

TEDX-





顕微鏡を通して 広げる世界 広がる世界



科学に基づく顕微鏡画像は、芸術性と学術性を兼ね備えている こうした画像に触れた人々には新たな価値や創造がもたらされるのではないか

もっと多くの方々に顕微鏡を通して見える世界に触れてほしい、 そういう思いで 2019 年 NIKON JOICO AWARD をスタートさせました。

顕微鏡を通して見える世界は、想像ではなく、科学に基づいて広がる世界です。

この世界は、研究者一人一人異なる世界であっても、 顕微鏡画像に秘められた最先端の科学、 そして何よりも研究者がワクワクとしながら取り組んでいる科学の世界は、 見るものを刺激し、新たな世界に導いてくれると信じています。

研究者の方々には、顕微鏡画像を通して、科学そして芸術を伝える場として NIKON JOICO AWARDを訪れていただいた方々には、 顕微鏡を通して見える世界に触れていただく場として

顕微鏡を通して 世界が広がる 世界を広げる を目指して活動してまいります。

最優秀 JOICO 賞

メダカ初期胚の 協調的かつ神秘的な 細胞分裂ダイナミクス

Cell division dynamics in a medaka early embryo



グループ名:細胞分裂動態ユニット





沖縄科学技術大学院大学 サイエンスアンドテクノロジーグループ サイエンスアンドテクノロジーアソシエイト

受賞コメント

最優秀 JOICO 賞に選出して頂き、大変光栄です。サポートして下さった 方々に、心より感謝致します。メダカは日本人に馴染み深い生き物ですの で、是非多くの方に見て頂き、生命の始まりは実に美しく、実に奥深いこ とに、共感頂けると嬉しいです。メダカ初期胚の研究は始めたばかりですが、 卵割と体細胞分裂の違いに、日々驚かされています。これからも「視る」こ とを通じて、生命の神秘に触れ、少しでもその理解に貢献できれば嬉しい です。

メダカ初期胚の内部では、極めて動的かつ 協調的な細胞分裂プログラムが進行してお り、体細胞モデルとは異なる神秘的な仕組 みが存在することが分かった。

17

由来種	Meda
器官 / 組織 / 細胞 (株) 名	受精
染色・ラベル方法等	マゼン
	緑(E
	両者。
観察手法	倒立
対物レンズ倍率	20 倍
作品画像取得年	2022

* *

d

Medaka Oryzias latipes, OK-Cab strain 受精卵 マゼンタ (内在性 RCC1-mCherry): 染色体 緑 (EGFP-alpha-tubulin:微小管 両者とも CRISPR によるゲノム編集で作成 倒立 20 倍

メダカ初期胚の 協調的かつ神秘的な 細胞分裂ダイナミクス

Cell division dynamics in a medaka early embryo

メダカ2細胞期の紡錘体¹ライブ画像 染色体 (マゼンタ)、微小管(緑)

はじめに

ゲノム情報を担う染色体は一個体のアイデンティティの根幹であり、 受精に始まる一連の有糸分裂²サイクルにおいて安定に維持、継 承される必要があります。過去100年以上に渡り、酵母や培養 細胞など、比較的単純なモデルを用いて、有糸分裂の主要遺伝 子や基本的な仕組みが同定されてきました。しかし、有糸分裂サイ クルを俯瞰的に眺めると、動物の初期胚³分裂(卵割)は体細胞 分裂⁴とは極めて異なる特徴を有しています。例えば、受精卵は極 めて大きく、ゲノムからの転写は抑制されています。また DNA 複 製の仕組みや、細胞周期制御にも違いがあることが報告されてい ます。このように体細胞と比較し、極めて特殊な受精卵や初期胚 細胞において、染色体はどのようにして正確に娘細胞に分配される のでしょうか?

紡錘体

真核生物⁵の有糸分裂期には、微小管を主成分とする染色体分 配装置「紡錘体」が形成されます。紡錘体は2つの極を持つ紡錘 状の構造体で、その中央領域で複製された姉妹染色分体を捕捉 し、左右の極方向に均等に分配します。また紡錘体の位置情報は、 細胞分裂面の位置決定にも関与しますので、紡錘体形成や配置 の欠損は、細胞極性⁶の制御や細胞分化、組織形成の不全にも つながります。

メダカ初期胚実験系の樹立

私たちのグループでは、これまでヒト培養細胞を軸に、紡錘体の形 成や配置制御の仕組みを研究してきました。しかし、小さな体細胞 を軸に考案されたモデルが、巨大で特殊な初期胚の細胞に当ては まるかどうかは、ほとんど理解されていません。



図1 受精直後からのメダカ受精卵のライブイメージング



図 2 メダカ初期胚の長時間ライブイメージング(3分間隔で10時間撮影) 1-8細胞期では、紡錘体の配置や向きが、秩序だって協調的に制御され、美しい対称的な細胞組織が形成される。

そこで、数年前からメダカ初期胚を用いて、CRISPR/Cas9⁷とライ ブイメージング、改良型オーキシン誘導デグロン⁸ (auxin inducible degron 2, AID2) 法を組み合わせた実験系の構築に取りかかりま した。メダカはヒトともよく似た遺伝子をもち、遺伝学的操作、近 交系としての維持、温度耐性、飼育等にも優れています。また初 期卵割は平面上で協調的に進行するため、他の脊椎動物モデル に比べ、紡錘体の動態を同一焦点面で捉えることが容易であり、 受精から孵化に至るまでの長時間ライブ撮影も可能です。また日本 の優れた研究サポートや過去の知見を利用できるのも強みです。

メダカ初期胚のライブイメージング

まず CRISPR/Cas9 を用い、染色体と微小管を可視化可能なノック イン系統⁹を樹立しました。染色体はクロマチン結合の RCC1¹⁰ に mCherry を融合した RCC1-mCh で、微小管はα-チューブリンに EGFP を融合した EGFP-α-tubulin で可視化しました。2 つの系統 を掛け合わせた後、ホモ接合体¹¹ から受精卵を採取し、スピニング ディスク型共焦点顕微鏡 (Nikon Ti2-E に Yokogawa CSU-W1 を装着した顕微鏡) で撮影を行いました。すると受精直後の1 細胞 期(図1)から、約10時間後の胞胚期¹²に至るまで、紡錘体形 成や配置化の過程を詳細に撮影することに成功しました(図2)。 胚は撮影後も正常に発生を続けたため、イメージングによる光毒性 はほとんどなく、生理的な初期胚の細胞内動態を捉えることができ たと考えています。

初期胚紡錘体の特殊な構造の発見

このように染色体と微小管を同時に可視化した、脊椎動物初期胚 の長時間ライブ動画はこれまでになく、様々な新しい情報や疑問を 提示してくれます。例えば、紡錘体の形態に注目すると、卵割の 進行に伴い、劇的に形や長さを変えることがわかりました(図3)。 またより高い時間分解能で撮影すると、初期胚紡錘体の中央に見 られる微小管密度の高い特殊構造は、分裂期中期に形成されるこ とや、微小管形成中心として機能する中心体¹³は、分裂期の中 期や後期では、紡錘体極から離れる傾向があることも明らかとなりま した(図4)。



図3 卵割の進行に伴い、紡錘体の形や長さが劇的に変化する様子



図 4 初期胚紡錘体に特異的に見られる微小管密度の濃い中央領域の形成過程と染色体分配の様子 紡錘体中央の構造以外にも、中期以降に中心体が紡錘体極から離れて見えるなど、体細胞と異なる特徴が観察された。

改良型オーキシン誘導デグロン (AID2) 法に よる標的タンパク質分解系の樹立

さらに私たちは、AID2法により染色体結合のRCC1を初期胚で 分解することにも成功しました(図5)。興味深いことに、RCC1を 分解すると、初期胚特異的な紡錘体中央構造が形成されず、染 色体の分配異常が高頻度で観察されました(図5)。RCC1は Ran-GTPの生成因子ですので、これらの結果は、染色体派生の Ran-GTPシグナルが初期胚紡錘体の形成に必要であることを示し ています。一方、体細胞様の紡錘体を持つ胞胚期でRCC1を分 解しても、染色体の分配異常は観察されませんでした。以上の結 果は、初期胚紡錘体は、体細胞型の紡錘体と比べ、形も形成メ カニズムも異なることを明確に示しています。

