

海外だより



Woods Hole での 2 年 7 ヶ月

加藤 薫*

MBL (Marine Biological Laboratory) は、1888 年設立の民間研究所である。私は 1996 年 6 月から 1999 年 1 月まで MBL の Architectural Dynamics in Living Cells Program で Postdoctoral Research Associate として働いた。

MBL はボストンの南約 80 マイルのウッズホールにある。この村は、昔、捕鯨で栄えた村だが、現在は、生物学、海洋学、水産学の研究教育拠点として、ポストニアン人の避暑地として賑わっている。避暑地だけに冬はとても寒い。真冬には研究所前の海をアザラシが泳ぐ。華氏 0 度（氷点下約 20 度）以下になることもある。寒い年には海面が凍り、沖まで氷上を歩けるといふ。MBL 設立当時、夏だけ教育研究が行われたのも頷ける。今も、夏は各国の研究者や学生で賑わうが、冬は閑散とする。現在、MBL の夏の訪問者数、1000 人以上に対し、通年の職員は事務員も含めて約 200 人（うち研究者 30 人）である。

MBL の特色の一つは、大学院生やポスドクを対象とし、複数の研究分野で催されるコース（実習）である。特に夏のコースは講師陣が多彩で期間も長く（45～60 日）充実している。コースの講義（研究室での実習を除く）は、MBL に滞在する研究者は誰でも無料で聴講できる。著名な学者も聴講し、学生と共に質問を浴びせとても活気があふれる。

さて、私が所属した Architectural Dynamics in Living Cells Program は井上信也先生と Dr.

Rudolf Oldenbourg が設立した。光学顕微鏡と画像処理を駆使した、細胞内の分子の動態の研究が、共通のテーマである。メンバーは井上先生 (Director), Rudolf (Associate Scientist), 私, 秘書, 2 人の技師, 合田真さん (京大藤吉研からの visiting scientist) の合計 7 人である。合田さんは井上先生との仕事に従事し、私は Rudolf に雇われ、彼のプロジェクトに従事した。

井上先生は、レクティブファイアー（偏光顕微鏡用の光学部品）やビデオ顕微鏡を開発し、紡錘体や細胞内の分子の動態、DNA 分子構造等を研究してきた。現在は 4D-顕微鏡 (z-series を一定の時間間隔で繰り返し記録する) や共焦点顕微鏡、遠心偏光顕微鏡の開発とそれを用いた生物学の研究を精力的にされている。昨年は Video Microscopy という 700 ページの本と数編の First author の論文を出版された。30 分刻みの予定を電子手帳に記録し持ち歩きとても忙しそうである。研究以外の仕事の依頼も多いようで、秘書と随分長く話をしていることもある。

先生が一番楽しそうなのが、ご自分で実験をされる時である。先生は、午前中は事務処理や論文執筆などのデスクワークをし、午後から実験を始める。時には夜 9 時過ぎまで、実験をなさる。1997 年のアメリカ細胞生物学会の前、私が発表の準備で深夜 12 時になった時、先生の部屋を見ると明かりがまだ灯り、遠心顕微鏡の発表の準備をされていた。私は大変驚き、研究への情熱を感じた。先生との議論は大変実り多い。MicroCALI や 2 光子励起の共焦点顕微鏡など、最新技術を踏まえて、実験のヒントを数多く与えてくれる。

Rudolf は優秀な物理学者で、顕微鏡画像の処理

*電子技術総合研究所超分子部

[〒305-8568 つくば市梅園 1-1-4]

Kaoru Kato: Supramolecular Division Electrotechnical Laboratory, 1-1-4 Umezono, Tsukuba, 305-8568 Japan.

