泌に小胞体 Ca²⁺が与える影響

○長山 恵理子、田中 直子

大妻女子大・家・食物

P-36. ラマン散乱分光法を用いた心筋梗塞とその修復過程の評価

○南川 丈夫、村西 菜苗、原田 義規、高松 哲郎

京都府立医科大学 大学院医学研究科

P-37. 蛍光標識レクチンを用いた血管内皮表層 glyocalyx のイメージング

○片岡 華恵¹⁾、牛山 明²⁾、田中 麻雄³⁾、飯島 毅彦¹⁾

¹⁾昭和大学歯学部、²⁾国立保健医療科学院、³⁾明治薬科大学

P-38. 高密度型光ファイバ束による細胞応答イメージング

○櫻井 孝司¹⁾、鯉田 孝和¹⁾、夏目 三男²⁾、秋山 喬³⁾

¹⁾豊橋技術科学大学・エレクトロニクス先端融合研究所、²⁾電興社、³⁾TAC

P-39. アレルギー性炎症の誘導にともなうリンパ球浸潤に関与する分子の解析と細胞集積のイメージング

○長谷川 明洋¹⁾、荻野 英賢¹⁾、大津山 賢一郎¹⁾、中山 俊憲²⁾

¹⁾山口大学大学院医学系研究科、²⁾千葉大学大学院医学研究院

P-40. イネの花粉発達過程におけるオートファジーの新たな役割

○来須 孝光^{1,2,3)}、陶 文紀²⁾、岡咲 洋三⁴⁾、二平 耕太郎²⁾、花俣 繁^{2,5)}、小谷野 智子²⁾、北畑 信隆²⁾、小嶋 美紀子⁴⁾、永田 典子⁶⁾、榊原 均⁴⁾、斉藤 和季⁴⁾、多田 雄一¹⁾、朽津 和幸^{1,2,3)}

¹⁾東京工科大・応用生物、²⁾東京理科大・理工・応用生物科学、³⁾東京理科大・総合研究機構、⁴⁾理研・環境資源科学、⁵⁾東京大院・新領域・先端生命、⁶⁾日本女子大・理・物質生物

科学

P-41. Integrin の構造変化を利用した高感度 FRET プロブの開発

○樋口 ゆり子¹⁾、杉原 有香²⁾、山下 富義²⁾、橋田 充²⁾

¹⁾京都大学学際融合教育研究推進センター、²⁾京都大学大学院薬学研究科

P-42. スペクトルアンミキシングを用いた術中リンパ節転移診断

○原田 義規、原田 憲一、松尾 久敬、南川 丈夫、山岡 禎久、戴 平、高松 哲郎
京都府立医科大学大学院

14:40～14:55 <休憩>

14:55～15:45

【特別講演 1】

会場：ホール

体から失われる細胞の機能を知る生体イメージング

三浦 正幸

東京大学大学院薬学系研究科、JST CREST

15:45～15:55 <休憩>

15:55～16:45

【特別講演 2】

会場：ホール

クライオ電子顕微鏡による生体超分子の機能構造の解明

難波 啓一

大阪大学大学院生命機能研究科

16:45～16:55 <休憩>

16:55～17:25

【奨励賞受賞者講演】

会場：ホール

穀物の生理応答における Ca^{2+} シグナルネットワークの重要性とオートファジーの新たな役割

来須 孝光

東京工科大学・応用生物

17:25～17:35 <休憩>

17:35～17:50

【ベストイメージング賞授賞式】

会場：ホール

17:50～18:00 <休憩>

18:00～19:30

【懇親会】

会場：産業科学研究所

9月6日(土)

9:30～11:10

【シンポジウム 4】「おもろいイメージング」

会場：ホール

オーガナイザー：渡邊 朋信（理化学研究所 生命システム研究センター）

S4-1. 生命科学研究における光音響イメージング技術

石原 美弥

防衛医科大学校医用工学講座

S4-2. すばる望遠鏡レーザーガイド星補償光学と生体イメージングへの応用

○早野 裕^{1,4)}、玉田 洋介^{2,5)}、服部 雅之³⁾、村田 隆^{2,5)}、大屋 真¹⁾、亀井 保博^{3,5)}、
長谷部 光泰^{2,5)}

¹⁾国立天文台ハワイ観測所、²⁾基礎生物学研究所生物進化研究部門、³⁾基礎生物学研究所光学解析室、⁴⁾総研大・物理科学研究科・天文科学専攻、⁵⁾総研大・生命科学研究科・基礎生物学専攻

S4-3. 多次元画像情報を同時記録するホログラフィ

田原 樹

関西大学システム理工学部

S4-4. MRI でマウス生体内の免疫細胞の動きを視る

○森 勇樹^{1,2)}、吉岡 芳親^{1,2)}

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

11:10～11:20

<休憩>

11:20～11:50

【総会】

会場：ホール

11:50

【閉会】

◆理事会 : 9月4日(木) 17:30～19:30

◆評議員会 : 9月5日(金) 11:30～13:00

◆総会 : 9月6日(土) 11:20～11:50

◎公開講座プログラム

日時：9月6日(土) 13:00～17:00 (受付 12:00～13:00)

会場：大阪大学銀杏会館 3階 (大阪府吹田市山田丘 2-2)

「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～」

座長：川西 徹 (国立医薬品食品衛生研究所)、樋口 ゆり子 (京都大学大学院薬学研究科)、

菊地 和也 (大阪大学大学院工学研究科・免疫学フロンティア研究センター)

13:00～15:00

はじめに

川西 徹 (国立医薬品食品衛生研究所)

K-1. 植物の重力受容メカニズムに迫る

○森田（寺尾）美代¹⁾、豊田 正嗣²⁾、田坂 昌生³⁾

¹⁾名古屋大学大学院生命農学研究科、²⁾Department of Botany, University of Wisconsin-Madison、³⁾奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科

K-2. 細胞機能を分子スパイで探る

○新井 由之¹⁾、Dhermentra Tiwari¹⁾、山中 真人²⁾、藤田 克昌²⁾、永井 健治¹⁾

¹⁾大阪大学産業科学研究所、²⁾大阪大学工学研究科

K-3. 細胞エネルギーを可視化する

今村 博臣

京都大学白眉センター

K-4. 植物の細胞内ダイナミクス

○上田 晴子¹⁾、横田 悦雄²⁾、朽名 夏磨³⁾、西村 いくこ¹⁾

¹⁾京都大学大学院理学研究科、²⁾兵庫県立大学大学院生命理学研究科、³⁾東京大学大学院新領域創成科学研究科

15:00～15:15

<休憩>

15:15～16:45

K-5. 細胞の細部構造をありのままに調べるラマン顕微鏡

小関 泰之

東京大学大学院工学系研究科

K-6. 神経細胞の興奮を可視化する

筒井 秀和

北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科

K-7. ナノダイヤモンドで細胞機能を視る・操作する

原田 慶恵

京都大学物質－細胞統合システム拠点

おわりに

菊地 和也（大阪大学大学院工学研究科・免疫学フロンティア研究センター）

16:45～17:00

<休憩>

17:00～18:00

懇談会

◎本学術集会についての問い合わせ先

第23回日本バイオイメージング学会学術集会事務局

大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻 物質生命工学コース
ケミカルバイオロジー領域内

大会長 菊地 和也

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1 総合研究棟 5階

TEL: 06-6879-7924, FAX : 06-6879-7875

E-mail : bioimage2014@mls.eng.osaka-u.ac.jp

URL : <http://www-molpro.mls.eng.osaka-u.ac.jp/bioimage2014/>

■ 要 旨 ■

■ 学術講演会 ■

■ 特別講演 ■

特別講演 1

体から失われる細胞の機能を知る生体イメージング

○三浦 正幸^{1,2)}

¹⁾東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室、²⁾CREST, JST

細胞死研究の難しさは増える細胞を扱う現象（細胞増殖や、幹細胞の維持）とは違う次元にある。細胞死は実行されると分のオーダーで生体から失われてしまうため、検出がそもそも難しく、逆に検出されないことから生体での細胞死の寄与が見逃されてきた現象も多くあると考えられる。私達は細胞死の生体での役割を研究するにあたり、ショウジョウバエとマウスを用いて、1) 生体イメージングによる細胞死動態の解析、2) 遺伝学的な細胞死操作による表現型解析を研究の中心に据えてアプローチをしている。

カスパーゼは線虫で同定されたプログラム細胞死実行に必須のプロテアーゼである。線虫では細胞死が個体の生存には必要なく、細胞死誘導による不要細胞の効率よい除去がカスパーゼの主たる働きである。一方、マウスやショウジョウバエではプログラム細胞死は個体発生に必須であり、細胞死やそのシグナル構成因子の生理機能は未だ多くが謎とされている。

カスパーゼの活性化を指標とした生体イメージング、その活性の遺伝学的な操作によって細胞死が生体で果たす新たな役割が明らかになって来た。さらに、インフラマソームの活性化に関わるカスパーゼ活性化動態から、サイトカイン分泌様式に関しても新しい知見が得られてきている。本講演では細胞社会で新たに見いだされてきたカスパーゼを介した細胞死シグナルの生理機能に関して、バイオイメージングと遺伝学とを組み合わせた我々の研究を紹介し、発生、老化、炎症における細胞死シグナルの積極的な関わりを議論したい。

特別講演 2

クライオ電子顕微鏡による生体超分子の機能構造の解明

難波啓一

大阪大学 大学院 生命機能研究科

生命機能はタンパク質や核酸からなる複合体の働きに支えられている。それらは超分子ナノマシンと呼ばれ、構成原子の精密な立体配置により特定の機能を発現する分子機械である。細胞という3次元空間の場で時々刻々と立体構造や局在場所を変化させ、相互作用する相手と結合解離を繰り返し、エネルギー変換、シグナル伝達、物質輸送等の動的ネットワークを形成する。よって、生命機能の仕組みを解明するには超分子や細胞の立体構造と変化を高分解能で直接観察することが必要で、分子間相互作用や構造変化を詳細に見るには空間分解能の高い電子顕微鏡法、X線回折法、NMR等が必須である。X線結晶解析法は生命の仕組みに多くの手掛かりを与えるが、結晶化が必要で、それによって機能に関わる構造変化が抑えられることも多い。NMRは分子間相互作用についての詳細な情報を与えてくれるが、50 kDaあたりに解析可能分子量の上限がある。機能状態にある超分子の立体構造やその変化を直視できるのはクライオ電子顕微鏡法であり、解離会合を繰り返す動的なシステムではその役割は必須である。単粒子像解析法では水溶液試料で超分子の立体像を解析でき、また電子線トモグラフィー法では細胞自体の立体像や細胞内で機能する超分子の高分解能観察も可能になっている。

最近では、高解像度観察を可能にする電子顕微鏡の電子光学系の技術進歩に加え、急速凍結水和試料グリッドの作成法、画像解析法の工夫や計算機の高速度化、そして高感度・高解像度でかつ高速画像読み取り可能な電子線直接検知型 CMOS カメラの実用化により、数十 μg 程度のわずかな水溶液試料でも原子レベルの分解能を達成できるようになり、構造生命科学に大きなブレークスルーをもたらした。巨大な超分子である細菌べん毛や、筋収縮に関わるアクチン・ミオシン複合体等を例として、クライオ電子顕微鏡による超分子や細胞の立体像観察技術の最近の進歩と、今後の生命科学におけるポテンシャルについて議論したい。

■ 奨励賞受賞者講演 ■

奨励賞受賞者講演

穀物の生理応答における Ca^{2+} シグナルネットワークの重要性と オートファジーの新たな役割

○来須孝光¹⁾

¹⁾東京工科大・応用生物

植物のストレス応答や、増殖、伸長、死など細胞の運命制御におけるシグナル伝達ネットワークにおいて、多くの受容体からのシグナルに、 Ca^{2+} 濃度変化の時間的空間的パターンへの情報変換が関与している。こうしたシグナルの初発機構には、活性化機構を異にする細胞膜や内膜系に存在する Ca^{2+} チャネルを介した Ca^{2+} 動員が重要な役割を果たしているが、植物においては、分子実体の同定や生理機能を含めて、未解明な部分が多かった。一方、植物細胞は、光合成色素等の強い自家蛍光を発する物質や、細胞壁・液胞・葉緑体等の細胞内小器官が存在するため、蛍光イメージングの困難さが指摘されて来た。

我々は、農業上重要な穀物イネをモデルとし、アポイクオリンタンパク質を利用した、非破壊モニタリング系の構築(Kurusu *et al.*, *J. Plant Res.* 2011)、活性化機構を異にする多種の Ca^{2+} チャネルの細胞内局在イメージング、そしてこれらの変異体を利用した機能解析を研究の軸に、チャネルタンパク質を介した Ca^{2+} シグナルネットワークが、植物の発生・生長・分化過程やホルモン応答、そして機械刺激受容などの多様な場面で重要な役割を果たすこと(Kurusu *et al.*, *Plant Cell Physiol.* 2004; Kurusu *et al.*, *BMC Plant Biol.* 2012; Kurusu *et al.*, *Trends in Plant Sci.* 2013 *etc.*)、イネの自然免疫応答において、 Ca^{2+} 動員を制御することにより、MAP キナーゼカスケードの活性化や(Kurusu *et al.*, *Plant J.* 2005)、植物特異的 Ca^{2+} センサーの1つである CBL-CIPK ネットワークを介したプログラム細胞死(PCD)の誘導・活性酸素種(ROS)の生成、抗菌物質蓄積を含む生体防御反応の調節因子として重要な役割を果たすことを明らかにした(Kurusu *et al.*, *Plant Physiol.* 2010; Hamada and Kurusu *et al.*, *JBC* 2012 *etc.*)。

多くの真核生物において、オートファジーは発生・分化や代謝の制御において重要な役割を果たすことが近年報告されている。一方、シロイヌナズナのオートファジー欠損変異体の生活環が正常であることから、植物の発生・生殖成長におけるオートファジーの機能については未解明な部分が多かった。我々は、オートファゴソームマーカーである ATG8 タンパク質と複数の蛍光タンパク質とを融合させた新規のプローブを利用し、簡便な植物オートファジーの非破壊モニタリング系を構築するとともに(Hanamata and Kurusu *et al.*, *Plant Signal Behav.* 2013)、イネのオートファジー可視化系の確立やオートファジー欠損変異体の解析から、穀物の花粉成熟機構にオートファジーが必須であることを発見した。(Kurusu *et al.*, *Autophagy* 2014; Hanamata and Kurusu *et al.*, *Front. Plant Sci.* 2014)。

本発表では、我々の進めてきたイネのイメージングを中心とした研究を紹介するとともに、多様な環境変化を察知する能力を発達させて来た植物が、進化の過程で獲得した独自のシグナル伝達機構とその生理学的役割について議論したい。

■ シンポジウム ■

普遍生物学—生きていることの動的状態論

○金子 邦彦^{1,2)}¹⁾東京大学大学院総合文化研究科、²⁾東京大学複雑系生命システム研究センター

生命システムは分子、細胞、組織、個体といった階層性を持ち、その各階層が揺らぎながら増殖していくダイナミックな系である。ここで例えば、組織は細胞からなる一方で組織が各細胞の性質に影響する、というように部分と全体は相互に影響しあいながら変化し、階層間の整合性が形成される。その整合性維持のために課される制約を数理的に表現して、生命現象に普遍的に成り立つ法則を見出し、マクロの状態論を構築するのが、われわれが提案している普遍生物学の目標である。複製、適応、発生、進化を例にとって、生命システムの可塑性、安定性、進化可能性を表現型のゆらぎや動態と関連づける研究の一端を紹介する。

具体的には、理論、実験両面の協働作業で（１）細胞複製が続く際にタンパクの量の分布とその適応変化がみたら普遍的性質（２）細胞成長と遺伝子発現の揺らぎの帰結としての一般的な適応の原理（３）細胞内動態と細胞間相互作用によるダイナミックな細胞分化の仕組み（４）発生過程でのノイズそして遺伝的変異に対する安定性の関係などを明らかにしてきた。これらの研究を、特に適応や進化に際しての数千遺伝子発現が満たすマクロ法則を中心として紹介し、生物学的可塑性とロバストネスについて、生命システム一般に成り立つマクロ状態論の可能性を議論したい。この研究紹介とともに、普遍状態論の探求において、何をどこまで見れば良いのか、また、見えすぎることのパラドックスについても触れたい。熱力学が平衡状態という規定をすることで、(分子を考えることなしに) エントロピー概念構築を構築したことをふりかえりながら、定常成長状態という規定で生命状態普遍論をつくる可能性についても議論したい。

参考文献

生命とは何か（第2版）——複雑系生命科学へ（東大出版会 2009）

Life: An Introduction to Complex Systems Biology (Springer, 2006)

システムバイオロジー（岩波）第3章 2010

階層間をつなぐ細胞ダイナミクス

○澤井哲^{1),2),3)}東大・総合文化¹⁾・複雑系生命研究センター²⁾、JST さきがけ³⁾

細胞性粘菌では、飢餓が引き金となって、数十万個のアメーバ細胞が誘因物質としてサイクリック AMP(cAMP)を周期的に放出し、これが同期することで形成される進行波に向かって集合し、子実体を構築します[1,2]。粘菌集団内の動態と、1細胞レベルの応答を定量化から、信号のやりとりのごく微弱なノイズが増幅し合うことで、協同的に振動が出現していることが明らかになってきました[3]。波の協同的な生成機構のランダム性が、時間的にいかに発展するかによって、波の空間的なパターンがいかに変化し、それによって細胞集団の動きがいかに変わるかについて概説します。

また、粘菌で顕著にみられるアメーバ状の形態変化はヒト好中球やマクロファージなどの運動や食作用でもよく知られ、癌細胞が浸潤、転移する際にも同様の運動形態がみられます。膜の裏打ちにおけるアクチンの重合は、ときに細胞全体を伝播する波（アクチン波）として時空間的に発展し、それが細胞端に達した際に細胞膜がおさされる過程があることが知られています。私達は最近、細胞性粘菌アメーバの膜伸張パターンの一部は、アクチンとそれに付随する膜上のイノシトールリン脂質 PIP3 シグナルの波の幾何学的特徴により説明できることを、生細胞イメージング計測から明らかにしました[4]。また、こうした反応とその上流にある Ras の活性化動態の解析から、反応場と走化性運動が相互に連動する仕組みが見えてきました。細胞や細胞集団の動態に共通する理解の枠組みについて紹介します。

参考文献

- [1] S. Sawai, P.T. Thomason and E.C. Cox, *Nature* 433 (2005) 323.
- [2] S. Sawai, X-J. Guan, A. Kuspa and E.C. Cox, *Genome Biol.*, 8 (2007) R144.
- [3] T. Gregor, K. Fujimoto, N. Masaki and S. Sawai, *Science*, 328 (2010) 1021.
- [4] D. Taniguchi, S. Ishihara et al (2013) *PNAS* 110, 5016.

加速器をベースにした構造生命科学

○若槻壮市^{1,2,3)}¹⁾スタンフォード大学医学部 構造生物学科、²⁾SLAC 国立加速器研究所、³⁾高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所

構造生物学の今後の発展方向として「解く構造から使う構造へ」への転換が議論され、複合的相関構造解析をしながら、いろいろなターゲットについて原子レベルから分子、細胞、組織レベルまでと階層構造のダイナミクスを見ていこうという「構造生命科学」が提唱されている。構造生命科学という新しいサイエンスでは、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との異分野融合によって、最先端の構造解析手法をシームレスに繋げ、原子レベルから細胞・組織レベルまで階層構造のダイナミクスを多面的にとらえることで、生体分子間相互作用を構造・機能解析する。そこでは、X線・中性子線を用いた結晶構造解析・溶液散乱、NMR や電子顕微鏡などの構造機能解析の手法が重要な役割を果たす。中でも特に放射光X線は蛋白質データベースに登録されている構造の中でも8割以上の構造解析に使われており、平成 24 年度から始まった「創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業」や JST の CREST、さきがけ「構造生命科学」でも最も重要な手法として捉えられている。加えて最近ではX線自由電子レーザー(XFEL)、スパレーション中性子線など加速器をベースにした新しい構造解析法が急速に進展しつつある。特にスタンフォードでは世界に先駆けて硬 X 線 XFEL 施設 LCLS が稼働し X 線損傷のおこるまえに高分解能構造が得られることが示され、放射光 X 線では解析できない非常に困難な複合体の構造解析ができる可能性が期待されている。

ヨーロッパでも複合解析のコンセプトに類似した研究ネットワークが幾つか始動している。たとえば、Instructという研究基盤ネットワークでは、生物物理学的な手法、結晶学、結晶化、電顕、NMR、溶液散乱、質量分析、イメージング、計算科学など、多くの種類の研究手法をヨーロッパ全体で国境をまたいで利用できる研究基盤として研究基盤プラットフォームが展開されている。米国でも NIH がいろいろな大型プロジェクトを進めているが、中でも PSI(Protein Structure Initiative)という構造ゲノム科学プロジェクトが、第1期、第2期の10年間、方法論の開発と高度化を中心に据えていたのに対し、2010年から5年計画で進行中の第3期では PSI Biology と名前を変え、ターゲット指向へと方向転換が図られている。まだ折り返し地点を過ぎるタイミングではあるが、第4期をどう組み上げるかについての議論が既に始まっており、XFELのような最先端技術を取り込んだ相関構造解析、Integrated Biology の重要性がますます重要となると予想される。

本講演では、創薬等プラットフォーム事業、JST「構造生命科学」CREST・さきがけ、SLAC/スタンフォード大学における Integrated Biolog Initiative や各国の取り組みを紹介し、構造生命科学とその基礎となる Integrated Biology、相関構造解析について議論したい。

生命動態に対する動画像データと定量データの統合データベース

○京田耕司¹⁾、遠里由佳子¹⁾、ケネス・ホー¹⁾、大浪修一^{1,2)}¹⁾理化学研究所生命システム研究センター発生動態研究チーム、²⁾科学技術振興機構バイオサイエンスデータベースセンター

近年の顕微鏡技術および撮影法の急速な発展に伴い、さまざまな種類の生命現象に対する動画像が蓄積されている。これらの動画像の多くは生命現象に関する豊富な情報を含んでおり、当初の研究目的以外にも幅広い研究に利用することが可能である。動画像を集約したデータベースを開発することは、生命現象を理解するための研究資源として、動画像を広く再利用することに繋がる。我々は、生命動態に対する動画像とそこから計測される定量データの再利用を促進するための統合的なデータベースを開発している。本発表では、この統合データベースの現状と課題、さらに今後の展望について述べる。

我々は、生命動態に対する動画像とそこから画像処理により計測される時空間情報を数値として含む定量データを集約した SSBD (Systems Science of Biological Dynamics) データベースを開発している。このデータベースでは、生命動態の動画像は、OMERO と呼ばれる動画像管理プラットフォームにより登録・共有され、ウェブブラウザ上で検索・可視化、さらには ImageJ や MATLAB などの画像処理ツールから直接読み込むことが可能になる。生命動態に対する定量データは、我々が開発した言語、Biological Dynamics Markup Language (BDML) により統一的に記述されている。BDML は XML を基盤とすることにより、高い可読性と高い拡張性を達成している。定量データを統一的な形式で記述することにより、定量データの内容を迅速かつ容易に把握することが可能になり、さらに可視化や解析ツールの共有をはかることが可能になる。BDML には、定量データ計測の再現性を確保するために、動画像から定量データを抽出するまでの過程に対するメタ情報も記述することができる。

現在の SSBD データベースには、線虫 *C. elegans* 初期胚発生に対する微分干涉顕微鏡画像および細胞分裂動態の定量データ、大腸菌 *E. coli* の一分子動態、線虫 *C. elegans* 初期胚における前核移動、ショウジョウバエ *D. melanogaster* およびゼブラフィッシュの胚発生に対する定量データが含まれている。データベースに格納された動画像データは、生命現象における新たな動態を抽出したり生物学的知識を取得したりするための画像解析手法の開発に再利用することができる。また、定量データは、生命動態を解析するためのさまざまな計算手法の開発に向けた有用な研究資源になりうる。我々は、これらの定量データを利用して、表現型の解析や胚発生機構の予測をおこなう計算解析手法を開発した。本発表では、これらの手法を線虫 *C. elegans* 初期胚における細胞分裂動態の定量データに適用した結果を紹介し、このような生命動態に対する定量データを用いたデータ駆動型の生命科学研究の方向性について議論する。さらに、複雑かつ動的な生命現象の理解を推進するための IT インフラストラクチャーとしてこの SSBD データベースを発展させるにあたり、必要となる技術や超えるべき課題、将来の展望について議論する予定である。

S2-1

細胞の個性を創る、探す、使う

○合田圭介^{1,2)}

¹⁾東京大学大学院理学系研究科、²⁾カリフォルニア大学ロサンゼルス校工学部

脳活動のモデル化と知覚体験の可視化：現在と未来

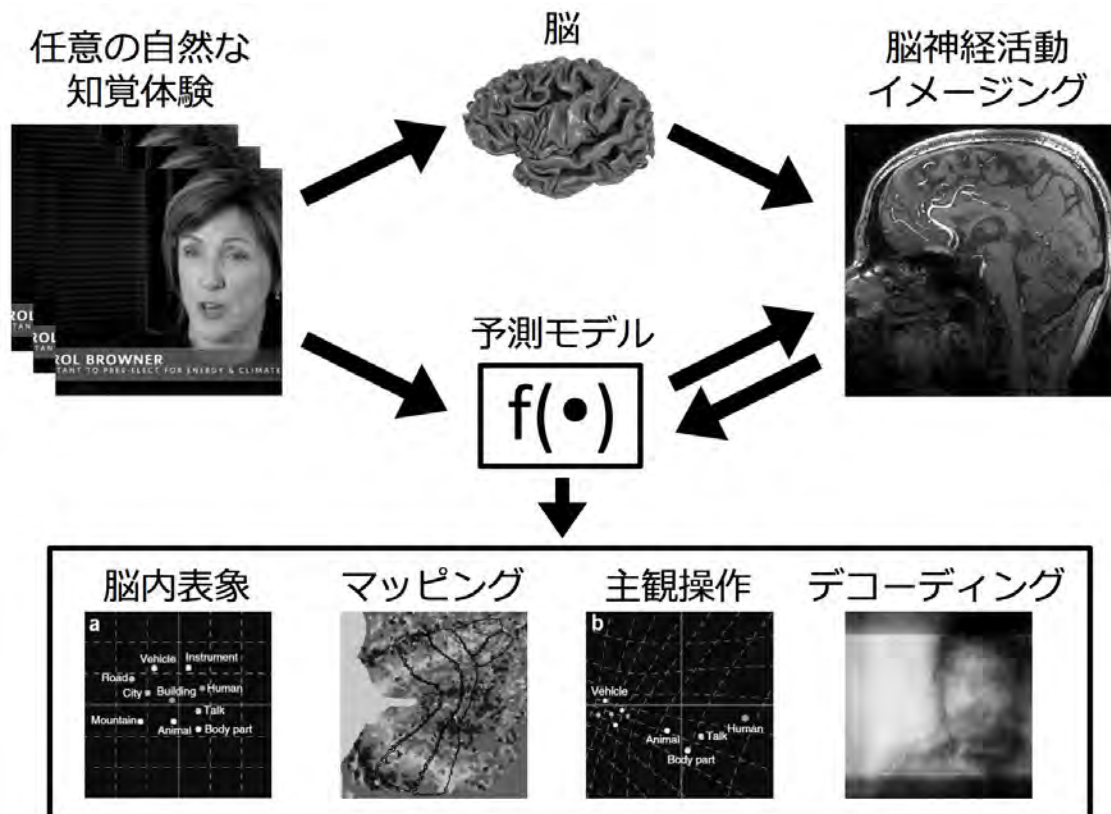
○西本伸志^{1,2)}

¹⁾情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター(CiNet)、²⁾大阪大学 大学院生命機能研究科

バイオイメージング技術の進展は、脳神経科学の発展を促す大きな原動力である。シナプスや細胞レベルでの神経活動を可視化するカルシウムイメージング法や、非侵襲的にヒト脳活動を計測できる機能的磁気共鳴画像法(fMRI)等の各種イメージング技術は、マイクロからマクロ、生理学から認知科学へといたる多層的な脳神経情報処理・表象を縦断的に解明するための強力な手段を提供している。

イメージングによって得られる膨大なデータを解析・解釈するための手段として、知覚体験と脳神経活動の関係を定量的に記述する予測モデルを用いた研究もまた大きな進展を遂げている。脳神経活動のモデル化によって得られた定量的な記述は、神経細胞間や領野間をまたぐ機能構造、脳内における時空間表象や意味空間表象、その主観的摂動によるワープ等の可視化を可能にし、それらは脳神経情報処理の定量理解を促進している。更には、脳神経活動から知覚体験を映像化・推定する技術なども進展しており、より汎用的な脳情報デコーディングや、脳-機械間通信の実現を目指した研究が広く行われている。

本講演では、これらイメージング技術を応用した脳神経活動の定量解析に関する最近の成果、およびその展望についてご紹介したい。



X線光学はどこまですすむか？

玉作賢治

理化学研究所

レントゲンが1896年に撮影した彼の妻の左手の“レントゲン写真”に見られるように、X線はその発見当初から生体のイメージングに利用されてきた。1950年代のフランクリンによるDNAの2重らせん構造の示唆やケンドリューによるミオグロビンの構造解析は、この分野の黎明期における大きな成果といえる。その後、高エネルギー加速器からの放射光が使えるようになり、X線の強度は格段に向上した。1990年代中頃に現れた第3世代の放射光施設では、それまでに比べて6桁も明るいX線が供されるようになった。これに伴いX線の光学や検出器が大幅に進化し、マイクロCT、蛍光X線イメージング、タンパク質構造解析など、研究レベルでの高度なイメージングが可能となった。2010年台に入り、第4世代となるX線自由電子レーザーが実現され、X線の明るさは第3世代に比べて10桁近く明るくなっている。現在、X線自由電子レーザーを用いて、フェムト秒の時分割構造解析や単分子（単粒子）イメージングが盛んに研究されている。

さて、第2世代から第4世代に進化したこの20年余りでX線は16桁も明るくなった訳であるが、今後20年ではどのような進展が期待されるであろうか？まず、今後もX線は明るくなると期待される。しかし、量子電磁力学の予言により、単純にあと16桁明るくなる余地はないと考えられている。光源に関する一つの方向性は、小型化である。レーザープラズマ加速が実用化されれば、現在の1kmの長さがある加速器が、1m程度にまで小型化することが出来る。これによって、現在のX線自由電子レーザーに匹敵する光源を実験室に持つことが可能になると期待される。

X線のスペックとしては、現在のフェムト秒から一段回下がつてアト秒領域の短い方に達することは間違いない。また、集光技術の進歩により1ナノメートルを下回るビームサイズが実現されると期待される。これによって実空間でナノメートル分解能のイメージングが可能になるかもしれない。集光で超高強度のX線が得られると、可視光領域の歴史から類推されるように、X線領域でも非線形光学がツールとして利用可能になると考えられる。X線非線形光学を使うことが出来れば、より高度なイメージングや分光が行えるようになる。これらの応用には光学素子や検出器の飛躍的な進歩が必要であることは言うまでもない。

講演では、今後20年間で期待されるX線光学の進展と、それによって可能になる応用について議論したい。

超高速分光の未来～アト秒・zeptasecondとイメージング～

新倉弘倫¹⁾¹⁾早稲田大学 先進理工学部

一般に、生物などの物質の状態は、環境の変化や周囲との相互作用により、ダイナミックに変化しうる。その時々刻々の変化をリアルタイムで測定することで、ある現象が起こる要因や、その性質が何によって生じているのかがわかることがある。その変化のスピードは系によって様々であるが、それでは、どれくらい速い現象の測定が可能だろうか？

物質の時々刻々の変化を測定するには、パルス状の光源（光や電子）がプローブとして用いられてきた。例えば、ある短い時間だけ光るパルスを測定対象に照射し、その後起こる過程を測定することで、パルスが当たったときに起こっている現象を測定するという方法である。より短いパルス幅を持つ光パルスや電子パルスを作り出すことが出来れば、それだけ短い時間で起こる現象を測定できることになる。1980年代にはレーザー光のパルス幅は10フェムト秒以下になり、2000年代にはアト秒という時間領域に到達した[1]。1フェムト秒は 10^{-15} 秒、1アト秒は 10^{-18} 秒に相当し、zeptasecondはさらにそのひとつ下の単位である。分子からの蛍光は一般にナノ・ピコ秒の寿命を持ち、気体の二酸化炭素などの平均の回転周期は数十ピコ秒、また同様に分子の振動運動や異性化などの化学反応は、数十フェムト秒から数百フェムト秒の時間領域で起こる。一方、アト秒の時間分解能が達成されたことで、分子の構造変化よりも速い時間で（すなわち分子の構造変化を”止めて”）、原子や簡単な分子内を運動する電子の姿を測定することが可能になってきている。さらに、アト秒パルスを発生させるときの物理過程を利用して、分子軌道の空間分布や位相を測定データから再構成する「分子軌道イメージング法」という測定法も開発されている。

原子や窒素・二酸化炭素のような簡単な分子ならともかく、果たしてタンパク質などの高分子や生体内では、電子はアト秒の時間スケールで移動しうるのだろうか？そのような「意味のある」過程は存在するだろうか。また、さらにzeptasecondでは、どんな過程が考えられるだろうか。アト秒パルスは高強度の可視～赤外のレーザーパルスを気相などの原子・分子に照射するとき起こる、「トンネルイオン化—電子再衝突過程」と呼ばれる物理過程によって発生する。本講演では、アト秒高次高調波や再衝突電子を用いたアト秒科学の基礎と講演者の最近の研究を概観し、10年後における超高速分光の未来についての予測を述べる予定である。

[1] Nature millstones, http://www.nature.com/milestones/milephotons/pdf/milephotons_all.pdf

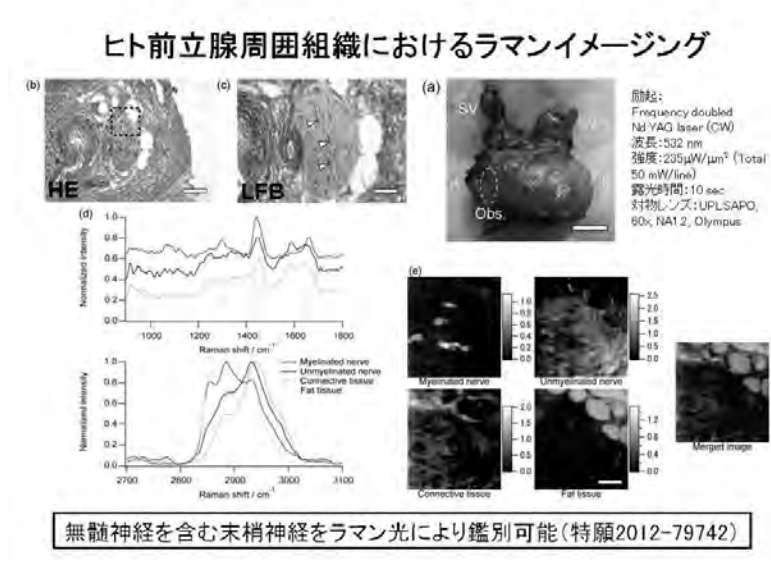
ラベルフリーイメージングの医療応用

○高松哲郎

京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理学

画像誘導手術は対象が複雑な構造を持つ場合やより正確さを求める場合に有効な手段であり、CTやMRIで撮影された画像が用いられている。加えて、病態に特異的な分子イメージングを術中に行うことができれば、より良い予後やQOLを得ることが可能になると考えられる。これまで主として蛍光プローブが多く研究者によって検討されてきたが、新しい物質をヒトに直接使用するには多くの困難が立ちだかっている。我々はその現状を打破するため、ラマン散乱を用いたイメージングを医療に応用することを提案してきた。

光を物質に照射するとその一部は散乱する。散乱光の一部（ラマン散乱）は異なった振動数を持ち、そのシフトは物質を構成する分子構造に固有であるため、測定されたラマンスペクトルを解析することにより分子の同定が可能である。すなわち、ラマン散乱分光は、生きた細胞・組織中に存在する分子の構造やその変化を非破壊・プローブなしで解析可能であり、生体組織観察に適した分光法といえる。近年の光学技術の急速な発展により、ラマン分光法を生体機能解析に利用する道が拓けてきた。ここでは、無標識での心筋梗塞巣の生体組織診断や末梢神経の検出（下図）について紹介する。



目指すシステムのイメージ



光を用いた非侵襲的、かつ確実な末梢神経検出

非標識光学イメージングで細胞状態を測る

○市村垂生¹⁾、渡邊朋信^{1,2)}

¹⁾理化学研究所生命システム研究センター、²⁾大阪大学生命機能研究科

細胞は多種多様の生体分子で構成される複雑系であり、様々な状態間を確率的に遷移している。特定の遺伝子の探索や特定のタンパク質の挙動・反応の追跡だけでは、複雑な細胞システムの機構を解明することはできない。生きた細胞の中で、システムの構成素子の様々な物理量を網羅的に計測することが求められる。生細胞中で分子や環境を「測る」ということにおいて、光学顕微鏡はほぼ唯一のツールである。なかでも、蛍光タンパク質や蛍光色素を利用した蛍光顕微鏡法が現在のところ主力のツールとなっている。一方、光と生体分子は様々な様式で直接相互作用するため、蛍光プローブを用いなくとも、原理的には、光計測により多様な分子情報を取得することが可能である。生命システムの解明を目指す研究において、様々な分子分光計測法を駆使して、細胞内での分子や環境に関する物理量を取得する方法の確立、および応用研究の推進が必要である。本講演では、私たちの研究チームで取り組んでいる、非標識イメージング法を用いた細胞計測の取り組みの中から、ラマン散乱による細胞の分化過程における細胞状態変化のモニタリング、および、第二次高調波を用いた細胞内微小管状態の分析イメージングについて紹介する。

ラマン散乱は、分子振動に由来する非弾性散乱で、分子の組成や構造の情報を与える。我々は、細胞の状態を定義する情報として、ラマン散乱スペクトルの可能性を探求している。従来、細胞の状態を定義するために、オミックス情報(遺伝子や蛋白質の網羅的な発現パターン)が用いられてきたが、細胞種を定義するだけなら、細胞種特有の情報であれば何でも良い。細胞のラマンスペクトルは細胞内の分子の濃度を反映しているため、細胞状態とはなんらかの相関を持っていると考えられる。ラマンスペクトルの形態を、“細胞指紋”と見なして、細胞状態を識別することを目的としている。我々は、様々な細胞のラマンスペクトルを計測し、細胞種がラマン散乱スペクトルにより識別・分離できることを示した。さらに、マウス胚性幹細胞などの分化過程の各段階でラマンスペクトルを解析した結果、分化に伴う細胞状態の遷移を観察できること示した [1]。

一方、第二次高調波発生は、分子の構造に依存した電子的な偏り(分極)を反映した非線形散乱現象である。タンパク質の場合、内部の二次構造、三次構造によって、分子全体の分極が大きさ、配向とも変化するため、第二高調波光の偏光や位相から、タンパク質構造変化を分析できる可能性を持っている。我々は、細胞内の細胞骨格や物質輸送を司る微小管構造の分析イメージングに取り組んでいる。第二次高調波光検出を高感度化し、生体環境中(液中)で微小管一本レベルを検出できる感度を達成している。さらに、ヌクレオチド依存的な微小管の構造状態の違いを、第二高調波光の変化として検出することにも成功した。

講演では、最新の成果を紹介するとともに、ラマン散乱、第二高調波を含む非標識イメージング技術を用いた細胞イメージングの今後の展開について議論したい。

[1] “Visualizing cell state transition using Raman spectroscopy,” T. Ichimura, L. Chiu, K. Fujita, S. Kawata, T. M. Watanabe, T. Yanagida, and H. Fujita, PlosONE 9, e84478 (2014).