おわりに

本研究から、メダカ初期胚細胞は、約30分という短い間に、 DNA 複製と、染色体分配を正確に遂行していることが分かりました (図2)。最近、マウスやヒトの受精卵では、染色体分配エラーが 高頻度で起こると報告されていますが、私たちの画像からは、メダ カ卵割期では、ほとんど染色体分配エラーは観察されませんでした。 詳細は割愛しますが、メダカ初期胚では細胞周期や染色体分配の 正確性を保障するチェックポイントが機能していません。メダカ初期 胚細胞は、どのようにしてチェックポイントにも頼らず、約10分の 短い時間で、機能的な紡錘体を形成し、染色体を正確に捕捉・ 分配できるのでしょうか(図4)? また初期胚紡錘体の特殊構造の 形成や構造変化の仕組み(図3)、それらの種間での保存性はど のようになっているのでしょうか? 今後もイメージング技術を活用し、 これらの課題やその他の疑問に取り組んでいきたいと考えています。



図 5 AID2 法により初期胚で RCC1 を分解すると、紡錘体中央の特殊構造が形成されず、染色体の分配異常が観察された。

論文

Kiyomitsu A, Nishimura T, Hwang SJ, Ansai S, Kanemaki MT, Tanaka M, Kiyomitsu T. Ran-GTP assembles a specialized spindle structure for accurate chromosome segregation in medaka early embryos. *Nature Communications*. 2024, 15(1), doi: 10.1038/s41467-024-45251-w

1. 紡錘体

微小管を主成分とし、様々な微小管結合タンパク質から構成される巨 大な構造体。全ての真核生物で分裂期に形成され、染色体の分配の みならず、細胞分裂方向や分裂箇所を決める役割も担う。

2. 有糸分裂

凝縮した染色体が糸状の微小管によって捕捉され、娘細胞に分配される分裂形式のこと。本稿では、受精前の減数分裂と区別し、受精後に起こる細胞分裂を意味する。

3. 初期胚

受精から間もない時期の胚。本稿では、受精から5-6時間程度までの、 細胞成長を伴わない細胞分裂期(卵割期)にある胚のことを指す。

4. 体細胞分裂

本稿では、細胞成長を伴う、一般的な体細胞の細胞分裂として、細胞成長を伴わない卵割と区別する意味で使用している。

5. 真核生物

バクテリアとは異なり、細胞の中に核を持つ生物の総称。

6. 細胞極性

細胞内外の構成因子が偏って分布し、細胞が非対称性、方向性をも つこと。細胞分裂の際、染色体は均等に分配されるため、それ以外 の細胞極性に関する因子が、最終的に娘細胞間で違いを生み出し、 細胞の種類の増加につながる。

7. CRISPR/Cas9

バクテリアの獲得免疫機構の一部を応用した遺伝子編集技術。設定 した約20塩基からなるゲノム上のDNA配列を認識し、切断することで、 遺伝子の改変を誘導する。

審査員より

- 芸術性においては、受精卵の連続的な細胞分裂の様子を捉えた、 非常に神秘的で印象的な動画である。学術面では、細胞分裂ダイ ナミクスの分子メカニズムの一端を解明した研究であり、その学術的 価値は高い。
- ただ単に美しいだけでなく、非常に多くの生物学的なインサイトを与える。極めて面白い動画であると言える。
- メダカ初期胚の細胞分裂が協調的に、極めて正確に進んでいく様子が、神秘的で心地よく感じる。短時間でDNA 複製と、染色体分配を正確に進んで行く様子を可視化した優れた作品である。
- synchronicity, Coincidence を直観させるのに恰好の動画。
- 分裂直前に光る染色体が美しく、生命の根源を象徴する美しさを感じた。

8. 改良型オーキシン誘導デグロン

標的タンパク質を分解する技術の1つ。DNAやmRNAを標的とする 従来の技術とは異なり、タンパク質を特異的かつ速やかに分解誘導で きるため、卵由来のタンパクで駆動される初期胚分裂の機能解析に大 変有用。

9. ノックイン系統

ゲノム編集技術を用いて、蛍光タンパクやオーキシ誘導デグロンタグな どの外来遺伝子を、ゲノム上の特定遺伝子領域に組み込んだ遺伝子 組換え系統のこと。

10. RCC1 タンパク質

真核生物に保存された染色体結合タンパク質であり、低分子量 GTP 結合タンパク質 Ran を、GDP 結合型(不活性型)から、GTP 結合型(活 性型)に変換する活性を持つ。核内外輸送や、紡錘体形成、核膜形 成に機能する。

11. ホモ接合体

二倍体生物では、ある1遺伝子は、父型由来、母型由来の2ヶ所 の染色体に存在している。その2つの遺伝子が全く同じである個体を ホモ接合体、異なる個体をヘテロ接合体と呼ぶ。

12. 胞胚期

メダカにおいては、受精後 5-6 時間経ち、細胞数が 1000 個程度となっ た胚を指す。この時期の細胞は、卵割を終了し、転写が開始するなど、 初期胚細胞とは異なった振る舞いを示す。

13. 中心体

精子由来の中心小体をもち、微小管形成中心として機能する細胞内 構造体。メダカ初期胚の紡錘体では、細胞分裂前に常に核の両側に 位置し、紡錘体の2極性構造の速やかな確立を促して見えるが、分 裂期中期以降には、紡錘体極から離れる傾向にある。

- リズミカルかつ均等に増殖していく模様が心躍る気分にさせてくれる 作品。
- 細胞分裂していく様子が、一定のテンポでリズミカルなところが面白いし、分裂時の緑の点発光も神秘的で美しい。
- テーマと優しい光や色合いがマッチしている印象を受け、神秘的で魅力的に感じた。
- 発光しながらリズミカルに分裂していく様子や、それぞれの細胞の有 機的な円形状など、瞬間の形状と動き両面から魅力的だと感じた。
- 顕微画像に疎い自分でも、イメージができる細胞分裂の動きではある が、分裂する前にちらと光る部分に命を感じ、感動した。

分子コントローラによる 分子ロボット群の 自発的な集合と離散

Autonomous Assembly and Disassembly of the Swarming of Molecular Robots Regulated by Molecular Controller



かわまた **川又 生吹** 京都大学大学院理学研究科 物理学・宇宙物理学専攻 准教授

受賞コメント

この度は NIKON JOICO AWARD 優秀賞に選出いただき、誠に光栄で す。本研究では、生体分子で実装された DNA コンピュータと分子モーター を組み合わせ、自律的に運動モードが変化する分子ロボットを設計し、そ の挙動を観察することに成功しました。相性の異なる DNA コンピュータと 分子モーターの統合には苦労しましたが、期待した通りの挙動を行う分子 ロボットを開発できて嬉しく思います。今後もアクティブに運動する分子ロ ボットの開発を続け、興味深い挙動を示す分子システムのイメージングを続 けたいです。

DNA コンピュータによって実装された人工の 分子コントローラにより、分子アクチュエー タである微小管の自発的な集合と離散を引 き起こすことを観察することに成功。

観察手法 :蛍光

対物レンズ倍率 作品画像取得年

:60 倍 :2020

由来種 : 化学合成 DNA、ブタ (チューブリン)、大腸菌 (キネシン、その他酵素) 器官 / 組織 / 細胞 (株) 名 : 微小管 (*in vitro* 合成) 染色・ラベル方法等 : 縁: FAM 標識 DNA と結合した微小管 マゼンタ: TAMRA 標識 DNA と結合した微小管 ・ 笛光

分子コントローラによる 分子ロボット群の 自発的な集合と離散

Autonomous Assembly and Disassembly of the Swarming of Molecular Robots Regulated by Molecular Controller

分子ロボットの概要

自発的に振る舞う分子スケールのロボットを作ること はできるだろうか(図1)。マクロなスケールでは、決 まった時間にお掃除ロボットが部屋の掃除を行った り、人間からの指示なしに工業用のロボットが制御さ れて製品を組み立てたりする。いずれの例でも、タ イミングを決める「知能」と、モーターのような「アク チュエータ」が連動して機能を達成している。本論 文では、知能とモーターをそれぞれ分子によって実装 し、二つのシステムを統合することで、自発的に運 動する分子のロボットを開発することに成功した。



