

生体適合性の高い超解像顕微鏡観察技術の開発

Development of highly-biocompatible super-resolution microscopy



永井 健治
T. Nagai

▶ キーワード Keyword

超解像イメージング、生体適合性、蛍光偏光
super-resolution imaging, biocompatibility, fluorescence polarization

▶ 応用分野 Application

バイオイメージング、顕微鏡
bioimaging, microscopy

▶ 目的・期待される効果

- 生きた細胞に対する光毒性の少ない超解像顕微鏡観察
- 高空間・時間分解能で、生きたままの細胞の長時間ビデオ撮影が可能



研究内容

▶ 背景

通常の光学顕微鏡には「回折限界」と呼ばれている空間分解能の理論限界がありますが、近年の蛍光顕微鏡における技術革新によって、回折限界を超えた高い分解能の超解像顕微鏡が開発され、普及しつつあります。これまでの超解像顕微鏡は試料に対して極めて強い光 ($10^2 \sim 10^9$ W/cm²) で照明することが必要でした。しかし、強い光は生体試料に対して毒性があるので、生きたままの細胞や組織を従来の超解像顕微鏡で長時間観察することは困難です。

▶ 技術概要

従来よりもはるかに弱い照明光で高解像度観察が可能な超解像顕微鏡を開発しました。私たちは、超解像観察のために開発した光刺激により高速に蛍光-無蛍光の状態をスイッチさせることのできる光スイッチング緑色蛍光タンパク質Kohinoor、回転偏光照明を有する超解像蛍光顕微鏡であるSPoD-ONsPAN (super-resolution by polarization demodulation/on state polarization angle narrowing) 顕微鏡、そして独自に開発した超解像画像再構成計算手法を組み合わせることにより、1 W/cm²程度の従来になく弱い照明光で高解像度観察が可能な、生体試料に優しい超解像顕微鏡技術を開発しました(図1)。

また、励起用の青色光照射のみで自発的なスイッチングを起こす光スイッチング黄緑色蛍光タンパク質を開発し、蛍光分子局在化法により細胞への光毒性の小さい超解像観察に成功しました。

▶ 特長

本研究で開発した超解像顕微鏡観察技術により、照明光による光毒性がほとんど無いまま、生体内の様々な詳細な構造の時間変化を高解像度で可視化することができます。

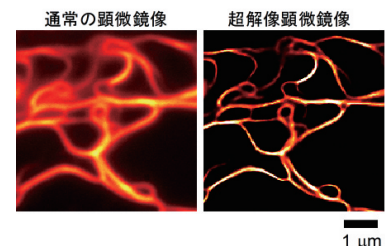


図1 中間径フィラメントの超解像蛍光観察の例

【論文 Paper】

- [1] Tiwari et al. "A fast- and positively photoswitchable fluorescent protein for ultralow-laser-power RESOLFT nanoscopy" Nat. Methods. 12: 515-518, 2015
- [2] Wazawa et al. "Highly biocompatible super-resolution fluorescence imaging using the fast photoswitching fluorescent protein Kohinoor and SPoD-ExPAN with Lp-regularized image reconstruction" Microscopy 67: 89-98, 2018
- [3] Arai et al. "Spontaneously blinking fluorescent protein for simple single laser super-resolution live cell imaging" ACS Chem. Biol. 13: 1938-1943, 2018