吸収増幅顕微鏡による無染色細胞イメージング

○新井 由之¹⁾、山本 高之¹⁾、南川 丈夫²⁾、高松 哲郎²⁾、永井 健治¹⁾

¹⁾ 大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学研究分野、²⁾ 京都府立医科大学大学院医学研究科
細胞分子機能病理学

分光法の一つである吸光度測定は、分子の吸収スペクトルを計測することで、分子種の測定、濃度の定量を行うことが可能である。吸光度はベール・ランベットの法則に従い、分子種固有のモル吸光係数 $[M^{-1}cm^{-1}]$ 、濃度 $[M]$ 、光路長 $[cm]$ に比例する。一般的な分光光度計による測定では、吸光度の値として現実的な測定下限値である 0.01 を得るためには、100 μM 以上の高濃度試料が必要である。従って、細胞のような厚みが 10 μm (0.001 cm) 以下の試料の測定は、吸光度の測定は非常に困難である。また、分光光度計の測定では、均一な試料の 1 次元空間の測定のみに対応しており、細胞試料のイメージングを行うことは不可能である。

本研究では、光学キャビティ中に試料を置くことで、光学キャビティ中を複数回往復する光を試料に繰り返し吸収させることで、試料による僅かな光の吸収に伴う透過光強度の減衰信号を増幅し、吸光度を得る吸収増幅顕微鏡 (Cavity Reflection Enhanced Absorption Microscopy)を開発した。本顕微鏡装置を用いることで、光路長 10 μm 、濃度 5 μM の蛍光タンパク質 Venus の吸収スペクトルの計測に成功した。さらに、光学キャビティの中心で光を集光させ、自動ステージに固定した試料をスキャンすることで、生体試料を標識することなく、吸光度イメージングを行うことに成功した。本顕微鏡を用いて、無染色固定細胞を計測したところ、細胞の吸収によるコントラスト像を得ることに成功した(図 1)。さらに、細胞ごとに吸収スペクトルを計測したところ、細胞間において吸収スペクトルの違いを計測した。従って、本顕微鏡を用いることで、極微量試料の吸光度計測や、細胞個性の計測が可能であることが示唆された。

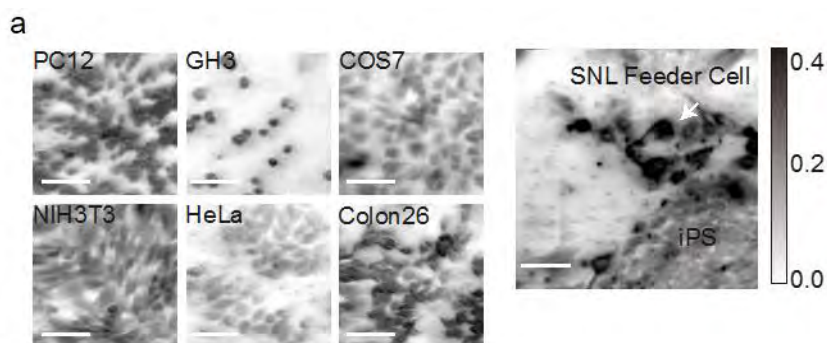


図 1 吸収増幅顕微鏡により計測した、様々な無染色細胞像 スケールバーは 100 μm

Multimodal Raman and phase imaging for maximal information retrieval from cellular targets

Nicholas Smith^{1,2,3)}, Nicolas Pavillon¹⁾, Katsumasa Fujita³⁾

¹⁾ Immunology Frontier Research Center, Osaka University, ²⁾ PRESTO, Japan Science and Technology Agency (JST), Tokyo ³⁾ Department of Applied Physics, Graduate School of Engineering, Osaka University, Japan.

Raman microscopy is a label-free imaging mode that presents biochemical and structural features of live cells. Frequency shifted light signals bounced back from the sample contain the signature of the vibrational bonds in the sample molecules. Such Raman scattering and other optical phenomena can be used to image biological molecules in living cells without labelling the sample. Since labelling techniques using chemical and biological reactions require the *a priori* knowledge of the targets and need a specific label created for the target, may cause undesirable changes in the cell, and can interfere with the function of the molecule targeted by the label, the label-free approach has some unique advantages. It also holds the possibility of finding new information since it attempts to collect the entire ensemble of molecular information from the cell, and not only a single target.

However, as an emerging technique, Raman measurement has significant challenges remain in recording weak signals in cell-scattered light, so that the implementation of Raman imaging and analysis is done hand-in-hand with the development of new hardware to improve detection and new analytic techniques for detected data. Practically, laser power, signal to noise, and acquisition time are all linked and limit the available signal. In hardware, using a line-shaped focus or scanned point which acts as a line, significant improvements in imaging speed are possible by using a cooled ccd or cmos detector and detecting multiple signals in parallel [1]. In a further hardware-based approach to solve these limitations, we also designed and built the first label-free multimodal imaging system capable of measuring optical phase and Raman scattering from live cells [2]. Measurements showed that such multimodal interactions between light and the sample can be used to further understand the nature of label free imaging modalities and provide insight into the molecular basis of cellular reactions. These are now being applied in studies of immune activation of cells, discrimination of different cell populations and the detection of abnormalities and disease [3] in cells and tissue.

- [1] M. Okada, N.I. Smith, A. F. Palonpon, H. Endo, S. Kawata, M. Sodeoka, and K. Fujita, "Label-free Raman observation of cytochrome c dynamics during apoptosis," P. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 109, pp. 28-32, (2012).
- [2] N. Pavillon, A. J. Hobro and N. I. Smith, "Cell Optical Density and Molecular Composition Revealed by Simultaneous Multimodal Label-Free Imaging", Biophys. J. 105(5), pp. 1123-1132 (2013).
- [3] A. J. Hobro, A. Konishi, C. Coban and N. I. Smith, "Raman spectroscopic analysis of malaria disease progression via blood and plasma samples", Analyst 138(14), pp. 3927-3933 (2013).

Digital Holographic Microscopy: Applications in Coherent Superresolution and Monitoring of Neuronal Dynamics

Nicolas Pavillon^{1, 2)}, Pascal Jourdain³⁾, Yann Cotte^{2, 4)}, Pierre Marquet^{3, 5)}, Christian Depeursinge²⁾

¹⁾ Immunology Frontier Research Center, Osaka University, ²⁾ Science and Technology Institute, ³⁾ Brain and Mind Institute, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, ⁴⁾ Nanolive SA, ⁵⁾ Centre de Neurosciences Psychiatriques, Hôpital universitaire de Lausanne

Digital holographic microscopy (DHM) has been recently applied to several fields in live cell imaging, thanks to its capability of acquiring label-free quantitative phase images of biological samples at high frame rates through interferometric detection. As DHM is a wide field imaging technique, it differs from most recently developed microscopy techniques which are based on laser-scanning systems.

It is possible to construct a three-dimensional superresolved DHM image by taking advantage of the coherent detection scheme and its additive feature based on a synthetic aperture approach where several images with different illumination angles are acquired and combined. The resolution can then be further improved by employing deconvolution based on the specific coherent transfer function of DHM [1], leading to a lateral resolution below 100 nm [2]. This approach yields three-dimensional refractive index maps of unlabeled samples, which can be acquired at frame rates in the minute range, thanks to the high acquisition speed of DHM (in the millisecond range).

In case of cell measurements, the phase signal can be used as an indicator of the transmembrane water fluxes occurring for instance during cellular neuronal activity. The signal can therefore be used as a label-free biological indicator linked to the activity of specific membrane receptors [3], where the dynamics of cortical neuron cells can be monitored at high-speed. It is also possible to couple the DHM measurement with fluorescence signals, such as intracellular ionic indicators [4], making it possible to deepen the understanding of underlying cellular processes linked with transmembrane water fluxes. We present recent results analyzing the respective contributions of various membrane receptors to the transmembrane water fluxes based on the combined measurement of ionic indicators and quantitative phase images.

References

1. Y. Cotte, *et al.*, "Microscopy image resolution improvement by deconvolution of complex fields," *Opt. Express* **18**(19), pp. 19462-19478 (2010).
2. Y. Cotte, *et al.*, "Marker-free phase nanoscopy," *Nat. Photonics* **7**(2), pp. 113-117 (2013).
3. P. Jourdain, *et al.*, "Determination of transmembrane water fluxes in neurons elicited by glutamate ionotropic receptors and by the co-transporters KCC2 and NKCC1: a Digital Holographic Microscopy study," *J. Neurosci.* **31**(33), pp. 11846-11854 (2011).
4. N. Pavillon, *et al.*, "Cell Morphology and Intracellular Ionic Homeostasis explored with a Multimodal Approach combining Epifluorescence and Digital Holographic Microscopy," *J. Biophotonics* **3**(7), pp. 432-436 (2010).

生命科学における光音響イメージング技術

○石原美弥¹⁾¹⁾防衛医科大学校医用工学講座

光音響イメージングのバイオメディカル応用が盛んに研究されている。光を照射した際に光吸収体で発生する超音波を用いて断層画像化する原理で、光超音波イメージングとも呼ばれる。超音波で検出するため光散乱などによる減衰の影響がなく深部の画像化が可能、かつ、自家蛍光の影響がないため高コントラストで画像を描出できる特徴を持つ。光音響イメージング装置を構成するハードウェアの仕様により、臓器、組織、細胞から細胞内小器官までを撮像対象とでき、さらに医用画像から顕微鏡画像までの幅広い応用が可能である。簡便な手法として広範に利用されている医用画像としての超音波診断画像は基本的に形態画像であるのに対して、光音響イメージングは機能画像が取得できる。共焦点レーザー顕微鏡は他の顕微鏡技術に比べてイメージング深度に利点があるがそれでも数百ミクロン程度までである。これに対して光音響顕微鏡はミリオーダーの、医用画像の場合にはセンチメートルオーダーの深部が観察できる。すなわち、現存のイメージング技術では実現できない性能を発揮する。さらに励起波長を複数にするマルチスペクトル化により複数の撮像対象を画像化でき、これは撮像対象である光吸収体の異なる吸収スペクトルを利用することで識別できる。光音響イメージングは光吸収体であれば撮像対象になるため、ヘモグロビンなどの生体内の光吸収体や医療で使用可能となっている色素を利用した臨床研究が既に着手されている。また、蛍光イメージングなどで先行している特定の分子を標的するイメージングプローブの手法が光音響イメージングに活用され始めている。

講演では、最新の研究動向と我々の研究アプローチの紹介とともに、光音響イメージングが生命科学にどのように貢献できるかディスカッションする場に出来ればと思う。

すばる望遠鏡レーザーガイド星補償光学と生体イメージングへの応用

○早野裕^{1,4)}、玉田洋介^{2,5)}、服部雅之³⁾、村田隆^{2,5)}、大屋真¹⁾、亀井保博^{3,5)}、長谷部光泰^{2,5)}

¹⁾国立天文台ハワイ観測所、²⁾基礎生物学研究所生物進化研究部門、³⁾基礎生物学研究所光学解析室、

⁴⁾総研大・物理科学研究科・天文科学専攻、⁵⁾総研大・生命科学研究科・基礎生物学専攻

補償光学は、観測対象と計測装置との間に存在する不均一な媒質によって乱された光の波面(同位相面)を補正し、回折限界に迫る高い分解能を得る技術で、基本構成要素は光の波面形状を測定する波面センサー、波面形状を変形させる可変形鏡、波面センサーの測定情報から可変形鏡の制御量を計算する制御計算機からなる。その概念は1953年にBabcockによって初めて提案されたが、必要な要素技術が未発達であったため、しばらく実際の装置として完成しなかった。その後、CCD 検出器、計算機などの技術が成熟し、1980年代中頃から4m級の地上光学赤外線望遠鏡で活発に補償光学の開発が始まり、大気の影響で解像度が1秒角程度であった限界を超えて、回折限界像(0.1秒角)が得られるようになった。1990年代には8m級の地上光学赤外線望遠鏡のための補償光学開発が進んだ。日本のすばる望遠鏡では、第一世代の36素子補償光学システムが2000年に完成、第二世代のレーザーガイド星188素子補償光学システムが2008年に完成し、稼働中である。

天体望遠鏡の補償光学のシステム設計は、まず大気の影響を把握することから始まる。これをシーイング調査とよんでいる。天体の光が地球の大気圏外に到達したとき、天体が十分遠方にあるため、平面波と見なすことができる。その平面波が大気を通過して、望遠鏡に入射するときには、ゆがんだ形状の波面になる。このゆがんだ波面の形状とその時間変動の統計的な性質を調べることで、波面センサーの波面分割数やサンプリング時間間隔、可変形鏡の制御素子数と応答速度、計算機の演算速度などの基本システムパラメータが決定される。例えば、すばる望遠鏡レーザーガイド星補償光学では波面センサーの波面分割数と可変形鏡の制御素子数は188と決め、その空間パターンを一致させている。また、1kHzで波面センサーを読み出し、1msのタイムラグで可変形鏡を駆動している。このようなシステム構成によって、観測波長1 μ m以上で、回折限界像を得られる設計となっている。さらに、波面形状を測定するための十分な明るさの基準光源(ガイド星)をどの天域でも確保するため、高度約90kmにある幅約10kmのナトリウム原子を励起してレーザーガイド星を生成する機能を合わせ持っている。

補償光学は天文学への応用で発達してきたが、媒質の不均一性によって結像性能が劣化するあらゆる測定光学系に応用できる。眼底イメージングなどすでに実用化されている例もある。また、この数年では、生きた組織や細胞の顕微鏡観察にも積極的に応用されてきている。細胞内外には屈折率の異なる多様な構造体が混在するため、生体組織の奥深くを観察しようとする、光の屈折により像が劣化してしまう。そうした不均一な屈折率分布による光の屈折を補償光学によって補正をすると、複雑かつ多様な生体組織の内部でも鮮明な像を得られることが期待できる。我々は、3年前から、補償光学を備えた顕微鏡システムの新規開発と、その試作機を用いた細胞のイメージングを進めてきた。これまで、人工試料のイメージング、およびタマネギ表皮細胞とヒメツリガネゴケ葉細胞のイメージングにおいて、回折限界に迫る精細な像の取得に成功してきた。また、ショウジョウバエの胚、メダカの稚魚などの反対側にある蛍光ビーズの像改善の実験に挑戦している。以上の成果は、今後の補償光学顕微鏡の発展の基礎となるものである。さらに、生体の様々な光学的観察手法、例えば超解像顕微鏡などにも応用できる可能性がある。

多次元画像情報を同時記録するホログラフィ

○田原樹

関西大学 システム理工学部

ホログラフィ^{1,2)}とは回折・干渉に基づく3次元画像記録・可視化技術である。干渉のために一般的にレーザを用い、試料を照明し回折・散乱した光と試料を介さない光により形成される干渉縞画像を記録媒体で記録する。干渉を利用することで光の明るさだけでなく位相情報、すなわち光がどこから来たか、どれだけ遅れてきたかの情報を記録でき、結果として試料の3次元的位置を知ることができる。本技術は3次元ディスプレイ応用で認知されているが、可視化・計測応用も可能で、この世で最も速い光の3次元空間伝播の動画像記録・可視化なども実証されている³⁾。

記録材料にCCDやCMOSイメージセンサなど電子機器を用い、計算機で3次元画像や定量位相画像を再生するホログラフィは近年デジタルホログラフィ⁴⁾と呼ばれ盛んに研究されている。特徴を活かし癌細胞のスクリーニング⁵⁾、複数生体の同時3次元動態動画像可視化⁶⁾、また偏光イメージングカメラを用いた3次元画像と生体高分子集合体の非染色同時可視化⁷⁾が報告されている。

ホログラフィの他の特徴として、同一空間に複数の2, 3次元画像情報を多重記録できる。一例として、1万円紙幣の左下部にあるホログラムを見てみると、紙幣の回転に応じて異なる画像を見ることができる。これを複数波長情報の同時記録に応用し3次元計測精度向上⁸⁾、高速カラー3次元動画イメージング⁹⁾などが報告されており、生物試料のマルチバンドイメージングも達成可能とみられる¹⁰⁾(図1)。講演ではホログラフィの生命科学研究応用可能性についても検討する。

本研究の一部は、(公財)光科学技術研究振興財団平成25年度研究助成、(公財)村田学術振興財団平成26年度研究助成、JSPS科学研究費(研究活動スタート支援)25886014、平成25年度—平成29年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業により行なわれた。

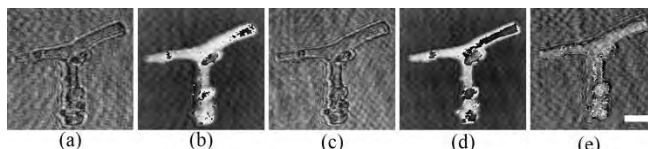


図1. 単板単色撮像素子による単一露光マルチバンド画像記録例. 波長640nmにおける(a)吸収像, (b)位相像. 波長532nmにおける(c)吸収像, (d)位相像. (e)光学厚さ画像. 試料はナマコ骨片, 撮像素子面から2mmの深さに合焦の像, スケールバーは10µm.

参考文献

- 1) D. Gabor, "A new microscopic principle," *Nature* **161**, 777-778 (1948).
- 2) 久保田敏弘 著, "新版 ホログラフィ入門", 朝倉書店, 東京, (2010).
- 3) T. Kubota, K. Komai, M. Yamagiwa, and Y. Awatsuji, "Moving picture recording and observation of three-dimensional image of femtosecond light pulse propagation," *Opt. Express* **15**, 14348-14354 (2007).
- 4) "Digital Holographic Microscopy Principles, Techniques, and Applications," ed. M. K. Kim, (Springer, 2011).
- 5) E. Watanabe, T. Hoshiba, and B. Javidi, "High-precision microscopic phase imaging without phase unwrapping for cancer cell identification," *Opt. Lett.* **38**, 1319-1321 (2013).
- 6) T. Tahara, R. Yonesaka, S. Yamamoto, T. Kakue, P. Xia, Y. Awatsuji, K. Nishio, S. Ura, T. Kubota, and O. Matoba, *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **18**, 1387-1394 (2012).
- 7) T. Tahara, Y. Awatsuji, Y. Shimozato, T. Kakue, K. Nishio, S. Ura, T. Kubota, and O. Matoba, "Single-shot polarization-imaging digital holography based on simultaneous phase-shifting interferometry," *Opt. Lett.* **36**, 3254-3256 (2011).
- 8) J. Kühn, T. Colomb, F. Montfort, F. Charrière, Y. Emery, E. Cuche, P. Marquet, and C. Depeursinge, "Real-time dual-wavelength digital holographic microscopy with a single hologram acquisition," *Opt. Express* **15**, 7231-7242 (2007).
- 9) T. Tahara, Y. Ito, Y. Lee, P. Xia, J. Inoue, Y. Awatsuji, K. Nishio, S. Ura, T. Kubota, and O. Matoba, "Multiwavelength parallel phase-shifting digital holography using angular multiplexing," *Opt. Lett.* **38**, 2789-2791 (2013).
- 10) T. Tahara, T. Kaku, and Y. Arai, (2014). (submitted)

MRI でマウス生体内の免疫細胞の動きを視る

○森勇樹^{1,2)}、吉岡芳親^{1,2)}

¹⁾ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター 生体機能イメージング、²⁾ (独) 情報通信研究機構・大阪大学 脳情報通信融合研究センター

生活習慣の変化や社会情勢の変化に伴い、脳卒中、認知症、多発性硬化症などの中枢神経疾患の増加が大きな社会問題となり、その病態解明は急務である。近年の研究により、中枢神経疾患などの発症・増悪・治癒過程に、免疫細胞が重要な関与をしており、また病態時だけでなく、正常な脳においても、シナプスや死細胞の除去といった脳環境の維持に不可欠な事象に関わっていることが示されてきている。神経系、免疫系ともに繊細なネットワークのもとに成り立つシステムであり、相互に与える影響を評価するために、非侵襲的可視化法による経時的な免疫動態観察の登場が望まれている。

細胞追跡技術における MRI は、光イメージングや CT、PET などに比べ、感度の低さが問題とされてきたが、標的細胞を磁気粒子で標識すると、超高磁場を用いることで高い検出能を持ち、また、高磁場化による MRI 信号自体の高感度化によって高い画像分解能を実現することで、生体組織内においても「単一細胞レベルの動態追跡」が可能になり、これまでの限界を打ち破る新しい MRI による画像診断技術として大きな期待を集めている。脳など生体深部組織における「単一細胞レベルの動態追跡」は PET などの核医学的手法や光イメージングなどにおける、空間分解能の不足や、観察対象範囲が限られるなどのデメリットを補完することが可能であり、生体深部まで高い空間分解能で画像化することが出来る超高磁場 MRI によって初めて観察される可能性がある。

我々は、小動物用 11.7 テスラ MRI 装置を用い、今まで視覚的に捉えることが困難であった、もしくは十分に評価出来なかった生体深部の分子・細胞・組織レベルのライブイメージング技術開発研究に取り組んできた。標的細胞を磁気粒子で標識し、MRI を用いて観察することで、マウス生体脳内における 1 細胞レベルの細胞動態をリアルタイムに可視化することに成功した。さらに 10 分オーダーの時間分解能でタイムラプス動画を作成することで、生体組織内における 1 つの細胞のダイナミックな動きを長時間にわたり追跡可能になっている。本講演では、これらの結果を紹介し、MRI を用いた細胞追跡の可能性と課題、展望について述べる。我々の新しい技術によって得られる空間的・時間的情報は、正常時の脳環境維持における免疫細胞の役割や、神経免疫疾患病態メカニズムの解明に大いに寄与するものと期待される。

■ 一般演題（ポスター） ■

THz 波を用いた種子および植物葉内の水分の動態の可視化

丹野剛紀¹⁾, 平塚明²⁾, ○松嶋卯月³⁾, 河村幸男³⁾, 倉林徹¹⁾¹⁾秋田大学, ²⁾岩手県立大学, ³⁾岩手大学

【緒言】 種子や植物葉等の内部でドラスティックに変化する水の動態を知ることは、それらの生命現象を理解する上で有効な鍵となる。テラヘルツ (THz) 帯域では液体の水は大きな吸光度をもつ。これを利用し、種子の吸水過程および植物葉の凍結過程における水の動態を知ることができると考え、実証実験を行った。

【実験方法】 種子内の水分の吸収を観測するため、乾燥した岩手県内で採集した野生のヤマノイモ (*Dioscorea japonica*) の種子を水蒸気に曝露し、THz 透過イメージングを記録した。THz 波の周波数は 1.2 THz で、テラヘルツ研究所 (秋田) のテラヘルツ分光装置 TSS-I を用いた。また、植物葉が凍結する過程における吸光度の変化を観察するために、播種後 4 週間育成したシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の葉を採取し、温度制御が可能な試料台にポリ塩化ビニルフィルムで固定し、上記の分光装置を用いて冷却過程での THz 波 (1.7 THz) の透過強度の変化を記録した。また、冷却中の植物葉の温度は熱電対を用いて計測した。

【結果と考察】 水蒸気に曝露する直前から曝露後 336 時間までの間に得た THz 透過イメージングの結果を下図に示す。240 時間までは幼根から吸収された水が胚近傍から種子全体に向かって広がっていく様子が観察された。水の拡がり方は同心円状ではないことから、単純な濃度拡散ではなく能動的に輸送されていることが示唆される。

シロイヌナズナの葉温は、 -5°C まで降下した後、一時的に急激な温度上昇を示し、その時点で葉内の過冷却水が凍結したと考えられる。その温度上昇からおおよそ 10 分後に THz の吸光度は低下したが、その過程は 20 分を要し、その間に氷結晶の形成が起こったと考えられた。以上のように、THz 分光法により、種子の吸水挙動およびシロイヌナズナ葉内の氷晶形成に要する時間の情報を得ることが可能であった。

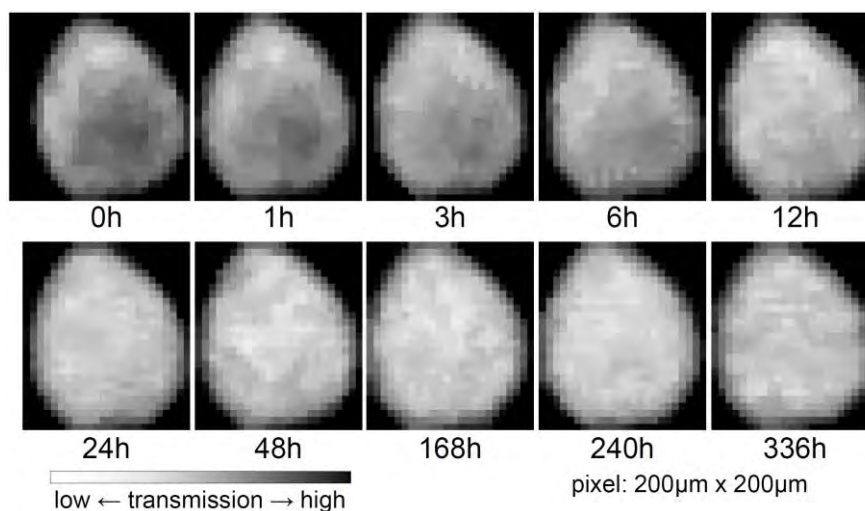


図 ヤマノイモ種子の吸水過程の THz 透過イメージ

近赤外分光イメージングおよび重水トレーサによる植物内水移動の可視化

○松嶋卯月, 庄野浩資, 岡田益己

岩手大学農学部

【背景】 重水は水と化学的性質が似ており、植物体の根から良く吸収されるため、植物水分生理学の研究等で水のトレーサとして用いられる。一方、近赤外線には、水に吸収されるが重水にほとんど吸収されない波長帯がある。そこで、近赤外分光イメージングと重水トレーサを組み合わせることで、葉、莖、根など植物体内における水移動を可視化できると考え、植物体内における水移動を巨視的、微視的に可視化する近赤外線分光イメージング法を開発した。

【実験方法】 まず、植物による重水吸収が水と異なるかを調査するために、供試植物であるイネ(*Oryza sativa*)、'ひとめぼれ'幼苗の根2本を水および重水に浸し、それぞれの根による吸収速度の差を比較した。続いて、近赤外域に感度を持つビジコンカメラ、バンドパスフィルタ、および、近赤外光源を組み合わせた近赤外線分光イメージング装置を試作した。イメージング法の適用性を確認するために、ガラスビーズ培地で栽培したイネの根系に重水を供給し、5分毎に近赤外分光イメージングを行った。さらに、微視的な水移動情報を可視化するために、撮像系に近赤外域に透過性がある10倍対物レンズを採用し、暗視野照明はフライアイレンズ2枚からなるインテグレート光学系とした。

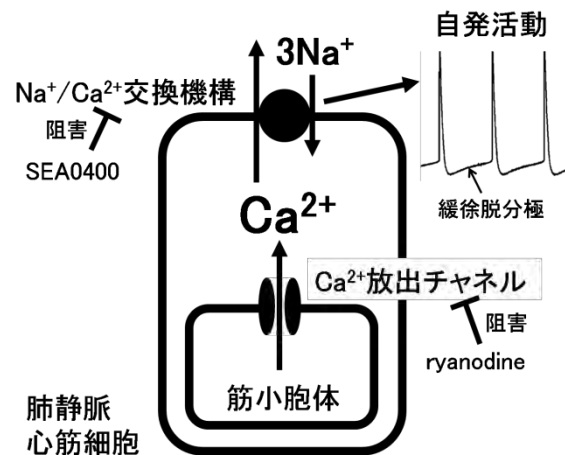
【結果と考察】 イネ幼苗の根による平均の吸収速度を比較すると、水は重水の約1.4倍の速度で根に吸収され、一対標本 t 検定を行った結果、1%の棄却域で根による水および重水の吸収速度には有意な差があった。試作した近赤外イメージング装置で撮影した画像には、始めに根、続いて葉において重水吸収由来の画素値の増加が見られた。また、レンズに10倍対物レンズを用いて撮影をしたところ、直径がおよそ0.1 mmのシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)根系を観察するために十分な空間分解能が得られた。また、試料の根系下方に重水トレーサを与えたところ、根系上方で画素値の増加がみられ、重水トレーサが根系を下方から上方へ移動したことを確認した。以上のように、近赤外分光イメージングと重水トレーサを用いて植物内部の水移動を巨視的、微視的に可視化することが可能であった。しかし、重水をトレーサとして用いる場合には、植物根による重水の吸収速度が水より遅いことを考慮する必要がある。

モルモット肺静脈心筋の細胞内 Ca^{2+} 依存性電氣的自発活動

○恒岡弥生^{1,2)}、行方衣由紀¹⁾、川西徹³⁾、田中光¹⁾

¹⁾東邦大学薬学部薬物学教室、²⁾東京理科大学薬学部薬理学研究室、³⁾国立医薬品食品衛生研究所

肺静脈は肺から心臓に血液を送る血管であるが、その血管壁には心房から続く心筋の層が存在している。この肺静脈心筋で生じる電氣的自発活動が心房に伝わると、心房細動などの不整脈の原因となる。一般に電氣的自発活動を示す細胞では、膜電位の緩徐な脱分極が見られ、これが閾値に達すると活動電位が惹起される。肺静脈心筋の緩徐脱分極は、洞房結節などの心臓の刺激伝導系で通常みられるものとは異なる膜電位領域で生じており、独自の機序を有している可能性が考えられる。そこで我々は肺静脈心筋の電氣的自発活動の機序について、モルモット摘出肺静脈標本に電気生理学的手法と蛍光イメージング法を適用して検討した。肺静脈組織標本の約半数で心筋層に電氣的自発活動が認められた。自発活動を示さない標本に noradrenaline や ouabain を投与すると自発活動が誘発され、多くの場合、活動電位の発生に先行して膜電位の振動が観測された。また、これらの自発活動は筋小胞体の Ca^{2+} 放出を抑制する ryanodine により著明に抑制されたことから、細胞内の Ca^{2+} 濃度上昇やオシレーションが電氣的自発活動につながる事が判明した。自発活動は SEA0400 によっても抑制されたことから、細胞内 Ca^{2+} を3つの Na^+ と引きかえに細胞外にくみだす Na^+ - Ca^{2+} 交換機構の働きにより緩徐脱分極が生じ、電氣的自発活動につながる事が判明した。単離肺静脈心筋細胞は心房筋細胞と類似の大きさや形態を有していたが、心房筋細胞と異なりその約3分の1で活動電位の発生を示す Ca^{2+} transient が観察された。膜電位固定法による測定の結果、肺静脈心筋細胞では静止膜電位を陰性に維持する内向き整流性 K^+ チャンネル電流の密度が少ないことが判明した。自発的 Ca^{2+} transient や Ca^{2+} oscillation は、内向き整流性 K^+ チャンネルの電流密度を増大させる carbachol により抑制され、逆に内向き整流性 K^+ チャンネル電流密度を減少させる tertiapin により誘発された。これらの結果から、肺静脈心筋細胞では内向き整流性 K^+ チャンネルの電流密度が小さいことが細胞内 Ca^{2+} 依存性の電氣的自発活動を許容していることが判明した。肺静脈心筋の電氣的自発活動を究めることを通じ、心臓の電気活動に関する理解が深まり、新たな不整脈治療への基盤が形成されることを期待する。



β-グルコシダーゼ酵素反応の1分子蛍光イメージング

○飯塚 怜¹⁾、利光 郁美¹⁾、荒井 啓克²⁾、手塚 俊博²⁾、松岡 浩司²⁾、劉 暁宇³⁾、
大久保 幸太郎³⁾、谷井 孝至³⁾、五十嵐 圭日子⁴⁾、鮫島 正浩⁴⁾、船津 高志¹⁾
¹⁾東大・院薬、²⁾埼大・院理工、³⁾早大・理工、⁴⁾東大・院農生科

β-グルコシダーゼは、糖のβ-1,4結合の加水分解を触媒する酵素である。バクテリア・菌類において、β-グルコシダーゼはセロビオースやセロオリゴ糖の加水分解反応を触媒し、セルロース系バイオマスの糖化において重要な役割を担っている。多くのβ-グルコシダーゼは、自身の活性により生じるグルコースの増加に伴い、その活性が低下してしまう。このため、その反応を正確に解析することは難しい。またグルコースによる阻害には、2種類の様式(競合阻害・非競合阻害)が提案されており、そのメカニズムについては不明な点が多い。そこで本研究では、白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* 由来β-グルコシダーゼ(BGL1B)を用い、1分子蛍光イメージング法によりβ-グルコシダーゼ反応の正確な速度論的解析およびグルコースによる阻害機構の解明を目的としている。