図1 機械ロボットと分子ロボット1の比較

機械ロボットにおけるセンサー、マイコン、モーターに相当する機能を、分子部品で実現して統合したシステムを分子ロボットと呼ぶ。機械ロボットは電子機械部品をトップダウンに組み合わせて作るのに対し、分子ロボットは機能 生体分子デバイスをボトムアップに組み合わせて作る。

DNA コンピュータと 分子モーターの統合

本研究では、DNA コンピュータ²と呼 ばれる技術を知能の部分に、分子モー ターと呼ばれる技術をアクチュエータにあ たる部分に用いた。具体的な分子モー ターは、キネシンと呼ばれる生物由来の タンパク質である。キネシン³をガラス基 板に固定し、モーターのエネルギー源と なる ATP を加えると、フィラメント状(棒 状)の微小管⁴と呼ばれるタンパク質が 二次元基板上で推進する。そのままで は微小管は無秩序に運動を行うだけな ので、その制御に DNA コンピュータを 用いた(図 2)。



図 2 知的な DNA コンピュータによる微小管の自律的制御の概念図 DNA コンピュータがタイミングよく信号を放出し、その命令に従って微小管の結合と分離が起こり、結果的に分子ロボットの群れ 形成と解消が人手の介入なしに起こる。



自律的に動く分子ロボット

本研究では、微小管の群れ運動の制御を対象にした。具体的には、化学合成された DNA 分子を微小管に修飾し、微小管同士の相互作用を DNA によって制御した。つまり、結合用の DNA を加えると微小管同士が結合して群れを形成し、分離用の DNA を加えると群れを解消する。我々の過去の研究では、結合 DNA と分離 DNA をタイミングよく手動で加えることで微小管の群れ形成を制御できることが分かっていたが、本研究では人手の介入なしに、群れの形成と解消のタイミング制御を行った。

そのために我々の過去の研究を参考に、時間遅れ を伴って結合 DNA と分離 DNA を順に放出する DNA コンピュータを作製した。DNA コンピュータは 3 種類の DNA 構造体から構成されており、さらに 3 種類の酵素によって駆動される。この DNA コン ピュータは大きく分けて3つのステップによって働き、 それぞれ微小管の結合反応、時間遅れの発生、 微小管の分離反応を起こす(図3)。

図 3 DNA コンピュータによる微小管の結合および分離のメカニズム

(上部) DNA コンピュータの反応ダイアグラム。矢尻が片側にだけある色のついた矢印は DNA を表す。DNA 二 重らせんは、二本の DNA を逆並行に配置して表現されている。DNA コンピュータには、「テンプレート」、「トラン ステューサ⁻¹」、「コンバータ⁻¹」の3種類の DNA 構造体が初期状態では存在しており、それ以外の構造体は中 間生成物である。システムの反応は、「ポリメラーゼ⁻¹」、「「知限酵素⁻¹」の3種類の酵素によっ 「駆動される。DNA の結合、仲長、切断などの素反応が設計した通りに連鎖的に起こることで、結合 DNA と 分離 DNA が時間遅れを伴って放出される。放出された DNA は、緑とマゼンタ色それぞれの微小管に修飾された DNA 間の結合と分離を引き起こす。

(下部)観察するシステムの概略。ガラス基板上にキネシンが固定されており、エネルギー源となる ATP を加えることで、微小管分子ロボットが推進運動を示す。 DNA コンピュータによる制御によって、人間による介入なしに微小管は群れの形成と解消を行う。



図4 微小管分子ロボとの群れ形成と解消の蛍光顕微鏡動画

0分の時点では緑とマゼンタ色の微小管フィラメントが個別に大量に観察される。時間が経過するにつれ、それぞれの色の微小管は集合し、大きな白色の群れを形成する。さらに 30分を過ぎる と、微小管どうしは分離を始め、群れが次第に解消されることで白色の領域は消滅する。

微小管の群れ形成と解消が DNA コンピュータにより自動的に制御 される様子を、蛍光顕微鏡により観察することに成功した (図 4)。

展望

本技術は、これまで手動で行っていた分子アクチュエータの制御を 自動化したのみならず、異なる分子システムを統合可能な実験条件 を見出した点においても新しい。群分子ロボティクス分野における 大きな前進であり、将来的な医療応用などへの実用化⁹に向けた 重要な一歩になると期待している。

論文

Kawamata I., Nishiyama K., Matsumoto D., Ichiseki S., Keya J. J., Okuyama K., Ichikawa M., Kabir A. M. R., Sato Y., Inoue D., Murata S., Sada K., Kakugo A., Nomura S. M.

Autonomous assembly and disassembly of gliding molecular robots regulated by a DNA-based molecular controller. *Science Advances*, 2024 10, doi:10.1126/sciadv.adn4490



1. 分子ロボット

センサ (感覚装置)、プロセッサ (計算機)、アクチュエータ (駆動装置) などのロボットを構成するデバイスが分子レベルで設計されており、それ らを一つに統合することで構成される分子のシステム。今回の分子ロボッ トは直径 25 nm、全長約 6 µm の管状の個体であり、数十 µm 幅の 束に組み立てられ、そして分解されるシステム。

2. DNA コンピュータ

DNA 分子を材料に、計算を行う分子レベルのコンピュータを組み上げ る技術、および組み上がったシステム。電子部品を配線するように、 複数の DNA 分子がどのように相互作用するか設計することで、論理 ゲートやニューラルネットワークなどをプログラム可能である。今回は分 子ロボットの集合と離散をプログラムした。

3. キネシン

モータータンパク質と呼ばれる駆動能力を持った分子で、天然では細胞 内に存在する。今回は人工の分子ロボットを駆動するための、エンジン のように働く分子モーターとして活用した。駆動の過程では、ATPとよ ばれるエネルギー分子を消費する。

4. 微小管

キネシンによって駆動される細長いフィラメント状のタンパク質。天然で は細胞分裂の際に用いられる分子だが、今回は分子ロボットの本体と して利用した。

5. トランスデューサ・コンバータ

電気回路では信号の変換機という意味を持つトランスデューサやコン バータという用語を、今回の DNA コンピュータの説明に流用した。 具 体的には、DNA コンピュータにおいて、ある情報を持つ DNA から別 な情報を持つ DNA へと変換することができる分子素子に 「トランス デューサ」や 「コンバータ」と名付けた。

審査員より

- 微小管の群れが小魚のように見え、小魚が成長し別の群れと置き換わるように見える。自然の美しい動きが芸術性に優れる。人手の介入なしに、微小管が群れを形成し、解消する様子を示した成果で、将来の医療応用など実用化が期待される。
- 動画からは、分子ロボットが、まるで小魚の群れのように海中で優雅 に泳いでいるかのような様子がみられ、大きな驚きを感じる。学術面 においては、DNA コンピューターによって動態制御された分子ロボッ トの実現に成功し、画期的で「未来」を感じさせる研究成果である。
- 雪のような「物質」から「生命体」に変質するような躍動感ある変化 が面白い。
- ピンクと緑の分子ロボットが自発光しながら不規則に動く姿が面白く、
 見入ってしまうような美しさがある。

6. ポリメラーゼ

DNAを伸長するタンパク質で、天然では遺伝子の複製に利用される。 複製性の際には、鋳型と呼ばれるコピー元の DNA の情報をもとに、 プライマーと呼ばれる DNA を伸長する。今回はポリメラーゼの特性を 活用し、人工的に作製した DNA コンピュータを駆動させるために利用 した。

7. ニッカーゼ

DNAを切断するタンパク質で、二重らせん DNAを構成する2本の DNAを切断する制限酵素とは異なり、片方だけを切断する。認識配 列と呼ばれる特別な情報を持った DNA だけを切断することができるた め、今回はプログラムした通りに DNA コンピュータを駆動させるために 利用した。

8. 制限酵素

DNAを切断するタンパク質で、ニッカーゼとは異なり、二重らせん DNAを構成する2本のDNAの両方を切断する。ニッカーゼと同様に、 認識配列と呼ばれる特別な情報を持ったDNAだけを切断することがで きるため、今回はプログラムした通りにDNAコンピュータを駆動させる ために利用した。

