LS1B3

一分子イメージング用高感度カメラ

○丸野 正 (浜松ホトニクス (株) システム事業部第1設計部 第14部門)

近年のイメージセンサの高感度化には目を見張るものがある。従来技術の改良型センサとしてイメージインテンシファイアの光電面を半導体光電面 (GaAsP) に変更することによって、MCPの増倍機能に高量子効率 (最大50%) を組み合わせた新しいイメージインテンシファイアが製品化されている。また、この半導体光電面と、背面照射型CCDを組み合わせたEB-CCD (電子打ち込み型CCD) も、MCP特有の増倍揺らぎが少ないことから、センサゲインがイメージインテンシファイアよりも低いにもかかわらず、そのHS/N特性によって、かなりの検出感度を実現している。さらには、CCDの高感度化は、背面照射CCDを中心に量子効率が100%に限りなく近づいていて、究極のセンサとなりつつあるが、その読み出しスピードという点で、センサに増倍機構がないため、トレードオフとなり、現在では高速化と高感度化の両立が最大の開発要素となっている。このような中、このCCDの水平転送レジスタ内にインバクティオナイゼーション (または、アバランシェ増倍) 機能を持った、自己増倍型CCDが新しく開発され、注目を浴びている。今回のセッションでは、これらのセンサのメリット、デメリット、相互比較を中心に、高速、高感度を必要とする一分子イメージングに適したセンサの検討を行っている。

T.Maruno : High sensitivity cameras for single molecular Imaging.

LS1J1

CT法による透過電子顕微鏡像の3次元再構成”TEMトモグラフ”の紹介

○西岡 秀夫¹、古河 弘光²、清水 美代子² (¹日本電子株式会社・応用研究センター、²日本電子システムテクノロジー株式会社・第5技術部)

透過電子顕微鏡 (TEM) の試料は本来厚みがあります。しかし、TEM像は、普通は試料が薄いので、あたかも2次元像のように見られてきました。このTEM像を簡単に3次元観察できれば、試料のより細かな構造を知るための有効な手段となるでしょう。この度、私どもは、透過電子顕微鏡像の3次元再構成の為のソフトウェア”TEMトモグラフ”を開発・発表しました。これは、X線CT、MRIなどによる断層撮影と同じ原理—CT (Computerized Tomography) 法—をTEMに応用したものです。試料を一定の傾斜角で連続的に変えながら画像を得るだけで、1枚の試料 (組織の超薄切片など) からその立体構造を再構成することが可能となります。試料を大きく傾斜できるTEMがあれば、多くのTEM像を立体化することが可能となりました。

CT法の原理は、周知のものです。TEM特有の問題点 (試料の位置ずれ、傾斜角度制限による情報欠落、傾斜軸ずれなど) があり、そのまま適用するだけではうまく3次元再構成出来ませんでした。”TEMトモグラフ”は、これらの問題点を解決した上で、面倒な操作無しでほとんど自動的に3次元再構成が可能なソフトウェアです。ここでは、このソフトウェアの概要とそれに必要なTEM像の取得法および応用データについてご紹介します。

H.Nishioika, H.Furukawa, M.Shimizu : System for Three-Dimensional Reconstruction of TEM Images Based on Computerized Tomography Method

LS1C2

マルチモード光学顕微鏡の基礎と応用

○曾我部 正博^{1,2}、辰巳 仁史^{1,3} (¹名古屋大院・医学系・細胞情報医学、²ICORP・「細胞力覚」・JST、³CREST・JST)

光学顕微鏡の改良と分子蛍光標識法の発展によって、生きた細胞中で機能する生体分子のリアルタイム解析が可能になった。その結果、一分子動態、分子間相互作用、オルガネラと分子の相互作用など、あらゆる細胞機能の重要場面で光学顕微鏡による観察と分析が行われるようになってきた。これに加えて、レーザーをはじめとした光源や照明法、さらには映像をとらえる受光素子の技術革新が続いており、光学顕微鏡法は、さらなる発展が期待できる技術に成長してきた。その中でも、分子やその集合体のさまざまな側面に対応した複数のパラメータの同時計測と、それを可能にするマルチモード光学顕微鏡は、分子や細胞のもつ多様な機能を理解する上できわめて重要な手法になりつつある。たとえば、パッチクランプによる電流計測と蛍光標識を用いた分光光学の組み合わせは、イオンチャネル開閉の構造機能連関のリアルタイム解析を可能にする。あるいは、電流測定と高速Ca²⁺イメージングの結合は、チャネルの微細分布に関する知識を与える。また近接場/共焦点イメージングの組み合わせは、膜とその近傍での細胞内イベント (例えばエンド・エクソサイトーシス) の詳細な動態解析を可能にする。本セミナーでは、最近進歩の著しい近接場顕微鏡の構成法を解説したのち、これと他のイメージング法や電気測定を組み合わせで見えてくる、細胞の新しい世界について紹介する。

M.Sokabe, H.Tatsumi : Introduction to multi-mode light microscopy and its application to cell biology

LS3A1

Diffusion barrier in the neuronal cell membrane: a single molecule study

○中田 千枝子¹、Ritchie Kenneth^{1,2}、藤原 敬宏¹、中村 光裕³、大場 裕一⁴、堀田 陽子¹、飯野 亮太¹、山口 和彦⁵、楠見 明弘^{1,2} (¹ERATO・JST、²名大院・理・生命、³電通大・量子物質工学、⁴名大院・農・分子生命、⁵理研・BSI)

For polarized functions of neurons, various membrane proteins must be localized either in the somatodendritic domain or the axon. In addition to polarized delivery of membrane proteins to each domain, neurons must somehow block diffusional mixing of delivered proteins between these domains. However, the presence of a diffusion barrier in the cell membrane of the axonal initial segment (IS), which separates these two domains, has been controversial: it is difficult to conceive barrier mechanisms by which even diffusion of phospholipids could be blocked. In this study, we observed dynamics of individual membrane molecules in the plasma membrane of developing hippocampal neurons in culture. we found that their diffusion was blocked in the IS membrane, and that the diffusion barrier is formed in neurons during 7-10 days after birth by the accumulation of various transmembrane proteins that are anchored to the dense actin-based membrane skeleton meshes being formed under the IS membrane.

C. Nakada, K. Ritchie, T. Fujiwara, M. Nakamura, Y. Oba, Y. Hotta, R. Iino, K. Yamaguchi, A. Kusumi : Diffusion barrier in the neuronal cell membrane: a single molecule study