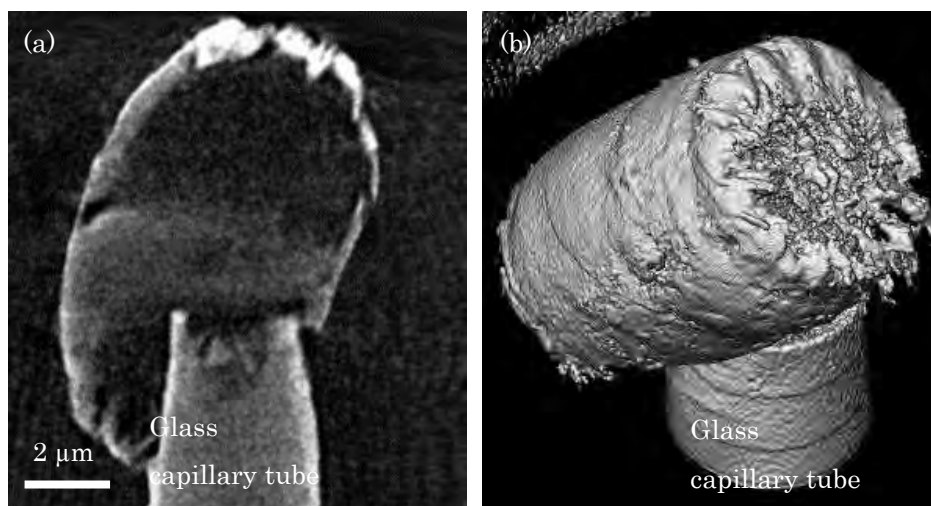
BGL1Bのセロビオースに対する K_m は約200 μMであり、その反応を1分子レベルで追跡するにはμM濃度のTMR-セロビオースを溶液中に存在させる必要がある。そこで、ナノ開口基板を用いた1分子蛍光イメージング法を適用した。ナノ開口基板は、石英ガラスに蒸着したアルミニウム薄膜上に、可視光の波長よりも小さな開口を多数配列させた基板である。開口の下側から光を照射すると、光は透過せず、開口底面に非常に局在化したエバネッセント場が発生する。これを励起光とすることで、μM濃度の蛍光標識分子を溶液中に存在させながらも1分子蛍光イメージングが行えるようになる。

ナノ開口基板上に、ビオチン化BSAおよびストレプトアビジンを介して、ビオチン化BGL1Bを固定し、溶液中に1 μMの蛍光標識セロビオース(TMR-セロビオース)を存在させ、その結合・解離を1分子イメージングした。TMR-セロビオースのブラウン運動をしており、輝点として検出できないが、BGL1Bに結合したTMR-セロビオースは輝点として観察される。すなわち、酵素-基質(ES)複合体の直接観察が可能となる。輝点の出現から消失までの時間を「結合時間」と定義し、その解析を行った。その結果、ES複合体は「速い反応」または「遅い反応」を経て消失することが分かった。「速い反応」は加水分解反応、「遅い反応」は基質の解離反応に相当すると思われる。また反応阻害剤であるグルコース存在下において同様の実験を行ったところ、グルコース濃度増加とともにES複合体の形成の頻度・「速い反応」の割合が低下するとともに、「速い反応」が遅延した。この結果から、グルコースは非競合阻害的に反応を阻害することが示唆された。

結像軟 X 線 CT による 3 次元構造観察

大東 琢治^{1,2)}、吉村 真史²⁾、○竹本 邦子³⁾、難波 秀俊⁴⁾、木原 裕²⁾¹⁾分子科学研究所 UVSOR、²⁾立命館大学 SR センター、³⁾関西医科大学 物理学教室、⁴⁾立命館大学 理工物理

X 線をプローブに利用した観察手法の利点のひとつは、その透過力の高さにある。電子線プローブと異なって真空が必ずしも不要ではなく、大気中の測定はもとより、炭素と酸素の K 吸収端の間にある水の窓領域の軟 X 線 (282~539 eV) を用いることで、水中にある細胞などの試料でも染色無しでコントラスト良く観察する事も可能である。更には、高い透過力を活かして Computed Tomography (CT)を行うことができることも特筆すべき特長である。これにより、非破壊で試料の 3 次元構造を観察する事が可能となる。立命館大学 BKC キャンパスにある SR センターの BL-12 は、国内唯一となる結像型軟 X 線顕微鏡の常設ビームラインであり、これらの特長を活用し、生物試料を主な観察対象とする装置開発を行ってきた。この X 線顕微鏡は白色の放射光を集光用 Fresnel Zone Plate (FZP) で試料に臨界照明を行うと同時に FZP の持つ色収差を利用し、ピンホールによって分光も行う。試料を透過した X 線は、結像用 FZP で 2 次元画像検出器である背面照射型 CCD 上に結像を行う。この光学系は真空内にあるが、試料位置のみは窒化シリコン膜を窓材として用いることで、試料のみ大気中に設置できる様になっており、試料へのアクセスが容易である。2013 年、このビームラインへ除振台定盤の導入による光学系の安定化を図り、測定に長時間かかる CT を定常的に行える光学系としてきた。本発表では、近年の BL-12 における 3 次元観察の成果を報告する。3 次元観察の例として Fig. 1 に植物性プランクトン (*Skeletonema potamos*) の (a) 軸方向断面の再構成像と (b) ボリュームレンダリング像を示す。試料はキャピラリーチューブ上に固定し、風乾したものを観察した。その際、波長 1.81 nm を用いた。

Fig. 1: *Skeletonema potamos* の(a) 回転軸方向の断面像、(b)ボリュームレンダリング像

細胞性粘菌の多細胞体における全細胞 3 次元運動追跡法の構築

○橋村秀典¹⁾、安井真人²⁾、上田昌宏²⁾、井上敬¹⁾

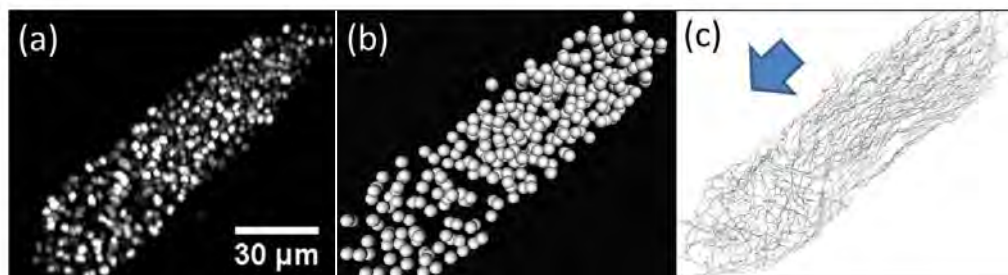
¹⁾ 京都大学理学研究科、²⁾ 大阪大学理学研究科 生物科学専攻

多細胞生物において、個々の細胞の運動が組織化されることで細胞集団が全体として秩序だった運動を行うことは形態形成など様々な発生現象において重要である。我々は個々の細胞運動と集団全体の運動の比較という観点から多細胞運動の制御機構の解明を目指し、細胞性粘菌の多細胞体における細胞運動の研究を進めている。

単細胞期の細胞性粘菌は飢餓状態になると細胞間で走化性物質である cAMP を伝達し合うことで集合し、移動体と呼ばれる運動性を持った多細胞体を形成する。移動体は1つの個体のように統制のとれた運動を行い、光などの刺激に応じて先端部を屈曲させる。この屈曲運動は外部の刺激に応じて個々の細胞の運動が協調的に変化することで起こると考えられるが、現象の複雑さ故にその機構の詳細は不明である。我々は屈曲運動時に移動体内の細胞運動のパターンがどのように変化するかを明らかにするため、移動体内の細胞の運動の追跡を行う新たな測定系を構築した。

移動体を構成する細胞数の多さ(10 万個)、移動体自身の厚み(約 100 μm)などによって移動体内の個々の細胞運動を追跡するのは困難である。これまでは、細胞質を蛍光標識した細胞を数%混ぜて発生させた移動体内の細胞の挙動の追跡が行われていた[1]。しかし、この測定法では移動体内の少数の細胞の挙動しか追跡できず、また蛍光顕微鏡を用いて 2 次元的な運動しか撮影しなかったために、3 次元的な運動を行う先端領域の細胞の挙動を追跡することはできなかった。

我々は通常よりも上下空間が狭い場で細胞を集合させ[2]、構成細胞数が少なく(50~400 個)、薄い(35 μm 以下) 微小移動体を発生させることで、通常の移動体を用いるよりも細胞運動の追跡を容易にした。さらに核を histone-GFP で蛍光標識した微小移動体を共焦点顕微鏡で 3 次元タイムラプス撮影することで (図 a)、移動体内の細胞を 3 次元的に追跡できる測定法を構築した。これにより、これまで追跡が困難だった先端領域の細胞を含むほぼ全ての細胞の挙動を追跡することが可能になった (図 b、図 c)。移動体は刺激を受けてから 5 分以内に屈曲運動を開始するが、この追跡法により屈曲運動時に先立つ細胞運動の変化が明らかになることが期待できる。



(a) 微小移動体内の全細胞の histone-GFP の蛍光像 (z-projection)。
 (b) (a) の測定データから細胞運動を追跡し、得られた細胞の 3 次元位置情報を元に作成した画像。
 (c) (a) の測定データを元に得られた細胞の 8 分間の運動の軌跡 (12 秒間隔で 42 コマ撮影)。矢印は移動体全体の進行方向を示す。

[1] Dormann and Weijer. (2006). [2] Rieu, *et.al.* (2004).

空間光変調器を用いた多点2光子励起蛍光顕微鏡の検討

○ 松本直也¹⁾、岡崎茂俊²⁾、井上卓¹⁾、田中博¹⁾、大林寧¹⁾、寺川進²⁾

¹⁾浜松ホトニクス株式会社中央研究所 浜松市浜北区平口 5000、

²⁾浜松医科大学 メディカルフォトンクス研究センター 浜松市東区半田山1丁目20番地1号

多点同時励起による走査型2光子励起蛍光顕微鏡の基礎検証を行った。近年、生体観測、特に脳の観察において、浅い位置から深い位置までの3次元イメージ像を取得する研究が盛んである。走査型2光子励起蛍光顕微鏡では、ガルバノスキャナを光軸に対して垂直な方法(xy方向)に走査して2次元画像を取得し、さらに対物レンズを光軸方向(z方向)に移動させてz位置の異なる複数枚の2次元画像から3次元画像を構成する。この場合、通常、数十～数千枚の2次元画像を取得するため、分から時間単位の観察時間が必要となる。高速化の実現には、2次元画像取得のための走査レートを高速にすることが考えられるが、1点集光ビーム走査の場合、高速化に限界がある上、被観測物体上の1点における励起光の照射・蛍光検出時間が短くなる。このために励起光強度を高くする必要が生じ、その結果、多光子励起による蛍光色素の退色や熱的焼損など、観察試料へのダメージの可能性が高くなる。

近年、2次元画像を領域分割して、励起のための複数の集光点を生成して各領域を照射し、走査することにより、各画素における励起光の照射強度ならびに照射時間を変えずに、観察時間を短縮することができる、多点同時照射・同時観察方法が研究されている。本発表では、我々が行った多点同時観察手法の研究結果を報告する。

多点同時照射のためのデバイスとして空間光変調器 (SLM)を、また多点蛍光の同時観察のデバイスとしてマルチアノード光電子増倍管(mPMT)を採用した。2光子励起蛍光顕微鏡用の超短パルスレーザからのビームをSLMにて位相変調し、ガルバノスキャナを介して対物レンズ下の非測定物体を多点照射した。多点照射によって生じた多点の蛍光は、対物レンズ、ガルバノスキャナを経由した後、ダイクロイックミラーで分離され、mPMTで検出される。本研究では8点の多点を生成して照射を行った。その結果、1点で走査するよりも8倍の高速撮像を実現した。

また、多点照射においては、各点の励起光強度にバラツキがあると、各点から得られる蛍光像の明るさ、シグナル/ノイズ比等が異なり、再構成した2次元画像ならびに3次元画像が劣化する。そこで我々は、多点照射における各点の蛍光強度を均一化するための方法として、濃度が均一な蛍光色素溶液に多点を照射したときに観測される多点の蛍光の強度が均一になるように、SLMに表示するホログラムを最適化し、強度ムラの小さい画像の取得を実現した。そして、実際の生体試料でも強度ムラの小さい画像が取得できることを確認した。

謝辞

本発表の一部はJSTの委託を受けて遂行した。

一細胞発光測定で明らかにするウキクサにおける細胞概日振動子集団の振る舞い

○村中智明、岡田全朗、小山時隆

京都大学・院・理・植物学教室

高等植物における一細胞発光イメージング系の開発

生物における様々な生理現象は、関連遺伝子の発現が巧妙に制御されることで実現されている。遺伝子発現の場は細胞であるが、同一個体内の同種細胞においても、遺伝子の発現量や発現パターンにはバラつきが生じることが知られている。そのため、複雑な多細胞システムとして生物個体を理解するためには一細胞レベルでの遺伝子発現の解析が必要となる。

標的遺伝子のプロモータ下流にルシフェラーゼ遺伝子を結合する生物発光レポータの開発により、遺伝子発現をリアルタイムに測定することが可能となった。動物では培養細胞や、組織スライスを用いた一細胞レベルでの測定も行われている。しかしながら、高等植物では細胞が個体内に三次元的に配置されており、組織のスライス培養も難しいため、生物発光測定時に複数の細胞由来の発光が重なることが避けられず、一細胞由来の発光を正確に定量することが困難であった。

我々は、ジーンガンによる遺伝子導入において個体内の細胞がまばらに形質転換されることに着目し、高等植物における一細胞発光イメージング系を開発した。この測定系では、ジーンガンによりルシフェラーゼ発光レポータをウキクサ植物へと導入し、高感度CCDカメラを用いて個体内の各レポータ導入細胞の生物発光量を測定する（図1A）。ウキクサ植物は小さく平坦であり、上下運動を示さないため、個体全体の高分解像度イメージングを長期間行うことができる。本発表では細胞発光の分布特性や、導入細胞の種類など、測定系の基本的特性について報告する。

ウキクサ個体内の細胞概日振動子の挙動解析

我々は一細胞発光イメージング系を用いて、イボウキクサにおける概日時計遺伝子の発現変動を細胞レベルで測定した（図1C）。概日時計は24時間周期の振動を生み出すことで周期的な環境変動に適応するための仕組みである。高等植物では全ての細胞で時計遺伝子が発現するため、概日時計は多細胞システムとして機能していると考えられている。測定の結果、定常状態において細胞概日リズムは持続し、個体全体で顕著な脱同期を示すことが明らかとなった。また、脱同期状態のウキクサ個体へ明暗条件を与えたところ各細胞概日リズムが明暗周期に同調していく様子が観察された。本発表ではこれらの解析結果を報告する。

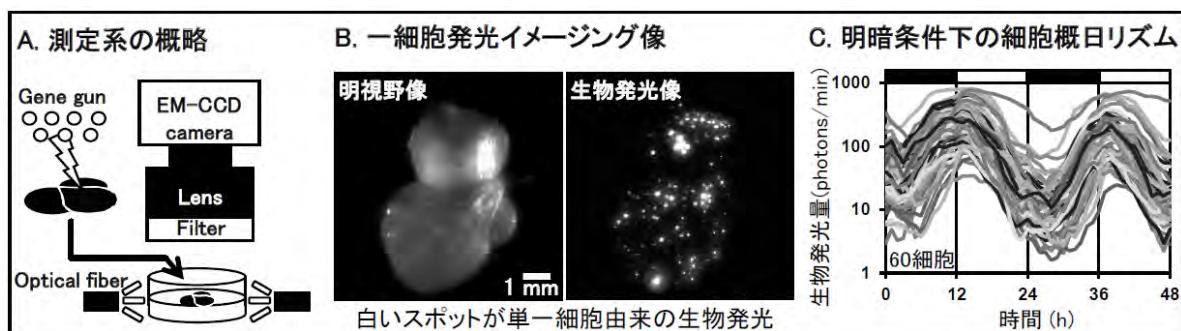


図1. イボウキクサを用いた一細胞発光イメージング

細胞概日リズム可視化による植物細胞時計の時刻合わせ機構の解析

○岡田全朗、村中智明、小山時隆

京都大学・院・理・植物

【背景・目的】

生物は生体内に概日時計システムを進化させることで、地球の自転に伴う周期的な環境変動を予測し適応してきた。概日時計によって発振される自律振動のリズムは約 24 時間の周期を持ち、光や温度などの生体外からのシグナル受容による「時刻合わせ」によって安定に持続すると考えられている。特に光合成のエネルギー源として太陽光を用いる植物にとって、概日時計の自律振動の周期を外環境の明暗周期に同期させることは重要である。植物概日時計の自律振動の実体が時計関連遺伝子間の転写制御のフィードバックループであることが明らかになっていることから、個々の細胞が概日性を持つ振動子(細胞時計)であり、植物個体の概日リズムはこれら振動子のリズムによって構成されていると考えることができる。そのため植物概日時計は、細胞時計が協調的に外環境の明暗周期と同期することで時刻合わせを可能にしていると考えられるが、これに関わる遺伝子を含め、そのメカニズムは未解明である。そこで、我々の研究室で確立された単一細胞の概日リズム測定系¹⁾に改良を加え、様々な明暗周期条件下における個々の細胞概日リズムを遺伝子状態の異なる複数のサンプルについて並行して測定することを可能にした。この測定系を用い、様々な明暗周期に対する植物細胞概日リズムの同期状態とリズム安定性維持における時計関連遺伝子 *ELF3*(*EARLY FLOWERING 3*)の役割を明らかにした。

【方法・結果】

本研究では、扁平で長期観察に適したウキクサ植物を材料として用いた。概日リズムの測定系として、ルシフェラーゼを生物発光レポーターとして用い、明け方に発現ピークを持つ時計遺伝子 *AtCCA1* のプロモーター活性を可視化した系を用いた。概日リズムレポーター(*AtCCA1::luc*)をパーティクルボンバードメント法によってウキクサに導入することで、単一細胞レベルでの概日リズム測定が可能である¹⁾(図1)。さらに、複数のサンプルを載せた台の回転角とサンプルに対する光照射時間をプログラム制御することにより、(1)様々な明暗スケジュール管理の下、(2)複数のサンプルの概日リズムを、(3)細胞レベルで、(4)長時間に渡って測定可能な系を確立した(図2)。この測定系を用いて *ELF3* の RNAi コンストラクトを *AtCCA1::luc* レポーターと共導入したサンプルの細胞概日リズムを、対照区と同時並行で測定・比較解析した。その結果 *ELF3-RNAi* の細胞の概日リズムは、連続明条件で不安定化し、明暗サイクルを与えると明期開始に過剰に応答した。本発表では、明暗周期に対する細胞概日リズム同期において *ELF3* が担う役割について議論したい。

1) Muranaka et al., *Plant Cell Physiol.* 54 (12): 2085-2093 (2013)

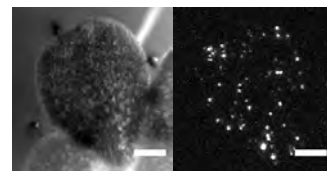


図1. 生物発光画像
明視野像(左)と発光像(右)。発光像中の白いスポットは単一細胞由来の発光を示す。
bar=1 mm

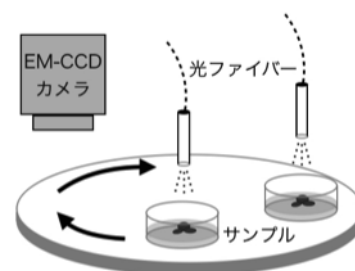


図2. 細胞概日リズムの複数サンプル測定系
EM-CCD カメラの露光、台の回転、光ファイバーによる光照射をそれぞれプログラム制御

植物の NADPH oxidase による活性酸素種の積極的生成のイメージング解析

○朽津和幸¹⁾、藪田渉二¹⁾、中内愛由子¹⁾、橋本研志¹⁾、木村幸恵¹⁾、河原崎朋子¹⁾、賀屋秀隆¹⁾、
Maria Drerup^{1,2)}、Jörg Kudla²⁾、金岡雅浩³⁾、東山哲也³⁾、岩野恵⁴⁾、高山誠司⁴⁾

¹⁾東京理科大・理工・応用生物科学、²⁾ミュンスター大、³⁾名古屋大・理、⁴⁾奈良先端大・バイオ

植物は、光合成等の過程で不可避免的に発生する活性酸素種(ROS)に対する独自の防御機構を発達させている一方で、ストレス応答や形態形成等の過程で ROS を積極的に生成し、利用している。ROS の積極的生成を担う NADPH oxidase (Nox)の酵素本体として、多種の respiratory burst oxidase homolog (Rboh) が機能分担しており、その活性は、時空間的に厳密に制御されている。様々な植物種において多種の Rboh 遺伝子が進化的に保存されていることから、各 isozyme が特有の機能を持つと想定される。動物の Nox1-4 とは異なり、植物の Rboh タンパク質は、N 末端側に Ca²⁺結合 EF-hand モチーフを含む長い領域を持つ。

各 Rboh をヒト培養細胞 HEK293T に異種発現させる実験系を構築し(Ogasawara *et al.* **JBC** 2008)、シロイヌナズナの RbohA-J の ROS 生成活性を網羅的に比較解析している。植物 Rboh は基本的に N 末端 EF-hand 領域への Ca²⁺の結合とリン酸化により相乗的に活性化され(Kimura *et al.* **BBA-MCR** 2012)、一種の Ca²⁺センサーとして Ca²⁺シグナルを ROS シグナルに変換する役割を担う。同時に、植物特異的な活性制御タンパク質を介した活性制御機構として、protein kinase CIPK26 が Ca²⁺センサータンパク質 CBL1/9 と協調して RbohF の N 末端領域をリン酸化し活性化すること(Kimura *et al.* **JB** 2013; Drerup *et al.* **Mol. Plant** 2013)、低温ストレス誘導性タンパク質 SRC2 が RbohF の N 末端領域と相互作用し活性化すること(Kawarazaki *et al.* **BBA-MCR** 2013)が明らかとなった。

各 Rboh の promoter 領域と reporter の融合遺伝子を発現する形質転換体を作成し、各々の発現組織を網羅的にイメージング解析すると共に、GFP 融合タンパク質の細胞内局在や、組織中の ROS の分布を共焦点蛍光顕微鏡により解析している。RbohC は、根毛で発現し、根毛の先端成長に関与する(Takeda *et al.* **Science** 2008)。花粉に局在する RbohH, RbohJ の二重突然変異体では受粉後の花粉管の伸長と種子形成が抑制されること、その表現型はどちらかの発現により相補されるが Ca²⁺による活性化能を欠失させた変異体では相補されないことから、Ca²⁺により活性化された RbohH, RbohJ による ROS の積極的生成が、植物の受精に必要であることが明らかとなった(Kaya *et al.* **Plant Cell** 2014)。その他の分子種の発現部位の網羅的解析結果について報告する。

苔類ゼニゴケは、シロイヌナズナを含む種子植物と比べて遺伝的冗長性が著しく低く、形態的にも単純な有用なモデル生物と期待される。ゼニゴケのゲノム上には2種の Rboh 遺伝子 *MpRbohA*, *B* が存在することが明らかとなった。ゼニゴケに Nox 阻害剤を処理したところ、濃度依存的に、葉状体および原糸体の成長の阻害、仮根の伸長の抑制、細胞の形態変化などが見られた。*MpRbohA*, *B* の promoter と *GUS* reporter との融合遺伝子を発現させた形質転換体を用いて発現部位を解析した結果、葉状体の分裂組織(meristem)周辺や仮根等で発現が見られた。Rboh を介した ROS の積極的生成の生理的意義の解明を目指して、遺伝子破壊株の単離を試みているが、極めて困難で、ROS 生成が生育に必須である可能性も予想される。組織中の ROS イメージングを試み、その機能を解析している。Nox/Rboh を介した ROS の積極的生成系の進化についても議論したい。

PYP タグラベル化法を利用した DNA メチル化の発蛍光可視化技術の開発研究

○乙村 法道¹⁾、堀 雄一郎^{1,2,3)}、菊地 和也^{1,2)}¹⁾ 大阪大学大学院工学研究科、²⁾ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター、³⁾ JST さきがけ

発生・分化の過程で遺伝情報の発現はゲノムの DNA の塩基配列だけでなく、エピジェネティックな要因によっても制御されている。この要因の一つとしてゲノム DNA のメチル化があげられる。DNA を構成するシトシンの 5 位の炭素のメチル化は遺伝子発現を制御する重要な機構であり、DNA methyl transferase (DNMT)により触媒される酵素反応である。このメチル化模様は塩基配列にコードされない遺伝情報として、細胞分裂後も維持・継承され、細胞の生理機能維持のために外部環境の変化に応じて変化する。また、その異常はガンなどの様々な疾患の原因となることが知られているため、DNA メチル化のメカニズムを解明することは医学・創薬の分野において重要であり、生細胞において DNA メチル化を検出する技術の開発は、極めて有用である。これまでに DNA メチル化検出技術として蛍光タンパク質を用いた手法が報告されている。この手法では、メチル化 DNA に結合するタンパク質である MBD1 と蛍光タンパク質からなる融合タンパク質を作成し、このタンパク質由来の蛍光によりメチル化 DNA の検出を行っている。しかしこの手法では、メチル化 DNA に結合していない遊離のタンパク質からも蛍光が観察されることが問題となる。そこで本研究では、この問題を解決することを目的として、メチル化 DNA のみを選択的に可視化する技術の開発に取り組んだ。

これまでに、演者らは Photoactive Yellow Protein (PYP) を新規タグタンパク質として蛍光プローブを設計し、標的タンパク質を蛍光ラベル化する手法を開発してきた。PYP は紅色硫黄細菌由来の 125 アミノ酸残基からなる小さなタンパク質であり、その 69 番目の Cys が桂皮酸やクマリンのチオエステル誘導体と特異的に共有結合することが知られている。これまでにこれらのリガンド分子を改変したプローブ分子を開発し、PYP タグラベル化法を用いて生細胞のタンパク質の蛍光イメージングに成功している。

本研究では、PYP タグラベル化法を応用することで、メチル化 DNA に結合すると蛍光強度が上昇する小分子・蛋白質ハイブリッドプローブを設計・開発した。本発表では、プローブデザインの詳細およびメチル化 DNA に対する結合能および蛍光特性の評価について発表する。

黄砂現象による細菌の長距離移動

- バイオイメーキングによる細菌の可視化 -

○山口進康、一條知昭、馬場貴志、那須正夫

大阪大学大学院薬学研究科 衛生・微生物学分野

【目的】生物としての細菌の特徴は、豊富な現存量と広い分布域に加えて、「地球規模で見るとき、特別の環境を除いて固有種がほとんど存在しない」ということが挙げられる。地球上の各地域には、それぞれに固有の動植物が存在する。しかしながら、細菌に関しては「あらゆる種の細菌があらゆる環境に存在し、環境が優占種となる細菌を選択する (Everything is everywhere, but, the environment selects)」という考え方が、環境微生物学分野では一般的となっている。すなわち、細菌は海流などの自然現象により地球上を移動し、生息に適した環境に定着すると考えられている。しかしながら、大気現象による細菌の移動の実態については不明な点が多く、その環境や生態系、また我々の健康に対する影響の評価が重要となっている。そこで本研究では、日本上空で採取した黄砂粒子上の微生物を可視化することにより、黄砂とともに微生物が移動していることを明らかにするとともに、その現存量を測定した。

【方法】大規模な黄砂飛来が観測された 2010 年 11 月 12 日および 2011 年 5 月 2 日に、鳥取県沿岸の日本海上空、高度約 1 km において、小型航空機を用いて 10 m³ 以上の大気を採取した。まず、捕集した粒子の粒度分布測定を走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いた画像解析により行うとともに、得られた粒子が土壌由来であることを SEM-EDX を用いて確認した。さらに、黄砂粒子上の微生物を蛍光染色し、レーザー顕微鏡を用いた顕微分光法により可視化するとともに、得られた画像をもとに細菌現存量を測定した。

【結果および考察】画像解析による粒度分布測定の結果、大規模な黄砂飛来時には、粒径 2 μm 以上の比較的大きな粒子が増加することがわかった。次にバイオイメーキングにより、黄砂粒子上に微生物が付着していることを明らかにし、黄砂粒子が微生物の長距離移動の担体となることを直接的に証明した。また、粒径が大きい粒子ほど微生物が付着している割合が高いこと、大規模な黄砂飛来時の細菌現存量は約 10⁵ cells/m³ であることを示した。さらに、黄砂とともに飛来する細菌の一部は、長距離を移動する間に紫外線や低栄養状態のストレスを受けるにもかかわらず、増殖能力を保持していることを明らかにした。これらの結果は、黄砂とともに細菌が数千 km を移動し、下流域の環境に適応し定着する可能性があること、すなわち、微生物生態系の多様性の維持に大きく関与している可能性を示すものである。

*本研究は、環境省環境研究総合推進費 (B-902) および JSPS 科研費 25281030 により行った。また、上空での試料採取は第一航空株式会社の協力のもと行った。

参考文献

- 1) N. Yamaguchi, T. Ichijo, A. Sakotani, T. Baba, M. Nasu. *Scientific Reports*, 2: 525-510 (2012)
- 2) N. Yamaguchi, A. Sakotani, T. Ichijo, *et al. Biol. Pharm. Bull.*, 35: 1187-1190 (2012)
- 3) N. Yamaguchi, J. Park, M. Kodama, T. Ichijo, T. Baba, M. Nasu. *Microbes Environ.*, 29: 82-88 (2014)

培養記録画像に基づく3次元仮想培養系の検討

○立野玲子¹⁾、伊藤文音²⁾、永山勝也²⁾、小倉 潔¹⁾¹⁾東京都医学総研・病院等連携研究支援センター、²⁾九工大院・情報工学・機械情報

スフェロイドを形成する3次元培養下では、細胞密度が高く、細胞極性や細胞間相互作用が維持されるため、細胞はより生体内に近い機能や挙動を示すことが知られている。スフェロイドは、細胞の機能解析やがん治療、さらには再生医療の研究においても *in vitro* として有用な系である。

特に、立体構築メカニズムに着目する研究では、生きた細胞の挙動に注目し、ひとつの細胞から3次元構造体を構築する過程、あるいは構造体が崩壊する過程を継続的に観察する必要性が高まっている。既に、一定に保たれた条件での培養過程を一定間隔で実体顕微鏡画像として記録する装置が開発されており、継続的な観察が可能になっているが、スフェロイドに対しても表面の観察に留まらざるを得ない状況である。

スフェロイドを細胞の3次元構造体として捉え、培養記録として保存されたスフェロイドの表面像の画像をもとにしたスフェロイド形成シミュレーションによる3次元仮想培養系を検討している。細胞挙動のダイナミクスを導入したスフェロイド形成モデルによって、2次元での記録画像に基づいた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、細胞の接着によらず増殖だけでスフェロイドが形成される軟寒天培地による培養系を対象としている。ひとつの細胞からの培養過程を一定間隔で記録した画像から細胞領域を抽出し、構成細胞数を推定する。スフェロイド形成モデルには、細胞を粒子と見立てた粒子モデルを採用し、個々の細胞の挙動を擬態する。スフェロイド表面に供給され、内部で拡散して届けられた栄養が各細胞で求められ、そのときの周辺の細胞密度によってその細胞の増殖時間が決定されてスフェロイドが形成される。

軟寒天培地で HeLa 細胞を15日間培養した過程を3時間毎に記録したスフェロイド表面像を観察すると、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認められた。それぞれに対応する増殖モデルを整備し、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確認した。

さらに、画像から推定した増殖曲線を Richards curve で近似したときのパラメータから増殖曲線の特徴平面を構築して、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という増殖曲線の形状がこの特徴平面の象限と対応付けられることを見出した。このことより、画像から推定された増殖曲線の特徴平面を利用して、仮想培養系で用いる増殖モデルの選択が可能となり、培養記録画像に基づく仮想培養系への道筋が確かなものとなった。

今後は、本仮想培養系におけるスフェロイドの内部状態の推定可能性を検討する予定である。現在、開発されている多くの3次元培養系では、細胞増殖だけでなく、細胞接着を利用して効率的にスフェロイドを形成するように設計されている。これらの系に対応した3次元仮想培養系とするために、細胞接着も導入した拡張の準備を始めている。その上で、抗がん剤影響下でのがんスフェロイドの仮想培養系へと歩を進める計画である。

ヤム塊茎貯蔵タンパク質 dioscorin の 炭酸脱水-デヒドロアスコルビン酸還元共役反応の解析

○宮川拓也¹⁾、薛友林¹⁾、中村 顕¹⁾、秦野賢一²⁾、澤野頼子³⁾、田之倉 優¹⁾

¹⁾東京大学大学院農学生命科学研究科、²⁾群馬大学理工学部、³⁾東京医科歯科大学教養部

植物は種子や塊茎などに貯蔵タンパク質と呼ばれる一群のタンパク質を蓄積する。貯蔵タンパク質は、種子の発芽や植物の生長時に分解され、タンパク質の生合成に必要なアミノ酸源として主に利用される。一方、ある種の貯蔵タンパク質はそれ自体が機能を持ち、植物における生理的役割を担っている可能性が示唆されている。その一例として、ヤム塊茎貯蔵タンパク質の dioscorin は、ヤム塊茎の可溶性タンパク質の 80–85% を占め、炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase, CA) およびデヒドロアスコルビン酸 (dehydroascorbate, DHA) 還元酵素 (DHA reductase, DHAR) として機能する (1)。しかしながら、dioscorin の CA 活性および DHAR 活性は、それぞれ亜鉛イオン (Zn) および還元型グルタチオンに依存しない。これは、植物における従来の CA や DHAR の活性と異なる。また、dioscorin の CA 活性および DHAR 活性が独立の反応機構によるものか、またはどのように関係しているかについては不明である。本研究では、X 線結晶構造解析により、dioscorin に特徴的な CA 活性および DHAR 活性の反応機構を解析した。

dioscorin 単独および DHAR 活性の反応産物であるアスコルビン酸 (ascorbate, ASC) との複合体を調製・結晶化し、Photon Factory AR-NW12A および BL-5A ビームラインにて X 線回折データを取得した (2)。このデータを解析し、dioscorin および dioscorin-ASC 複合体の立体構造を分解能 2.1 Å で決定した。dioscorin は分子表面にキャビティをもち、その内部に典型的な CA の Zn 結合残基である 3 つの His 残基のうちの 2 つ (H95, H97) が配置していた。一方、残る 1 つの His 残基は Gln 残基 (H114Q) に置換されていた。この変異のために、dioscorin は Zn に対する結合能をもち、Zn 依存的な CA 活性を示さないと考えられた。一方、複合体構造中では、Zn に代わって ASC が H95, H97, Q114 のつくる空間に結合していた。典型的な Zn 結合型 CA の構造と比較すると、dioscorin の H95 は側鎖の向きを変化させ、空間的に隣接する Asp 残基 (D70) と水素結合を形成していることが明らかになった。dioscorin の D70 か H95 のいずれかの変異により、CA 活性と DHAR 活性の両方が失われることから、Q114 の変異により H95 が D70 と活性中心を形成し、さらに DHA を結合できるようになることで、2 つの異なる活性が共役した反応機構が推定された。この反応機構では、水分子から引き抜いた H⁺ を DHA に付加することで、dioscorin はグルタチオン非依存的に DHA を還元することが可能である。

1. Xue, Y.-L., Miyakawa, T., Sawano, Y. and Tanokura, M. Cloning of genes and enzymatic characterizations of novel dioscorin isoforms from *Dioscorea japonica*. **Plant Sci.** 183, 14-19, 2012.
2. Xue, Y.-L., Miyakawa, T., Sawano, Y. and Tanokura, M. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of dioscorin from *Dioscorea japonica*. **Acta Crystallogr.** F68, 193-195, 2012.

透過型電子顕微鏡画像に基づく葉緑体微細構造異常の自動分類

○桧垣 匠¹⁾、加藤 綾²⁾、明賀 史純³⁾、朽名 夏磨¹⁾、馳澤 盛一郎¹⁾、永田 典子²⁾

¹⁾東京大・院・新領域、²⁾日本女子大・理、³⁾理研・環境資源科学研究センター

近年のバイオイメージング機器の発達に伴い、生物医用画像の大規模・多様化が急速に進んでいる。これに伴い、多量の生物医用画像を定量的・客観的に解析する手法の開発が精力的に進められている。生物医用画像解析における基本的な課題のひとつに画像分類が挙げられる。これまでに画像処理技術に基づく様々な自動画像分類システムが提案されているものの、高い汎用性を持つものは少なく、研究現場での利用は極めて限定的であった。この問題を解決すべく、私たちは多種多様な生物医用画像を高速かつ高精度に自動分類する画像解析フレームワーク CARTA の開発を進めてきた。CARTA の利用により光学顕微鏡画像、核磁気共鳴画像で描像される多様な生体構造の自動画像分類が実現された (Kutsuna et al. 2012)。しかしながら、電子顕微鏡画像に対する CARTA の性能評価に関しては検証が十分ではなかった。本発表では、シロイヌナズナを材料として葉緑体に形態学的異常を示す変異体を用いて葉緑体の透過型電子顕微鏡画像を多数取得し、遺伝的背景に基づく自動分類を試みた結果について報告する。

葉緑体の形態異常を示す代表的な変異体として、(1) At1g15510, (2) At1g20110, (3) At2g28800, (4) At5g09790 をそれぞれ欠損した 4 種類の変異体に着目した。これらは野生株の葉緑体に比べて、(1) 内膜の断片化や小胞化, (2) デンプンの過剰蓄積, (3) グラナスタックの減少, (4) チラコイドの減少という特徴を示していた (図)。野生株を含む全 5 種類のラインから各々 100 枚ずつ、葉緑体の透過型電子顕微鏡画像を得た。これら全 500 枚の透過型電子顕微鏡画像を用いて、CARTA により自動分類器を作成したところ、遺伝的背景を 98.5%の精度で分類することに成功した。CARTA に基づく自動分類性能を評価するため、透過型電子顕微鏡の専門家 (2 年以上の研究経歴を持つ 4 名) あるいは生物学を履修している大学生 (5 名) による判定結果を比較した。その結果、CARTA に基づく方法では専門家の目視判定に比肩する高い分類精度を、目視判定のおよそ 2 倍の分類速度で実現できることが判明した。一連の結果は CARTA が透過型電子顕微鏡画像の自動分類にも適用可能であることを示している。

参考文献: Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S (2012) Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. *Nature Communications* 3, 1032.