9. 医療応用などへの実用化

標的特異的に薬剤を届ける技術であるドラッグデリバリーシステム (DDS)に加えて、その場の状況や外部からの情報入力に応じた時空 間上の振る舞いを実現することで、より効果的かつ安全に体内の特定 の部位へ薬剤を届けることを目的とした技術。

- 有機的な線の動きや勢いに面白さを感じた。
- 全体的に均一に散らばっていた有機的な線が、徐々に集合していき ながら強く発光していく全体の流れと、一つ一つの線の動きの面白さ が魅力的に感じられた。
- 単調な画像なのかと思いきや、だんだんと変化する様や光の走り方 に美しさを感じた。映像作品として制作されたもののようにも思える。
- 自発的に引き起こされたという分子の動きが、夜空に咲く花火の様に、鮮やかに散りばめられている様子が美しい。後半に向けて、動き方が変わっていく様子もあり、ずっと見届けたくなるような作品。

特別賞

血管網の 三次元パターンを作り出す 神経と血管の連携

Symphony of Neurons and Vessels: Building a Three-Dimensional Vascular Network



けんいち 當麻 憲一

京都大学 高等研究院 物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS) 見學研究グループ 特定拠点助教

受賞コメント

この度は、栄誉ある NIKON JOICO AWARD 特別賞を賜り、心より感 謝申し上げます。本研究では、神経細胞と血管の接触を顕微鏡で可視 化しました。審査員の皆様から「まるで木に果実がなっているようだ」という 印象深いコメントいただきましたが、これはまさに私が初めてこの写真を撮っ た時に感じた驚きそのものでした。この感動を時間や場所を超えて多くの 方々と共有できたことを、大変嬉しく思います。今後もイメージングの持つ 力を使って、神経組織発生の仕組みを解明していきたいと考えています。

血管網の3次元構造形成を制御する「血 管周囲ニューロン」と血管の細胞間接触が 見えた。

由来種 器官 / 組織 / 細胞 (林) 名 : 網膜 染色・ラベル方法等 ま程 (GFP) : 血管周囲ニューロン 赤 (Isolectin GS-IB4 - Alexa Fluor 594) : 血管 観察手法 対物レンズ倍率 作品画像取得年

:20倍 :2023

:正立

血管網の 三次元パターンを作り出す 神経と血管の連携

Symphony of Neurons and Vessels: Building a Three-Dimensional Vascular Network

はじめに

中枢神経系に見られる三次元の血管パターンの形成は神経回路 形成と同じく組織機能に重要だと考えられますが、その血管網¹の 三次元パターニングがどのように制御されているのかは二次元の血 管網形成に比べて不明でした。今回私たちは、血管に接着してい る特別な神経細胞「血管周囲ニューロン」が三次元の血管網構築 を制御していること、またその接着が機械刺激受容チャネルの Piezo2²依存的であることを様々な蛍光組織イメージングによって 明らかにしました。さらに三次元的な血管網構造が血管灌流³を介 して視覚機能に大きな影響を及ぼすことがわかりました。

血管周囲ニューロンが 三次元の血管網構築をガイドする

網膜⁴は、目に入った光を受け取って電気信号に変換する光受容 細胞や、個々の光受容細胞からの信号を統合し、処理した結果を 脳に送り出す網膜神経節細胞⁵といったような多様な神経細胞で作 られています(図 1A)。また同時に、これらの神経細胞群に酸素 や栄養を供給するため網膜内には非常に綺麗な三次元の格子構 造を持った血管網が形成されています(図 1A, 図 2A)。これまで VEGF-A(血管内皮細胞⁶増殖因子 A)⁷など血管網の形成に関 わる重要な拡散性因子がわかっていますが、二次元の血管網がど のように三次元でパターニングされるのかはほとんど不明でした。 私たちは、マウス遺伝学と免疫組織染色⁸、そして蛍光組織イメージングを用いて、血管網に一部の網膜神経節細胞が接着している ことを発見しました(図1B,投稿作品)。そしてその血管に接着して いるニューロン「血管周囲ニューロン」を除去すると、血管網の三 次元格子構造が崩れました。このことから、血管周囲ニューロンは 血管網の三次元構造のパターニングを行なっていることがわかりまし た。さらに、血管周囲ニューロン特異的に発現している因子として、 機械刺激受容チャネルの Piezo2 を同定しました。そして、血管周 囲ニューロン特異的に Piezo2 を欠失させると、先ほどの細胞除去 実験の時と同様に血管網の三次元構造が崩れて(図2A,B)、さ らに血管周囲ニューロンは Piezo2 依存的に血管に接着して、 それを介して血管網の三次元構造形成を制御していることを突き止 めました。



図1 網膜における血管周囲ニューロンと血管(元論文より改変)



図2 血管周囲ニューロンによる血管網の三次元パターニング(元論文より改変)

三次元血管網構造の生理学的意義

血管網の三次元構造変化と組織機能発現の関連性は直接的に は明らかにされていなかったので、私たちは Piezo2 の血管周囲 ニューロン特異的ノックアウトマウス⁹の網膜で見られる異常な血管 網の、灌流状態を調べてみることにしました。その方法として、マ ウスに投与した蛍光色素フルオレセイン¹⁰の血管網への広がりを、 連続蛍光眼底造影¹¹を用いて調べました(図 3A)。その結果、 三次元の構造異常をもつ血管網では灌流が低下していることが わかりました(図 3B, C)。またこのような網膜においては低酸素状 態が起こり、加齢により多くの網膜神経節細胞が死んでいき、最 終的には視覚機能の低下が起こることを見出しました。つまり、血 管網の異常な三次元構造は血管灌流の低下を引き起こし、網膜 が慢性的な低酸素の状態になります。その状態が続くと網膜神経 節細胞が徐々に死んでいき、それに伴って視覚機能が低下してい きます。さらに異常な三次元構造の血管網をもつ網膜は、虚血性 疾患¹²に対してより深刻な症状をもたらすこともわかりました(図 4)。



図3 三次元の血管網構造は血管灌流に影響を与える(元論文より改変)



図4 血管周囲ニューロンによる細胞間接触を介した血管網の三次元パターニングの概要(元論文より改変)

まとめ

本研究では、網膜の神経回路を構成する神経細胞群の一部に機 械刺激受容チャネル Piezo2 を発現して血管に接着する「血管周 囲ニューロン」があることを発見しました。また血管周囲ニューロン は細胞接触依存的メカニズムを介して血管網の三次元パターニン グを制御していることを見出しました。さらに血管網の三次元構造 は、血管の灌流に影響を与えることで網膜の視覚機能の発現に重 要な役割を果たしていることがわかりました(図 4)。

今後の展望

今回はマウス網膜での私たちの発見を紹介させていただきましたが、 中枢神経系の他の領域である小脳でも同様の働きをする血管周囲 ニューロンがあることも見出しました。今後は、このような血管周囲 ニューロンの血管接触依存的な三次元の血管網構築が組織を超 えて機能しているのか、分子レベルでのさらなる解析により明らかに していきます。

論文

Toma, K., Zhao, M., Zhang, S., Wang, F., Graham, HK., Zou, J., Modgli, S., Shang, WH., Tsai, NY., Cai, Z., Liu, L., Hong, G., Kriegstein, AR., Hu, Y., Korbelin, J., Zhang, R., Liao, YJ., Kim, TN., Ye, X., Duan, X. Perivascular neurons instruct 3D vascular lattice formation via neurovascular contact. *Cell*. 2024, 187(11), doi: https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.04.010



1. 血管網

血管網とは、酸素や栄養を全身の細胞に届けるために組織内に張り巡らされた血管のネットワークこと。大きな血管から枝分かれした毛細血管が、各細胞に物質を運ぶとともに老廃物を回収する役割を果たしている。本研究では血管網の立体構造に着目した。

2. 機械刺激受容チャネル Piezo2

Piezo2 は 2010 年に Ardem Patapoutian のグループによって報告 された機械刺激を受容する大型のイオンチャンネル。本研究では中枢 神経系(眼や脳)での機能を報告しているが、他には Piezo2 は触覚 や痛覚、呼吸などの多くの生体機能に関わることがわかってきている。

3. 血管灌流

血管灌流とは、血液が血管を通じて組織に供給されるプロセスのこと。 血液は細胞・組織に酸素や栄養を運び、老廃物を回収する役割を担う。 適切な灌流の維持は組織の正常な機能にとって必須で、それが不足 することで虚血による酸欠や機能障害を引き起こす。

