

生細胞蛍光イメージングにおける光の乱れの理解とその克服

Understanding and Overcoming the Disturbance of Light Propagating Living Cells

宇都宮大工 °玉田 洋介

School of Engineering, Utsunomiya Univ., °Yosuke Tamada

E-mail: tamada@cc.utsunomiya-u.ac.jp

生細胞蛍光イメージングとは、生きた細胞において特定の分子や構造を蛍光プローブにより標識し、その動態を蛍光顕微鏡を用いて観察する技術である。それによってこれまで観察できなかった生体分子や生体構造のダイナミクスが捉えられるようになり、数多くの新しい生命現象の発見につながった¹⁻³⁾。一方、生細胞蛍光イメージングによる生命現象のさらなる開拓の障壁となっているのが、光の乱れの問題である。生きた細胞や組織には異なる屈折率を有する構造が複雑に存在している^{4,5)}。そうした媒質を光が通過すると、その光は乱れる。生きた細胞や組織の内部を観察する際、生細胞・組織における光の伝播距離が長くなればなるほど光の乱れは激しくなり、それに応じて得られる像も劣化する。

こうした光の乱れは、天体観測やリモートセンシングの際の大気や空気の揺らぎによって生じる光の乱れと本質的に同じであり、その克服には補償光学が有効であると考えられる。補償光学とは、光の乱れを波面センサーを用いて計測し、その情報をもとに空間光変調器をフィードバック制御することで、光の乱れを実時間で補正する技術である⁶⁾。ただし、大気や空気の揺らぎによる光の乱れと生細胞が引き起こす光の乱れは時空間的な複雑さ（周波数）が異なり、必要とされる補償光学の仕様も違うため、まず生細胞における光の乱れを詳細に解析した。材料としては、動物細胞などと比較して強く光を乱す植物細胞を用いた。その結果、植物細胞においては葉緑体（長軸直径約 5 μm の楕円体）が強く光を乱すことを明らかにした^{5,7)}。

こうした情報をもとに、おもに葉緑体による光の乱れを補正できる補償光学系を備えた蛍光顕微鏡系を構築した⁸⁾。この補償光学蛍光顕微鏡を用いて、一層の植物細胞を模した人工試料（図）⁹⁾、および生きた植物細胞深部を観察した結果⁷⁾、光の乱れを補正して高解像度のイメージングに成功した。

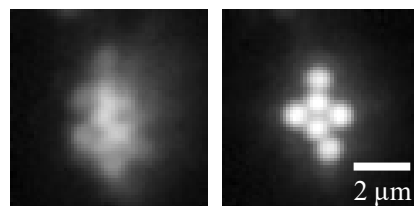


図 補償光学顕微鏡による補正一層の植物細胞を模した人工試料内部に存在する1 μm の蛍光ビーズ像。補正なし（左）と補正あり（右）をそれぞれ示す。

- 1) C. Li et al.: Nat. Commun., **8** (2017) 14242.
- 2) S. Koshimizu et al.: Nat. Plants, **4** (2018) 36.
- 3) M. Ishikawa et al.: Nat. Plants, **5** (2019) 681.
- 4) T. C. Vogelmann: Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., **44** (1993) 231.
- 5) Y. Tamada et al.: Int. J. Optomechatroni., **8** (2014) 89.
- 6) R. Davies and M. Kasper: Annu. Rev. Astron. Astr., **50** (2012) 305.
- 7) 玉田 洋介: 光学, **44** (2015) 384.
- 8) M. Hattori and Y. Tamada: Proc. SPIE, **10021** (2016) 1002106.
- 9) M. Hattori et al.: Opt. Eng., **56** (2017)