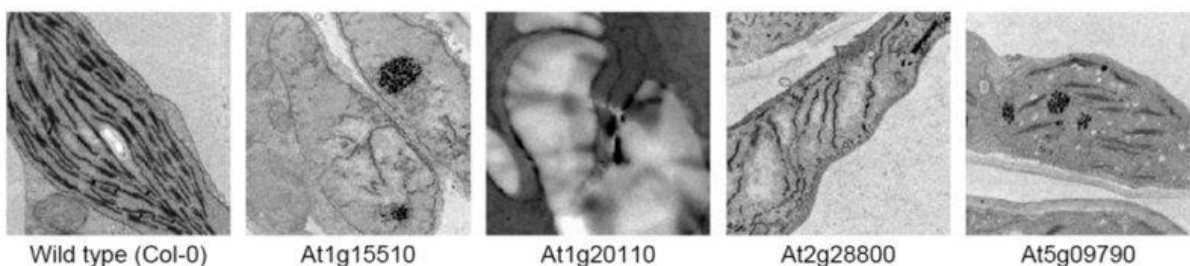


図. 本研究に用いた葉緑体の透過型電子顕微鏡画像の代表例。

励起レーザー光学系の最適化による多点走査方式2光子顕微鏡法の改良

○渡邊裕貴^{1,2)}、大友康平²⁾、日比輝正^{1,2)}、村田隆³⁾、川上良介^{1,2)}、中山博史⁴⁾、根本知己^{1,2)}

¹⁾北海道大院・情報科学研究科、²⁾北海道大・電子研、³⁾基生研、⁴⁾横河電機

スピニングディスクを採用した多点走査方式顕微鏡は、共焦点画像を高速に取得可能なシステムとして発達してきた。近年、下澤らは、2光子励起法を用いることで背景光を効率よく除去し、高コントラストの光学断層像の取得ができることを示した [1]。しかしこの方法では、各励起点における励起光子密度を増加させるために視野を狭くしなければならない。

2光子励起効率は励起光のピークパワーの2乗に比例して増大するため、ピークパワーの向上を目的として、(1) 2光子励起光源として一般的な Ti:Sapphire レーザーを用い、ネガティブチャープシステムの導入により、光のパルス幅を試料位置において最小とする方法、(2) 平均パワーが高く、繰り返し周波数の低い Yb レーザーを励起光源として導入する方法の2つの方法による改良を図った。ネガティブチャープシステムを用いて励起光パルス幅の広がりを補正した結果、蛍光ビーズ像の強度が約3倍に増大した。Thy1-YFP-H マウスの固定脳スライスを観察した場合にも蛍光強度が有意に増大し、深部における蛍光画像取得が可能となった (図 1)。また、Yb レーザーを導入した結果、Thy1-YFP-H マウスの固定脳スライス標本において、より深部を広い視野で観察することが可能となった。さらに、植物培養細胞内の微小管ダイナミクスの高速3次元観察に成功した。

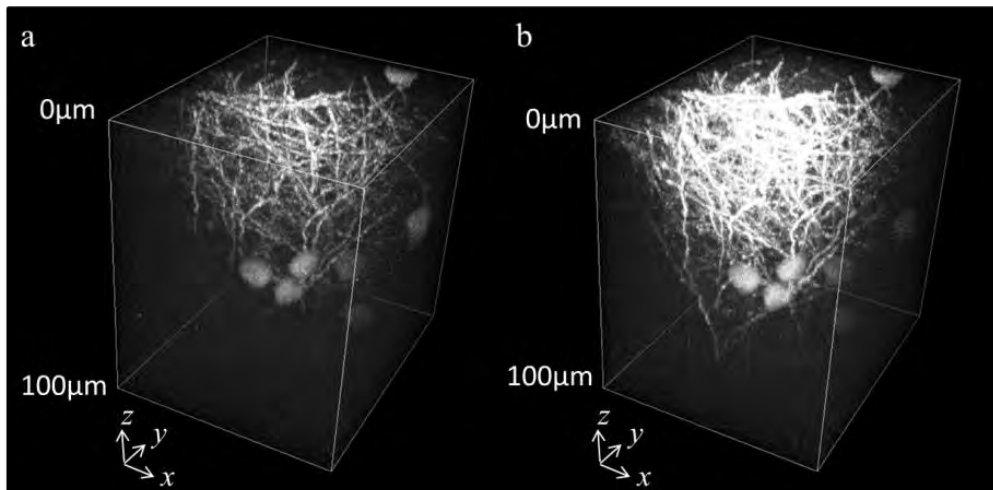


図 1 Thy1-YFP-H マウス海馬の3次元構築画像。(a) にネガティブチャープシステム導入前、(b) に導入後の画像を示した。

参考文献：[1] T. Shimozawa *et al.* Improving spinning disk confocal microscopy by preventing pinhole cross-talk for intravital imaging, PNAS 110, 3399-3404 (2013)

新しいタイプの超解像光学顕微鏡によるアクチン及び関連する構造等の観察

○加藤 薫^{1,2)}、三松沙織^{1,2)}

¹⁾産総研・バイオメディカル、²⁾筑波大大学院・生命環境

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。昨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。1年間での超解像光学顕微鏡の製品の進歩は速く、今回は、さらに新しい製品を評価する機会を得たので、技術評価を中心に結果を纏めて紹介する。

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の網目を染色した。生細胞では、GFP-アクチンなどを成長円錐に発現させてアクチンの網目をGFPで観察した。また必要に応じて、アクチン関連タンパク質を発現させて観察を行った。

今回は、SIMにおいてはライブセルを中心に観察条件を検討した、1) 動態観察での時間分解能、2) 蛍光2重染色による微小管とアクチンの網目の同時観察について検討した。微弱な励起光の条件下で、毎秒、赤・緑1組の蛍光画像の取得が、ライブセルで十分可能であることを確認した。

STEDでは、固定試料を中心に検討した。1) 使用できる無機の蛍光物質について、化学物質の構造をベースに検討し、汎用の特定の蛍光物質群が使用できることを確認した。2) Z軸方向の分解能を検討し、デコンボリューションと組み合わせると、140nmの光学的スライスが切れること3D-Stackで確認した。3) STEDでの多重染色も条件検討し、可能であることを確認した。

以上の他、現在進めている評価についても、可能な範囲で、併せて報告し、医学、生物学への超解像光学顕微鏡の応用の可能性を議論したい。

RED-CNP（希土類含有セラミックナノ粒子）を用いた OTN-NIR（over-1000-nm near infrared red）蛍光プローブの次世代イメージングに向けた可能性

○大谷敬亨¹⁾、北川寛之¹⁾、服部正泰¹⁾、竹内司²⁾、上村真生³⁾、曾我公平³⁾

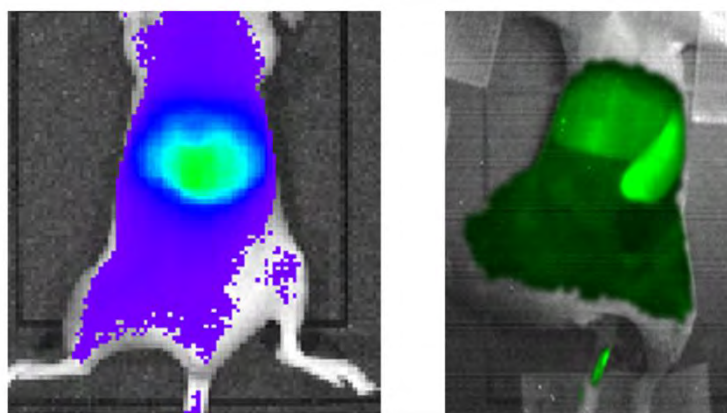
¹⁾片山化学工業株式会社 研究開発課、²⁾島津製作所 分析計測事業部、

³⁾東京理科大学 基礎工学部

近年の可視化・計測技術の発展に伴い、生きたまま低侵襲に診断・解析が可能な PET、MRI、X線 CT、超音波、光音響、蛍光イメージングなどによる生命現象の可視化技術は大きな進歩を遂げ、医療および研究現場においては必要不可欠な技術である。その中でも、蛍光イメージングは、細胞から個体まで、高感度に、多色で、動的な情報を可視化することができ、また、安全で、安価で、汎用的に操作することができるため研究分野においては広く利用されている。

現在、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。しかし、小動物の蛍光イメージングでは特にその観察深度が重要であるが、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。そこで、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。

我々は、平均粒子径約 100 nm で非常に均一な RED-CNP（希土類含有セラミックナノ粒子）を調製し、親水性高分子を被覆することで、水溶液において単分散安定性が非常に高い OTN-NIR 蛍光プローブの調製に成功し、これらの粒子を、小動物イメージング装置によりマウスを用いて複数の投与方法により観察を行ったところ、既存の波長領域の蛍光イメージングと比べ、非常に精彩な造影に成功したので報告する。



近赤外蛍光物質(蛍光波長800nm以下(左)および1200nm以上(右))の尾静脈投与24時間後肝臓および脾臓付近の蛍光イメージングの比較図

細胞内局所でのマグネシウムイオン濃度変化の計測

○新藤豊¹⁾、藤井智彦²⁾、山中龍¹⁾、堀田耕司¹⁾、西山繁³⁾、ダニエル・チッテリオ⁴⁾、
鈴木孝治⁴⁾、岡浩太郎¹⁾

¹⁾慶大・理工・生命情報、²⁾東大院・薬学、³⁾慶大・理工・化学、⁴⁾慶大・理工・応化

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があると考えられている。細胞内で Mg^{2+} は、ミトコンドリアにおける ATP 産生や細胞内での ATP 消費、小胞体におけるタンパク質立体構造の安定化、核における DNA の品質管理、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。そのため、細胞内やオルガネラ内の Mg^{2+} 濃度がどのように調節、制御されているのかを調べることは細胞機能を理解するうえで重要である。これを実現するために我々のグループでは最近、細胞内局所の Mg^{2+} 濃度変化を測定できる蛍光プローブである KMG-104-AsH を開発した。このプローブは Mg^{2+} 選択性蛍光プローブである KMG-104 と、人工的にアレンジされたペプチドタグであるテトラシステインタグ (TcTag) に選択的に結合し蛍光を発するタンパク質ラベルプローブである FlAsH の長所を組み合わせた分子設計となっている。任意のタンパク質に TcTag を結合させたものを発現させた細胞に KMG-104-AsH を導入することで、そのタンパク質周辺の Mg^{2+} 濃度変化を測定することが可能となる。今回我々は、蛍光タンパク質 mKeima の C'末端に TcTag を結合させ、HeLa 細胞に発現させた。mKeima は KMG-104-AsH に対して FRET ペアとはならず KMG-104-AsH のシグナルを打ち消すことがないため、このペアはレシオメトリックプローブとして使用できる。局在シグナルを用いて mKeima-TcTag を細胞内の様々な部位に局在させて発現させることで、下図に示すように HeLa 細胞内の様々な部位に KMG-104-AsH を局在させることに成功した。細胞質、細胞膜、特定の細胞内タンパク質のみならず、核やミトコンドリア膜間領域 (MIS) などの細胞内コンパートメントにプローブを局在させることにも成功した。また、ミトコンドリアを脱分極させると Mg^{2+} が細胞質へと放出されることが知られているが、このときの濃度変化の様子が細胞質と MIS で異なることが、この方法を用いて明らかにされた。このように、KMG-104-AsH を用いた細胞内局所での Mg^{2+} 濃度変化の測定は、細胞内の Mg^{2+} 動態を明らかにしていく上で重要な情報が得られるものと考えられる。

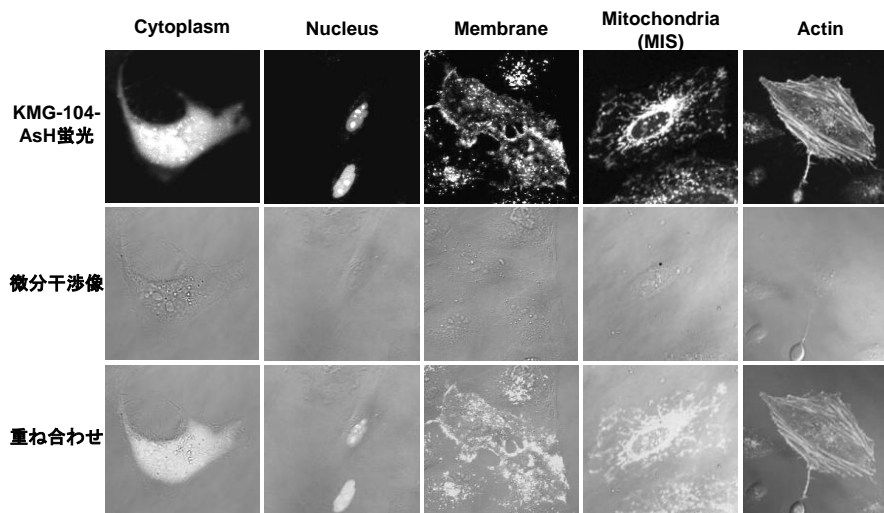


図 1、細胞内局所に局在させた KMG-104-AsH

赤外イメージングによる魚類ウロコの状態解析

○奈良雅之¹⁾、丸山雄介¹⁾、服部淳彦¹⁾、赤塚陽子²⁾、大西晃宏²⁾¹⁾東京医科歯科大教養部、²⁾(株)パーキンエルマージャパン

【はじめに】硬骨魚類のウロコは膜性骨に似た硬組織であり、コラーゲンが主成分である繊維層と、コラーゲンにハイドロキシアパタイト (HAP) が沈着した骨質層とからできている。近年、キンギョのウロコはヒトの骨と同様に、破骨細胞と骨芽細胞によって骨 (カルシウム) 代謝が調節されていることから、骨の代替となる研究対象として注目されている。本研究では、これまで取り組んだキンギョのウロコの他にメダカのウロコについて赤外イメージングによる状態解析を行い、これらのウロコの類似点、相違点を明らかにすることを目的とした。

【実験】赤外イメージングは、Spotlight 400 (PerkinElmer) を用いて、MCT 検出器にて分解能 8 もしくは 4 cm^{-1} 、ピクセルサイズは $6.25 \text{ mm} \times 6.25 \text{ mm}$ で行った。

【結果と考察】図 1 にメダカのウロコの可視画像(a)とその赤外イメージング (HAP (b)とアミド I (c)) を示す。メダカのウロコはかなり薄いため、透過型測定を試みたところ、アミド I 領域で吸収強度が飽和していなかったことから、透過型イメージングが適していることが分かった。図 1

(b) と(c)の赤外イメージングはウロコの中央部の方が輪郭部よりも強度が強いことから、中央部の方が厚くなっていることが示唆された。また、HAP の分布はタンパク質に比べて、ポケット側に少し広がっていることが分かった。HAP のイメージング (図 1(b)) には隆起線の凹凸が反映されたのに対して、アミド I のイメージング (図 1(c)) にはほとんど反映されなかった。これは隆起線による凹凸が骨質層にあるためであると考えられる。また、反射イメージングでメダカウロコの骨質層側を調べたところ、ポケット部は HAP が、表皮側はアミド I バンドの強度がそれぞれ強くなる傾向があり、キンギョのウロコと似た形状をとっていることが示唆された。

これまでキンギョのウロコでは困難であった透過測定が、メダカウロコには適用できることが分かった。透過型イメージングでは骨質層と繊維層を両方合わせて観測するため、反射型イメージングのように骨質層と繊維層を選択的に調べることはできないが、1) ウロコの内部 (深部) の情報が得られること、2) クラマース-クローニッヒ (KK) 変換などによるデータ処理でアーティファクトが生じる可能性が少ない点で有用であると考えられる。

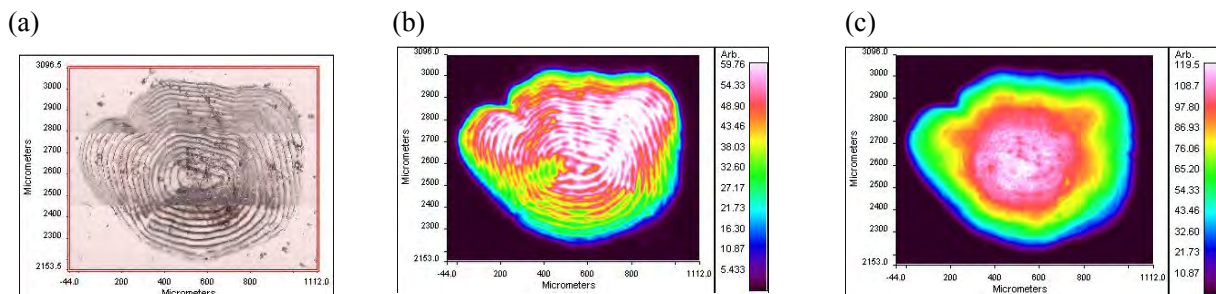


図 1 (a)メダカのウロコの可視画像と赤外イメージング：(b)ハイドロキシアパタイト(HAP)
(c) タンパク質 (アミド I)

高い光安定性と pH 感受性を有する蛍光プローブを用いた 生体内破骨細胞活性の二光子励起ライブイメージング

○前田拓樹¹⁾、小和田俊行²⁾、菊地和也^{1,2)}

¹⁾ 阪大院工、²⁾ 阪大免疫学フロンティア研究センター

破骨細胞による骨吸収は、骨組織の成長や修復の際に、骨密度や形状を調節するための必要不可欠な生体機能である。その一方で、過剰な骨吸収は、骨粗しょう症や関節リウマチといった骨疾患を引き起こす。骨疾患に対する新薬開発や治療法を確立する上で、破骨細胞機能の解明は非常に重要な課題である。そのため、生体内における破骨細胞動態を検出可能な可視化技術の開発が求められている。現在では、X線 CT や生化学的な骨代謝マーカーの利用した破骨細胞活性の評価が一般的である。しかしこれらの手法による測定では、細胞の位置と活性を同時に検出し、一つ一つの細胞の活性変化を追跡することは不可能である。そこで我々は、生きた動物個体内の細胞動態を観察できる二光子励起イメージング法へと応用可能な、細胞活性検出蛍光プローブの開発に取り組んできた。

In vivo における標的細胞の活性情報を可視化するためには、①標的細胞の活性時にのみ蛍光が ON となるようなスイッチ機能、②生体内の標的部位に特異的にプローブを送達するためのデリバリー能力が必要である。このような要素を備えたプローブ開発を行うため、破骨細胞のプロトン放出による骨吸収に着目した。破骨細胞の生み出す酸性領域を可視化するための蛍光 OFF/ON スイッチ機能と、骨組織への特異的な送達を可能とするビスホスホネート基の導入により、in vivo における破骨細胞活性を可視化できると考えられる。これらの観点を基に、我々は boron-dipyrromethene (BODIPY) 色素を母骨格とした蛍光プローブ (BAp-E) を設計、合成した (Figure 1)。BAp-E をマウスに投与し、二光子励起顕微鏡によって観察したところ、プローブの骨送達が観測され、破骨細胞活性の選択的イメージングに成功した¹⁾。しかし、実験の過程において、二光子励起顕微鏡によるレーザー照射によって BODIPY 色素が顕著な光退色を示すことが確認された。そのため、時間経過により刻々と変化する細胞活性を評価することが不可能であった。

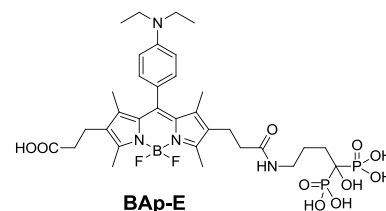


Figure 1. BAp-E の分子構造

そこで本研究では、BAp-E の光安定性の評価を行い、より光安定性の高い BODIPY 誘導体を設計、合成した。また、合成したプローブをマウス体内に投与し、破骨細胞活性の長時間イメージングが可能か検討を行った。本発表では、その詳細について報告する。

参考文献

1) Kowada, T.; Kikuta, J.; Kubo, A.; Ishii, M.; Maeda, H.; Mizukami, S.; Kikuchi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17772–17776.

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^{1,2)}、陳挺¹⁾、大野工司³⁾、吉田慎一⁴⁾、多胡善幸⁴⁾、小橋昌司⁵⁾、畑豊⁵⁾、吉岡芳親^{1,2)}

¹⁾ 大阪大学免疫学フロンティア研究センター 生体機能イメージング、²⁾ (独) 情報通信研究機構・大阪大学 脳情報通信融合研究センター、³⁾ 京都大学化学研究所 材料機能化学研究系、⁴⁾ (株) カネカフロンティアバイオ・メディカル研究所、⁵⁾ 兵庫県立大学大学院 工学研究科

【背景】中枢神経系は免疫特権の器官と長く考えられてきたが、近年、多発性硬化症など中枢神経系疾患においても免疫細胞の関与が示唆されている。しかしながら、脳組織全体を対象とした免疫細胞の可視化・追跡技術はまだ十分でなく、免疫細胞が中枢神経系における病態形成や治癒、また正常時の維持にどのように作用しているかについては未だよくわかっていない。我々は MRI 用陰性造影剤である磁性酸化鉄粒子 (SPIO) による生体内細胞標識法を用い、正常および病態モデル動物における脳内細胞動態の非侵襲的観察の可能性について小動物用超高磁場 MRI 装置を用いた検討を行った。また、ダイナミックな細胞動態観察を実現するため、時空間分解能を向上させ、MRI を用いた細胞動態追跡のためのタイムラプス解析を試み、その可能性について検討した。

【方法】雄性 C57BL/6J マウスを対象とし、市販の SPIO 造影剤(リゾビスト)を尾静脈より注入した。正常マウスに加え、全身性炎症モデル、脳外傷および脳虚血モデルをそれぞれ作成し、生体脳における造影効果と SPIO の分布を経時的に観察、比較した。MRI システムは Bruker 社製 11.7 T、m2m 社製内径 15 mm ポリウムコイルを用い、T2*強調 2D-FLASH を撮像した。また、タイムラプス解析には、SPIO 投与後 16 時間後より 20 分感覚で、T2*強調画像を 24 時間連続撮像し、正常マウスおよび病態マウスにおける細胞動態の違いを、タイムラプス動画を作製し観察、比較した。MRI 撮像中は、イソフルラン麻酔下にて呼吸数を 80 ± 20 回/分に維持し、温水チューブを用い体温を保持した。撮像中の脱水を防止するために、MRI 撮像直前に生理食塩水を皮下投与した。

【結果・考察】病態時だけでなく正常時においても末梢貪食細胞の脳内浸潤があることが複数の方法で確認された。またその多くは末梢組織マクロファージであることが示唆された。また、得られた時系列 MRI 画像からタイムラプス動画を作製することにより、マウス生体脳内の免疫細胞のダイナミックな動きを視覚的に評価可能であることが示された。タイムラプス動画を用いることで、5 $\mu\text{m}/\text{min}$ 程度のゆっくりとした動きの細胞や、長時間一定の場所に留まる細胞などの存在を 1 細胞レベルで視覚化することが可能であった。さらに脳虚血モデルマウスにおける虚血傷害領域内の免疫細胞は、正常マウス及び正常半球の動きに比べその運動性が低下していることが示された。超高磁場 MRI と SPIO を用いた細胞標識法により、末梢組織マクロファージの脳内細胞動態を 1 細胞レベルで生きたまま経時的に追跡出来ることが示された。生体内における免疫システムの機能の理解を更に深めるためには、より深部組織において細かな細胞動態を可視化する革新的な技術が必要となる。SPIO を使った生体内細胞標識法と高感度 MRI を組み合わせることで、中枢神経系の恒常性維持や病態形成、治癒における免疫細胞の作用機序を解明する新しい情報を提供することが期待できる。

生細胞内における発熱のイメージング

○岡部弘基^{1,2)}、船津高志¹⁾¹⁾東京大学大学院薬学系研究科、²⁾JST さきがけ

細胞の機能を担う生体分子は、細胞の特定の場所において生化学反応を行うことにより活性を発揮する。あらゆる生化学反応には熱収支があるため、細胞内における温度分布は生理活性分子の機能や細胞内熱力学を反映している。実際、がん細胞などの病態細胞においては正常細胞より有意に高い熱発生があると報告されている。このため、生細胞内の温度計測により、細胞内における生体分子の機能解析だけでなく細胞の病態解明にも発展しうる。

細胞内温度の細胞機能の巧妙な調節への寄与を解明するため、演者はこれまでに、生細胞イメージングによる細胞内温度計測を行ってきた。まず、分子レベルで機能する蛍光性ポリマー温度プローブを採用し、蛍光イメージングにより検出することで、生きた単一細胞内の温度測定法の開発を行った。この結果、細胞を刺激した際に細胞全体で数度程度の温度上昇があることを発見した。さらに、細胞内の温度を詳細に観察するため、蛍光寿命イメージング顕微鏡 (FLIM) を用いて定常状態にある生きた細胞内の温度分布イメージング法を開発した。この温度イメージング法の区別可能な最小温度 (温度分解能) は約 0.2°C であり、また細胞内の温度以外の因子には応答しない選択性を有していた。この方法を用いた生細胞内温度イメージングを行った結果、細胞核が細胞質と比較して細胞周期依存的に高温であることや、中心体の温度が周辺部より高温であるといった、定常状態の細胞内には興味深い温度分布が存在していることを発見した。

今回、上記の温度計測法を用いて、ミトコンドリアに関連した発熱の計測を行った。ミトコンドリアはエネルギー産生を担うだけでなく、余剰のエネルギーにより発熱の機能があると考えられている。まず、ミトコンドリア内の呼吸鎖タンパク質の脱共役を引き起こすことにより熱発生の報告がある、アンカップラー試薬により COS7 細胞を刺激した際の細胞内温度変化を検討した。FCCP 添加後数分で細胞内温度が上昇し、10–20 分程度で最大平均 0.98°C の上昇が観察された (10 細胞)。続いて、これらの温度変化とミトコンドリアを直接関連つけるために、ミトコンドリアに着目した温度分布イメージングを行った。ミトコンドリアマーカーによりミトコンドリアを可視化した細胞内にセンサーを導入し、FLIM により細胞内温度分布を検討した結果、ミトコンドリア周辺領域が高温である像が得られ、定常状態においてミトコンドリア近傍の温度が周辺より高温であることが分かった。尚、他の細胞小器官では顕著な熱発生は観察されなかった。さらに、FCCP により脱分極させた細胞内の温度イメージングの結果、細胞内の温度が上昇していることが分かった。以上の結果は、実際にミトコンドリアにおいて熱産生が行われていることを直接観察した初めての結果である。ミトコンドリアは言うまでもなく細胞内代謝の中心的役割を担う細胞小器官であり、定常状態での温度分布やミトコンドリアからの発熱を実時間で捉えることで代謝研究に貢献できると考えられる。がん細胞を始めとする多様多彩かつ謎の多い代謝の研究において、温度を指標にした研究から新発見や新たな領域の創成へとつながると期待している。

スーパーコンティニューム光を用いた多色励起高速共焦点顕微鏡法

○伊藤里紗^{1,2)}、日比輝正^{1,2,3)}、大友康平^{2,3)}、一本嶋佐理^{1,2)}

大嶋祐介^{3,4)}、今村健志^{3,4)}、根本知己^{1,2,3)}

¹⁾北海道大院・情報科学研究科、²⁾北海道大・電子研、³⁾JST・CREST、⁴⁾愛媛大院・医学研究科

共焦点顕微鏡は取得した光学断層像から、3次元再構築像を形成することができる。特に、生きた細胞を観察対象としてその継時的な変化を追跡する場合には、画像取得に要する時間を考慮する必要がある。そのような高速な画像取得を実現するシステムには、多点を同時に走査するスピニングディスク式の共焦点顕微鏡がある。しかし本顕微鏡に導入可能な励起レーザーの数は制限されるため、利用可能な蛍光プローブの種類にも制限がある。そこで、我々は超広帯域・高強度の白色レーザーであるスーパーコンティニューム光から、音響光学波長可変フィルターを用いて任意の波長を取り出すことにより、波長可変な単色励起レーザー光源として用いた。

この顕微鏡システムを評価するために、励起スペクトルが異なる多様な蛍光タンパク質(mTFP1、mCitrine、tdTomato、mCherry)、蛍光色素(MitoTracker-Green、LysoTracker Red)を利用し、培養細胞を観察した。その結果、それぞれの蛍光分子に適した励起波長を用いて3次元画像を取得することに成功した(Fig.1)。また、LysoTracker Redによりリソソームを染色した細胞のタイムラプスイメージングを行い、細胞内でリソソームが動く様子を観察することにも成功した。本発表では、複数の蛍光分子の励起スペクトルの違いを利用した多色イメージングについても報告する。

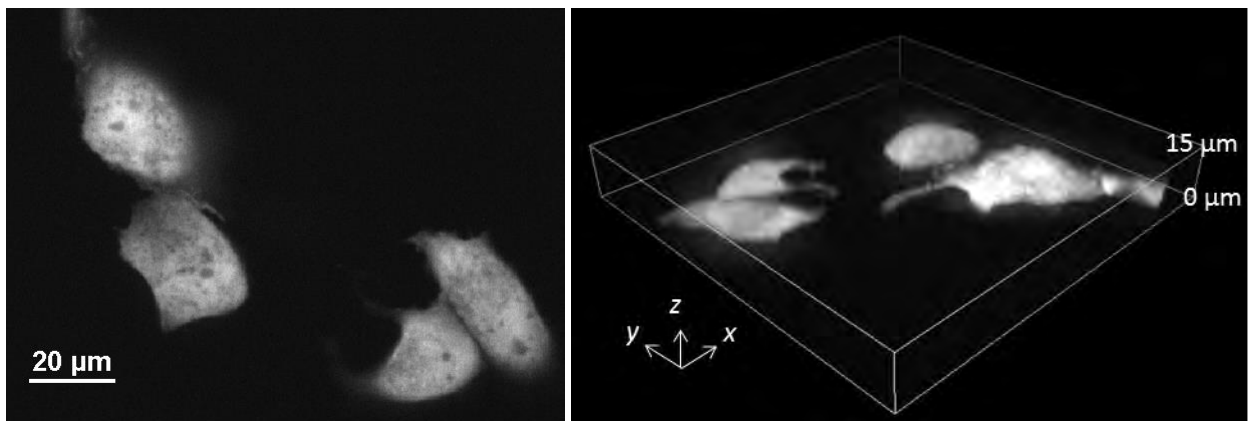


Fig.1 本システムによる、mCitrineを細胞質中に発現したCOS-7細胞のライブイメージング
左：xy像、右：3次元再構築像

希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外光バイオイメージングへの応用

○上村真生¹⁾、曾我公平¹⁾¹⁾東京理大基礎工

蛍光バイオイメージングは、感度の高さや多色の同時染色が可能であるなどの特徴を有し、細胞や生体組織における種々の現象の可視化方法として広く利用されている。しかし、現在の蛍光イメージングに用いられている有機系蛍光色素や蛍光タンパク質、量子ドット等の蛍光体には、量子エネルギーが大きく波長の短い紫外光や可視光を励起光として観察対象物に照射するために生じる、生体へのダメージや自家蛍光といった問題点が存在する。さらにこのような短波長光は光散乱が強く、生体内の深部まで励起光が届かないため、観察深度が浅いことが問題となっている。そこで近年、これらの問題を解決するために、より長波長光を用いた蛍光イメージングが注目を集めている。生体内の光損失が比較的少ない、波長約 800 nm ~ 2000 nm の近赤外(NIR)光の波長域は「生体の窓」(図 1)と呼ばれ、バイオイメージングに適した波長域であると考えられている^[1]。現在、最も一般的に用いられている Si の CCD カメラの長波長限界は 1000 nm 付近であるが、近年 InGaAs の CCD カメラが実用化されており、1000 nm を超える波長における蛍光バイオイメージングが可能になった。そこで我々は、NIR 光励起により NIR 光を発する希土類含有セラミックスナノ粒子(RED-CNP)を用いて、1000 nm を超える波長の NIR 光(over-1000-nm near infrared; OTN-NIR)を用いた新たな蛍光バイオイメージング技術

を、世界に先駆けて報告してきた^[2]。 NIR 光励起・発光が可能なら、より生体深部のイメージングが可能となるだけでなく、上述のような生体へのダメージや自家蛍光といった問題も同時に解決することができる。本発表では、生体深部のイメージングが可能なら OTN-NIR 蛍光バイオイメージングシステムとそのための材料の開発について、最新の成果を報告する。

を、世界に先駆けて報告してきた^[2]。 NIR 光励起・発光が可能なら、より生体深部のイメージングが可能となるだけでなく、上述のような生体へのダメージや自家蛍光といった問題も同時に解決することができる。本発表では、生体深部のイメージングが可能なら OTN-NIR 蛍光バイオイメージングシステムとそのための材料の開発について、最新の成果を報告する。

を、世界に先駆けて報告してきた^[2]。 NIR 光励起・発光が可能なら、より生体深部のイメージングが可能となるだけでなく、上述のような生体へのダメージや自家蛍光といった問題も同時に解決することができる。本発表では、生体深部のイメージングが可能なら OTN-NIR 蛍光バイオイメージングシステムとそのための材料の開発について、最新の成果を報告する。

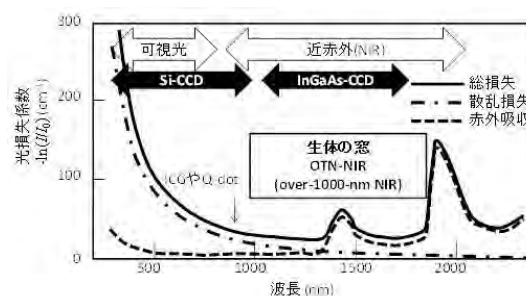
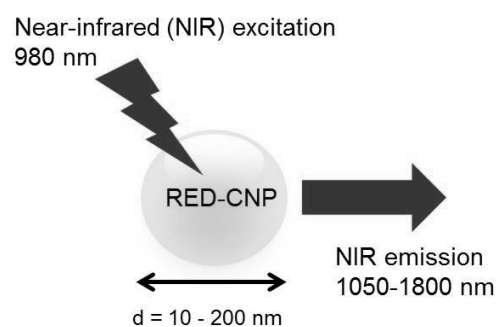
図 1. 近赤外域に存在する生体の窓^[1]

図 2. RED-CNP の近赤外光励起・発光

引用文献

[1] R. R. Anderson et al, *J. Invest. Dermatol.*, 77, 13-19 (1981).[2] E. Hemmer et al, *Nanoscale*, 5, 11339-11361 (2013).