4. 網膜

網膜とは、光を受容するシート状の神経組織であり眼球の内側を覆って いる。目に入った光はレンズで屈折し網膜に像を結ぶ。その光は網膜 の視細胞で電気信号に変換された後、神経回路によって視覚情報とし て処理される。その機能の一部はデジタルカメラのイメージセンサーに 似ている。

5. 網膜神経節細胞

網膜神経節細胞は、網膜の最も内側に位置し、視覚情報の出力を担う細胞である。視覚刺激の動きや方向、コントラストなどに選択的に反応するサブタイプが存在する。網膜で処理された視覚情報は、網膜神経節細胞の軸索の集合である視神経を通じて脳へ伝達される。

6. 血管内皮細胞

血管内皮細胞は血管の内側を覆う細胞で、血液と組織の間のバリアとして機能している。酸素や栄養の交換、炎症や血管新生の制御など 血管機能の維持に重要な役割を果たしている。

7. VEGF-A (血管内皮細胞増殖因子 A)

VEGF-A は、血管形成を促進する因子として同定された糖タンパク質。 VEGF-A を含む VEGF ファミリーはそれぞれ特異的な受容体に結合す ることで異なる生理作用を発揮する。VEGF-A は血管形成に加え、血 管透過性の調節や細胞遊走の促進にも関わることが知られている。

8. 免疫組織染色

免疫組織染色とは、抗体を用いて特定の分子を組織切片上で可視化 する方法であり、抗原抗体反応に基づいている。本研究では、蛍光 色素で標識された抗体を目的のタンパク質に結合させた後、蛍光顕微 鏡でイメージングしている。

9. ノックアウトマウス

ノックアウトマウスとは、特定の遺伝子の機能を調べるために、その遺 伝子を人為的に欠損させて作製したマウスである。疾患研究や遺伝子 の機能解析等に用いられる。

10. 蛍光色素フルオレセイン

フルオレセインは、眼科や医学研究で広く使われる蛍光色素であり、 吸収波長は約490nm(青緑領域)、蛍光波長は約525nm(緑領域) である。ナトリウム塩は水溶性で血管や細胞の可視化に適しており、 蛍光眼底造影や細胞膜透過性等の評価に使用される。

11. 蛍光眼底造影

蛍光眼底造影とは、蛍光色素(本研究ではフルオレセイン)を注射し、 網膜や脈絡膜の血流や血管の異常を撮影・評価する検査である。加 齢黄斑変性や糖尿病網膜症等の診断に用いられる。

12. 虚血性疾患

虚血性疾患とは、血流が不足し、組織や臓器の酸素供給が不十分に なることで生じる疾患である。代表例として、心筋梗塞や脳梗塞が挙げ られる。血流障害により組織が損傷し、機能障害が引き起こされる。

審査員より

- 学術的には、中枢神経系における立体的血管網形成の分子細胞メ カニズムの一部を解明した画期的な研究である。芸術性の観点から は、まるで、赤い木に緑の果実がなっている様に見えて非常に印象 深い。
- 血管と血管周囲ニューロンが、木の枝になった小さな実のように見える。血管の配置とニューロンの分布が絶妙で、壁に飾りたくなる美しさである。網膜の神経細胞群の一部に機械刺激受容チャネル Piezo2を発現して血管に接着する「血管周囲ニューロン」があることを発見し、血管網の立体構成を制御して網膜の視覚機能の発現に重要な役割を果たすことを明らかにした生理学的に重要な成果である。
- 血管周囲ニューロンが血管との Piezo2 依存的接触を介して3次元 血管格子形成を制御するという興味深い知見。いろいろな機能を形 態に反映する優れたアプローチである。
- シンプルながら向き合うと吸い込まれるような感覚を覚える作品。

特別賞

ダイヤモンドを 遷音速伝搬する 結晶欠陥

Crystal Defects Propagating Transonically through Diamond



グループ名:尾崎グループ



大阪大学大学院工学研究科 准教授

Tatiana Pikuz 大阪大学 先導的学際研究機構

片桐 健登 スタンフォード大学

Michel Koenig 仏自然科学研究センター

※論文発表当時の所属名

松岡 健之 大阪大学 光科学センター

Bruno Albertazzi 仏自然科学研究センター

Anatoly Faenov 大阪大学 先導的学際研究機構



受賞コメント

科学的な成果に対してはもちろんですが、超高速イメージングのためのア イディアと技術、また画像そのものにスポットを当てていただけたように感じ、 大変嬉しく思います。日仏を中心としたメンバーによる国際共同研究開発 を、長らく継続してきたため感慨深くもあります。「パワーレーザーと物質」 の研究は、普段感じることのできない驚きやドラマ性に満ちています。既 に新しい実験に着手したところですが、誰も見たことのない"写真"をまた撮 りたいと思っています。



フェムト秒・ナノメートル超解像 X 線イメー ジングから、超高速変形する材料(ダイヤモン ド)において、結晶中の欠陥が横波音速を 超えることが明らかとなった。

 サンブル情報
 ジイヤモントの情報が転写されたフッ化リチウム結晶 LIF 結晶中に分布したカラーセンター集団

 染色・ラベル方法等
 フェムト秒パルス X 線自由電子レーザー照射

 観察手法
 正立

 対物レンズ倍率
 10.20 倍

 作品画像取得年
 2022

ダイヤモンドを 遷音速伝搬する 結晶欠陥

Crystal Defects Propagating Transonically through Diamond

概要

結晶材料中の"欠陥"が物質固有の音速 ¹ よりも速く伝播すること を、X線自由電子レーザー²を用いた独自のフェムト秒・ナノメート ル解像 X線ラジオグラフィ³ により実証しました。半世紀以上未解 決の問題に、共焦点蛍光顕微鏡を組み合わせた全く新しい観察で 挑みました。

はじめに

一般の固体材料の永久変形において結晶欠陥4が重要な役割を 果たしていると考えられています。結晶中の転位5をはじめとした欠 陥の伝搬速度が、その物質固有の音速を超えるか否かという問い について、数多くの理論や計算による研究が行われてきました。こ れまで発表された論文の多くは、"結晶中の転位の伝播速度は横 波の音速を超えない"と主張しており、転位論の教科書でもしばし ば同様の説明が見受けられます。しかしながら最新の理論および計 算機による一部の研究では、転位が音速を超えて伝搬する可能性 を示唆しており、実験による検証が期待されていました。本研究は、 フェムト秒(10⁻¹⁵ 秒)パルスの最先端X線レーザー光源などを駆使 してこの問題の実証に挑んだものです。

超高速で伝搬する衝撃波による材料の変形

ハイパワーのレーザー⁶光を物質に集光照射すると、10 km/sの 速度をゆうに超える速度の衝撃波が物質内部に駆動され、それに 伴って大きな変形が誘起されます。ここでは、様々な分野で最重要 で、特徴的な性質を有する「ダイヤモンド」を強い衝撃波によって高 速大変形させ、その内部の様子をもうひとつの全く新しいレーザー、 X線自由電子レーザー(XFEL)によるラジオグラフで観察しました(図 1)。ダイヤモンド試料を透過してきたこのフェムト秒パルスの硬X 線⁷を、フッ化リチウム(LiF)結晶⁸で受光するという世界でも類の ない独自のX線イメージングを採用し、硬X線イメージを可視蛍光 イメージへと変換します。高輝度のX線にさらされたLiF結晶中には、 "カラーセンター"と呼ばれる準安定な格子状態が形成されます。次 にこのカラーセンターに紫外線を照射すると発される可視域の蛍光 (~600 nm)を、高性能の共焦点顕微鏡下で記録することで、フェ ムト秒且つナノメートルの時間・空間分解能を有する画像への"現 像"が実現されます。



図1 (a) 実験配置、(b) レーザー駆動衝撃波の概念図、(c) 実験時の真空容器内の様子、(d) LiF カラーセンター形成の原理、X 線露光された LiF を共焦点蛍光顕微鏡 で観察する。



