

超解像蛍光顕微鏡 (SOFI) による大腸菌細胞骨格の観察

Observation of Cytoskeletons of *Escherichia coli* by Super-resolution Optical Fluctuation Imaging

佐藤 瑞樹¹, °堀内 友貴¹, 堀田 純一¹ (1. 山形大院理工)

Mizuki Sato¹, °Yuki Horiuchi¹, Jun-ichi Hotta¹ (1.Yamagata Univ.)

E-mail: tts99002@st.yamagata-u.ac.jp

【はじめに】大腸菌をはじめとする原核生物は、細胞のサイズが小さいために光の回折限界により波長の半分程度に空間分解能が制限される従来の光学顕微鏡では細胞内の微細構造の観察が困難であった。近年実用化された超解像蛍光顕微鏡を用いると、光の回折限界を超える空間分解能を実現することが出来るので、これまで詳細に観察することが出来なかった微細な原核生物の内部構造を生きたまま観察することが可能となる。本研究では、代表的な原核生物である大腸菌の細胞骨格を超解像蛍光顕微鏡の一手法である Super-resolution Optical Fluctuation Imaging (SOFI)¹⁾により観察したので報告する。

【実験】超解像測定のための蛍光プローブとして、光スイッチング蛍光タンパク質の一つである Dronpa を用いた。大腸菌用の発現ベクターである pRSET B に Dronpa 遺伝子をクローニングし、さらにその上流に大腸菌の細胞骨格を形成するタンパク質である MreB または FtsZ を連結し、融合タンパク質発現ベクターを作製した。融合タンパク質発現ベクターを用いて大腸菌 (JM109(DE3)株) の形質転換を行った。形質転換後一晩プレート上で培養し、さらに液体培地で 18 時間培養した後に IPTG により発現を誘導して、蛍光像及び SOFI 像の測定を行った。

【結果と考察】Fig.1 に、Dronpa-MreB を発現した大腸菌の蛍光像および SOFI 像を示す。従来型蛍光顕微鏡による蛍光像では、大腸菌内に局在する MreB がぼやけた像として観察された。これに対して、SOFI 像では MreB が大腸菌の表面付近でらせん状に局在している様子を観測することができた。今後、大腸菌におけるその他の骨格形成タンパク質 (MinC, MinD, MinE 等) との相互作用を解析する予定である。

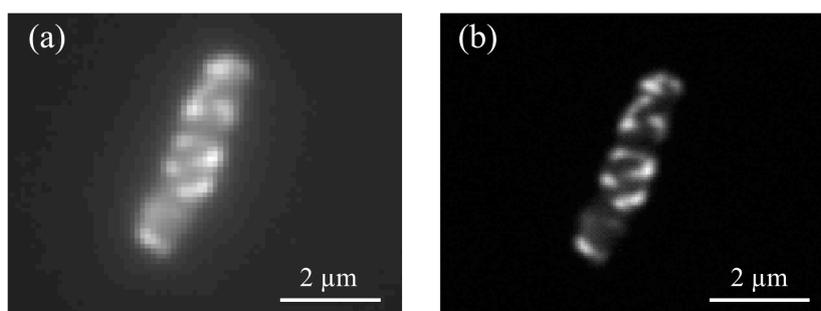


Fig.1 Microscopic images of *E. coli* with Dronpa-MreB expressed.

(a) Wide-Field image, (b) SOFI image

【参考文献】 1) T. Dertinger, *et al.*, *PNAS* **106**(52), 22287–22292 (2009).