膵島 α 細胞の細胞内顆粒動態の解析

○篠原惇宏¹⁾、古野忠秀¹⁾、横川 慧²⁾、伊納義和¹⁾、鈴木 亮²⁾、平嶋尚英²⁾、中西 守¹⁾

¹⁾愛知学院大・薬、²⁾名市大・院薬

【目的】膵島には、 α 細胞、 β 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、 α 細胞と β 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。しかし、膵島細胞間、および、神経と膵島細胞の接着部位を介した相互作用の分子機構は、未だ不明な点が多い。そこで本研究では、神経と膵島 α 細胞の細胞間相互作用に着目し、*in vitro* 共存培養系を用いて、両細胞の相互作用の分子機構を追究した。

【方法】神経細胞としては、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。膵島細胞としては、マウス α 細胞株 α TC6 細胞を用い、RNA 干渉により接着分子 CADM1 (cell adhesion molecule 1) を発現抑制した α TC6^{siRNA-CADM1} 細胞を作製した。SCG と α TC6 細胞を共存培養し、測定に供した。Ca²⁺プローブとして Fluo 3-AM、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両細胞の Ca²⁺動態、および、 α TC6 細胞の顆粒動態を計測した。

【結果及び考察】SCG と α TC6 細胞はともに CADM1 を発現しており、CADM1 は SCG と α TC6 細胞の接着部位、および、 α TC6 細胞間の接着領域に局在していた。サソリ毒により SCG を特異的に刺激したところ、SCG の Ca²⁺濃度上昇後に、SCG の神経突起と接着している α TC6 細胞コロニーの Ca²⁺濃度の上昇が観察された。神経刺激に伴う α TC6^{siRNA-CADM1} 細胞の応答率は、野生型 α TC6 細胞に比べて有意に小さかった。また、 α TC6 細胞にはサブスタンス P 受容体 (NK1 受容体) が発現していたので、次に、NK1 受容体アンタゴニストで前処理して α TC6 細胞の応答率を測定した。その結果、サソリ毒の添加によって SCG の Ca²⁺濃度上昇は起こったものの、その後の α TC6 細胞の Ca²⁺濃度上昇は顕著に抑制された。これらの結果から、神経と膵島 α 細胞は接着部位を介して相互作用しており、それには接着分子として CADM1 が、また、メディエーターとしてサブスタンス P が関与していると考えられた。最後に、 α TC6 細胞の Ca²⁺濃度上昇とグルカゴン分泌の関係を調べるために、細胞内分泌顆粒の動態を測定した。単独で培養した α TC6 細胞の細胞内顆粒の多くは、定常状態でランダムに活発に動いていた。一方、神経突起と接着している α TC6 細胞においては、接着している神経突起の密度により細胞内顆粒の動きに大きな違いが見られた。すなわち、神経突起と疎に接着している細胞では単独培養時と同じような顆粒の動きが観察されたのに対して、密に接着している細胞では顆粒がほとんど動いていなかった。

【まとめ】神経細胞の活性化は、接着部位を介して α 細胞の活性化を引き起こすことが分かった。一方で、神経突起との接着の密度に応じて、 α 細胞の細胞内分泌顆粒の動態は著しく異なっていた。神経と α 細胞の細胞間相互作用を追究するには、接着の密度を考慮に入れる必要があると考えられた。

成長円錐におけるアクチンおよびアクチン関連蛋白質の FRAP 解析

○田中みなみ¹⁾²⁾、東ヶ崎 健³⁾、海老原利枝⁴⁾、加藤 薫¹⁾²⁾

¹⁾産総研・バイオメディカル、²⁾筑波大大学院・生命環境、³⁾ファンケル・総合研、

⁴⁾産総研・幹細胞センター

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。アクチン骨格の動的状態を知ることは、成長円錐の運動の仕組みの理解に重要である。

FRAP (Fluorescence Recovery after Photobleaching) は、蛍光ラベルした分子に強いレーザー光を照射し蛍光を褪色させ、蛍光強度が回復する時間経過から分子の動態を知る手法である。私たちは、蛍光アクチンや arp2/3 複合体の分子群について FRAP の実験を行い、ArpC1、ArpC5 と Arp2、Arp3 で結合乖離の速度が異なることを見だし、本学会などで報告した。

私たちは、この研究の続きとして、

- 1) FRAP の対象を arp2/3 複合体以外のアクチン関連タンパク質に広げて動態を検討。
- 2) 高解像度の顕微鏡と FRAP を組合わせたシステムの試作と成長円錐の運動に関連する分子の動態の高解像度で記録。

の 2 点を中心に進め進捗状況を報告する。

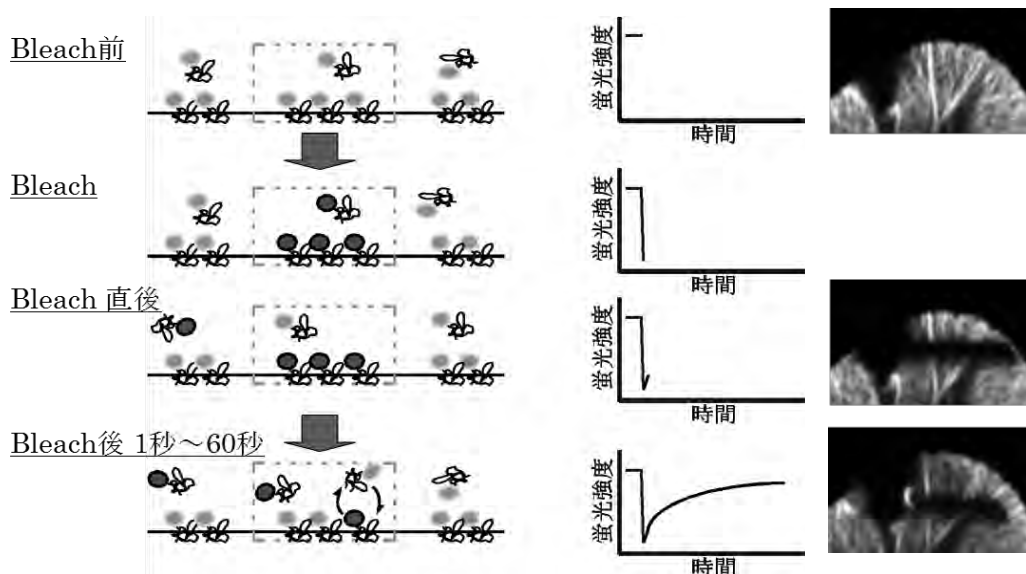


図 FRAP(Fluorescence Recovery After Photobleaching)の例

電子伝達系および解糖系阻害剤が

脂肪細胞におけるミトコンドリア形態および炎症性サイトカインの分泌に与える影響

○長谷川千織¹⁾、伊香賀玲奈^{1,2)}、行方衣由紀³⁾、田中光³⁾、田中直子¹⁾

¹⁾大妻女子大院・健康栄養、²⁾お茶女大院・理学、³⁾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、脂肪細胞周囲の炎症を引き起こして生活習慣病の原因と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、脂肪滴周辺でのミトコンドリアの形態に注目し、電子伝達系阻害剤および解糖系阻害剤を用いて脂肪細胞のエネルギー代謝を変化させたときの、ミトコンドリアの形態変化および炎症性サイトカイン発現量の変化を調べたので報告する。

【方法】細胞はマウス株化脂肪細胞 3T3-L1 を用いた。分化誘導後 8~32 日間培養し、電子伝達系、解糖系の各阻害剤 (図 2A, D 参照) でそれぞれ 24 時間処理後、共焦点レーザー顕微鏡によるミトコンドリアの形態観察および炎症性サイトカインの mRNA 発現量の定量を行った。

【結果および考察】分化誘導後の 3T3-L1 細胞で脂肪滴の成熟に伴うミトコンドリアの変化を観察したが、脂肪滴がかなり大きくなった状態でもミトコンドリアは鮮明に観察することができ、また、脂肪滴周辺に集まっている様子が観察された (図 1)。一方、電子伝達系阻害剤で処理したすべての細胞でミトコンドリアの断片化が観察され、その傾向は FCCP 処理した細胞でもっとも強かった。断片化とともに、ミトコンドリアが脂肪滴周辺から細胞全体に分散する傾向も観察された。形態変化を指標として、ミトコンドリアの機能障害を可視化できる可能性が示唆された。

炎症性サイトカインの mRNA 発現量については、電子伝達系阻害剤で処理した細胞ではいずれもコントロールと比較して有意に上昇する一方 (図 2B, C)、解糖系阻害剤 IAA, 2DG で処理した細胞では、逆に有意に減少しており (図 2E, F)、エネルギー代謝全体の低下よりも電子伝達系阻害によるストレスが炎症性サイトカインの分泌を増加させていると考えられた。

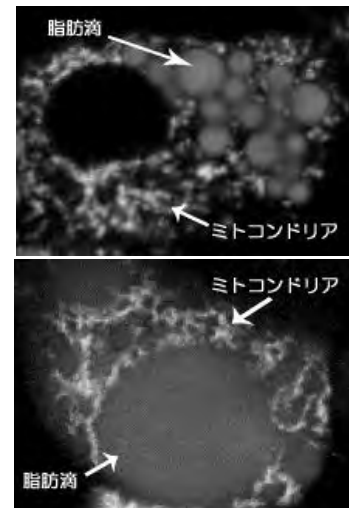


図 1. 脂肪滴を NileRed で、ミトコンドリアを Rhodamine123 で染色した 3T3-L1 細胞の蛍光顕微鏡像。分化誘導後 8 日目 (上段) と 32 日目 (下段) の様子。

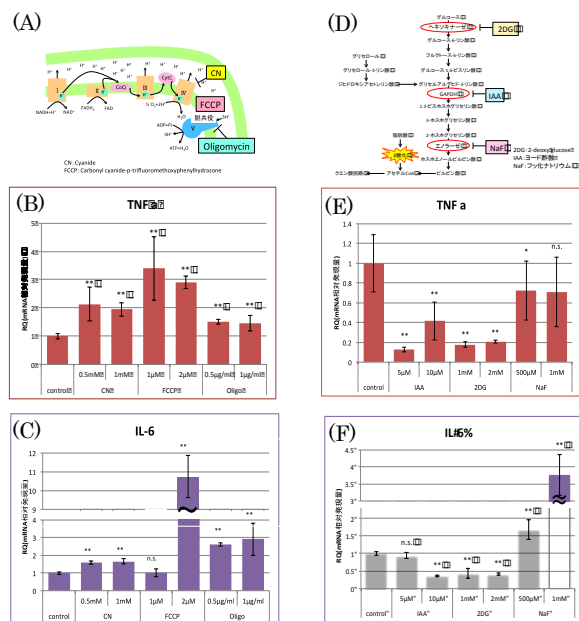


図 2. 分化誘導後 17~18 日目に電子伝達系阻害剤 (A~C)、解糖系阻害剤 (D~F) を添加したときの、TNF- α (B, E) および IL-6 (C, F) の発現量の変化。

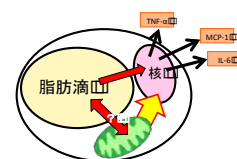


図 3. ミトコンドリアと脂肪滴の関係の模式図

希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外発光を用いたナノ温度計の開発

○松本泰来、上村真生、曾我公平

東理大・基礎工・材料工

【緒言】

細胞内器官や生体組織内部などの微小空間の温度を測定可能なナノサイズの温度計は、生体内で起こる様々な現象の解明や温度変化を利用した薬物送達、癌温熱治療の制御などへの応用が期待されるため、注目を集めている。近年、近赤外光励起により近赤外発光および可視アップコンバージョン発光を示す希土類含有セラミックスナノ発光体(RED-CNP)のナノ温度計への応用が行われている¹⁾。RED-CNPの特定の発光はその強度が温度により変化するため、発光強度の温度変化を利用することで温度測定が可能である。既往の研究としては近赤外励起による可視アップコンバージョン発光や波長 800 nm 程度の近赤外発光を利用したものに限られ、波長 1000 nm 以上の RED-CNP の近赤外発光を利用することで、より生体透過性の高いナノ温度計の開発が可能となると考えられる。RED-CNP の一種である Ho^{3+} , Yb^{3+} 共ドープ NaYF_4 ($\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$) ナノ粒子は発光過程がフォノンの影響を受けるため、 Ho^{3+} の示す波長 1200 nm の蛍光の強度が温度により変化することが期待される。一方、 Yb^{3+} の示す波長 1080 nm の蛍光は温度依存性が Ho^{3+} と異なると考えられるため、これらの強度比を求めることで蛍光体の絶対量によらず温度測定が可能であると考えられる。そこで、本研究では $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ ナノ粒子の蛍光スペクトルにおいて、発光強度比 $I_{\text{Ho}}/I_{\text{Yb}}$ の 25~45°C に渡る温度依存性について検討した。

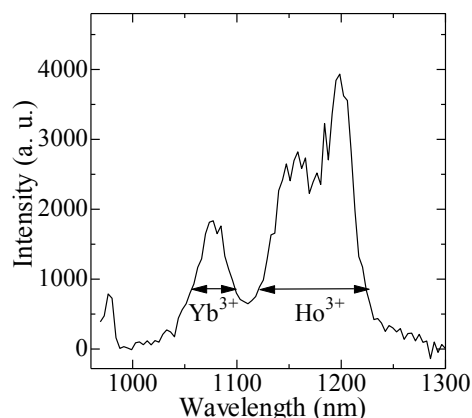
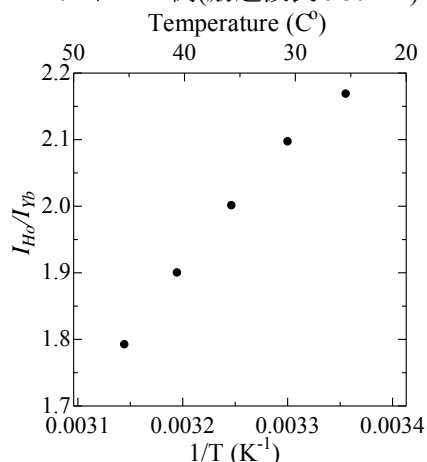
【実験方法】

共沈法により作製した平均粒径 300 nm の $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ 粒子をエタノールに分散し、温度を 25~45 °C の範囲で変化させ、励起波長 980 nm にて各温度における蛍光スペクトルを測定した。

【結果および考察】

得られた蛍光スペクトルの一例を図 1 に示す。 $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ 粒子の蛍光スペクトルを測定した結果、 Yb^{3+} の示す波長 1080 nm の蛍光強度は温度によらず一定であるのに対し、 Ho^{3+} の示す波長 1200 nm の蛍光強度は温度により変化することがわかった。発光強度比 $I_{\text{Ho}}/I_{\text{Yb}}$ の絶対温度に対する逆数 $1/T$ に対する変化を図 2 に示す。この結果を検量線として、 $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ ナノ粒子の近赤外発光を利用した温度測定が可能であることがわかった。

【参考文献】

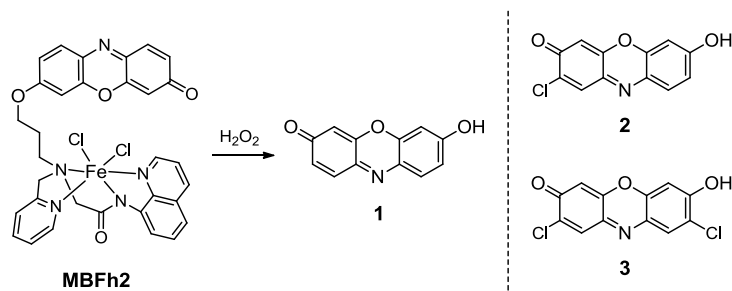
1) D. Jaque *et al.*, *Nanoscale*, 4 (2012) 4301図 1 $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ 粒子の蛍光スペクトルの例(励起波長 980 nm)図 2 $\text{NaYF}_4:\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ 粒子の発光強度比 $I_{\text{Ho}}/I_{\text{Yb}}$ の温度依存性

細胞内滞留性の向上を目指したレゾルフィン誘導体の開発と 過酸化水素蛍光検出への応用

○宮地亮昌, 武安俊幸, 高野弘都, 村本瑞宜, 小寺政人, 人見 穰
同志社大院理工

生体内で積極的に生産される活性酸素種 (ROS, Reactive oxygen species) はマクロファージや好中球が外来のバクテリアを殺菌するために生産する H_2O_2 や次亜塩素酸のみであり、その他の ROS は凶らずも発生し DNA 損傷や細胞死を引き起こす悪者であるとされてきた。しかし、近年、正常細胞が低レベルの H_2O_2 をシグナル伝達物質として生産し、リン酸化酵素などを活性化することが明らかにされ注目を集めている[1]。この H_2O_2 の新しい機能の発見と呼応するように細胞内の H_2O_2 を検出するためのプローブ分子が相次いで報告されている。我々は、 H_2O_2 と特異的かつ高速に反応する西洋わさびペルオキシダーゼなどの金属酵素の機能を水中で模倣できる金属錯体に着目し、 H_2O_2 との反応点とする金属錯体型 H_2O_2 蛍光プローブ (Metal-Based Fluorescent Probe for H_2O_2 , MBFh) をこれまでに報告している[2-4]。有機物のみで構成される H_2O_2 蛍光プローブは分オーダーで過酸化水素と反応するが、MBFh は、過酸化水素と秒オーダーで反応することができる。既に、MBFh2 を用いて、細胞成長因子による刺激によって生産する H_2O_2 の細胞内での検出に成功している。

MBFh2 は、 H_2O_2 との単核鉄錯体との反応により生成する酸化剤によって、リンカー部位を切断し、蛍光団として赤色の蛍光を発するレゾルフィン **1** を放出する。レゾルフィンはプロトン化型では蛍光をほぼ無蛍光であるのに対し、脱プロトン化型で



は強い蛍光を発する。その pK_a は 5.8 であり、中性付近の pH ではプロトン化型と脱プロトン化型が混在している。そのため、蛍光強度が中性付近での pH 変化の影響を受けやすいという問題があった。また、プロトン化型が脱プロトン化型と比べて疎水的であるため、細胞内での滞留性が低いという問題もあった。これらの問題をレゾルフィンの水酸基の pK_a の低下によって解決できると考え、レゾルフィンの 2 位および 8 位に電子求引性である塩素基を導入したクロロレゾルフィン **2** およびジクロロレゾルフィン **3** を合成した。pH 変化に伴う蛍光スペクトルから pK_a を算出した結果、レゾルフィンおよびその誘導体 **1-3** の pK_a は、5.8 および 4.6, 3.8 と求まり、特に誘導体 **3** は、生理的 pH 条件下においても安定に蛍光を発すると期待された。また、誘導体 **3** は、レゾルフィン **1** に比べ、高い細胞滞留性を示すことも判明した。

[1] Rhee, S. G. *Science*, **2006**, *312*, 1882-1883.

[2] Hitomi, Y.; Takeyasu, T.; Funabiki, T.; Kodera, M. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 9213-9216.

[3] Hitomi, Y.; Takeyasu, T.; Kodera, M. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9929-9931.

[4] Hitomi, Y.; Takeyasu, T.; Kodera, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2014**, DOI:10.1246/bcsj.20140055.

バブルリポソームと超音波による脳選択的遺伝子導入と発現評価

○小俣大樹¹⁾、鈴木 亮^{1,2)}、小田雄介¹⁾、Johan Unga¹⁾、宇留賀仁史¹⁾、関むつみ¹⁾、
根岸洋一³⁾、丸山一雄¹⁾

¹⁾帝京大学 薬学部、²⁾University of Virginia、³⁾東京薬科大学 薬学部

【背景・目的】

近年、アルツハイマー病などの脳疾患に対する遺伝子治療が注目されている。血液と脳実質組織の間には物質移動を厳密に制御する血液脳関門が存在するため、脳の遺伝子治療において血液脳関門を透過させ、遺伝子を組織へと送達することが重要であると考えられている。脳への物質送達技術として、強力集束型超音波を用いることにより、血液脳関門の透過性を一時的に亢進させ、薬物や遺伝子を脳組織へ送達可能なことが報告されている。しかしながら、強力集束超音波は数 mm³ の範囲に超音波エネルギーを集束させるため透過性亢進範囲が狭く、また、強い超音波エネルギーが必要となるため、脳を傷害する危険性が高まってしまう。

これまでに我々は、血中安定性・滞留性に優れたポリエチレングリコール修飾リポソームに超音波造影ガスを封入したバブルリポソームを開発してきた。バブルリポソームと非集束型超音波を併用することで、強力集束型超音波と比べ低い超音波エネルギーにより、低侵襲的に種々の細胞や組織に遺伝子導入できることを明らかとしてきた。そこで本研究では、バブルリポソームと超音波による脳への選択的な遺伝子導入を試み、遺伝子の発現をイメージング技術により評価した。

【方法】

バブルリポソームとルシフェラーゼ発現プラスミド DNA をマウス尾静脈より投与し、経頭蓋的に超音波を照射した。1 日後、ルシフェリン溶液をマウスに投与し、10 分後に IVIS を用いて撮影した。また、蛍光たん白質発現プラスミド DNA を導入し、各種細胞に対するマーカーたん白質の免疫染色により遺伝子導入細胞について検討した。

【結果・考察】

IVIS による観察から、バブルリポソームと超音波を併用した群において、超音波照射した頭部において高い発光が認められた (Fig. 1)。

また、遺伝子導入細胞について検討したところ、ニューロン、アストロサイト、血管内細胞などで蛍光たん白質の発現が認められ、血管内皮細胞の外側の脳実質細胞に対しても遺伝子が導入されていることが明らかとなった。以上の検討から、バブルリポソームと超音波の併用は脳選択的な遺伝子導入のための有用なシステムとなることが期待される。

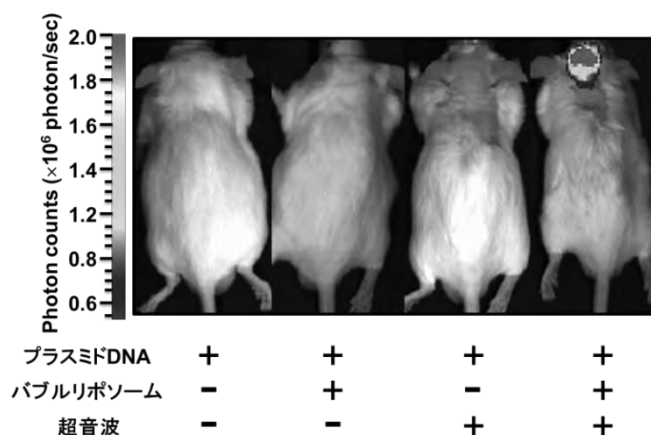


Figure 1. IVIS による観察

トリインフルエンザ劇症化における NS1 分子機構

○加藤 有介¹⁾、鈴木 和男²⁾¹⁾徳島文理大学健康研、²⁾帝京大アジア国際感染研

季節性インフルエンザ感染での死亡率は 1 万分の 1 程度だが、高病原性トリインフルエンザ (A/H5N1 型) 感染患者では劇症型肺炎を伴い死亡率は 60%を示す(Kawachi et al. 2009)。その要因がサイトカインストームを伴う急速な呼吸不全によることが明らかになっている (Liem et al. 2008)。劇症化、すなわちサイトカインストームを誘発する因子は、インフルエンザウイルス遺伝子中にコードされている NS1 タンパク質であることが報告されている (Phung et al. 2011)。

近年報告された A/H5N1 型インフルエンザの 2 つのサブタイプ (DK/12 と DK/27) では、病原性の度合いに違いが見られた (Jiao et al. 2008)。これらのウイルスをマウスに感染させた場合、DK/27 の場合には実験に利用したマウス全個体が 8 日以内に死亡したのに対して、DK/12 では 9 日目の時点ですべての個体が生きていた。

この病原性の違いは NS1 遺伝子上のひとつのアミノ酸の変異による。DK/12 では 42 番目のアミノ酸がプロリンであるのに対して、DK/27 ではセリンに置き換わっていた。この変異が NS1 タンパク質の性質にどのような変化をもたらすのか明らかにすることを目的として、本研究ではまず構造モデル解析を行った。DK/12 型 NS1 タンパク質の RNA 結合ドメイン(RBD)の分子モデルをホモロジーモデリングの手法により構築し、構造既知の DK/27 型の NS1 RBD の立体構造と比較した。その結果判明したことはこの 42 番目のアミノ酸の変異により DK/27 型 NS1 RBD の RNA 結合面上に存在するヒドロキシ基が失われることである。したがってセリンとプロリンとの変換は RNA との相互作用に影響を与えることが予想された。また、42 番目のアミノ酸残基は NS1 RBD の 2 番目の α -ヘリックスの中央に存在する。セリンとプロリンとでは α -ヘリックスの構造安定性に対する影響が異なることも予想される。以上のように構造モデル解析により 42 番目のアミノ酸変異が NS1 RBD の性質に影響を及ぼす可能性が示唆された。

次いで上記の解析結果を生化学的に確認するために DK/12 NS1 RBD (Pro42 型)と DK/27 NS1 RBD (Ser42 型)を発現、精製し円偏光二色性測定とゲル濾過クロマトグラフィーで比較したところ、両者の全体構造は非常によく似ていることが示唆された。このように構造的に非常によく似た 2 つの型の NS1 RBD の機能に差があるのかどうか強い興味を持たれたので RNA 結合能を比較した。DK/27 型 NS1 RBD では RNA に対する明白な結合が示されたが、DK/12 型 NS1 RBD では結合が見られなかった。以上のことから DK/27 型と DK/12 型との間での微小な構造の変化、すなわちヒドロキシ基と炭化水素基の変換、が NS1 RBD の RNA 結合能に大きな影響を与えることが示唆された。このような微妙な違いが病原性の度合いに違いをもたらした点が大変興味深い。

(引用文献)

Kawachi S et al., Suzuki K. J Infect Dis. 2009 Aug 15;200(4):510-5.

Phung TT et al., Suzuki K. Microbiol Immunol. 2011 Dec;55(12):874-84.

Liem NT et al., Suzuki K. Jpn J Infect Dis. 2008 Mar;61(2):157-60.

Jiao P et al., J Virol. 2008 Feb;82(3):1146-54.

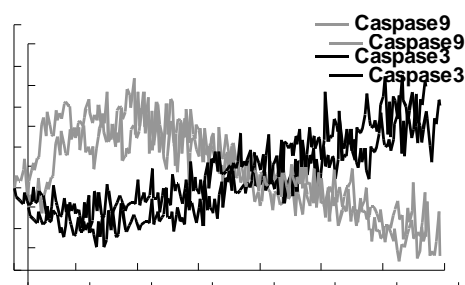
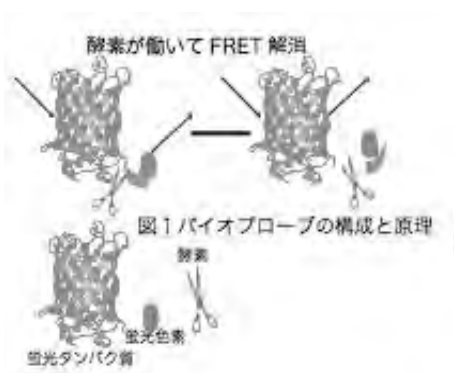
アポトーシス誘導過程に関与する信号伝達の上流から下流の単一細胞内における 応答パターンの可視化

○鈴木美穂¹⁾、新藤豊²⁾、山中龍²⁾、岡浩太郎²⁾

¹⁾埼大院・理工、²⁾慶大・理工・生命情報

生細胞において細胞外の刺激に対する細胞内信号伝達の順番、強度、時間及び空間的特徴の把握は細胞機能解析、創薬、個別化・再生医療に極めて有用な情報である。本研究では、信号伝達内にタンパク質間相互作用、kinase、protease、nuclease、ROS、貪食、転写など様々なイベントが関与しているアポトーシス誘導後の信号伝達を解析する事で、生細胞の可視化による細胞機能解析システムの構築を目指した。細胞内信号伝達の可視化は、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を原理とするバイオプローブを導入して行った。FRET型バイオプローブは蛍光分子2分子を必要とし、その相互作用におけるエネルギー移動効率に生体反応を変換する。このバイオプローブの利点は定量的な検出と可視化、検出対象の異なるバイオプローブを同時に導入しても規格化された可視化が出来る事、信号伝達の様々な過程を系統だって解析出来る事である。本研究で導入するバイオプローブはキメラ型で蛍光色素、蛍光タンパク質、量子ドットなど異素材から2種組合せたものである。これにより蛍光分解能の高い組合せ数が格段に増加し、また各々の物性の特長を掛け合わせることも出来た。一般的なFRET型バイオプローブは同素材による2分子で作製されるためプローブ設計が容易であるのに対し、キメラ型バイオプローブはmolecular dynamicsによる理論予測と進化分子工学的アプローチにより極めて高効率に基幹バイオプローブを設計できる事、高いFRET効率を維持したまま様々な検出対象用に改変したバイオプローブの作製が容易である事が最大の特長である。蛍光分解能があり高効率のFRETは複雑な補正解析を軽減する。今回は2つのproteaseであるcaspase-9(上流)とcaspase-3(下流)の活性を検出するバイオプローブをHeLa細胞に導入し、アポトーシス誘導後の応答パターンを検討した。導入したバイオプローブは蛍光タンパク質と蛍光色素のキメラ型であり、caspase-9活性検出用バイオプローブはGFP-Alexa Fluor 532、caspase-3活性検出用バイオプローブはRFP-Alexa Fluoro 660を組合せた。バイオプローブのprotease検出原理は図1に示すように、酵素活性を検出するとFRETが解消されるメカニズムになっている。アポトーシス誘導にはTNF- α 及びcycloheximideを併用した。その結果図2に示す様にアポトーシス誘導開始後、実時間の差はあるがcaspase-9の比較的急かつ微量な活性上昇とその後の緩助かつ確実なcaspase-3活性上昇、アポトーシスの特徴である細胞の萎縮が観察された。アポトーシス関

連の上流と下流のイベント、形態変化の一連をリアルタイムに定量的可視化する事に成功した。



共焦点顕微鏡法と自動パッチクランプ法による hERG チャンネルの電流および細胞膜への移動に対する薬物作用の解析

○田中光¹、高橋由紀子¹、濱口正悟¹、飯田-田中直子²、岡貴之¹、西尾将人¹、大槻篤史¹、
行方衣由紀¹

¹東邦大学薬学部薬物学教室、²大妻女子大学家政学部食物学科

【背景・目的】薬剤性 QT 延長症候群は、遅延整流性 K⁺電流（hERG 電流）の直接的な阻害作用が主因とされ、新薬開発に際し hERG 電流に対する阻害作用がないことを明確にすることが要求される。近年薬剤によるチャンネル阻害作用について、チャンネルに対する直接的な阻害作用だけではなく、チャンネル蛋白輸送段階での阻害作用についても注目され始めている。本研究では、電流測定と画像化法により薬剤による hERG チャンネル阻害様式を検討した。

【方法】GFP 融合 hERG チャンネルを HEK293 細胞に強制発現させ、hERG チャンネルに対する terfenadine と pentamidine の作用を検討した。チャンネルに対する直接的な阻害作用についてはオートパッチクランプ（Patchliner, Nanion）を用いて hERG 電流を測定し評価した。またチャンネル蛋白輸送段階での阻害作用については、薬剤存在下 48 時間培養し、共焦点レーザー顕微鏡（LSM-510, Carl ZEISS）を使った画像化法と電流測定を行うことで評価した。

【結果】GFP 融合 hERG チャンネルが細胞膜に存在することが共焦点顕微鏡法により確認された。電流測定により、hERG チャンネルの電気生理学的性質が GFP 付加により変化していないことが確認された。Terfenadine ではチャンネルに対する直接的な阻害作用が濃度依存的に見られ、IC₅₀ は約 30nM であった。チャンネル蛋白輸送段階での阻害作用は画像化法、電流測定、いずれの方法によってもほとんど見られなかった。Pentamidine では、チャンネルに対する直接的な阻害作用はほとんど見られなかった。チャンネル蛋白輸送段階での阻害作用は濃度依存的に見られ、IC₅₀ は約 3 μM であった。

【考察・結論】Terfenadine および pentamidine はいずれも hERG チャンネル電流を減少させたが、その機序は全く異なるものであった。すなわち、terfenadine はチャンネルに対する直接的な阻害作用のみを示し、pentamidine はチャンネル蛋白輸送段階での阻害作用のみを示した。本研究では薬剤による hERG チャンネルの阻害様式の違いを評価することに成功したが、この評価法の確立によって、多くの薬剤の hERG チャンネルに対する阻害様式が明確になることを期待する。

グルコース感受性を示すラット膵臓β細胞 INS-1 の カルシウムシグナルとインスリン分泌に小胞体 Ca²⁺が与える影響

○長山恵理子、田中直子
大妻女子大・家・食物

【序論】膵臓β細胞がグルコース濃度感受性にインスリンを分泌するしくみについては、ATP合成、ATP感受性K⁺チャネルの閉鎖、電位依存性Ca²⁺チャネルの開口が順次起こり、細胞外から流入したCa²⁺イオンがインスリン分泌を促すと言われている。一方、小胞体は細胞内のCa²⁺の貯蔵を担い、細胞内外からの刺激を受けて細胞内のカルシウム濃度の調節を行っている。

本研究では、グルコース感受性を示すラット膵臓β細胞株 INS-1 細胞をもちいて、グルコース感受性に起こる細胞内Ca²⁺濃度変化およびインスリンの分泌が、小胞体へのCa²⁺の取込みを阻害したときどのような影響を受けるかを調べたので、報告する。

【方法】細胞内Ca²⁺はFluo-4を用いて蛍光顕微鏡で経時的に観察し、インスリン分泌量は、10分ごとに採取した緩衝液中のインスリン濃度をELISA法で定量することによって評価した。小胞体へのCa²⁺取込みの阻害は1μMタプシガルジンで、グルコース刺激は25mMグルコースで行った。

【結果および考察】INS-1細胞内のCa²⁺濃度は、グルコース刺激後5分後までに強く何回か上昇した後、いったん定常状態に戻り、20~30分後あたりで再び頻回に上昇を繰り返した(図2A)。これに対して、タプシガルジンで処理後にグルコース刺激を与えた細胞では20~30分後の上昇がみられず、刺激後5分後までの上昇もコントロール細胞と比較して低い傾向が見られた(図2B, C)。インスリン分泌も、細胞内Ca²⁺濃度に呼応して、コントロール細胞では早い分泌と遅い分泌が見られたが、タプシガルジン処理細胞では遅い分泌が見られず、また早い分泌の分泌量も低かった。小胞体Ca²⁺は、インスリンの遅い分泌だけでなく、グルコース刺激後に細胞外からのCa²⁺流入によって引き起こされる細胞内Ca²⁺濃度の上昇にも強く影響を与えている可能性が示唆された。

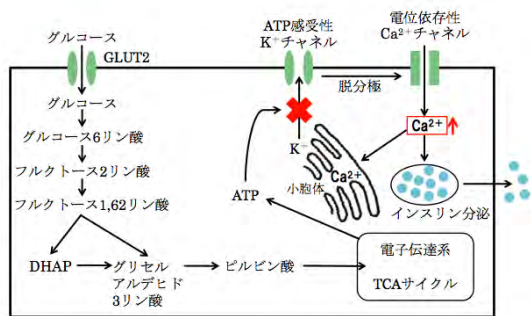


図1. グルコース感受性にインスリンが分泌されるしくみ

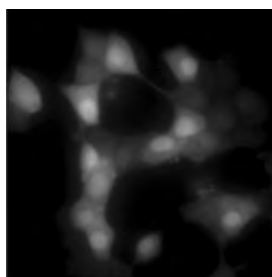


図2. グルコース刺激後のINS-1細胞のFluo-4蛍光画像

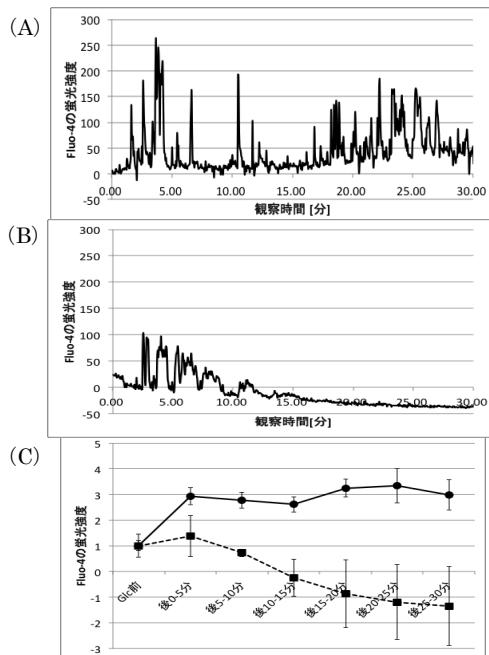


図3. グルコース刺激後のFluo-4蛍光強度の経時変化。(A)コントロール細胞および(B)タプシガルジン処理細胞の代表例と(C)1分間の積算値の平均値の比較。

ラマン散乱分光法を用いた心筋梗塞とその修復過程の評価

○南川丈夫、村西菜苗、原田義規、高松哲郎

京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞分子機能病理学

生活習慣の欧米化に伴い、虚血性心筋梗塞が急増しており、その治療成績を向上させることは重要な課題となっている。虚血性心筋梗塞の外科治療において、虚血障害心筋が血行再建によって機能を回復できる能力（心筋バイアビリティ）の評価は非常に重要な要素となっている。現在心筋バイアビリティは、核磁気共鳴法や心筋シンチグラフィなどを用い、形態、脂肪酸代謝計測など心筋機能の間接的計測法を用いて手術前に評価されている。しかし、正確な心筋バイアビリティの評価のためには、心臓を直視できる手術中に直接観察するのが最も効果的であるが、そのような手法は存在しない。そのため、術中にリアルタイムで心筋バイアビリティを評価可能な新たな手法を開発することが強く望まれている。

心筋梗塞は、虚血に陥った心筋細胞が凝固壊死し、炎症細胞、線維芽細胞の浸潤や新生血管が見られる肉芽組織となって、最終的に線維組織に置換されて修復される。そこで本研究では、心筋梗塞の修復過程に着目し、ラマン散乱分光法によりその修復過程の無染色評価を試みた。

図 1a に正常心筋と梗塞組織のラマンスペクトルを示す[1]。正常心筋では、cytochrome c に由来するラマンバンド（ 750 cm^{-1} など）が非常に強く現れた。また、凝固壊死組織では、これらの cytochrome c に由来するラマンバンドの強度が減少した。さらに、肉芽組織では、cytochrome c に由来するラマンバンドが顕著に減少し、ヘモグロビンに由来するラマンバンド（ 1306 cm^{-1} ）が見られた。線維化組織では、I 型コラーゲンに由来するラマンバンドが見られた。また、ラマンスペクトルの多変量解析を行うことで、修復過程の梗塞組織の選択的検出を行うことに成功した。（図 1b）。

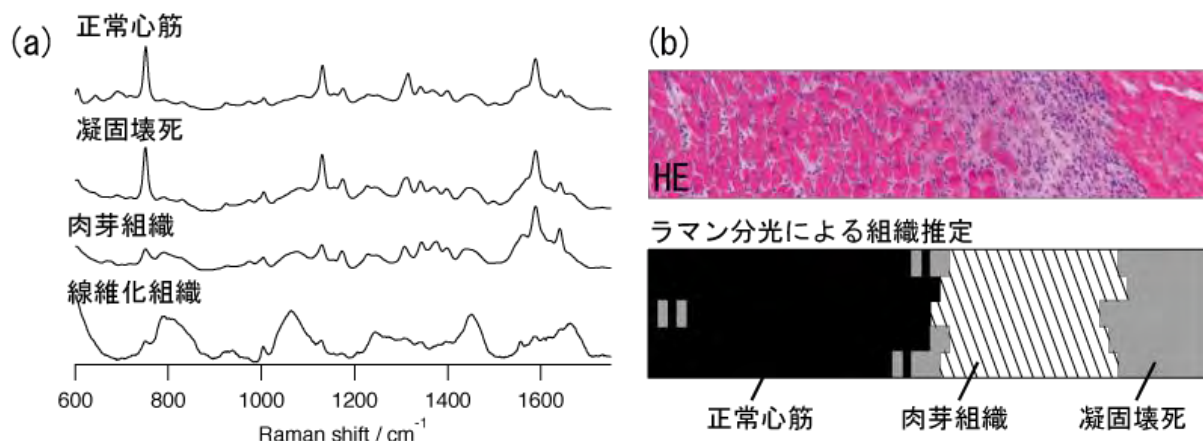


図 1 心筋梗塞の (a) ラマンスペクトルと (b) ラマン分光による組織推定。

1. N. Nishiki-Muranishi, Y. Harada, T. Minamikawa, Y. Yamaoka, P. Dai, H. Yaku, and T. Takamatsu, "Label-free evaluation of myocardial infarction and its repair by spontaneous Raman spectroscopy," Anal. Chem. (in press).