図2 現像されたダイヤモンドの高速大変形の様子。一連のフェムト秒スナップショットから、ダイヤモンドすべり面 [111] 面に沿う積層欠陥の伸展が観察されている。

"結晶のズレ" が 音速を超えて伝播することを実証

時間的にも空間的にも超高解像を両立する X 線イメージングによっ て、ダイヤモンド結晶格子のすべり面¹¹に沿った"結晶のズレ"、 面欠陥の運動が初めて可視化されました(図 2)。このようなフェム ト秒のスナップショットを少しずつ時間を変えて取得し、面欠陥の先 端、すなわち転位が移動する速度を計測すると、ダイヤモンドの横 波音速よりも早くなることが初めて実証されました。音速で伝搬する 永久変形の前方に、実際には無視できない欠陥が存在していると いうことは、そこからさらに新たな波が発生する可能性があるというこ とを意味しています。物質の変形のプロセスやメカニズムは、これ までの理解とは異なり、私たちの予想以上に複雑である可能性が 見出されました。

本研究の学術的独自性と今後の展望

50年以上にわたって信じられてきた欠陥の伝搬速度の限界に対し て、世界で初めて得られた直接的な実験による証拠を提示しました。 材料の高速変形を正しく理解することは、宇宙空間での高速衝突 がもたらす変形や破壊の予測、レーザー核融合ターゲット材料の高 利得化などに直接繋がっています。このような複雑なダイナミクスを 正しくモデル化できれば、コンピュータシミュレーションでの再現精度 を上げることができます。現在、高エントロピー材料¹²、3Dプリン タ生成ナノ材料など、全く新しいタイプの材料が誕生しており、こう いった従来になかったような材料の変形や破壊の理解を先駆けて 展開していく予定です。

論文

K. Katagiri, T. Pikuz, L. Fang, B. Albertazzi, S. Egashira, Y. Inubushi, G. Kamimura, R. Kodama, M. Koenig, B. Kozioziemski, G. Masaoka,

K. Miyanishi, H. Nakamura, M. Ota, G. Rigon, Y. Sakawa, T. Sano, F. Schoofs, Z.J. Smith, K. Sueda, T. Togashi, T. Vinci, Y. Wang, M. Yabashi, T. Yabuuchi, L. E. Dresselhaus-Marais, and N. Ozaki.

Transonic dislocation propagation in diamond.

Science. 2023, 382(6666), doi: 10.1126/science.adh5563

1. 音速

音波が物質中を伝わる速度のこと。固体では一般に、波の進行方向 と媒質の運動(疎密)が平行な縦波音速と、垂直な横波音速が存在す る。物質にそれぞれ固有の音速があることが知られており、基礎的で 重要な物性値である。

2. X 線自由電子レーザー (XFEL: X-ray free electron laser)

光速に近い速度の電子ビームを磁場と相互作用させ、極めて高い周期 で蛇行伝搬させると、波長が短いX線領域の干渉性の高い光、すな わちX線レーザーを発生させることができる。日本のX線自由電子レー ザー SACLA は世界有数の装置である。

3. X 線ラジオグラフィ

試料に X線を透過させてその内部の様子を調べるためのイメージング観察手法。フェムト秒(1000兆分の1秒)パルスのX線自由電子レーザーを光源として用いることで、高速の欠陥の伸展を時間分解計測することができた。

4. 結晶欠陥

格子欠陥ともいう。不純物の侵入や原子配列の乱れなど、均質な結 晶格子の繰り返しパターンが変化する起源となる。

5. 転位

結晶の内部に存在する格子欠陥の一種で、結晶を構成する原子が本 来の規則的な配置から、原子レベルで位置ずれした状態、またはその 位置ずれそのもののこと。

6. ハイパワーレーザー

光のエネルギーを非常に短い時間に集中させることで、極めて高い強度を実現するレーザーの総称。今回用いた光学レーザーは、パルス幅がナノ秒(10億分の1秒)のパルスレーザーである。

7. 硬 X 線

光子エネルギーが高く、透過能の高い X 線。おおよそ数 10 eV ~ 100 keV 程度の範囲のエネルギーを有するもの。

8. フッ化リチウム (LiF) 結晶

フッ素とリチウムからなる天然にも存在する化合物で、化学組成の表記では LiF となる。本研究では人工合成の品質の良い単結晶を用いている。

9. 積層欠陥

面状の拡がりを持つ格子欠陥の一種。三次元の結晶は、二次元の 広がりを持つ原子の並んだ面が周期的に積み重なることで構成されて いると考えることができる。その重なりの周期性の乱れが積層欠陥で ある。

10. 塑性変形

物質に弾性限界を超える外力を加えた際に起こる永続的な変形のこと。図2の塑性波はこの変形の波頭になる。

11. ダイヤモンド結晶格子のすべり面

結晶には構造によってそれぞれ固有のすべり面があるとされ、すべり面 に沿って原子位置がずれやすくなっている。ダイヤモンドの場合はその すべり面に沿って割れやすい性質がある。

12. 高エントロピー材料

多数の異種元素を原子レベル、高濃度で混合した材料の総称。高エントロピー合金は、一般には5種以上の成分を等しい濃度で固容した合金のこと。

審査員より

- ・
 普段とは違う何かが起こりそうな1日の朝日を感じさせる芸術性に溢れた画像である。
 ・
 ・
 結晶のズレ(欠陥)
 が、物質固有の音速よりも速く伝播することを実証した極めて興味深い成果である。
- 学術的にも優れている。砂漠の向こうで爆発が起きているような雰囲気。
- 極限的なストーリー。XX を超えるという表現は確かに強い。
- 模様や色調から何かの起源を彷彿とさせるような神秘的な作品。



芸術特別賞

2 種ポリマーの併用使用が 生体ナノマシンの 運動誘導効率を高める

Combination of two polymers enhances the efficiency of guiding motion of biological nanomachines



いのうえ だいすけ **井上 大介** 九州大学 大学院芸術工学研究院 准教授

受賞コメント

この度はNIKON JOICO AWARD 芸術特別賞を賜り、誠にありがとうご ざいます。微小管は細胞形態や極性を司る重要な細胞の構造要素である とともに、ナノテク材料としても魅力的です。学生時代より、Nikon の顕 微鏡を用いて微小管が描く魅惑的なパターンを撮像し、分子バイオアート 作品として発表してきました。今回の受賞を励みにして、今後も微小管に 秘められた可能性について、科学、工学、芸術の多角的な観点から探求 して行きたいと思います。

2種ポリマーを用いたマイクロ流体デバイス の表面不活化処理により、効率的に微小 管の動きを制御できることが分かった。

 由来種
 : ブタ

 器官 / 組織 / 細胞 (株) 名 : 微小管 (脳)

 染色・ラベル方法等
 : ATTO565-NHS 標識 (シュードカラーで表示)

 観察手法
 : 倒立

 封物レンズ倍率
 : 60 倍

2 種ポリマーの併用使用が 生体ナノマシンの 運動誘導効率を高める

Combination of two polymers enhances the efficiency of guiding motion of biological nanomachines

研究背景

繊維状タンパク質である微小管¹は、キネシンモータータンパク質² を固定した基板の上で動く特殊な生体材料です(図 1a)。微小管 は全長数十ミクロン、直径 25 ナノメートル(人の髪の毛の 4000 分の1程度の太さ)という極小のサイズでありながら、強い力を発 揮することから、以前からナノテクノロジーの分野において、生体 由来のナノマシン³として期待されています。主な用途としては、微 小物質の輸送や濃縮、分離、材料の微小変形を感知するセンサー など、人間が作る機械ではできない仕事をさせることが可能です。 しかし、個々の微小管は好き勝手な方向に動いてしまうため、これ を制御する必要があります。そのため、マイクロ流体デバイス⁴を 用いて、デバイス内流路の幾何学形状により、微小管の動きを任 意に制御する技術が 20 年ほど前から開発されています。これまで に、マイクロ流体デバイスを用いて、微小管の動きを制御すること に成功した研究例は山のようにあります。しかし、デバイスを構築す るには、多くの場合、特殊な微細加工設備やデバイスの元となる 小型の鋳型(モールド)を予め作成する必要があります。



図1 生体ナノマシン微小管 / キネシン系, (a) キネシン固定基板で動く微小管の模式図, (b) 動く微小管の蛍光顕微鏡画像のタイムオーバーレイ; カラーバーは時間変化を示す, (c) 微小管のランダム運動をマイクロ流体デバイスで制御する方法の模式図



NOA を用いたマイクロ流体デバイスの 簡易作成法

光硬化性レジンである Norland Optical Adhesive, (NOA) ⁵ は フォトマスク⁶ を用いて紫外線 (UV) 照射することで、モールドフリー でマイクロ流体デバイスを作成することが可能です。 NOA を用いる ことで、一般的にマイクロ流体デバイス作成に使用されているポリ ジメチルシロキサン (PDMS) ⁷ よりも迅速にデバイスを作成すること が可能であり、SU8 樹脂などと異なり、ガラスへの接着性が高いと いう利点があります。このことから、NOA はマイクロ流体デバイス を誰でも簡便に作成できる樹脂であると言うことができます。



図 2 (a) 光硬化性レジン NOA を使った、簡便なマイクロ流体デバイスの作成法,(b) 作成した NOA マイクロ流体デバイスの顕微鏡像; デバイスは扇状部位と直線流路部 位から構成される, (c) デバイスで動かした微小管の蛍光顕微鏡画像

NOA は微小管の運動制御には使えない?

