

光学顕微鏡で生細胞の内部を観て測る

渡邊朋信

(独)理化学研究所・生命システム研究センター
大阪大学・生命機能研究科、免疫学フロンティア研究センター
(独)科学技術振興機構・さきがけ

光学顕微鏡を用いたバイオイメーキング技術は、過去十数年の生命科学に大きな貢献をもたらした。光を用いれば、細胞を生きたまま観察できるからである。光学顕微鏡技術と共に、生物研究界に貢献した技術として、蛍光蛋白質が挙げられる。蛍光蛋白質を融合させた標的蛋白質を細胞に発現させ、その局在を観察することにより、その標的蛋白質の機能を推測できる。蛋白質の機能や細胞内の状態を時間/空間的に観察されるようになり、いまや、光学顕微鏡は、生命科学において、必要不可欠なツールとなっている。

光学顕微鏡には、物理的に超えられない限界、回折限界がある。光は波であるため、その波長よりも小さく集まることができない。そのため、光学顕微鏡の空間分解能は、高々、数百ナノメートル程度である。一方で、細胞を構成する要素、例えば、蛋白質などは、数ナノメートルのスケールである。光学顕微鏡による細胞内部の観察とは、数百ナノメートルの空間分解能しかない計測方法で、それよりも小さなスケールの現象を観察することである。一見不可能にも思える、このジレンマを克服したのが、1分子ナノ計測技術と超解像技術である。1分子ナノ計測は、異なる二点は数百ナノメートル離れていなければ分解できないが、ある一点の位置であれば、数ナノメートルの精度で計測できる原理に基づく¹。また、超解像技術は、超えられないはずの回折限界を超えた二点分解能を達成し、光学顕微鏡はナノの世界に到達してきた^{2,3}。

ナノスケールの現象を捉えると言う観点において、必ずしも『観る』必要はない。『ナノスケールの現象を反映した光』を用いれば良い。例えば、ラマン散乱光は、散乱元となった物質を構成する全ての分子振動の情報を含む。第二次高調波は、物質を構成する分極の情報を含んでいる。従来、上記二つの技術は、細胞を非染色で観察する技術としてだけ使われてきた。我々は、ラマン散乱分光法や第二次高調波発生を、細胞内部を『測る』技術として用いる試みを行っている。ナノスケールの現象を『蛍光』に変換しても良い。我々は、蛋白質の張力や細胞質の圧力など、細胞内では計測できなかった力学パラメータの変化が蛍光波長や強度の変化となる、新しい蛍光蛋白質の開発にも取り組んでいる⁴。

本セミナーでは、我々が取り組んでいる技術開発について、少しずつではあるが、出来る限り多くの例を紹介したい。

1. Watanabe TM, Sato T, Gonda K, Higuchi H. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007. 359:1-7
2. Watanabe TM, Fukui S, Jin T, Fujii F, Yanagida T. *Biophys J.* 2010. 99:L50-52.
3. Watanabe TM, Tsukasaki Y, Fujita H, Ichimura T, Saitoh T, Akira S, Yanagida T. *PLoS One.* 2012. 7:e44028
4. Ichimura T, Fujita H, Yoshizawa K, Watanabe TM. *Chem Commun.* 2012. 48:7871-7873.