蛍光標識レクチンを用いた血管内皮表層 glycocalyx のイメージング

○片岡華恵¹⁾、牛山明²⁾、田中麻雄³⁾、飯島毅彦¹⁾

¹⁾ 昭和大学歯学部全身管理歯科学講座歯科麻酔科学部門

²⁾ 国立保健医療科学院、³⁾ 明治薬科大学

<背景・目的>

血管内皮の表層には glyocalyx (GCX) があり、血管内外の物質透過性制御をはじめ、様々な生理機能に関係している。また臨床においても敗血症などの病態下では GCX の減衰が報告されており、生体における GCX の重要性が示唆されている。

先行研究によると、GCX はその厚みが数 10~500nm 程度とされている。その観察には主として電子顕微鏡が使用されており、生体内での挙動を明らかにすることは難しいとされてきたが、近年、蛍光標識レクチンと GCX を構成する糖鎖構造との反応性に基づき、蛍光顕微鏡的に GCX の解析を行っている報告も見られる。しかしながら、多くの報告では特定の単一レクチンを用いており、糖鎖構造との反応性が異なる各種レクチンと GCX の反応性を検討した例は乏しい。本研究では複数のレクチンを用いてそれぞれのレクチンにおける GCX との反応性の評価を行い、その中で特異的に染色が見られるレクチンを用いて病態時の GCX の挙動について検討した。

<方法>

複数のレクチンを用いた標識の比較

BALB/c マウス、雄性、8~10 週齢に背側皮膚透明窓 (Dorsal Skinfold Chamber:DSC) を外科的に装着し実験に供した。DSC を装着したマウスを顕微鏡下に保定することで、皮膚血管の微小循環をリアルタイムで観察することが可能である。

本研究で検討したレクチンは CON A、DBA、PNA、RCA 120、SBA、UEA I、WGA、LEL の 8 種でいずれも FITC で標識されている。観察はそれぞれのレクチンの同一用量 (6.25mg/kg body weight) を異なるマウスに静脈投与し、血管内皮表層の標識の程度を蛍光顕微鏡の同一撮影条件によって評価した。

病態下での glyocalyx の挙動

マウスに敗血症を誘導するために LPS (lipopolysaccharide) の腹腔内投与を行い、敗血症モデルを作製し、また、先の結果から得られたレクチンを用いて、病態時の GCX の挙動を蛍光顕微鏡下でイメージングを行った。

<結果・考察>

用いたレクチンのうち WGA、SBA、LEL において細動静脈内腔側に明瞭な蛍光シグナルを認め、各レクチンが GCX と特異的に結合していることが示唆された。このうち WGA については、LPS 投与による敗血症病態下で、健常群と比較して血管内腔側の蛍光シグナルの減衰を認め、病態下において GCX が減衰していることが示された。

以上より、レクチンの種類によってマウスの皮膚微小血管における GCX への反応性が異なること、また、敗血症病態下においてレクチンの結合が減弱することから GCX が崩壊を受けることが明らかとなった。

高密度型光ファイバ束による細胞応答イメージング

○櫻井孝司¹⁾、鯉田孝和¹⁾、夏目三男²⁾、秋山喬³⁾

¹⁾ 豊橋技術科学大学・エレクトロニクス先端融合研究所、²⁾ 電興社、³⁾ TAC

生体における機能や病態を光計測する場合、測定目的を満たした時空間性能を有する技術が要求される。組織の表層もしくは切片における観察は、従来の光学顕微鏡法が適用できるが、装置が大型なため、深部への適用には制限がある。又、PET 法や MRI 法などは低侵襲で生体内部計測されてきているが、細胞レベルでの機能解析には時空間性能の向上が求められる。これらを背景として、生体深部における細胞機能を計測するため、先端の直径を 0.5 mm 以下に尖鋭化した光ファイバ束を用いたファイバ顕微鏡 (fiber-coupled microscope, FCM) を構築し、近年は各ユニットファイバを高密度整列させた改良型を開発した。

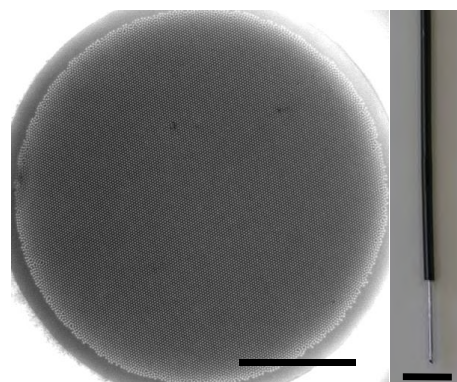


図 1 光ファイバ束の写真。
左) 断面像、 右) 先端部。
較正棒は 100 ミクロンと 5 ミリ。

図 1 に高密度型 (High density type, HDT) 光ファイバ束の断面図と光学性能を示す。直径 2.3 μm の素線を 15,000 本以上束ねた軟性型で、先端部の直径は 0.45 mm とした。HDT-FCM は低干渉型高輝度光源、カップル用対物レンズ、高感度 CCD カメラで構築した。蛍光ターゲット (長さ 22 μm) 計測時での素線ユニット数は平均 9.4 だったため、空間分解能は 2.4 μm と算出した。蛍光輝度分布から S/N 比を比較した結果、従来型と大きな差はなかった。図 2 に培養大脳スライスの Ca 応答を計測した結果を示す。Ca 感受性蛍光色素 (Fluo4) を負荷してからファイバ先端を密着させたところ、静止時の蛍光輝度値は低かったが、脱分極刺激後に Ca 依存性の輝度上昇と回復が見られた。一過性の Ca 応答は、培養 INS1 細胞塊へ先端部を挿入させても同様に検出できた。

今回開発した高解像度型ファイバ顕微鏡による細胞応答モニタリング法を、今後はファイバ束先端部を生体へ装着させた状態での機能計測へ展開する。

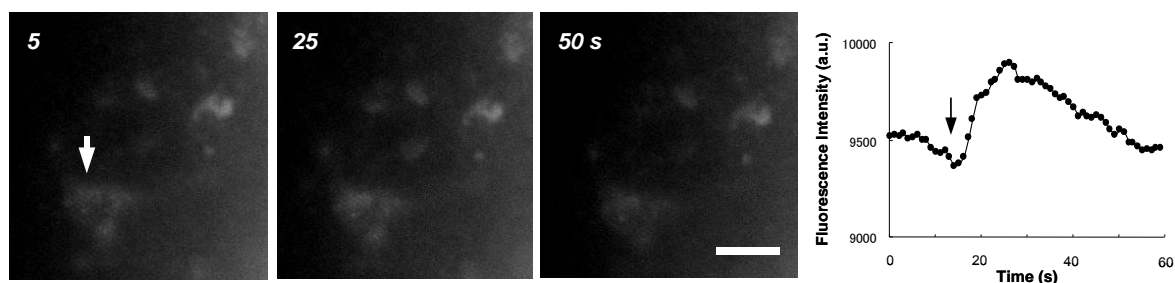


図 2 HDT-FCM による培養大脳スライス Ca 応答の蛍光イメージング。

左 3 枚は Fluo4 蛍光画像。数字は記録時間。較正棒は 100 ミクロン。

右グラフは左写真中矢印で示した細胞における蛍光強度の経時変化。矢印：脱分極刺激。

アレルギー性炎症の誘導にもなうリンパ球浸潤に関与する分子の解析と 細胞集積のイメージング

○長谷川明洋¹⁾、荻野英賢¹⁾、大津山賢一郎¹⁾、中山俊憲²⁾

¹⁾山口大学大学院医学系研究科 ゲノム・機能分子解析学

²⁾千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学

【目的】喘息や花粉症をはじめとするアレルギー性炎症疾患は、抗原感作により抗原特異的機能型ヘルパーT(Th)細胞が誘導され、再び抗原に暴露されることにより炎症反応が誘導される。アレルギー反応の誘導においては特に Th2 細胞が深く関与していることが知られているが、T 細胞自体は数の上では浸潤細胞の数パーセント程度であり、実際の炎症の場でどのような機序で炎症誘導における重要な役割を果たしているのかほとんどわかっていない。本研究では蛍光標識した T 細胞や抗原特異的 Th 細胞を移入してリアルタイムで観察するシステムを構築し、アレルギー性喘息モデルを用いて抗原吸入後の肺への T 細胞浸潤の様式をイメージング解析した。そして各機能的 T 細胞サブセットの浸潤様式の時間的定量的解析を行い、肺への Th 細胞集積に関与する分子の検討を行った。

【方法】マウスでのアレルギー性喘息モデルとして、卵白アルブミン (OVA) を吸入させて気道炎症を誘導する系を用いた。OVA 免疫した GFP または RFP トランスジェニックマウスから CD4⁺T 細胞を個別に単離して同系統の野生型マウスに移入したり、*in vitro* で分化誘導して作製した抗原特異的 Th 細胞を同系等の野生型マウスに移入した後、OVA を吸入暴露してアレルギー性喘息を誘導した。喘息誘導後、肺に浸潤、集積する T 細胞の動態を蛍光顕微鏡を用いて観察した。

【結果】OVA で免疫したマウスから単離、移入した CD4⁺T 細胞は OVA 吸入後に肺への集積が観察され、OVA 吸入前や OVA を吸入させなかった場合に比べて 8~20 倍に増加した。これらの細胞集積は OVA で免疫していないマウスの CD4⁺T 細胞を移入した場合には見られなかった。肺への CD4⁺T 細胞の集積は、OVA 吸入 12 時間後から顕著となり、18~36 時間後に最大となった。さらに OVA 特異的な各 Th 細胞サブセットを移入して抗原吸入後の肺への集積を解析したところ、それぞれの Th 細胞サブセットによって異なる細胞集積様式を示した。特に OVA 吸入後に肺に集積してきた Th2 細胞は肺組織内で寄り集まって focus を形成し、その後に誘導される炎症巣の形成場所を制御していると考えられた。

私たちはこれまでに CD69 ノックアウト (KO) マウスではアレルギー性喘息が抑制されることを見出してきた。そこでリアルタイムイメージングシステムを用いて CD69KO マウスの Th2 細胞の肺への集積を調べたところ、細胞数や focus 形成が抑制されることが明らかとなった。

【考察】イメージングの手法を用いて明らかになったこれらの結果は、抗原感作を受けた T 細胞がその後の抗原吸入にもなって実際に肺に浸潤・集積すること、その集積が他の炎症細胞の浸潤よりも早い段階で起こること、そして肺組織内で focus を形成することにより好酸球などの炎症細胞が浸潤して形成される炎症巣の場所を制御していることを示している。また、これまでの研究で CD69KO マウスではアレルギー性喘息が抑制されることを見出してきたが、その抑制メカニズムの少なくとも一部は肺への抗原特異的 Th2 細胞集積の抑制によるものであると考えられた。

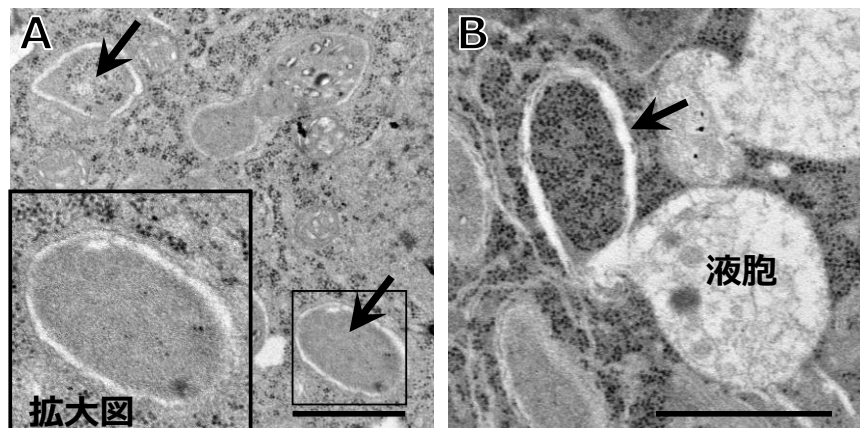
イネの花粉発達過程におけるオートファジーの新たな役割

○来須孝光^{1,2,3)}、陶文紀²⁾、岡咲洋三⁴⁾、二平耕太郎²⁾、花俣繁^{2,5)}、小谷野智子²⁾、北畑信隆²⁾、
小嶋美紀子⁴⁾、永田典子⁶⁾、榊原均⁴⁾、斉藤和季⁴⁾、多田雄一¹⁾、朽津和幸^{1,2,3)}

¹⁾東京工科大・応用生物、²⁾東京理科大・理工・応用生物科学、³⁾東京理科大・総合研究機構、
⁴⁾理研・環境資源科学、⁵⁾東京大院・新領域・先端生命、⁶⁾日本女子大・理・物質生物科学

オートファジーは、細胞質中に内膜系(オートファゴソーム)が生成され、液胞やリソソームと融合することにより、細胞成分が分解される自食作用であり、多くの真核生物の発生・分化や代謝の制御において重要な役割を果たすことが近年報告されている。一方、シロイヌナズナのオートファジー欠損変異体の生活環が正常であることから、植物の発生におけるオートファジーの役割については未解明な部分が多い。

我々は最近、GFP-ATG8 タンパク質を用いたイネのオートファジー可視化実験系を構築すると共に、オートファジー欠損変異株を同定した。生活環を通して変異体の表現型を観察した結果、ホモ変異体は、花粉成熟不良や葯開裂不全に起因する雄性不稔形質を示すこと、すなわち花粉の成熟にオートファジーが必須であることが明らかとなった(Kurusu *et al.*, *Autophagy* 2014)。電子顕微鏡法により、葯の各組織のオートファジー動態を解析した結果、花粉への栄養や表面構造の材料供給組織であるタペート細胞において、減数分裂期後にオートファジーが誘導されること(図A, B)、欠損変異株では野生型と比べて、脂肪滴の分解が顕著に遅延することが明らかになった。本発表では、葯や止葉等の各器官・発達ステージにおける、脂質成分や植物ホルモンの網羅的解析結果について報告し、脂質代謝や植物ホルモン代謝におけるオートファジーの役割や、イネの生活環の制御におけるその生理学的役割について議論したい。



(A, B) イネの葯内のタペート細胞では、特定の時期(1n期)にオートファジーが誘導される。

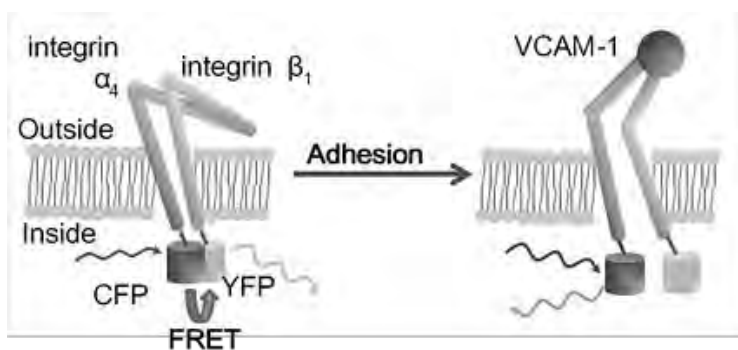
(A) オートファジーの実行に関与するオートファゴソーム様構造体(矢印)のTEM画像。(B) 液胞と融合しているオートファゴソーム様構造体のTEM画像。Scale bar: 1 μ m.

Integrin の構造変化を利用した高感度 FRET プローブの開発

○樋口ゆり子¹⁾、杉原有香²⁾、山下富義²⁾、橋田充²⁾¹⁾京都大学学際融合教育研究推進センター、²⁾京都大学大学院薬学研究科

白血球やの炎症部位への集積には、炎症部位の血管内皮細胞に高発現する VCAM1 と白血球の表面に発現する VLA4 の結合認識が重要な役割を果たしている。VLA4 は、integrin α_4 と integrin β_1 からなるヘテロダイマーであり、bent 型をとる場合は、VCAM1 との結合能が低い、活性化されると extended 型になり VCAM1 との結合能が高くなる。bent 型から extended 型に構造が変化すると、各 integrin の細胞質側の末端が広がるということが知られている。この構造変化を利用して、各 integrin の細胞質側の末端にドナーまたはアクセプターとなる蛍光たんぱく質を融合させることで integrin の構造変化を FRET により評価することが可能である。

本研究では、integrin α_4 に CFP を integrin β_1 に YFP を融合させたタンパク質をプロトタイプとし、まず、mCFP(A206K)、mCFP(L221K) および mTurquoise2(TQ2) と integrin α_4 の融合タンパク質を発現するベクターを構築した。各融合タン



パク質を Hela 細胞に発現させて蛍光強度を比較したところ、TQ2 が最も高かった。同様に、mYFP または mVenus、さらに、単量体化のために導入された変異による正電荷同士の反発を回避することを目的にアクセプターを循環置換型の cp173Venus と integrin β_1 の融合タンパク質を比較したところ、mVenus がやや高かった。次に、各ドナーおよびアクセプターの組合せのベクターを Hela 細胞に共トランスフェクションし、アクセプターブリーチングを行うことで FRET を確認した。それぞれのドナーまたはアクセプターの組み合わせで FRET 効率を比較したところ、TQ2 および cp173Venus の時に最も高かった。さらに、柔軟性に富んだ構造のリンカーを用いることで、さらに FRET 効率を向上することができた。

以上、ドナーまたはアクセプターの蛍光タンパク質の組み合わせ、循環置換型蛍光たんぱく質の利用、およびリンカーの柔軟性を最適化することにより FRET 効率を向上することができた。

スペクトルアンミキシングを用いた術中リンパ節転移診断

○原田義規、原田憲一、松尾久敬、南川丈夫、山岡禎久、戴 平、高松哲郎
京都府立医科大学大学院 細胞分子機能病理学

進行大腸癌の術式を選択する際、リンパ節転移の有無を正確に診断することは重要である。我々は、5-アミノレブリン酸 (5-ALA) を用いると胃癌リンパ節転移を蛍光診断可能なことを報告した [2]。5-ALA は体内でプロトポルフィリン IX (PpIX) に代謝されるが、PpIX は癌細胞に選択的に蓄積し、青色光照射により赤色蛍光を発する。しかし、ヒト組織はコラーゲンなどの自家蛍光物質を多く含み、PpIX 蛍光の検出に大きな影響を及ぼす。今回我々は、PpIX 蛍光による癌リンパ節転移の検出において、コラーゲン自家蛍光による影響をスペクトルアンミキシングで取り除けるかどうか検討した。[方法] 本学倫理委員会の承認を得て研究を行った。ヒト大腸癌症例 14 例から廓清された 87 個のリンパ節を対象とした。術前に 5-ALA を経口投与し、廓清リンパ節を半割後、20 nm ステップで蛍光画像 (励起波長: 405 nm、蛍光波長範囲: 480 nm~700 nm) を取得した。画像取得後、コラーゲン蛍光および PpIX 蛍光をリファレンスとしてスペクトルアンミキシングを行い、病理組織像と対比した。[結果] 転移リンパ節では PpIX 蛍光を観察可能で、PpIX 蛍光にオーバーラップするコラーゲン自家蛍光をスペクトルアンミキシングにより取り除くことが可能であった。病理組織学的診断結果と比較すると、本法の癌リンパ節転移検出の感度は 88. 3%、特異度は 92. 0%、正診率は 87. 4%であった。[まとめ] ヒト大腸癌のリンパ節転移検出に PpIX 蛍光は有用で、スペクトルアンミキシングで PpIX 蛍光をより明瞭に観察することが可能であった。症例蓄積による更なる検討が必要であるが、本法は迅速かつ簡便で、新たな術中リンパ節転移診断法となり得る可能性がある。

References

- [1] Harada K *et al.* Int J Mol Sci. 2013, 14, 23140-23152
- [2] Koizumi N *et al.* Ann Surg Oncol. 2013, 20, 3541-3548

■ 公開講座 ■

植物の重力受容メカニズムに迫る

○森田（寺尾）美代¹⁾、豊田正嗣²⁾、田坂昌生³⁾¹⁾名古屋大学大学院生命農学研究科、²⁾ Department of Botany, University of Wisconsin-Madison、³⁾奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科

芽生えた場所で一生を過ごす植物は、環境の変化を鋭敏に察知し、器官形成や成長の制御に反映させる生存戦略を採っている。“移動”することはない植物が見せる”運動“は、古くから研究者の興味を引いてきた。有名なオジギソウやハエトリソウのみならず、ほとんどの植物が様々な刺激に応答して運動する。植物の運動うち、刺激の方向と強い相関を示す方向性のある成長運動は、屈性と呼ばれる。植物は、光、重力、接触、水分などの様々な環境要因の方向を認識し、刺激の方向に向かって（正の屈性）、もしくは刺激から遠ざかるように（負の屈性）成長方向を制御する。屈性は、植物の各器官を光合成や生殖、水分や栄養分の取得に有利になるよう配置するために、重要な環境応答である。

地球上では重力の方向や大きさはほぼ一定なので、重力屈性は重力の方向を指標に、器官の傾きを認識して応答する姿勢制御運動ともいえる。高等植物の重力屈性は、概念的には次のようなプロセスを経ると考えられる。まず重力の方向の変化を認識し生化学的なシグナルを発生させる。その情報を器官内の細胞に伝達し、器官内の細胞伸長に差を生じさせることで器官が屈曲する。我々は重力屈性の分子機構の理解を目指し、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて研究を行ってきた。その過程で、重力方向の変化を認識する組織が特定され、細胞レベルでの重力応答を観察する必要に迫られた。地球上にいる限りあまねく地球の中心に向かう 1 g の重力を受ける。光などの刺激とは違い、重力は地上では簡単に ON, OFF できない上に、刺激の強さを制御することも難しい。我々はこれら実験環境の難点を克服するために、植物標本を垂直に保持したまま蛍光観察ができる垂直ステージ共焦点レーザー顕微鏡を構築し、重力の方向を変化させた時の細胞内の反応を視ることを可能にした。また、植物標本を遠心しながらリアルタイムで明視野観察ができる遠心顕微鏡を用いて、重力の大きさを変化させた時の細胞内の反応を視る研究も進めてきた。このような新たな実験系の構築により、何がどのように視えたのか、何が分ったのかを紹介したい。

細胞機能を分子スパイで探る

(ナノメートルレベルの現象を可視光で見る技術)

○新井 由之¹⁾、Dhermentra Tiwari¹⁾、山中 真人²⁾、藤田 克昌²⁾、永井 健治¹⁾

¹⁾ 大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学研究分野、²⁾ 大阪大学工学研究科

私達は世の中の物質を観察するとき、光を利用します。私達が目にすることができる光(可視光)は、波長が400~700 ナノメートル(1ナノメートルは100万分の1ミリメートル)の大きさを持っています。目であれカメラであれ顕微鏡であれ、光はレンズによって集められ、網膜やカメラ上に投影されることで、像として認識することができます。可視光の大きさは400~700 ナノメートルなので、この大きさよりも小さなもの(実際には波長の半分程度以下のもの)は観察することができません。これはアッペの回折限界と呼ばれています。そのため、細胞内の小器官などは、大きさが数百~数ナノメートル程度しかないため、可視光を使う光学顕微鏡では明瞭に観察することができません。解決策の一つとして、可視光より小さな波長を使えば見る事が可能です。電子顕微鏡は、ナノメートル以下の波長の電子線を用いることで、微細な構造を観察することが可能な技術です。しかし、試料を真空中に置く必要があるため、細胞などを生きたまま観察することはできません。

これまで、アッペの回折限界の為に、光の波長の半分よりも小さなものは光学顕微鏡では見ることはできないと考えられてきました。1994年、ドイツの科学者である Stefan Hell 博士は、一つの論文を発表しました。タイトルは、「Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy.」です。日本語に訳すと「誘導放出(誘導放出抑制蛍光顕微鏡)により回折限界を切り開く」となります。この論文では、誘導放出という仕組みを利用することにより、光の回折限界を超えた観察、超解像観察が可能な顕微鏡のコンセプトが報告されました。そして2000年には実際に超解像顕微鏡が開発されました。つまり、光の回折限界を超えた、可視光による観察が可能であることが示されました。今日では、多くの種類の超解像顕微鏡が開発され、様々な方法論で光学顕微鏡でありながら回折限界を打ち破ることが可能であることが示されています。今回の講演では、私達の研究室が開発した、光により光る状態をスイッチングすることのできる蛍光タンパク質を利用した超解像観察を例に、光の限界を超えた世界を紹介したいと思います。

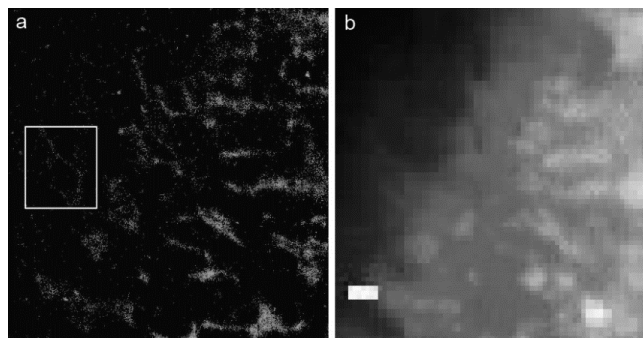


図 2 私達が開発した蛍光タンパク質を利用した超解像観察 a: 超解像 b: 通常の光学顕微鏡による観察(左下の白線の長さは1マイクロメートル)

細胞内エネルギーを可視化する

○今村博臣¹⁾¹⁾京都大学白眉センター

地球上の全ての生物は、自らを維持・増殖させるために、外部からエネルギーを獲得する必要がある。外部から取り込まれたエネルギーの多くは、細胞の中ではアデノシン三リン酸 (ATP) のリン酸結合のかたちに変換され、そののちに細胞の様々な場所で様々な目的に利用される。ATP を必要な時に、必要な場所へ供給することは、細胞にとって必須の仕組みである。しかし、生きた細胞内で ATP が時空間的にどのように振る舞うかについては、驚くほど知られていない。

我々は、こうした疑問を調べるため、生細胞内 ATP 濃度をイメージングするためのバイオセンサー「ATeam」を開発した。ATeam は枯草菌 ATP 合成酵素の ϵ サブユニットが 2 つの蛍光タンパク質 (CFP と YFP) によって挟まれた構造を有しており、ATP の結合・解離によって ϵ サブユニットが構造変化すると CFP から YFP へのフェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) 効率が変化する。ATeam を導入した細胞を FRET イメージングすることで、ひとつひとつの生きた細胞について、細胞内 ATP 濃度の時空間パターンを調べることが可能になった。そして、ATP は細胞内において均一かつ一定に存在するという従来漠然と信じられてきた ATP 像とは異なり、細胞内の ATP 濃度は決して均一ではなく、場合によっては大きく濃度変化する様子も明らかとなってきた。

【参考文献】

Imamura et al. (2009) PNAS 106, p15651; Nakano et al. (2011) ACS Chem Biol 6, p709; Ando et al. (2012) 8, e45917; Tsuyama et al. (2013) Anal Chem 85, p7889; Tanaka et al. (2014) J Biol Chem 289, p2205

植物の細胞内ダイナミクス

○上田晴子¹⁾, 横田悦雄²⁾, 朽名夏磨³⁾, 西村いくこ¹⁾

¹⁾京大・院・理, ²⁾兵庫県立大・院・生命理学, ³⁾東大・院・新領域

植物細胞の中では、原形質が毎秒 1~60 μm という圧倒的な速さで流動している。これは「原形質流動」と呼ばれ、モータータンパク質であるミオシンがアクチン繊維に沿ってオルガネラを運ぶことによって起こる細胞内運動である。しかし、流動を支えるしくみは未解明な部分が多い。我々は、蛍光タンパク質で可視化した小胞体がダイナミックに流動する現象に着目した。この流動は方向性を持ち、非常に速くて絶え間ない。小胞体は細胞内で最大の膜表面積を持つオルガネラで、細胞中に連続的なネットワークを張り巡らせていることから (図 1), 原形質流動に大きく関与することが考えられた。そこで、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて小胞体流動の分子機構を解析した。

まず、小胞体の運動を担うモータータンパク質の同定を試みた。植物は独自のクラスのみオシンを進化させ、原形質流動にはミオシン XI が関与すると考えられている。そこで、ミオシン XI の欠損変異体を確立し、独自に開発した解析ソフトを使って小胞体流動を比較した。その結果、シロイヌナズナにコードされている 13 種類のみオシン XI のうち、ミオシン XIk が小胞体流動に寄与する主要なミオシンであることが分かった。

興味深いことに、ミオシン多重変異体の細胞ではアクチンに沿った小胞体の分布が消失し、アクチン繊維束自身のパターンが乱れていた。このことから、ミオシン XI はアクチン束と小胞体を繋ぐだけでなく、細胞内のアクチン繊維束のパターン形成にも必要であることが明らかとなった。ミオシンがアクチン繊維上を滑ることは有名であるが、自分が滑るためのレールの構築に関わっていたことは予想外の発見であった。これらの結果から、「小胞体に結合したミオシンがアクチン上を滑りながらレールの方向を揃え、その上を滑ることによりさらに太い高速レールを構築している」という“小胞体・ミオシン・アクチンの三者相互作用による、原形質流動のポジティブフィードバックモデル”を考えている。

本講演では、植物細胞内で起こっているダイナミックな小胞体運動の様子をご覧いただきたい。

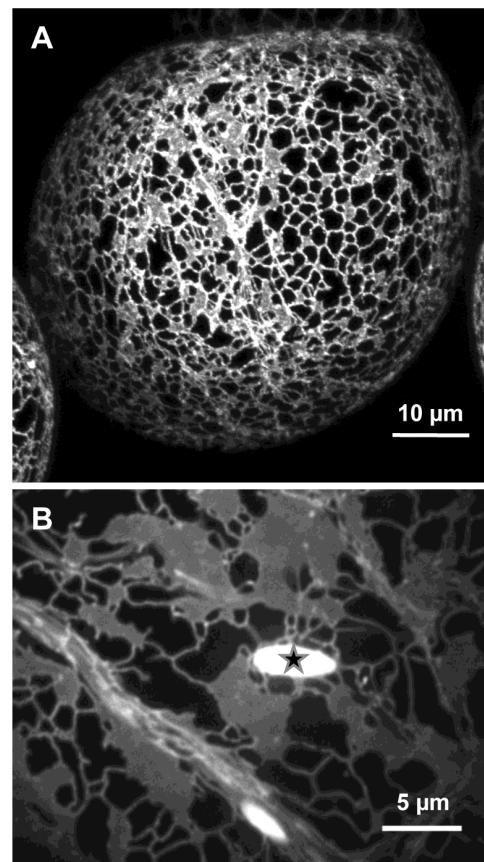


図1 蛍光タンパク質で可視化した植物細胞の小胞体

(A) タバコ培養細胞の小胞体の三次元プロジェクション像。小胞体が大い中央液胞を取り囲むようにネットワークを張り巡らせている。

(B) シロイヌナズナ葉の細胞の小胞体ネットワーク。葉の表皮細胞の長径は100 μm 以上に達し、写真はその一部を示している。シロイヌナズナを含むアブラナ科植物の小胞体は、チューブ状やシート状構造に加えて、小胞体由来のERボディ(星印)から成る。

細胞の細部構造をありのままに調べるラマン顕微鏡

○小関泰之

1) 東京大学大学院工学系研究科

光学顕微法は、生体を生きたまま、1 μm 程度の空間分解能で観察できるという特長を有しているため、生物学・医学では欠かせない生体観察手法です。さて、光学顕微法における百年来の重要な課題は、透明な生体分子を、どのようにして光で可視化するかでした。位相差顕微鏡や微分干渉顕微鏡が登場し、細胞の部位による屈折率の違いをもとに観察できるようになりました。ただし、屈折率の違いだけでは、細胞の内部構造をある程度知ることができるものの、内部にどのような生体分子があるかはわかりません。そこで、近年、染色技術を用いて生体を着色する技術や、蛍光分子・蛍光タンパクをもちいて特定の生体分子を標識する技術が急速に進歩しています。しかし、染色・標識の困難な分子も残されていますし、そもそも、染色や標識には手間や時間がかかります。

染色・標識技術を用いずに生体を観察する手法のひとつとして、生体分子と光の相互作用のひとつであるラマン効果をもちいたラマン顕微鏡が知られています。ラマン効果で発生するラマン散乱光には、生体分子の振動周波数の情報が含まれています。このため、生体を染色せず、ありのままの姿を観察できる、というわけです。しかし、ラマン散乱光は極めて微弱であるため、従来のラマン顕微鏡は観察に数十分~数時間も要してしまい、観察できる生体が限られていました。

我々は、光を駆使して、リアルタイムにラマン信号を得てイメージングを行う顕微鏡の研究を進めています。どのような光を使うかという点、1兆分の5秒という非常に短い時間だけ強く光る（パルスという）、2色の光です。なぜ2色の光を使うのでしょうか？それは、高さの異なる2つの音が混ざると、うなりが聴こえるのと同じように、2色の光もうなるのです。このため、2色の光を生体分子に照射すると、光のうなりに応じて、生体分子を振動させることができます。この効果を誘導ラマン散乱(stimulated Raman scattering, SRS)といいます。(SRSは、瞬間的に強い光パルスだからこそなせる技です。) 生体分子中の炭素-水素伸縮振動の周波数は1秒間に約90兆回であり、それは分子結合に応じて異なります。従って、光のうなりの周波数が変わると、分子結合に応じた振動の強さが変わります。そして、分子が振動するとき、光のエネルギーが分子振動のエネルギーに変換されます。ですから、2色の光パルスを分子に照射した後の光のエネルギーを精密に計測することで、生体分子がどれくらい存在するかを測定することができます。この測定を、光の照射点を走査しながら、また、うなりの周波数も変化させながら行います。これがSRS顕微法[1-3]です。SRS顕微法により、生体を染色せず、マルチカラーで3次的にイメージングすることができます[4]。本講演では、SRS顕微鏡の原理や特長についてできるだけ平易な説明を試み、生体観察例や、より実用的な光源の開発状況[5, 6]について紹介します。

参考文献

- [1] C. W. Freudiger *et al.*, *Science* **322**, 1857 (2008). [2] P. Nandakumar *et al.*, *New J. Phys.* **11**, 033026 (2009). [3] Y. Ozeki *et al.*, *Opt. Express* **17**, 3651 (2009). [4] Y. Ozeki *et al.*, *Nat. Photon.* **6**, 845 (2012). [5] K. Nose *et al.*, *Opt. Express* **20**, 13958 (2012). [6] K. Nose *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **53**, 052401 (2014).

