

生体を透明化する水溶性試薬「Scale」

2011年8月30日プレスリリース

蛍光タンパク質に代表される蛍光標識技術により、生物組織の中で細胞集団を浮かび上がらせて見ることができるようになった。しかし、組織の中は光の散乱が著しいために深部は見えない。光の散乱を取り除くために組織を透明化する方法があるが、従来の透明化試薬は有機溶媒がベースになっており、観察すべき蛍光シグナルを消してしまうという問題があった。今回、理研和光研究所 脳科学総合研究センター 細胞機能探索技術開発チームは、尿素をベースに蛍光シグナルに影響を与えず固定組織を透明化する水溶性試薬「Scale」を開発。蛍光標識した神経細胞などを脳表面から数mmの深部に至るまで高精細で観察することに成功した。「生きたまま透明化する技術の開発」を最終目標に掲げる宮脇敦史チームリーダーに今回の成果について聞いた。

—Scaleを開発したきっかけは。

宮脇：蛍光標識した脳内の神経細胞集団の画像データをもとに神経細胞間の連結を調べる「コネクトミクスプロジェクト」が現在、世界規模で進んでいます。私たちはマウスの脳を切らずに、組織の深部の蛍光シグナルを高精細に観察する技術の開発に強い関心を抱いていました。きっかけは不意に訪れました。濱裕 研究員が、生化学実験に使う合成膜が高濃度の尿素水溶液に浸すと透明になることを発見。私たちはこの現象に注目しました。私は、蛍光タンパク質が高濃度の尿素にびくともしないことを、米国のロジャー・チェン博士（2008年ノーベル化学賞受賞）の研究室に留学していたときに何度も確認していたので、“これはいける”と思いました。

—透明化はどのような方法で行うのですか。

宮脇：尿素にさまざまな化合物を配合し、試行錯誤の末、グリセロールと界面活性剤（トライトンX-100）を混合した水

溶性試薬「Scale」が完成しました。組成は驚くほど簡単です。この試薬にホルマリンで固定したマウスの脳や胎仔を浸しておくと、2日～2週間でゼリーのように透明になります（写真1）。しかも、Scaleの中で半永久的に保存できます。

—Scaleによる観察の特徴は。

宮脇：組織を表面から深く、そして高精細に観察できることです。一つの神経細胞を一本の木に、一つの神経細胞集団を一つの森に例えてみましょう。電子顕微鏡や光学顕微鏡による観察は、高精細でもその規模は大きくて1mm角の組織片内に限られるので「木を見て森を見ず」といえます。一方、MRI（核磁気共鳴画像装置）やPET（陽電子放射断層撮影法）による観察は、粗くてもその規模が個体丸ごとなので「森を見て木を見ず」といえます。しかし、Scaleを使うと両者間のギャップを埋める、すなわち「木も森も見る」ことが可能です。さらに、透明化しても洗浄すれば元の状態に戻ることが分かりました。Scaleを使って全体をズームアウトした後に、注目する部分にズームインできるのです。

—2008年に開発した「Fucci」を導入したマウスを観察したそうですね。

宮脇：Fucciは細胞周期を可視化する蛍光プローブです。Fucciを導入したマウスでは、生後間もない脳の海馬の中で細胞分裂に向かう神経幹細胞の核が緑色に光って見えます。このマウスの全身の血管を赤色の蛍光色素で標識しました。そして、ホルマリン固定した脳をScaleで透明化した後、二光子励起顕微鏡を使って緑と赤の2色蛍光観察を行いました。その結果、海馬の歯状回で神経幹細胞の核が血管に寄り添う様子を観察できました（写真2）。また、私たちが独自に開発したソフトウェア「RINZŌ」使って解析したところ、分裂する神経幹細胞の核がほかの神経核に比べて血管に近いことが分かりました。これは、神経が新生する際に必要な栄養が血管から供給される現象に関連すると考えられます。

—今後の展開は。

宮脇：組織透明化技術を中心に、ハードウェア、ソフトウェア、蛍光タンパク質、神経解剖学などを巻き込んだ「Scale」プロジェクトが現在、進行中です。今後はマウス以外の実験動物、脳以外の器官・組織、さらにヒトの病理標本への適用が考えられます。標本全体をくまなく観察し、病変を確実に見つけ出す技術への発展を遠からず期待しています。冒頭の「コネクトミクスプロジェクト」への貢献はすでに始まっています。ただし、最終の目標は生きたまま透明化する技術の開発です。

※ この研究は、JST「戦略的創造研究推進事業（ERATO）」宮脇生命時空間情報プロジェクトとともに行った。

● 『Nature Neuroscience』 オンライン版（8月30日）掲載



写真1
Scaleを使って透明化したマウスの胎仔（胎生15日）

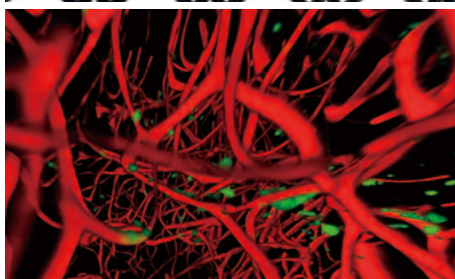


写真2
マウスの海馬における神経幹細胞の核（緑色）と血管（赤色）