

顕微鏡は「観察」のツールであるが、生体を光で「操作」するツールにもなる。我々の研究室では光による「観察」・「操作」の両面で生物学に貢献できる顕微鏡の開発と応用研究を進めている。「操作」に関しては、遺伝子を自由に制御できる顕微鏡(生体内局所遺伝子発現法：IR-LEGO)の改良と応用を行っている。一方で、光の屈折を補正する補償光学を導入することで生体における深部観察を可能にする新型顕微鏡の研究・開発を行っている。また、補償光学による操作系の高精度化への応用も検討している。

生体内単一細胞遺伝子発現顕微鏡

大腸菌から動物や植物に至るほとんどすべての生物は、熱によるストレスから細胞を守る熱ショック応答機構(上図)を持つ。この応答機構を利用し、熱ショックタンパク質遺伝子の下流に位置する熱ショックプロモーター(上図赤を含む青色部分)の下流に目的遺伝子を挿入して生物に導入することで、熱ショックによる目的遺伝子の発現誘導が可能になる。一般には遺伝子組み換え個体全体を温浴させることで全身に目的遺伝子を発現させるが、顕微鏡を使って赤外線を局所照射し生体内の単一細胞を温める(上図右、図1)ことで、目的の細胞のみで目的遺伝子を発現誘導させる(操作)ことができる。この手法(IR-LEGO法:文献4)を開発し、モデル動物である線虫、メダカ、ゼブラフィッシュや、モデル植物であるシロイヌナズナに應用している。そして、この技術により所外研究者との共同研究(文献2,3)を多数実施している。

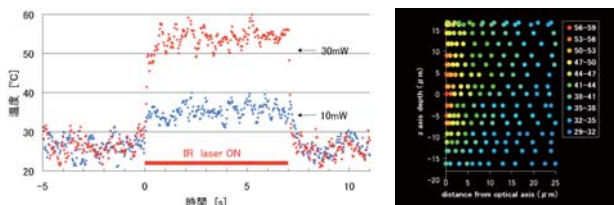


図1. 赤外線照射に伴う局所温度変化(経時変化と三次元温度分布) 赤外線レーザー照射に伴い焦点付近は急激に温度が上昇し、照射中は一定に保たれる(左)。深さ方向には十数 μm の範囲が加熱される(右)。

補償光学系の顕微鏡への応用

生物試料は、様々な物質や細胞内小器官、細胞や組織が偏在するため、屈折率分布が不均一である。この不均一さは光の進路を乱し、顕微鏡の結像性能は深度と共に低下する。天文学における地上望遠鏡においても同様に大気による光の擾乱が問題となるが、補償光学を導入することで光の屈折を補正し、像の劣化が改善されている。生体試料観察のための顕

微鏡に補償光学を導入することで、光の擾乱を補償し、解像度の改善が見込まれる。そこで、当研究室では所内研究者ならびに国立天文台の研究者との共同研究のもと、「観察」のための顕微鏡への補償光学系の導入研究を行っている(図2、文献1)。同時に、補償光学の導入による光「操作」の集光精度向上も検討し、「観察」・「操作」の両面から顕微鏡の高度化に挑んでいる。

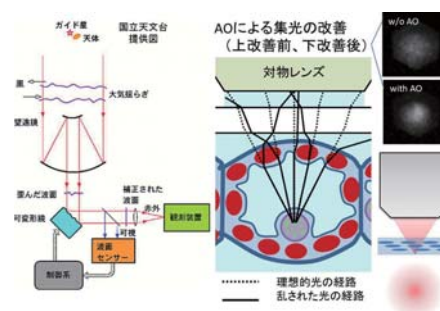


図2. 補償光学顕微鏡開発

すばる望遠鏡補償光学系の概念図(左)(国立天文台提供)と、植物細胞の顕微鏡観察時の「光の擾乱」の模式図(中)、補償光学顕微鏡による集光の改善(右)。

参考文献

1. Tamada, Y., Murata, T., Hattori, M., Oya, S., Hayano, Y., Kamei, Y., and Hasebe, M. (2014). Optical property analyses of plant cells for adaptive optics microscopy. *Int. J. Optomech.*, 8, 89-99.
2. Okuyama, T., Yokoi, S., Abe, H., Iseo, Y., Suehiro, Y., Imada, H., Tanaka, M., Kawasaki, T., Yuba, S., Taniguchi, Y., Kamei, Y., Okubo, K., Shimada, A., Naruse, K., Takeda, H., Oka, Y., Kubo, T. and Takeuchi, H. (2014). A neural mechanism underlying mating preferences for familiar individuals in medaka fish. *Science*, 343, 91-94.
3. Shimada, A., Kawasishi, T., Kaneko, T., Yoshihara, H., Yano, T., Inohaya, K., Kinoshita, M., Kamei, Y., Tamura, K. and Takeda, H. (2013). Trunk exoskeleton in teleosts is mesodermal in origin. *Nat. Commun.*, 4, 1639.
4. Kamei, Y., Suzuki, M., Watanabe, K., Fujimori, K., Kawasaki, T., Deguchi, T., Yoneda, Y., Todo, T., Takagi, S., Funatsu, T., and Yuba, S. (2009). Infrared laser-mediated gene induction in targeted single cells *in vivo*. *Nat. Methods* 6, 79-81.

特任准教授
亀井 保博

NIBB リサーチフェロー
坂本 丞