本研究では、NOA を塗布したガラス基板に対して、フォトマスクを 通して UV を 1 秒間照射し、マイクロ流体デバイスを作成しました(図 2a, b)。この手法では、硬化していない NOA を洗浄するプロセス を含めて、僅か数分間でマイクロ流体デバイスを作ることが可能で す。UV 照射には Amazon などで市販されている UV ライトを使用 しており、特殊な設備も必要ありません。このデバイスのガラス底 面にキネシンを吸着させ、微小管を動かしました(図 2c)。しかしな がら、NOAはデバイスを簡便に作れる反面、微小管を動かす動力 であるキネシンが、NOAのデバイス壁表面にも吸着し、微小管が 壁をよじ登ってしまうため、微小管の運動を適切に制御できないこと が分かりました(図 3)。



図3 (a) 2 種ポリマーによる NOA 表面の化学修飾法,(b) 微小管が NOA 壁に衝突した時の運動挙動パターン,(c)(d) ポリマー修飾の有無による、微小管の運動挙動の 違いを示す模式図とグラフ。2 種類のポリマーにより NOA 表面を不活化すると、微小管がほぼ 100% 近く、デバイスの壁に忠実に従うようになった。



図 4 2種ポリマーで不活化したマイクロ流体デバイス中で微小管を動かすと、扇状部位の壁を伝い、微小管はデバイスの直線状部位に誘導され、微小管が濃縮される(太い 束が形成される。

NOA のダブルポリマー不活化法

今回の論文では、NOA の表面をポリエチレングリコール (PEG)⁹ と Pluronic F-127¹⁰ という2 種類のポリマーを併用して不活化処 理する技術を開発し、NOA 表面へのキネシンの吸着を抑制しました (図 3a, c)。それぞれのポリマーは以前からタンパク質との相互作 用が弱いポリマーとして知られています。今回、PEG は、チオール -エンクリック反応という反応を利用して NOA 基板に共有結合しまし た。他方、Pluronic F-127 は分子内に疎水的なドメインを持ち、 疎水的な相互作用により NOA 表面に吸着させました。

不活化 NOA による 微小管の高効率な運動制御を実現

不活化していない NOA で作成したデバイスでは、微小管の運動 は全体の 10% 程度しか制御できないのに対し、NOA 表面を2種 類のポリマーを併用して不活化したデバイスでは、微小管は壁をよ じ登らず、ほぼ 100% 近くの微小管が流路の形状に従って動くこ とが分かりました(図 3d)。今回使用したマイクロ流体デバイスは、 扇状の部分とそれに続く直線状の流路部分で構成されています。 直線流路の幅が一定の幅以下の場合、扇状流路に沿って移動した微小管が直線部分で効率的に濃縮されることが確認されました (図 4)。この結果から、微小管を使って微量物質を効率よく濃縮 する用途への応用が考えられます。

今後の展望

今回、NOA を用いた表面の不活化処理によって、微小管の運動 を簡単に制御できるようになりました。これにより、微小管とキネシン という特殊な生体動力材料の応用可能性が広がることが期待され ます。さらに、この技術は微小管に限らず、他の培養細胞の動き を制御する用途にも応用が考えられ、NOA の表面をポリマー以外 の材料で修飾することで、より高機能なマイクロ流体デバイスの設 計も容易になるかもしれません。

また、マイクロ流体デバイスは、微小管やタンパク質などの生体材料の機能を、細胞サイズの微小空間で評価するツールとしても応用が期待されます。今回開発した NOA 表面の不活化処理法は、NOA 製のデバイスに対する解析対象のタンパク質の非特異的な吸着を抑制するため、顕微鏡によるイメージングの品質向上にも寄与すると考えられます。

論文

Daisuke Inoue.

Surface Passivation of Norland Optical Adhesive Improves the Guiding Efficiency of Gliding Microtubules in Microfluidic Devices. *Nano Letters*. 2024, 24(35), doi: 10.1021/acs.nanolett.4c02015



1. 微小管

微小管は構成材料である αβ - チューブリンというタンパク質が連なって できる直径 25 ナノメートル、長さ約数十マイクロメートルの中空状の生 体繊維。微小管は細胞内の物質輸送のレールとしてだけでなく、細胞 の形態維持や染色体分離、繊毛運動など、細胞内で様々な役割を果 たしている。

2. キネシンモータータンパク質

数十ナノメートル程度のタンパク質で、2 つの微小管結合部位を有す る。生体のエネルギーであるアデノシン三リン酸(ATP)を高効率に消費 して、2 つの微小管結合部位を交互に繰り出すことで、微小管上を 2 足歩行する。微小管を道路として細胞内輸送を担う。本研究では、 逆にキネシンをガラス基板に固定し、その上で微小管を動かしている。

3. 生体ナノマシン

タンパク質や DNA などの生体高分子を基盤として設計される、分子レベルのマシンである。自己組織化や分子認識など生体由来の性質を巧みに利用して設計され、医療やナノテク分野など幅広い分野において応用できる可能性を秘める。

4. マイクロ流路デバイス

マイクロ流路デバイスは、非常に細い通路内において液体の流れを正確に制御する装置である。このデバイスを用いることで、微小空間における化学反応や生体のミクロな現象を、より空間的に規格化された環境下で解析したり、制御することができる。

5. Norland Optical Adhesive, NOA

Edmund 社から販売されている光硬化性樹脂。紫外線(UV) 照射に より、迅速に硬化する。マイクロ流体デバイス作成に広く使用されてい る SU8 などの光硬化性レジンと異なり、ガラス基板との接着性が良い ため、基板の前処理などが必要ない。

審査員より

- 引き込まれるような美しさ。 ワープしそう。
- まるで、ポロックのような絵画とブラックホールが融合されたかのような 幻想的な感じを抱かせられる。
- 漆黒のサークルと周囲のエネルギーに満ちた繊細な繊維質の光のうごめきはまさにブラックホールのようで美しく吸い込まれそうになる。
- インパクトのある中で精緻な輪の形が強烈に印象に残る作品。
- 複数色の繊維のような光が重なりあうことでの深みを感じる。2重になった皆既日食のような異様な世界観を醸し出しながら、繊細な輝き方が美しい。

6. フォトマスク

微細なパターンをガラスや石英などに描画した板状の部材であり、部分 的に光を透過させる。半導体の製造工程などで微細パターンを基板上 に転写する際に用いる。今回は、光硬化性樹脂の NOA を局所的に 硬化させ、微細構造を作るために使用した。

7. ポリジメチルシロキサン (PDMS)

UV 光で硬化する NOA と異なり、熱硬化型のシリコーン系エラストマーである。マイクロ流体デバイスなどの作成に、幅広く使用されている。

8 チオール - エンクリック反応

チオール基 (-SH) とアルケン (= エン) の共有結合、ラジカル (不対電 子をもつ分子) 存在下で反応促進。NOA の材料表面には、ビニル基 (-CH=CH₂) が露出しており、チオール基を持つ PEG を反応させるこ とで、NOA 表面への PEG 修飾を達成した。

9. ポリエチレングリコール (PEG)

