

生物発光の多色化および同時観察による細胞イメージング法の開発

服部 満¹、蛭田 勇樹²、和沢 鉄一¹、永井 健治¹

¹大阪大学産業科学研究所

²慶應義塾大学理工学部

細胞集団内において個々の細胞を識別することは、細胞運命の追跡や希少細胞の探索など、様々な目的において重要である。顕微鏡観察などで複数の細胞を識別する際には、多くの場合、異なる波長を示す蛍光分子を用いた標識がなされる。一方で蛍光観察では、励起光と光学フィルターとの組み合わせにより個々の蛍光波長を分離するため、一般には蛍光波長ごとに観察条件を変更する必要がある。そのため、対象が多数になるほど同時観察という点で課題が生じる。

発光酵素ルシフェラーゼと発光基質との反応によって生じる生物発光は、励起光が不要であるため、この同時観察を実現する標識になり得る。近年開発された高輝度なルシフェラーゼを基盤として、我々はこれまでに Bioluminescence resonance energy transfer (BRET) の導入により生物発光色を変化させる方法を報告してきた。さらにこの手法を発展させ、新たなアクセプター蛍光タンパク質を追加することにより、発光スペクトルを多様化し、最終的に 20 色のバリエーションにまで拡張した。この高輝度な発光の特性を活かして、スマートフォンカメラなどに使用されている CMOS カラーカメラを用いた多色同時撮影を実行した。その結果、20 色の生物発光細胞を同時に観察することに成功した。また細胞の識別だけではなく、細胞内領域やスフェロイド、動物個体にいたるまで、幅広いスケールでの生物発光標識および同時観察が可能であることが示された。さらに、生物発光バイオセンサーとこの撮影方法を組み合わせることで、複数のバイオセンサーの応答を発光色の変化として同時に検出するといった、新たな観察手法を確立した。