神経細胞の興奮を可視化する

○筒井秀和

北陸先端科学技術大学院大学 (JAIST) ・ マテリアルサイエンス研究科

電気信号というとコンピュータや携帯端末などの電子機器がすぐに思い浮かびますが、生き物も電気信号を巧みに使っています。生体における電気信号とは、具体的には厚さ数ナノメートルの脂質二重膜をよぎる電圧の変化で、神経や筋だけでなく受精や免疫などより多様な現象にも関与していると考えられています。この細胞膜やオルガネラ膜の電位差を如何にして時空間計測するか、という問題は古くから続く生理学の課題です。

細胞は実際にその電気信号を巧みに解読して、信号を増幅したり、化学反応を引き起こしたりしています。そこでは細胞膜の電圧変化を感じ取って動く（状態遷移する）蛋白質たちが活躍しています。例えば、そのような蛋白質を分子の部品として使うことで、構造変化を光の信号として検出する人工膜電位センサーを創り、電気信号の時空間動態を光学的に可視化する事が出来ます。これまでに、単一細胞における単一インパルスの検出や心臓収縮時における膜電位動態の可視化などに成功してきた。しかしより複雑な、興奮精細胞のネットワークに適用しようとする場合には、まだまだ性能の向上が必要です。そのために、蛋白質の状態遷移の機構についてより深く知ろうとしたり、それを新しいセンサーの開発に活用したりしています。今回は、そのような試みについて話させていただきます。

ナノダイヤモンドで細胞機能を視る・操作する

○原田慶恵¹⁾¹⁾京都大学 物質-細胞統合システム拠点

生命現象を理解するためには、個々の生体分子がどのようなメカニズムで機能しているのか、また、それらが生体内でどのような時間的、空間的秩序で機能しているのかを明らかにすることが重要である。個々の生体分子の機能を明らかにするための最も直接的なアプローチは、個々の生体分子を蛍光プローブで標識し、蛍光顕微鏡で1分子観察する方法である。これまでに1分子観察により、タンパク質の運動や機能発現が可視化されている。しかし、現在1分子観察に使われている蛍光プローブには、退色やブリンキング、他の蛍光物質との区別が付かないこと、ナノレベルの回転運動や角度変位を精度よく捕らえることが難しいなどの問題点がある。

我々はダイヤモンドナノ粒子の優れた蛍光特性を利用することで、それらの問題点を克服することができるのではないかと考えた。ダイヤモンド結晶格子内には不純物として窒素原子 (Nitrogen) が存在する。この窒素原子と、格子空隙 (Vacancy) が隣接するときに見える窒素-格子空隙中心 (Nitrogen-Vacancy Center, NVC) は 550 nm 付近の可視光で励起され、650 nm~800 nm の蛍光を発する。NVC の蛍光は、従来の蛍光色素のように退色やブリンキングが起きないことが実証されている。さらに、NVC の蛍光遷移過程には電子スピン共鳴に関与するエネルギー準位も含まれるため、磁気共鳴技術を使って NVC からの蛍光強度を制御することができる。この磁気共鳴制御技術を使うと、NVC から発する蛍光強度を、共鳴周波数のマイクロ波照射で変調することができる。我々はこの技術を使って、ダイヤモンドナノ粒子からの蛍光をそれ以外の蛍光団や光学系に由来する雑音信号があっても、NVC のみの蛍光信号を抽出しその視野画像を選択的に観察することができる技術を開発した。この手法が生体試料の蛍光観察を困難にする自家蛍光などの背景光を完全に除去する手法として極めて有効であることを、培養細胞と生きた線虫を使った系に適用し確認した。さらに、NVC には、外部から静磁場を印加した状態では、N-V 結合方向と静磁場との角度に依存して磁気共鳴が起こる高周波の周波数が変化する、すなわち、光検出磁気共鳴スペクトルの形状が変わるという性質がある。従って外部静磁場の向きを固定した場合、スペクトルの形の変化は、ダイヤモンド粒子の動きを反映することになる。この性質を利用して、現在我々は、ダイヤモンドナノ粒子の角度変化を計測する方法を開発している。この方法の開発に成功すれば、NVC を含むダイヤモンドナノ粒子を生体分子に標識することで、これまで検出することができなかった生体分子の角度変化や構造変化の検出が可能になる。本講演では、本手法の概要とダイヤモンド粒子を蛍光プローブとして生体試料に応用した例を紹介する。

文献

Igarashi, R., Yoshinari, Y., Yokota, H., Sugi, T., Sugihara, F., Ikeda, K., Sumiya, H., Tsuji, S., Mori, I., Tochio, H., Harada, Y., Shirakawa, M., Nano Letters, 12, 5726-5732 (2012)

■ 発表者索引 ■

発表者索引

あ		大久保 幸太郎	P-4
赤塚 陽子	P-20	大嶋 祐介	P-24
秋山 喬	P-38	大谷 敬亨	P-18
荒井 啓克	P-4	大槻 篤史	P-34
新井 由之	S3-3, K-2	大津山 賢一郎	P-39
い		大友 康平	P-16, P-24
飯島 毅彦	P-37	大浪 修一	S1-4
飯塚 怜	P-4	大西 晃宏	P-20
伊香賀 玲奈	P-28	大野 工司	P-22
五十嵐 圭日子	P-4	大林 寧	P-7
石原 美弥	S4-1	大東 琢治	P-5
一條 知昭	P-12	大屋 真	S4-2
市村 垂生	S3-2	岡 浩太郎	P-19, P-33
伊藤 文音	P-13	岡 貴之	P-34
伊藤 里紗	P-24	岡崎 茂俊	P-7
伊納 義和	P-26	岡咲 洋三	P-40
井上 敬	P-6	岡田 全朗	P-8, P-9
井上 卓	P-7	岡田 益己	P-2
一本嶋 佐理	P-24	岡部 弘基	P-23
今村 健志	P-24	荻野 英賢	P-39
今村 博臣	K-3	小倉 潔	P-13
岩野 恵	P-10	小関 泰之	K-5
う		小田 雄介	P-31
上田 晴子	K-4	乙村 法道	P-11
上田 昌宏	P-6	小俣 大樹	P-31
牛山 明	P-37	小山 時隆	P-8, P-9
宇留賀 仁史	P-31	か	
え		片岡 華英	P-37
海老原 利枝	P-27	加藤 綾	P-15
お		加藤 薫	P-17, P-27
		加藤 有介	P-32
		金岡 雅浩	P-10
		金子 邦彦	S1-1

上村 真生	P-18, P-25, P-29	澤野 頼子	P-14
亀井 保博	S4-2		
賀屋 秀隆	P-10	し	
川上 良介	P-16	篠原 惇宏	P-26
川西 徹	P-3	庄野 浩資	P-2
河村 幸男	P-1	進藤 豊	P-19, P-33
河原崎 朋子	P-10		
		す	
き		薛 友林	P-14
菊地 和也	P-11, P-21	杉原 有香	P-41
北川 寛之	P-18	鈴木 和男	P-32
北畑 信隆	P-40	鈴木 孝治	P-19
木原 裕	P-5	鈴木 美穂	P-33
木村 幸恵	P-10	鈴木 亮	P-26, P-31
京田 耕司	S1-4		
		せ	
く		関 むつみ	P-31
朽津 和幸	P-10, P-40		
朽名 夏磨	P-15, K-4	そ	
倉林 徹	P-1	曾我 公平	P-18, P-25, P-29
来須 孝光	P-40, 奨励		
		た	
こ		戴 平	P-42
鯉田 孝和	P-38	高野 弘都	P-30
合田 圭介	S2-1	高橋 由紀子	P-34
小嶋 美紀子	P-40	高松 哲郎	S3-1, S3-3, P-36, P-42
小寺 政人	P-30	高山 誠司	P-10
小橋 昌司	P-22	竹内 司	P-18
小谷野 智子	P-40	竹本 邦子	P-5
小和田 俊行	P-21	武安 俊幸	P-30
		多胡 善幸	P-22
さ		田坂 昌生	K-1
斉藤 和季	P-40	多田 雄一	P-40
榊原 均	P-40	立野 玲子	P-13
櫻井 孝司	P-38	田中 直子	P-28, P-34, P-35
鮫島 正浩	P-4	田中 光	P-3, P-28, P-34
澤井 哲	S1-2	田中 博	P-7

田中 麻雄	P-37	那須 正夫	P-12
田中 みなみ	P-27	夏目 三男	P-38
谷井 孝至	P-4	行方 衣由紀	P-3, P-28, P-34
田之倉 優	P-14	奈良 雅之	P-20
田原 樹	S4-3	難波 啓一	特別 2
玉作 賢治	S2-3	難波 英俊	P-5
玉田 洋介	S4-2		
丹野 剛紀	P-1		
		に	
		新倉 弘倫	S2-4
		西尾 将人	P-34
ち		西村 いくこ	K-4
陳 挺	P-22	西本 伸志	S2-2
		西山 繁	P-19
		二平 耕太朗	P-40
		ね	
		根岸 洋一	P-31
		根本 知己	P-16, P-24
		は	
		橋田 充	P-41
		橋村 秀典	P-6
		橋本 研志	P-10
		長谷川 明洋	P-39
		長谷川 千織	P-28
		馳澤 盛一郎	P-15
		長谷部 光泰	S4-2
		畑 豊	P-22
		秦野 賢一	P-14
		服部 淳彦	P-20
		服部 正泰	P-18
		服部 雅之	S4-2
		花俣 繁	P-40
		馬場 貴志	P-12
		濱口 正悟	P-34
		早野 裕	S4-2
		原田 憲一	P-42
と			
陶 文紀	P-40		
遠里 由佳子	S1-4		
東ヶ崎 健	P-27		
利光 郁美	P-4		
豊田 正嗣	K-1		
な			
永井 健治	S3-3, K-2		
中内 愛由子	P-10		
永田 典子	P-15, P-40		
中西 守	P-26		
中村 顕	P-14		
中山 俊憲	P-39		
中山 博史	P-16		
長山 恵理子	P-35		
永山 勝也	P-13		

原田 慶恵	K-7	明賀 史純	P-15
原田 義規	P-36, P-42		
ひ		む	
桧垣 匠	P-15	村田 隆	P-16, S4-2
東山 哲也	P-10	村中 智明	P-8, P-9
樋口 ゆり子	P-41	村西 菜苗	P-36
人見 穰	P-30	村本 瑞宜	P-30
日比 輝正	P-16, P-24		
平嶋 尚英	P-26	も	
平塚 明	P-1	森 勇樹	P-22, S4-4
		森田（寺尾） 美弥	K-1
ふ		や	
藤井 智彦	P-19	安井 真人	P-6
藤田 克昌	S3-4, K-2	藪田 涉二	P-10
船津 高志	P-4, P-23	山岡 禎久	P-42
古野 忠秀	P-26	山口 進康	P-12
ほ		山下 富義	P-41
堀田 耕司	P-19	山中 真人	K-2
堀 雄一郎	P-11	山中 龍	P-19, P-33
		山本 高之	S3-3
ま		よ	
前田 拓樹	P-21	横川 慧	P-26
松尾 久敬	P-42	横田 悦雄	K-4
松岡 浩司	P-4	吉岡 芳親	P-22, S4-4
松嶋 卯月	P-1, P-2	吉田 慎一	P-22
松本 泰来	P-29	吉村 真史	P-5
松本 直也	P-7		
丸山 一雄	P-31	り	
丸山 雄介	P-20	劉 暁宇	P-4
み		わ	
三浦 正幸	特別 1	若槻 壮市	S1-3
南川 丈夫	S3-3, P-36, P-42	渡邊 朋信	S3-2
三松 沙織	P-17	渡邊 裕貴	P-16
宮川 拓也	P-14		
宮地 亮昌	P-30		

C

Christian Depeursinge S3-5

D

Daniel Citterio P-19

Dhermentra Tiwari

J

Johan Unga P-31

Jörg Kudla P-10

K

Kenneth H. L. Ho S1-4

M

Maria Drerup P-10

N

Nicholas Smith S3-4

Nicolas Pavillon S3-4, S3-5

P

Pascal Jourdain S3-5

Pierre Marquet S3-5

Y

Yann Cotte S3-5

■ 総会資料 ■

2014 年度 日本バイオイメーjing学会

総会資料

2014 年 9 月 6 日
日本バイオイメーjing学会
会長 川西 徹

会場： 大阪大学銀杏会館

議題： 2013 年度事業報告、2014 年度事業経過報告および 2015 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)

13 年度事業報告

- 1) 公開シンポジウム準備（第 22 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）13 年度申請（採択）
- 4) 会員情報の管理・更新

5) その他

14 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) 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）
- 3) 会員情報の管理・更新
- 4) その他

15 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）15 年度申請
- 4) 会員情報の管理・更新
- 5) その他

2. 財務報告（岡）

13 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

14 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

15 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）

13 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

14 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

15 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)

13 年度事業報告

- 1) 会報発行
和文誌「バイオイメーキング」第 22 巻 2 号まで発行
1 号：第 22 回学術集会のお知らせ
- 2) 集会への協力
- 3) 投稿呼びかけ、各種公募、特集記事の充実

14 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 23 巻 2 号まで発行
- 2) 和文誌「バイオイメーキング」の投稿規定の改訂
- 3) 和文誌「バイオイメーキング」の A4 サイズへの変更
- 4) 和文誌「バイオイメーキング」の J-STAGE 掲載申請準備
- 5) 集会への協力
- 6) 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
- 7) 編集・査読体制の充実、広報委員会の体制強化について

15 年度事業計画

- 1) 和文誌「バイオイメーキング」第 24 巻発行
- 2) 和文誌「バイオイメーキング」の on line 版の発行、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(寺川)

13年度事業報告

- 1) 2001年以降でBioimages Vol.21までの論文のアップロード完了

14年度事業経過報告

- 1) 2001年以降でBioimages Vol22の論文のアップロード準備中
- 2) 論文およびAbstract印刷体の廃止

15年度事業計画

- 1) 2001年以降でBioimages Vol22までの論文のアップロード完了
- 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) 編集委員の更新、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)

13年度事業報告

第22回大会日程：2013年9月14日(土)～16日(月)

会場：東京大学薬学部講堂

大会長：船津 高志(東京大学)

- ・参加費：一般(正会員：6,000円、非会員：8,000円)
大学院学生：3,000円、学部学生：0円
- ・公開講座：(科学研究費補助金(研究成果公開促進費))
「生命科学をリードするバイオイメージング
～私の研究を決定づけた1つの画像～」
 - ・参加費：(無料)
 - ・会期：2013年9月14日(土) 13:00～17:00
 - ・会場：東京大学薬学部講堂

14年度事業経過報告

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 年度事業計画

第24回大会日程：2015年9月下旬を予定

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）

8. 賞選考委員会(浜口)

13 年度事業報告

- 1) 奨励賞：桧垣 匠（東京大学）

14 年度事業経過報告

- 1) 奨励賞：来須 孝光（東京工科大学）

15 年度事業計画

- 1) 奨励賞：バイオイメージングに推薦のお願いを掲載予定

9. 研究助成選考委員会（南谷）

特になし

10. 講習会委員会（加藤 薫）

13 年度事業報告

- 1) 超解像イメージング講習会

日時：2013年9月14日

場所：東大薬学部（ライカ）、東京大学医科学研究所（ニコン）、カールツァイス社シヨウルーム（四谷）ほか

14 年度事業経過報告

- 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 年度事業計画

- 1) 未定

11. 国際交流委員会（鈴木）

13 年度事業報告

1) 特になし

14 年度事業経過報告

1) 特になし

15 年度事業計画

1) 特になし

1 2. 新技術情報委員会（小島 清嗣）

13 年度事業報告

1) 特になし

14 年度事業経過報告

1) 特になし

15 年度事業計画

1) 特になし

1 3. 男女共同参画委員会（洲崎）

13 年度事業報告

- 1) 男女共同参画学協会連絡会 11 期運営委員会に出席
- 2) 内閣府チャレンジキャンペーン～女子学生・生徒の理工系分野への選択～ 共催団体として参加
- 3) 第 22 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 8-10 日)、協賛及びポスター参加

14 年度事業経過報告

- 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予定

15 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24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

2014年度の各委員会：名簿

○：委員長、Editor-in-Chief

☆：副編集長

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、小島 正樹、佐藤 洋一、
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、古野 忠秀
7. 編 集 : 大幡 久之、☆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、山本 健二
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、山本 健二

アドバイザー : A. Wheatley, J. Girkin, F. Maxfield, R. Hoffmann, N. Demareux, 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、久米 俊浩、後藤 英一、米谷信彦
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（2014. 12. 31まで）

新井 孝夫、池水 信二、大塩 力、太田 善浩、岡 浩太郎、加藤 薫、加藤 晃一、加藤 有介、川西 徹、菊地 和也、木原 裕、楠見 明弘、朽津 和幸、久米 俊浩、小島 清嗣、小島 正樹、後藤 英一、櫻井 孝司、佐藤 洋一、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、冨田 光子、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、船津 高志、古野 忠秀、南谷 晴之、山本 健二、宮川 拓也、米谷 信彦

2) 監 事（2名：2014. 12. 31まで）

大幡 久之、山本 健二

3) 理 事（16名：4年任期、2年毎半数改選、評議員により互選）

2014. 12. 31まで

川西 徹、木原 裕、朽津 和幸、佐藤 洋一、洲崎 悦子、鈴木 和男、高松 哲郎、寺川 進

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

4) 特任理事（2年任期）

2014. 12. 31まで

新井 孝夫、大塩 力、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：2014. 12. 31まで： 川西 徹

副 会 長：2014. 12. 31まで： 浜口 幸久、船津 高志

庶務担当理事：2014. 12. 31まで： 船津 高志

財務担当理事：2014. 12. 31まで： 岡 浩太郎

2. 名誉会員（非役員）

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

2013年度決算書（2013年1月1日～2013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

<u>収入</u>	
2012年より繰越	6,400,425
利息	211
会費	1,099,000
22回学術集会余剰金	1,041,307
懇親会費	54,000
収入計	8,594,943

<u>支出</u>	
印刷費	405,753
ジャパンメディカル英文校正	13,826
郵便・通信費	82,630
謝金・人件費	75,460
男女共同参画	5,000
奨励賞	100,000
会議費	119,144
振込手数料	3,150
22回学術集会準備金	300,000
会費払戻	20,000
雑費	57,470
小計	1,182,433
2014年度へ繰越	7,412,510
支出計	8,594,943

監査 2014年 4 月 15 日

監事 山本 健二 印

監事 大幡 久之 印

2015年度予算案（2015年1月1日～2015年12月31日）

<u>収入</u>		<u>支出</u>	
繰り越し	7,412,510	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	150,000
		英文校閲費	80,000
		会議費	100,000
		通信・郵送費	100,000
		奨励賞・研究助成	100,000
		男女共同参画	90,000
		学術集会準備金	300,000
		雑費	80,000
		予備費	6,842,510
<hr/>		<hr/>	
収入計	8,542,510	支出計	8,542,510

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
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

会費納入のお願い

日本バイオイメーjing学会学会費の納入をお願いいたします。

すみやかな納入をお願いいたします。

正会員： 5,000円

学生会員： 2,000円

団体会員： 10,000円(図書館対象)

賛助会員：一口100,000円

評議員会費 8,000円

会費振込先：郵便振替：00130-3-73565

日本バイオイメーjing学会事務局

学会のホームページは以下の通りです。ご利用ください。

<http://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jing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jing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jing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jing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jing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jing学と本学会の発展に大いに貢献した個人で、評議員会の認めた者
- 第7条 会員になろうとする者は、会費を添えて入会申込書を提出し、理事会の承認を受けなければならない。
- 第8条 会員は、この学会が刊行する機関誌および図書の優先的配布を受けることができる。
- 第9条 会員は、次の事由によって資格を喪失する。
- 1 退会

- 2 禁治産および準禁治産の宣告
- 3 死亡、失踪宣告
- 4 除名

第10条 会員で退会しようとする者は、理由を付して退会届を提出しなければならない。

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

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

第12条 既納の会費は、いかなる理由があってもこれを返還しない。

第4章 役員、評議員および職員

第13条 この学会には、次の役員をおく。

理事 12名以上16名以内（うち会長1名、副会長2名）

特任理事 6名以内

監事 2名

評議員 全会員の10%程度

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

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

第15条 1 会長はこの学会の業務を総理し、この学会を代表する。

2 副会長は会長を補佐し、会長に事故ある時は会長業務を代行する。

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

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

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

2 常務理事は常務理事会を組織し、必要な事項について協議し、理事会に諮る。

3 特任理事は、理事会の決定事項に基づき、特定の重要事項を担当する。

第17条 監事は民法第59条の職務を行う。

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

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

2 理事の任期は4年とし、2年毎に半数を改選する。

3 特任理事の任期は2年とする。但し、再任を妨げない。

4 評議員の任期は4年とする。但し、再任を妨げない。

- 5 補欠または増員による役員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 6 役員は、その任期満了後でも後任者が就任するまでは、なお、その職務を行う。
- 7 役員は、この学会の役員としてふさわしくない行為のあった場合、または特別の事情のある場合には、その任期中であっても評議員会の議決により、会長が任を解くことができる。

第20条 役員は交通費、連絡費、日当の支給を受けることができる。

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

2 職員は、会長が任免する。

3 職員は、有給とする。

第5章 会 議

第22条 1 通常総会は、毎年1回議長が召集する。

2 臨時総会は、理事会または監事が必要と認めたとき、いつでも召集することができる。

第23条 会長は、会員現在数の5分の1以上から会議に付議すべき事項を示して総会の召集を請求された場合には、その請求のあった日から20日以内に臨時総会を召集しなければならない。

第24条 通常総会の議長は、会長とし、臨時総会の議長は会議のつど会員の互選で定める。

第25条 総会の召集は、少なくとも10日以前に、その会議に付議すべき事項、日時および場所を記載した書面または会誌の公告をもって通知する。

第26条 次の事項は、通常総会に提出してその承認を受けなければならない。

- 1 事業計画および収支予算についての事項
- 2 事業報告および収支決算についての事項
- 3 財産目録
- 4 その他理事会において必要と認めた事項

第27条 総会は、会員現在数の5分の1以上出席しなければ、その議事を開き議決をすることができない。ただし、当該議事につき書面をもってあらかじめ意志表示した者は、出席者とみなす。

第28条 総会の議事はこの定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席者の過半数をもって決し、可否同数の時は、議長の決するところによる。

第29条 総会の議事の要項および議決した事項は、会員に通知する。

第30条 1 評議員会は随時会長が召集する。

2 評議員会の議長は、会長がこれに当たる。

第31条 評議員会は評議員数現在数の5分の1以上出席しなければ議事を議決することができない。

第32条 評議員会は、この定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席者の過半数をもって決し、可否同数のときは議長の決するところによる。

第33条 理事会は、毎年2回会長が召集する。ただし、会長が必要と認めた場合、または、理事現在数の3分の1以上から会議の目的たる事情を示して請求のあったときには、会長は臨時理事会を召集しなければならない。

第34条 1 理事会は理事現在数の3分の2以上出席しなければ議事を開き議決することができない。ただし、当該議事につき書面をもってあらかじめ意志を表示したものは、出席者とみなす。

2 理事会の議事は、この定款に別段の定めがある場合を除くほか、出席理事の過半数をもって決し、可否同数のときは、議長の決するところによる。

3 特任理事は理事会には参考人として出席できる。

第35条 総会、評議員会および理事会の議事録は、議長が作成し、議長および出席者代表2名以上が署名押印の上、これを保存する。

第6章 資産および会計

第36条 この学会の資産は、次のとおりとする。

1 この学会設立当初画像解析シンポジウムから継承した別紙財産目記載の財産

2 会費

3 事業に伴う収入

4 資産から生じる果実

5 寄付金品

6 その他の収入

第37条 1 この学会の資産を分けて、基本財産および運用財産の2種とする。

2 基本財産は、別紙財産目録のうち、基本財産の部に記載する資産および将来基本財産に編入される資産で構成する。

3 運用財産は、基本財産以外の資産とする。

4 寄付金品であって、寄付者の指定のあるものは、その指定にしたがう。

第38条 この学会の基本財産のうち現金は、理事会の決定によって定期郵便貯金とするか、もしくは定期預金として、会長が保管する。

第39条 基本財産は、処分し、または担保に供してはならない。ただし、この学会の事業遂行上やむを得ない理由があるときは、評議員会および総会の議決を経、その一部に限り処分し、または担保の供することができる。

第40条 この学会の事業遂行に要する費用は、会費、事業に伴う収入および資産から生ずる果実等の運用をもって支弁する。

第41条 学会の事業計画およびこれに伴う収支予算は、評議員会で議決しなければならない。

第42条 1 この学会の収支決算は、毎回、財産目録、事業報告書および会員の移動状況書とともに監事の意見をつけ、評議員会および総会の承認を受けなければならない。

2 この学会の収支決算に剰余金があるときには、評議員会の議決および総会の承認を受けて、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jing学会定款48条の1により、定めたものである。
2. 本学会の事務所を、庶務担当理事の勤務先（〒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10,000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10100,000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。

◆ 研究集会助成 ◆

本学術集会の開催に当たり下記の機関・財団より補助金・助成金の援助を頂きました。
ここに厚く御礼申し上げます。



平成 26 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）
（研究成果公開促進費）



公益財団法人サントリー生命科学財団
研究集会助成制度



◆ 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 26 年 7 月 25 日現在

アクティブレイ・サイエンティフィック株式会社

株式会社アズバイオ

株式会社アルゴ

アンドール・テクノロジーPLC

合同会社 A-CLIP 研究所

大阪薬研株式会社

片山化学工業株式会社

コヒレント・ジャパン株式会社

JPK Instruments AG

株式会社島津製作所

スペクトラ・フィジックス株式会社

株式会社生体分子計測研究所

ソーラボジャパン株式会社

株式会社デジモ

株式会社同仁化学研究所

株式会社日本レーザー

株式会社日本ローパー

浜松ホトニクス株式会社

八洲薬品株式会社

ライカマイクロシステムズ株式会社

和研薬株式会社

※50 音順、敬称略

バイオイメージング 第23巻第2号

平成26年7月25日発行

発行所：日本バイオイメージング学会

〒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/>

第 23 回日本バイオイメーキング学会学術集会 講演要旨集

広告掲載社 一覧

表 4	コヒレント・ジャパン株式会社
表 2	ライカマイクロシステムズ株式会社
表 3	ソーラボジャパン株式会社
後付	アクティブレイ・サイエンティフィック株式会社
	株式会社アズバイオ
	株式会社アルゴ
	アンドール・テクノロジーPLC
	合同会社 A-CLIP 研究所
	大阪薬研株式会社
	片山化学工業株式会社
	JPK Instruments AG
	株式会社島津製作所
	スペクトラ・フィジックス株式会社
	株式会社生体分子計測研究所
	株式会社デジモ
	株式会社同仁化学研究所
	株式会社日本レーザー
	株式会社日本ローパー
	浜松ホトニクス株式会社
	八洲薬品株式会社
	和研薬株式会社

※順不同、敬称略

試薬と環境の未来を拓く

Leading the Way into Future

— 試薬・理化学機器の販売から収集 ~ 運搬 ~ 処分まで —

バイオサイエンス、ライフサイエンス、ファインケミカル、そしてメディカルの各分野に至るまで、
国内外の優れた試薬を調査・手配・輸入し、お客様にお届けします。
また、不要となった試薬・薬品の収集・運搬・処分についても承っております。

試薬・理化学機器・分析の販売
設備の設計・制作・施工

廃液・廃試薬の処理

試薬

環境



試薬と環境の未来を拓く
大阪薬研株式会社

URL: <http://www.yakken.co.jp/>

【本 社】 〒562-0015 大阪府箕面市稲5丁目13-10
TEL : 072-726-1151 FAX : 072-726-1154

受注専用E-mail : oyk@yakken.co.jp

ICG をタンパク質に標識

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

ICG Labeling Kit - NH₂

1. *in vivo* イメージングに適している
2. 50~200 µgのタンパク質に簡単標識することができる
3. 分子量50,000以上のタンパク質に標識できる

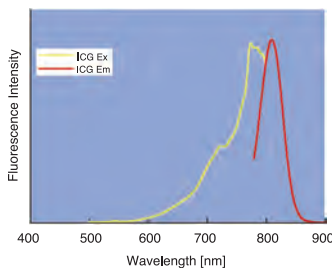
小社 HP で ICG と検索!

ICG

検索



蛍光特性



標識反応



製品に関するお問い合わせは下記までどうぞ。

URL: <http://www.dojindo.co.jp/> E-mail: info@dojindo.co.jp / Freedial: 0120-489548 Freefax: 0120-021557

株式会社 同仁化学研究所

熊本県上益城郡益城町田原2025-5 熊本テクノリサーチパーク 〒861-2202
TEL.096-286-1515(代表) FAX.096-286-1525

ドージン・イースト (東京)

東京都港区芝大門2-1-17 朝川ビル7F 〒105-0012
TEL.03-3578-9651(代表) FAX.03-3578-9650

YASHIMA

PURE CHEMICALS CO.,LTD.

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



脳波で集中とリラックスを
数値化したいなら八洲



研究用試薬・消耗品
機器の事なら八洲

本 社	〒567-0085 茨木市彩都あさぎ7-7-18 彩都バイオヒルズセンター	TEL 072-640-1260
	Email: h-order@yashimachem.co.jp	FAX 072-640-1271
堺 営 業 所	〒592-8333 堺市西区浜寺石津町西1-4-20	TEL 072-244-1368
	Email: s-order@yashimachem.co.jp	FAX 072-244-4055
京 阪 奈 営 業 所	〒574-0057 大東市新田西町3-10	TEL 072-870-2711
	Email: k-order@yashimachem.co.jp	FAX 072-870-2710
和 歌 山 営 業 所	〒640-8303 和歌山市鳴神746-3	TEL 073-473-5951
	Email: w-order@yashimachem.co.jp	FAX 073-474-0453
神 戸 営 業 所	〒650-0047 神戸市中央区港島南町1-5-2	TEL 078-306-1739
	Email: kb-order@yashimachem.co.jp	FAX 078-306-1751
京 都 営 業 所	〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町134番地 KRP2号館5F	TEL 075-325-1122
	Email: kt-order@yashimachem.co.jp	FAX 075-323-2008

試験研究用試薬・機器・消耗品
臨床診断薬・機器 化成製品

八洲薬品株式会社

研究機器の検索サイト「研究機器オンライン」

和研薬の研究機器オンラインが、検索しやすくなって新登場！！

研究用途に
合わせた検索も
ラクラク！



リニューアル
予算申請の
金額に合わせた
検索もラクラク！

特長

- 予算申請に便利 → 指定範囲の金額で検索が可能に！
- 研究用途から機器検索 → 細胞解析・有機合成・タンパク質解析などのカテゴリ検索
- あのメーカーのあの機器を → フリーワード検索やメーカー別索引も可能！
- 製品情報の充実 → 各製品の仕様表が詳細になりました！

和研薬の **NEW** 研究機器オンラインは、
PC、スマートフォンやタブレット端末からアクセス！

URL <http://www.wakenyaku.co.jp/ctg/>



和研薬 研究機器

確かな技術と自由な発想 新しい研究スタイルを提案します

Certain technology and free conceptionIt proposes a new approach for research.

A-CLIP研究所は炎症性疾患と感染症研究に向けた
研究開発と研究支援を行っています

業務内容

- 研究支援
炎症関連、感染症関連
- ANCA 簡易測定キット
- インフルエンザ簡易キット
- マルチサイトカイン測定
- HLA タイピング

研究支援の委託は—

RealTime PCR, ELISA . . .