エチレングリコールの重合体で、水溶性、中性のポリマー。タンパク質 との相互作用が弱く、マイクロ流体デバイスやプラスチック微粒子など の表面不活化に用いられる。

10. Pluronic F-127

ポリプロピレンオキサイド (PPO) からなる中央の疎水性ブロックと、その 両側にあるポリエチレンオキサイド (PEO) の親水性ブロックからなるトリ ブロック共重合体。 PPO の疎水性ブロックは疎水的な材料基板と相 互作用しやすく、 PEO 部位がタンパク質などの生体材料が材料基板 に非特異的吸着することを抑制する。

- 吸い込まれるような勢いが素晴らしい。
- 多彩な色を持った有機的な形の線の重なりにより、所々に眩い光が 見られており、顕微鏡世界の中での美しい光を感じられた。
- 糸で創るアートのようにも見え、ビジュアルのインパクトが強い。
- 科学的な研究ではあるものの、人の網膜にも見えるような作品で、とても惹かれました。イエロー・ゴールド系の色彩も、この研究分野での未来をイメージさせる。

受賞者

2023



最優秀 JOICO 賞

連続的細胞追跡から明らかにする 毛包幹細胞の発生起源

森田 梨津子 大阪大学大学院生命機能研究科 准教授



芸術特別賞賞

Summer night festival - 人の尿路結石に見られる奇跡の美しさ-

丸山 美帆子 大阪大学大学院工学研究科 教授



優秀賞

乾燥耐性クマムシにおける 表皮細胞と筋肉細胞の蛍光ライブイメージング

田中 冴

自然科学研究機構 生命創成探究センター 極限環境生命探查室 特任助教

特別賞

対物レンズ傾斜顕微鏡が可視化した 耳石器官の平衡感覚受容メカニズム



自然科学研究機構・基礎生物学研究所 神経行動学研究部門 助教



特別賞 植物で篩部が作られる仕組み

Pingping Qian(鐵平平)

Invited faculty, Researcher Graduate School of Science, Osaka University Graduate School of Science, Kobe University

柿本 辰男 大阪大学大学院理学研究科 教授





最優秀 JOICO 賞

微小管からなる超構造体 - 無生物から作る動的アスター構造 -

稲葉 央 鳥取大学 学術研究院工学系部門 准教授



優秀賞

ゼブラフィッシュ成魚の皮膚創傷部位の 血管新生のライブイメージング

弓削 進弥 日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門 / 分子細胞構造学分野 助教

芸術特別賞賞

OVPE-GaN 結晶に見られる花弁模様

宇佐美 茂佳 大阪大学 工学研究科 助教



特別賞 動原体がつなぐ染色体と

竹之下 憂祐 大阪大学 大学院生命機能研究科・ 染色体生物学研究室 特任研究員



2021



最優秀 JOICO 賞

広視野2光子顕微鏡が明らかにした 大脳新皮質神経細胞の ネットワークダイナミクス

太田 桂輔

東京大学大学院医学系研究科 脳神経医学専攻 神経生化学分野 助教/ 理化学研究所 脳神経科学研究センター 客員研究員



特別賞

細胞核、ミトコンドリア、色素体の
 3 種類のゲノムを1つの色素で区別する
 DNA 染色色素 (Kakshine) による
 蛍光寿命イメージング像

佐藤 良勝

名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所 ライブイメージングセンター 特任准教授/ 名古屋大学院理学研究科生命理学専攻 光生物学グループ

2020



最優秀 JOICO 賞

皮膚再生を司る上皮幹細胞コンパートメント ~見ることで見えてくる幹細胞の不思議~

佐田 亜衣子 熊本大学国際先端医学研究機構 皮膚再生·老化学講座 特任准教授

特別賞

高精度な配線が実現する 記憶再生時のシークエンス入力

石川 智愛 ^{慶應義塾大学 医学部・薬理学 助教}



優秀賞

マウス精巣上体における 分泌プロテアーゼ OVCH2 の発現

净住大慈 大阪大学微生物病研究所 遺伝子機能解析分野 助教



特別賞

ヒトの筋膜構造 - 拡がるネットワーク -

西澤 志乃 株式会社ファンケル 総合研究所 研究員



優秀賞

特別賞

セルトリ細胞皮質下アクチン繊維 ナノアーキテクチャーの超解像イメージング

タムケオ ディーン 京都大学 医学研究科 創薬医学講座 特定准教授



関節破壊を惹起する悪玉破骨細胞の同定 長谷川 哲雄

2019



最優秀 JOICO 賞 植物の長距離・

_{高速カルシウムシグナル} 豊田 正嗣

埼玉大学大学院 理工学研究科 准教授



特別賞 両耳間時差を検出する 脳幹聴覚神経回路

江川 遼

名古屋大学大学院 医学系研究科 細胞生理学分野 特任助教



優秀賞

花のなかの秘密

水多陽子 名古屋大学 高等研究院・ トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任助教



細胞飢餓状態で発達した ミトコンドリア内膜の超解像画像

多喜 正泰 名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任准教授

35



石井優先生 大阪大学大学院 教授



小原 圭吾 先生 関西医科大学 講師



根本知己先生 自然科学研究機構 生命創成探究センター長 生理学研究所・教授



平井 宏和 先生 群馬大学 大学院医学系研究科・教授 未来先端研究機構・センター長



宮脇敦史先生 理化学研究所 チームリーダー

株式会社ニコン デザインセンター

橋本 信雄

岩村 暢彦 センター付乗コーボレートブランディンググループ長 **馬場 健司** センター付兼 ID グループ長

鶴田 香 エクスペリエンスデザイングループ長

吉川修平 UI&インタラクションデザイングループ長 中村明日香

星野 千恵美

記念品・参加特典



受賞者の方々への記念品、そしてご応募いただいた方へお送 りする参加特典は、ニコンでデザイン、またできる限りニコンで 制作をしています。

記念品となる盾は、ニコンの金属 3D プリンター Lasermeister を用いて造形、受賞者の方々のお名前をレーザー刻印していま す。最優秀 JOICO 賞は、ニコンが 1925 (大正 14) 年に発 売されたニコン設計による初の顕微鏡 "JOICO"をイメージした 盾を立体的に作成、優秀賞、特別賞もまた"JOICO"をデザイン、 造形しています。また参加特典は、新たにマグカップとコースター を採用し、研究室にも馴染むシンプルなデザインと実用性を兼 ね合わせています。

NIKON JOICO AWARD だけでしか実現できない記念品や参加特典。ぜひ研究者の皆様方に手に取っていただきたく、来年のご応募をお待ちしております。

「JOICO 顕微鏡」 発売

1917 (大正 6) 年7月25日、当時の東京市小石川区原町120番地(現 文京 区白山四丁目)に、測距儀、顕微鏡などの光学機器の国産化を目指し、日本光学 工業株式会社が誕生した。ニコンの一世紀にわたる足跡の第一歩である。

この時代の日本にとって、より高度な光学機器の国産化は急務であった。その実現 を託されたのが、三菱の創業者である岩崎彌太郎の甥であり、当時の三菱合資会 社社長、岩崎小彌太(こやた)である。

そして、東京計器製作所の光学計器部門、岩城硝子製造所の反射鏡部門、藤井 レンズ製造所を統合した新しい光学会社設立が計画された。これにより、日本光学 工業株式会社、今のニコンが誕生することになる。

ニコンは創業時から顕微鏡の開発に携わり、当時の定款の生産品目にもあげられて いる。顕微鏡の発展に力を尽くしたのが、ドイツから招いた技術者の一人であり、顕 微鏡設計に豊富な経験を持つハインリッヒ・アハトだ。顕微鏡用の対物レンズの設 計に着手し、ドイツ流の新方式を採用しながら改良を重ね、レンズの精度を向上させ ていった。その努力が実り、1925 (大正 14)年には「JOICO (ジョイコ)顕微鏡」 を発売。最大 765 倍まで拡大できる、当時としては画期的な顕微鏡だった。

ミクロの世界から 生命の未来を照らせ。



NIKON JOICO AWARD

発行責任者:株式会社ニコンソリューションズ バイオサイエンス営業本部 協 賛:株式会社ニコン

〒140-0015 東京都品川区西大井 1-7-11 TEL:03 (3773) 8138 E-mail:Nsl-bio.Marketing@nikon.com Website:https://www.healthcare.nikon.com/ja/ss/joicoaward/



NIKON SOLUTIONS CO., LTD.