サイトカイン・ケモカイン マルチ測定

15μlの血清で多項目を同時に！



A-CLIP 合同会社 A-CLIP研究所

所長 鈴木和男

<http://www.a-clip.jp>

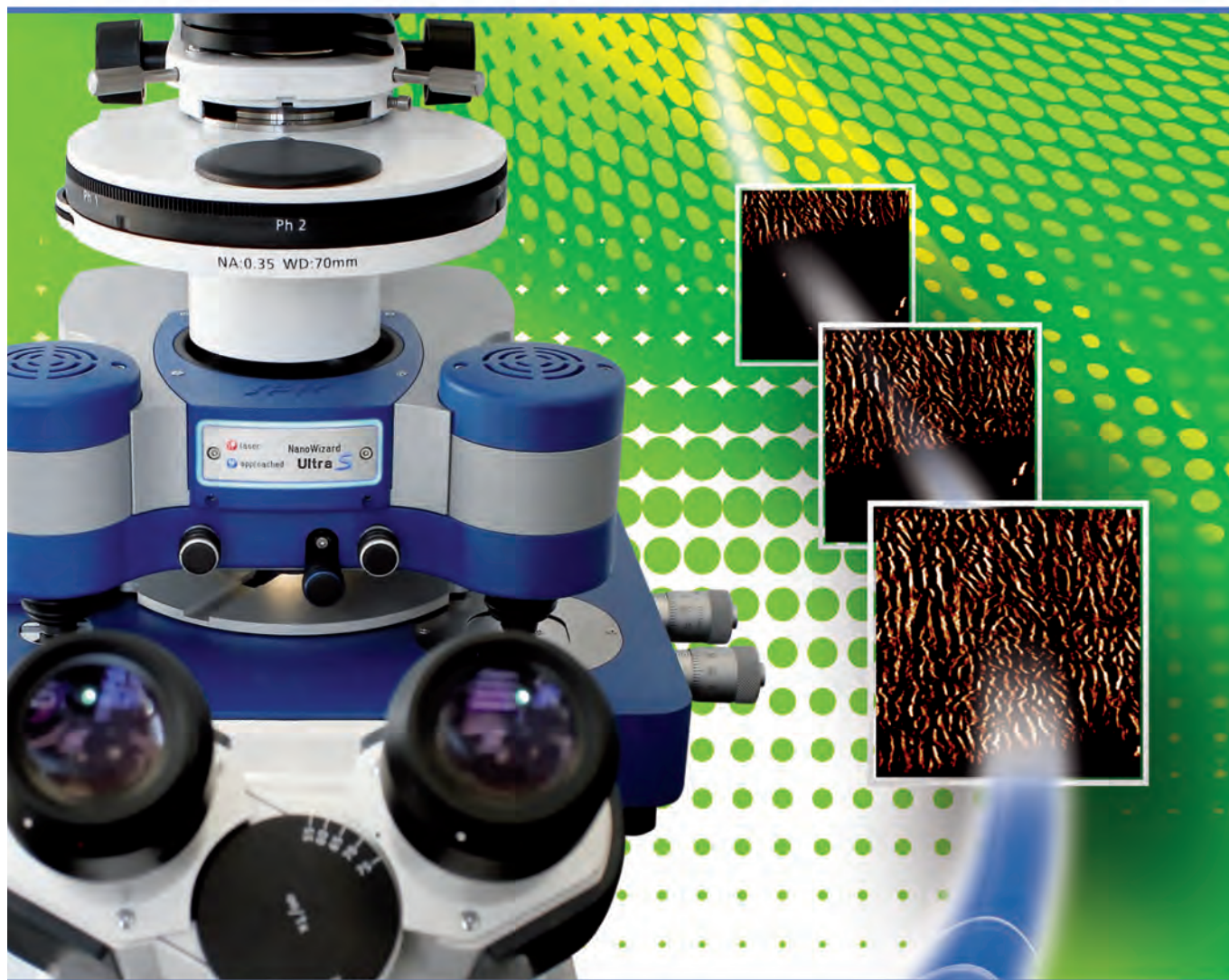
office@a-clip.jp

本社研究所 〒260-0856 千葉県千葉市中央区亥鼻一丁目 8 番 15 号
千葉大亥鼻キャンパス内 千葉大亥鼻イノベーションプラザ
TEL 043-221-0831 FAX 043-221-0832

広島営業所 〒730-0012 広島市中区上八丁堀 7-1
TEL 082-222-9381 FAX 082-222-9382

NanoWizard® ULTRA Speed AFM

バイオAFMのパイオニアが提供する倒立顕微鏡搭載型
高速スキャン・超高分解能AFM



- ラインレート100Hz以上の高速高分解能スキャンが
大気中・液中ともに可能
- 精密な光学像・AFM像位置合わせを行うDirect Overlay™
モード
- 低ノイズスキャナ、位置センサおよび検出システムにより
実現したクローズドループモードでの原子分解能
- 幅広い測定モードとアクセサリを網羅し最高の柔軟性と
機能拡張能力を提供
- 定量特性マッピングQI™モード搭載

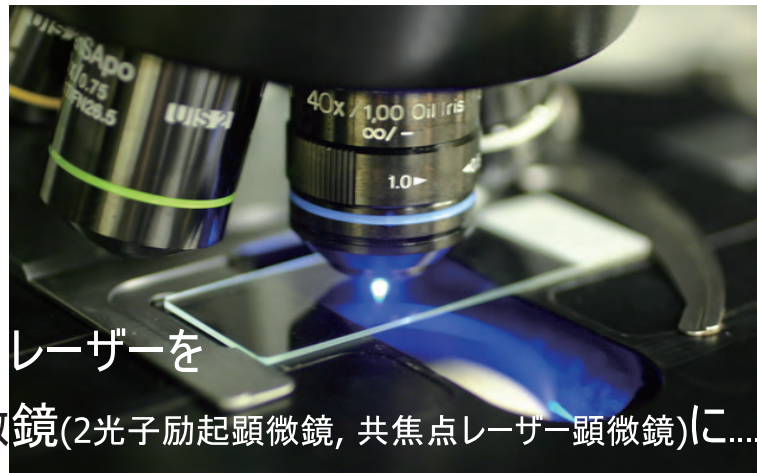
japan.jpk.com | [email: sales.japan@jpk.com](mailto:sales.japan@jpk.com)

JPK
Instruments

Nanotechnology for Life Science

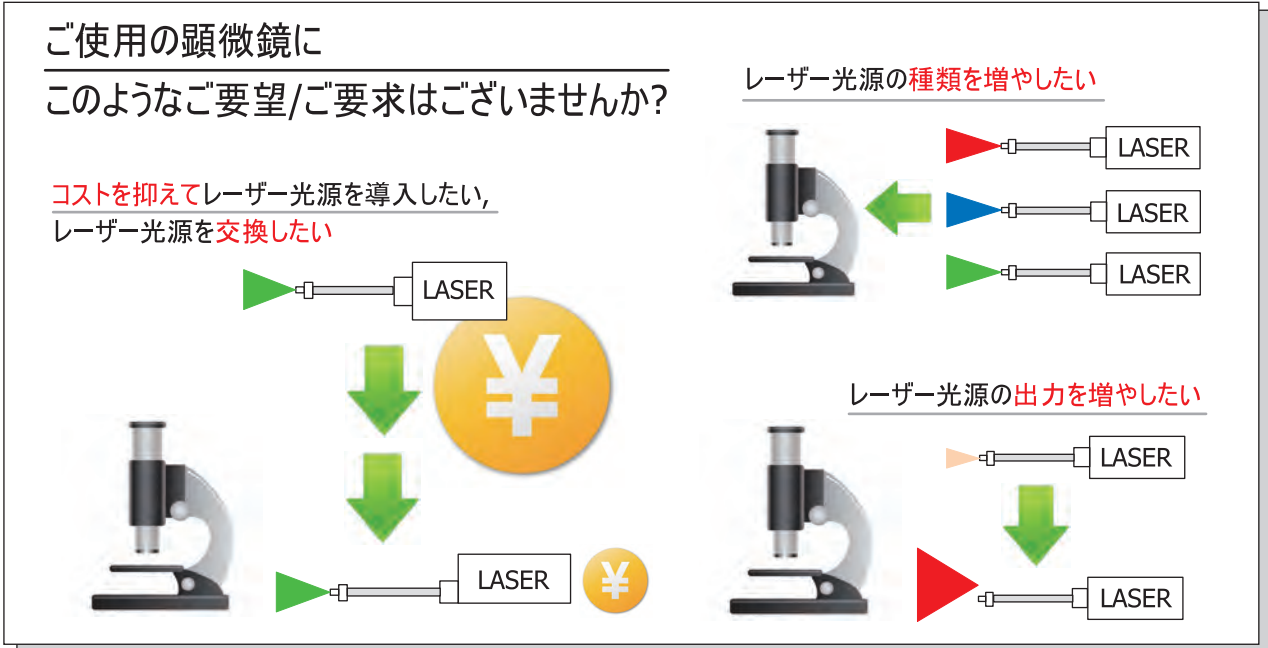
JPK Instruments AG日本支店
〒101-0032
東京都千代田区岩本町3-9-15
フォロス岩本町ビル4階
TEL : 03-5829-4777 | FAX : 03-5829-4778





ファイバー付きレーザーをご使用の顕微鏡(2光子励起顕微鏡, 共焦点レーザー顕微鏡)に....

レーザー光源の置き換えをご提案差し上げます



「製品の価格およびレーザー光源の適合については....」

以下の仕様をお知らせください、価格をご案内いたします

- 波長(nm), 必要なファイバー先端からの出力 (mW, W)
- ファイバーの種類(シングルモード, マルチモードまたは偏波保持(PM:polarization-maintaining fiber)ファイバー)
- ファイバー先端のコネクタ形状/種類(FC/PC, FC/APC, SMAほか)
- そのほかに必要な特別な仕様(Raman, シングル縦モードなど)

Email: info@activeray-sci.com またはお電話 (03-5843-7913) でお問い合わせください

そのほか、通常のレーザー(ファイバー結合ではないレーザー)も各種ご用意しております



創造と未来へ。

研究の基礎から応用まで

We will provide thorough support to researchers aiming to achieve new advancements in biotechnologies.

Az

お客様の喜びを一番に考える
アズバイオの研究開発支援サービス

バイオテクノロジーが世界中で目覚ましい進歩を遂げる中、アズバイオは、研究における技術開発とその未来を担うお客様に向けた研究支援サービスを行っています。取り扱いメーカー様は3000社以上にのぼり、一般試薬の販売から最新機器の販売やリースの仲介までを幅広くカバーし、バイオテクノロジー研究の最前線を支え続けています。今後もお客様の喜びを一番に考えるとともに、最新の研究分野における継続的な情報提供に努めてまいります。

< 取扱分野 >

- | | | |
|----------------|------------|---------------|
| ▶細胞培養関連機器及び試薬 | ▶分析機器 | ▶実験機器 |
| ▶一般試薬 | ▶画像関連機器 | ▶糖鎖・蛋白・核酸関連機器 |
| ▶分子生物学関連機器及び試薬 | ▶光学機器 | ▶設備機器 |
| | ▶病理・形態関連機器 | ▶各種受託サービス |

ニーズをサポートする3つのテーマ

- 1 幅広い取り扱い製品
幅広いバイオ関連商品を取り揃え細かく答えること
- 2 最先端の情報提供
ハードウェア、ソフトウェアなど最先端の情報を提供すること
- 3 迅速な対応
基礎から応用研究まであらゆる分野で迅速に対応すること



バイオサイエンスのベーシックから最先端まで。

株式会社アズバイオ

大阪
本社

住所: 〒530-0043 大阪市北区天満3-5-8

TEL: 06-6351-5351 FAX: 06-6351-5352 E-mail: osaka@azbio.co.jp

東京
営業所

住所: 〒113-0031 東京都文京区根津1丁目1-19根津宮本ビル5F

TEL: 03-5685-4500 FAX: 03-5685-4501 E-mail: tokyo@azbio.co.jp

超低ノイズ・微弱光検出用EMCCDカメラ

最も高い
EMゲイン 最大 **5000** 倍

非常に低い読み出しノイズにより
高EMゲインを達成し今まで検出でき
なかった微弱フォトンの測定が可能

最も低い
背景ノイズ **0.001** e⁻/pixel/秒

高いEMゲインにおいても非常に低い
CICを達成し世界最高峰の検出力を実現
した背面入射式のEMCCDカメラです

最上級の
フォトンカウンティング効率 **91%**

HNuカメラはフォトンカウンティング
モードにおいて十分な感度効果を発揮
できる唯一のEMCCDカメラです



HNu シリーズ

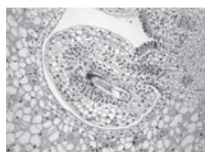
- 解像度 128x128、512x512、1024x1024 の3モデル ● 検出波長域 250-1100nm
- 16ビットイメージ & 90%以上の高量子効率 ● ピニングやROIによる高速読み出し
- 標準レンズマウント：Cマウント ● ビューワソフトウェア & SDK付属 ● CameraLink出力 or GigE出力

nivu
cameras

ライブセル観察向けUSB 3.0カメラ



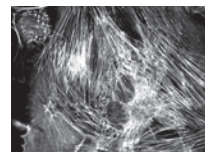
Lumenera
corporation



Liliun Brownii Ovary



Live Zebra Fish



BPAE Fixed Cell

280 万画素 @ **53** fps 高い色再現性での
リアルタイムな観察を実現

INFINITY3-3 UR

- USB3.0 接続 ● 2/3 インチ CCD、Sony ICX674 搭載
- 高感度、高ダイナミックレンジ ● 低暗電流、低読み出しノイズ
- 128MBのフレームバッファ搭載で安定した出力 ● 高量子効率
- TWIN ドライバー対応 ● Windows、Mac 対応
- 主要な顕微鏡用ソフトに対応
(Image Pro, Molecular Device, Micro-Manager, Streampix)



蛍光観察も光源が「命」 顕微鏡光源ユニット

9 波長の高輝度LED光源モジュール
高輝度で高い安定性と長寿命を実現



Heliophor

- 最大6つの光源モジュールを本体に
内蔵可能
- 高い出力パワーを実現
- 高速蛍光イメージングにも最適
- 短い露光時間での測定に対応
- 暗くなりがちな赤や緑を高出力
- コントローラやソフトウェアから
高速切り替えや同時点灯制御など
様々な制御が可能

89 NORTH

世界一小さい、 マイクロマニピュレータ

ドリフトのない制御と
電氣的ノイズのない
レコーディングが可能



SMX / SMXS シリーズ

- 7nmのステップ解像度で精密な位置決め
- ピエゾ制御によりドリフトを排除、電氣ノイズもなし
- 直角(X/Y/Z)と角度を含む4軸アプローチ
- ロータリーエンコーダー、
ジョイスティックを用いた独立制御
- ノイズ干渉ゼロのレコーディングモード
- 反転 | スライド | 回転メカニズム、
プラグ & プレイ制御
- 最大14台のマニピュレータを1コントローラーで
対応可能

SENSAPEX

ARGO 株式会社アルゴ

〒564-0063 大阪府吹田市江坂町1丁目13-48

TEL: 06-6339-3366 FAX: 06-6339-3365

URL: www.argocorp.com Mail: argo@argocorp.com



ANDOR
an Oxford Instruments company

iXon Ultra 888 **NEW!**

World's Fastest Megapixel
Back-illuminated EMCCD

Features include:

Largest Field of View EMCCD

3x Faster

1 Megapixel

13 μm pixel size

Single Photon Sensitive

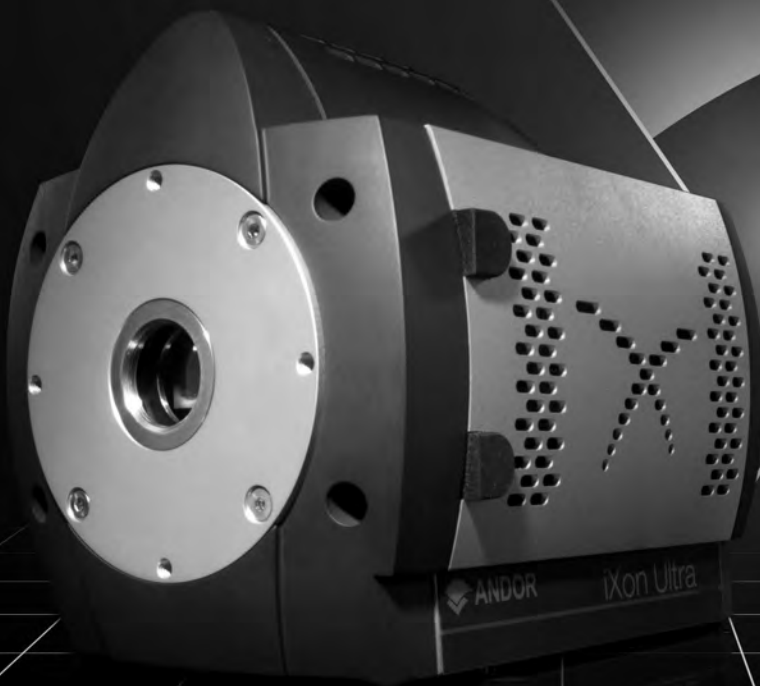
> 90% QE

30 MHz

26 fps full frame

93 fps @ 512 x 512

USB 3.0



アンドール・テクノロジーLtd

東京オフィス
〒101-0064
東京都千代田区猿樂町2-7-6
TK猿樂町ビル4F

TEL: 03-3518-6488
FAX: 03-3518-6489

大阪オフィス
〒564-0051
大阪府吹田市豊津町11-34
第10マイダビル6F

TEL: 06-6387-0900
FAX: 06-6387-0955

より深く鮮明なイメージングを

超短パルスレーザー技術が支えるバイオイメージング

InSight DeepSee 一体型広帯域波長可変フェムト秒レーザー

- 波長可変領域 680~1300nm
- 超短パルス幅及び高ピークパワー
- DeepSee搭載によりサンプル上での超短パルスを実現
- 多光子イメージングに最適化された高ビーム品質
- 全コンピューター制御ターンキーシステム
- 2波長同時発振オプションによるCARS及びマルチモードイメージング



HighQ-2 低価格、高出力、超コンパクト フェムト秒レーザー

- 多光子顕微鏡 (YFP、RFP / SHG、THG) に最適
- 222 (W) x 204 (L) x 101 (H) mmの超コンパクトレーザーヘッドサイズ
- 1.5W@ 1045nm±8nm、63MHzの高出力
- 空冷タイプ
- 自動ミラークリーニング技術により高い出力安定性

 Spectra-Physics®
A Newport Company

製品情報・お問い合わせは <http://www.spectra-physics.jp>

スペクトラ・フィジックス株式会社

本社 〒153-0061 東京都目黒区中目黒4-6-1 HF中目黒ビルディング TEL(03)3794-5511 FAX(03)3794-5510
大阪支社 〒550-0005 大阪府大阪市西区西本町3-1-43 西本町ソーラービル TEL(06)4390-6770 FAX(06)4390-2760

新製品

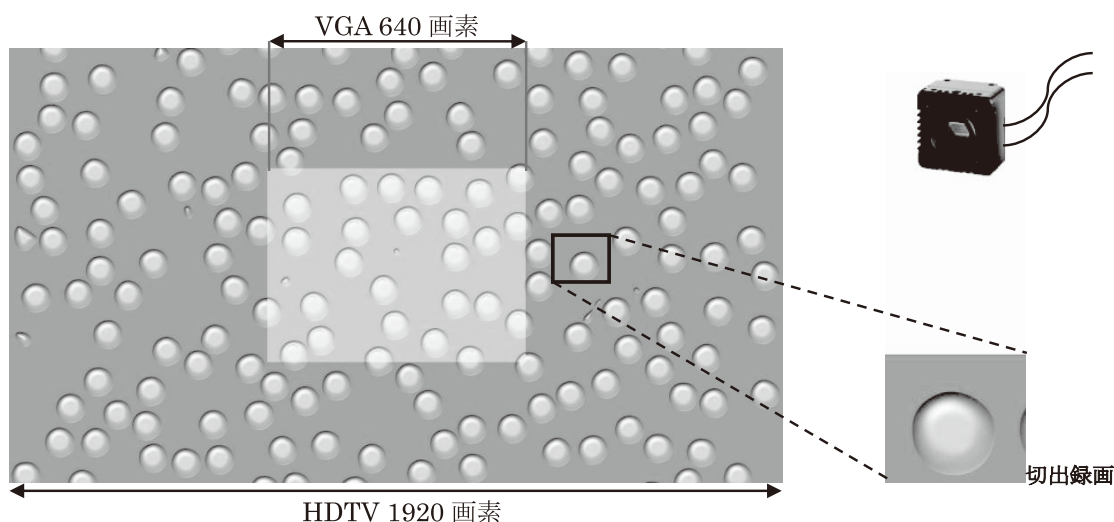
DigiMo

生物物理分野の挙動解析録画に

デジモの全録ハイスピードカメラ LRH2510 1920 画素 ×1080 画素

HDTVラボレコーダー22

- ①広い視野から指定領域のみ切り出し録画ができます。
- ②転送不要で待ち時間無し、だから次々連続録画ができます。
- ③HDD直接書込み、だからリアルタイム画像解析ができます。
- ④センサーデータとの同期ロギング録画ができます。(オプション)
- ⑤16TB ディスクへ長時間録画(非圧縮)ができます。(MAX. 48TB)



仕様

高速カメラ	VCC-HDTVカメラヘッド		撮影速度と解像度と録画時間		
	加減光ノズル長	カラーorモノクロ	フレームレートfps (コマ/秒)	解像度 (画素)	録画時間 16TB
LRH2510	レンズマウント	5m(Max10m) Cマウント	100fps	2048×1080(HDTV)	15時間
	CMOSサイズ	2/3インチ 222万画素 11.26×5.98mm	150fps	2048×1080(HDTV)	10時間
	スキャン方式	プログレッシブスキャン	200fps	1920×1080(HDTV)	8時間
	有効画素数	2048×1088	250fps	1920×1080(HDTV)	6時間
	フレームレート	5fps~2500fps,(微速度撮影0.5秒の倍数に1コマ)	300fps	1920×1080(HDTV)	5時間
	シャッター速度	OPEN~1/100000	500fps	1280×720(HDTV)	7時間
	出力	デジタル	700fps	800×444	12時間
	録画	RAIDハードディスクシステム	840fps	672×374	18時間
	ファイル形式	非圧縮(独自形式)	1000fps	512×284	21時間
	録画モニター	コントローラモニター内にWindow表示	2000fps	224×124	48時間
	転送方式	CameraLink Full	2500fps	128×60	108時間
	動作温度	+5℃~+50℃	(ROI設定領域録画機能)		
	寸法	H50mm×W50mm×D42mm	録画領域を1/10に設定の場合、録画時間は10倍になります。		
	重量	140g			
電源	10.8~13.2VDC (12V AC/DC電源コンバーター附属)				
コントローラ	RAM	4GB			
	HD	16TB RAID 0			
	21.5" TFTモニター	1台(フルHD1920×1080)			
	OS	Windows 7			
オプション	センサー入力端子	16ch,100KHz,16bitA/D, ±10V±5V±2.5V±1.25V			

株式会社 デジモ <http://www.e-image.co.jp> E-mail: digimo@e-image.co.jp

〒162-0843

東京都新宿区市ヶ谷田町 2-7

TEL 03-5227-3701

FAX 03-5227-3707

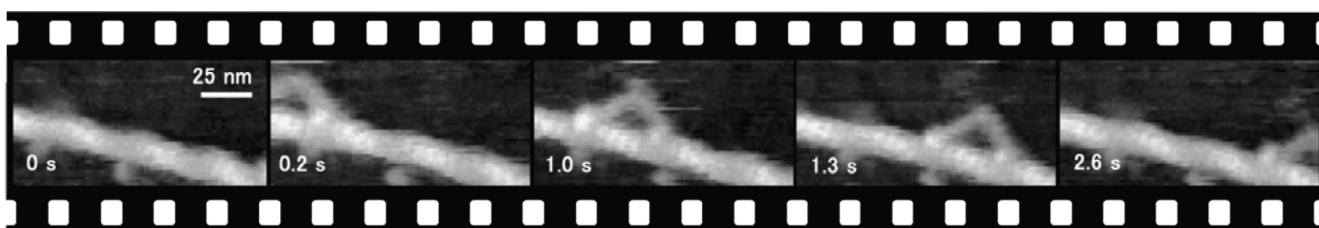
高速原子間力顕微鏡システム

NANOEXPLORER

ナノスケールの世界を「直接」観る唯一の「動画」AFM

従来型 AFM の最大の欠点である「走査速度の遅さ」を克服したことで、溶液中でしか起こり得ない反応や構造変化のリアルタイム観察を実現しました。

短時間で画像取得ができるため、試料の揺らぎや振動に強く、基板への強固なアンカリングが不要となります。このため、生体試料等の反応性を損なうことなく観察することができます。



アクチンフィラメントに沿って「歩く」ミオシン V. N. Kodera *et al.* *Nature* 468, 72 (2010). 金沢大学

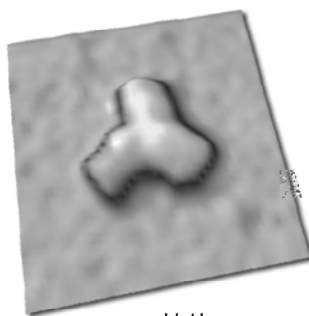
応用が期待されるアプリケーション

● ライフサイエンス分野

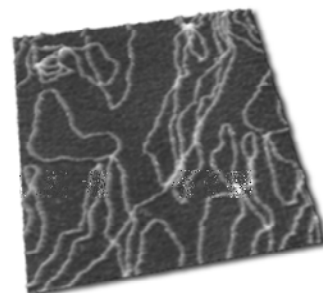
モータータンパク質、酵素反応、抗原抗体反応、
DDS、DNA/RNA オリガミ、細菌、ウイルス、etc.

● ナノテクノロジー分野

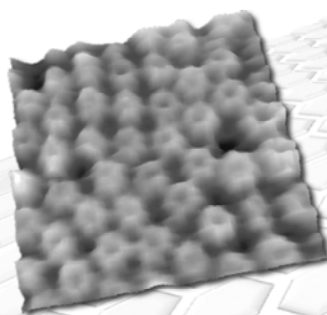
半導体材料、ナノ粒子、高分子ポリマー、
燃料電池材料 etc.



IgG 抗体
50nm × 50nm



プラスミド DNA
250nm × 250nm



GroEL (シャペロニン)
90nm × 90nm



大腸菌
3000nm × 3000nm



RIBM

株式会社 生体分子計測研究所

Research Institute of Biomolecule Metrology Co., Ltd

〒305-0853 茨城県つくば市榎戸 807-133

TEL : 029-839-4611 FAX : 029-839-4612

URL : <http://www.ribm.co.jp> E-mail : insts-sales@ribm.co.jp

可搬型 OTN-NIR イメージングシステム

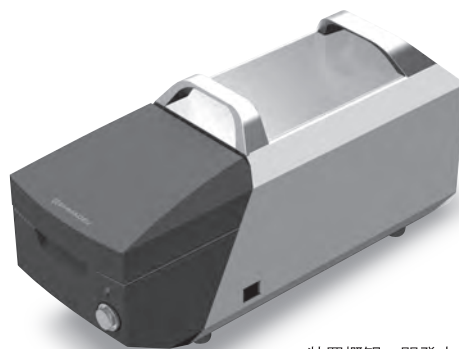
OTN-NIR (over thousand nanometer near infrared)

製品コンセプト

- 従来の蛍光イメージングを超えた高精細な画像を得ることが可能
- ユーザビリティの高い可搬性を実現

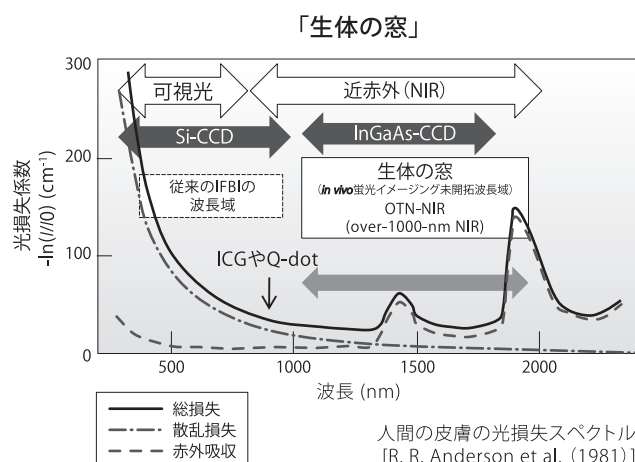
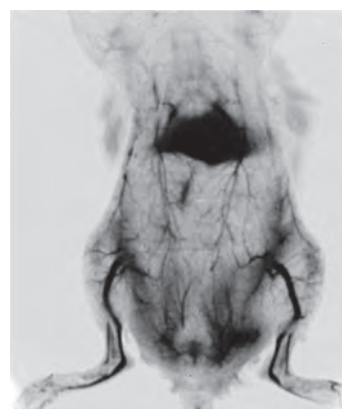
装置特徴

- 冷却InGaAsカメラによるOTN-NIR蛍光イメージ
→ 1000 nm以上の長波長光を用いているため、光散乱が少ない
→ 分子振動による赤外吸収の影響を受けないため、光吸収が少ない
- 2分岐光学系による蛍光像/可視光像同時撮影



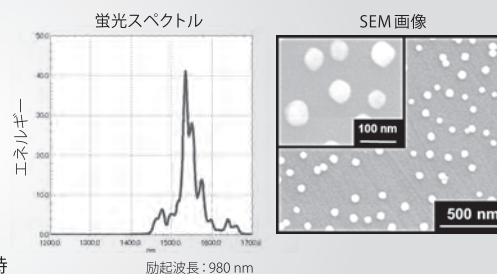
装置概観：開発中

OTN-NIRナノ粒子投与による 血管造影イメージ



OTN-NIRナノ粒子

- ナノ粒子の特徴
→ 粒子サイズの制御が可能 (30 nm ~ 数百 nm)
→ 長い蛍光寿命 / 高い励起光耐性
- 多様な表面修飾並びに表面電化の調整が可能
- *in vivo* / *in vitro* 両方の研究用途に対応
→ 組織切片 (凍結またはホルマリン固定) 観察においても蛍光特性を維持



株式会社 島津製作所 分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

片山化学工業株式会社 R&Dセンター <http://www.katayamakagaku.co.jp/>


LSM Upgrade Kit



PICOQUANT

レーザー顕微鏡用 FLIM / FCS アップグレード・キット

- ピコ秒時間分解能
- 取扱容易なレーザーダイオード
- TCSPC:時間相関単一光子計測
- 使易く最新の解析ソフトウェア
- アライメント容易な光学系

■様々なレーザー走査顕微鏡に対応:  Leica 社 TCS SP5/SP2、 ニコン社 C1/C1si/A1、

 ZEISS 社 LSM510/LSM710/LSM780  オリジナル社 FluoView FV300/FV1000/FV1000MPE



1) Sample courtesy of Sandra Orthaus, former member of Fritz Lipmann Institute, Leipzig, Germany
2) Sample courtesy of Philippe Bastiaens, Max Planck Institute of Molecular Physiology, Dortmund, Germany

アプリケーション

- バイオ・化学分野における時間分解蛍光顕微鏡測定。
- 蛍光寿命イメージング測定 (FLIM: Fluorescence Lifetime Imaging)
- フェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET: Forster Resonance Energy Transfer)
- 蛍光相関分光 (FCS: Fluorescence Correlation Spectroscopy)
- 単一分子分光測定
- 細胞パラメーターのマッピング (pH, タンパク質結合、イオン濃度、その他)

 **JLC** 株式会社 **日本レーザー**
JAPAN LASER 会社

URL: <http://www.Japanlaser.jp>

〒169-0051 東京都新宿区西早稲田 2-14-1
Tel: 03-5285-0862 E-mail: Uchida@japanlaser.co.jp

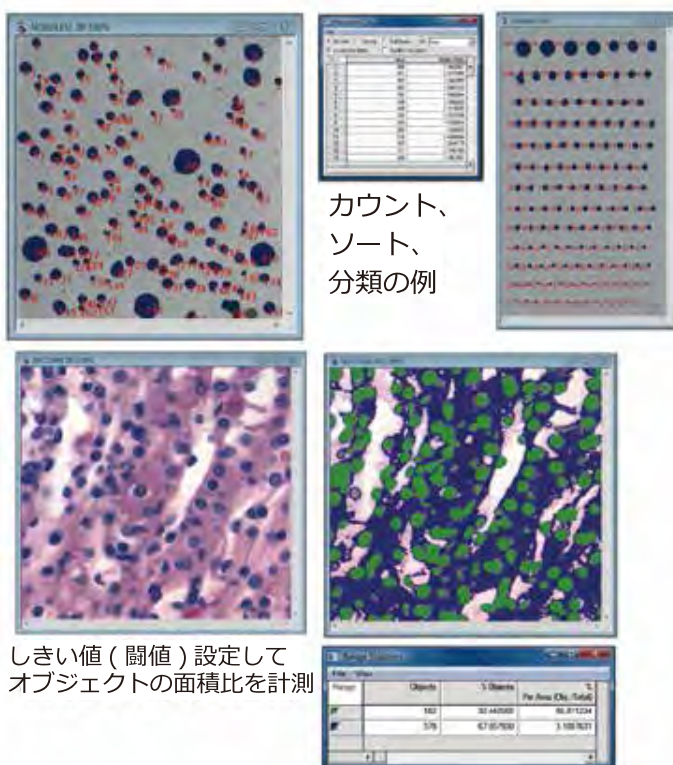
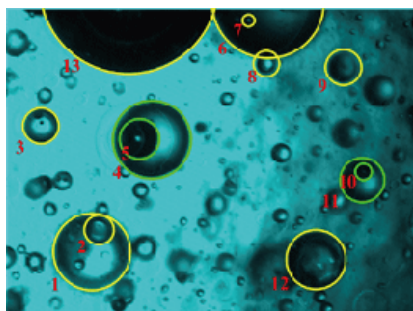
世界のベストセラード画像解析・計測ソフト Image-Pro Plus



米国 Media Cybernetics 社の画像解析の定番ソフト Image-Pro Plus。その使い易さと強力な機能により数々の賞を獲得。正に Proven Solution として、全世界で 2 万人以上の科学者・エンジニアに愛用されています。

粒子計測

顕微鏡画像の細胞や粒子を抽出し、カウント、特徴量の計測ができます。



顕微鏡用 高精細 USB カメラ

ローコスト

低ノイズ

高感度

ローパーグループ Lumenera 社の顕微鏡用のカメラ INFINITY シリーズ

低ノイズ、高感度、顕微鏡観察のアプリケーションに低コストで対応します。



株式会社 日本ローパー メディアサイバネティクス事業部
〒135-0033 東京都江東区深川 2-8-19 サクラビル 3F
TEL 03-5639-2751 FAX 03-5639-2774 www.mediacy.jp

2波長同時イメージング



イメージスプリッティング光学系

ダブルビュー

ジェミニ

W-VIEW GEMINI

有効視野 13mm×13mm

400nm~800nmにおいて
高透過率

色収差補正機構
搭載

市販の
ダイクロックミラーを使用



DIGITAL CAMERA

オルカフラッシュ

ORCA-Flash 4.0 V2

0.9 electrons

400万画素

100 フレーム/秒

33000:1

新しい情報を随時紹介

1台のカメラで2波長同時計測!

ORCA-Flash 4.0 V2は、科学計測用CMOSイメージセンサを搭載し、400万画素の高解像度でありながら、100 フレーム/秒の高速読み出しや0.9 electronsの低ノイズを実現し、好評をいただいています。このORCA-Flash 4.0 V2と組み合わせ、2波長同時イメージングを可能にしたイメージスプリッティング光学系 W-VIEW GEMINIをラインアップしました。これら新製品の情報は、弊社の顕微鏡イメージング専用Webサイトで紹介しています。



顕微鏡カメラシリーズ

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

□システム営業推進部 〒431-3196 浜松市東区常光町812 TEL (053)431-0150 FAX (053)433-8031

” 詳細情報は、Webから ”

ライフサイエンスカメラ ホトニクス

検索

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

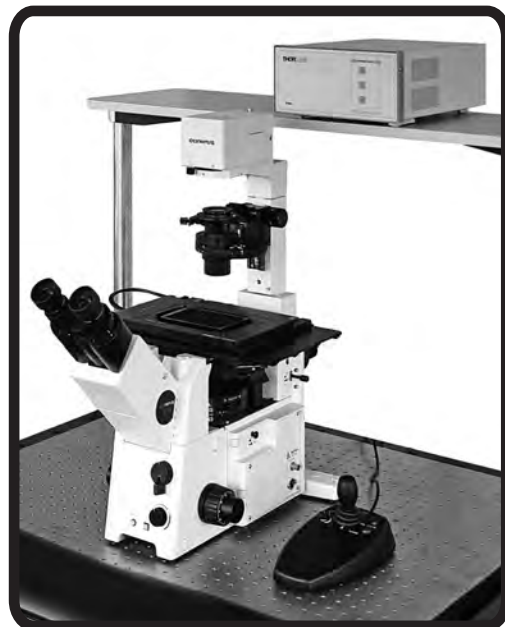
高速電動走査ステージ MLS203シリーズ 高精度・高速位置決めと静音動作の両立を実現

特長

- 光学式リニアエンコーダによる速度と位置の閉ループ制御
- 高品質、高精密な工業用リニアベアリング
- 優れた精度(0.25 μm)と正確性(<3.0 μm)
- 最高速度: 250 mm/s
- 薄型: 厚み31.0 mm
- Visual Basic、LabView、Visual C++、 $\mu\text{Manager}$ 、MetaMorphに互換性



MLS203シリーズ:
スライドガラス/ペトリ皿ホルダ(別売)
を組み合わせた構成



MLS203シリーズステージと別売りのコントローラBBD202、ジョイスティックコンソールMJC001と顕微鏡を組み合わせた構成例

MLS203-1は、広範囲にわたって高精度な位置決めが必要な用途にお勧めいたします。取付け用ブラケットの使用により、Nikon製やOlympus製の顕微鏡*、光学テーブルに容易に接続できます。また、下記のようなホルダ/プレートによって、市販の一般的なスライドガラス、マルチウェルプレート、ペトリ皿や、任意の系を位置決めすることが可能です。

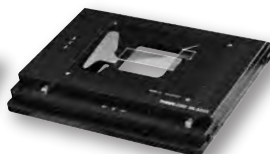
*Zeiss製顕微鏡には専用のMLS203-2をお選びください。

■ アクセサリ用ホルダ/プレート

倒立顕微鏡用
スライド/ペトリ皿ホルダ
MLS203P2



正立顕微鏡用
スライドホルダ
MLS203P8



マルチウェルプレート用アダプタ MLS203P1



ブランクアダプタープレートMLS203P3
・特注仕様や特殊用途に使用可能
・穴あけ、ネジ切り加工が容易



ブレッドボードプレートMLS203P4
・35個のミリ規格のネジ穴
・中心間隔25 mmでM6×1.0ネジ

*写真はステージMLS203やアクセサリとの組み合わせ例です。

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

E-mail: sales@thorlabs.jp

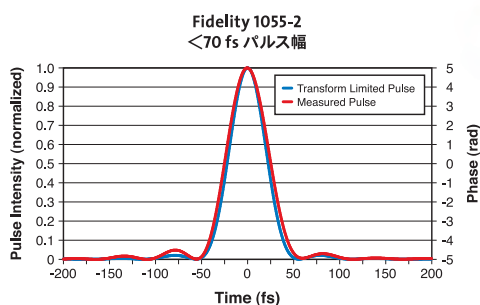
THORLABS

ソーラボジャパン株式会社

〒170-0013 東京都豊島区東池袋2-23-2 TEL: 03-5979-8889 FAX: 03-5979-7285

多光子励起イメージング用光源 高出力フェムト秒 ファイバーレーザー

Fidelity : 波長 1055 nm、平均出力 >2W、パルス幅 <70 fs



多光子励起イメージング用光源に待望のレーザーの登場です。
Fidelity 1055-2は、RFP、RCaMPでの生体組織深部イメージングに最適な波長、パワー、パルス幅、周波数分散補正を全て備えています。

Ti:Sapphireレーザーとの併用による2波長同時イメージングやオプトジェネティクスへの応用等、Fidelityは新しい手段を研究者にもたらし、タンパクの発現、細胞間相互作用、脳神経シグナル伝達など様々なテーマで不可欠なツールです。

そのコンパクトなサイズとハンズオフ構造により、既存システムへの追加が容易です。また、従来のファイバーレーザーやOPOのユーザが抱える様々な不満（パワー不足、パルス幅、波長分散）をFidelityは解決し、より高品質のデータ取得に貢献します。



COHERENT
コヒレント・ジャパン株式会社

www.coherent.co.jp

東京本社 : Tel. 03-5635-8700 Fax. 03-5635-8681

大阪支店 : Tel. 06-6350-7670 Fax. 06-6350-7671

E-mail : marcom.tokyo@coherent.com

Superior Reliability & Performance