に興味を持っている。顕微鏡をカメラに例えるなら、彼は“カメラ”を作り改良する“エンジニア”であり、私も含め生物学者は“写真”を撮る“カメラマン”であろう。彼は液晶を用いた偏光顕微鏡(New Pol-Scope)を開発し⁶⁾、その改良と生物学への応用を模索していた。この顕微鏡は、蛋白質の線維束に含まれる線維の量とその方向を、生細胞で瞬時に見積もれる。サンプルの光学的性質(複屈折)を利用するので、蛍光染色は必要なく、生きた細胞をそのまま観察できる。

一般に偏光顕微鏡は、複屈折性^{脚注1)}の試料(結晶や細胞骨格)の観察に使われる。通常の偏光顕微鏡は、試料の方向により検出能が変わることや複屈折の計測と解析に膨大な時間と手間を要することが短所である。これを改善するためにRudolfはNew Pol-Scopeを作った。この顕微鏡は、試料の方向に関係なく、複屈折(複屈折位相差^{脚注2)}とslow axis orientation)を同時多点計測し、画像として表示する。複屈折に関するこの2つの物理量から、蛋白質の線維束に含まれる線維の本数と方向を算出する。

私の仕事はこのNew Pol-Scopeを“有効に”使った生物学の研究だった。新しい顕微鏡がどれだけ役立つか未知数で、Rudolfは良い応用例を探していたのだ。この顕微鏡を使う限りテーマは自由だという。Rudolfはノースカロライナ大学(UNC)のDr. E. D. Salmonと共同で、紡錘体の微小管を観察していた。微小管を扱えば確実に結果がでるが、彼等以上の仕事をしなければならぬ。これは微小管に関するバックグラウンドがない自分には難しく思えた。そこで独自のテーマを探し、アクチンに基づく構造を無染色の生細胞で観察することにした。

この“アクチンの観察”は無謀だと思った人も多かった。“今なら間に合うから他の研究室に移れ”とある人からは頻繁に勧められた。一方、この頃、MBLを訪問された平本幸男先生には「皆が不可能だと思っていることの中にも、よく考えて

みると、少しの努力でできることがあるものだから……」と言われ大変励みになった。

私は、まず初めに、カプトガニ精子の先体のアクチン束を用いてNew Pol-Scopeの性能を評価し、どの程度の太さのアクチン束が見え得るかを検討した¹⁾。その結果から、数本以上のアクチン線維を含む束なら、光学条件が良ければ、観察できると予想した。このサイズのものには、ストレスファイバーや糸状仮足に付随するアクチン束がある。私は、観察に適した材料を探し、神経の成長円錐を選んだ。

成長円錐は伸長中の神経突起の先端の構造である。“蛙の手”のような形で、“指”のように糸状仮足(filopodia)が放射状に配列し、その間を“水かき”状の葉状仮足(lamellipodia)が埋める。糸状仮足には神経伸長のセンサーがあるとされている。アクチンに基づく細胞骨格は、放射状に配列した糸状仮足に付随する“アクチン束”と葉状仮足の“アクチン線維の網目”からなる。

成長円錐の観察はうまく進んだ。予想通り、New Pol-Scopeで糸状仮足に付随したすべてのアクチン束を無染色で可視化することができた²⁾。アクチン束が動き回る様子(アクチン束の核形成、伸長、束化、滑り等)を微速度映画に記録した³⁾。

次に、糸状仮足の動き、アクチン束の動き、アクチン束の形の関係を、コンピューターによる画像解析で検討した。そして糸状仮足の過去の動きが、アクチン束の形として、痕跡に残ることを証明した^{4,5)}。この痕跡を調べれば、ある時点の一枚の静止画像(電顕や蛍光顕微鏡写真)から、過去数分間の糸状仮足の動きがわかる。この関係は今までに撮影された成長円錐の電顕写真にも当てはめられる。撮影前の数分間の糸状仮足の動きが推測できる。すでに記したが、糸状仮足は神経伸長のセンサーを持ち、その運動の解析は極めて重要である。

私は、MBLで神経の仕事を始めることができ

脚注1) 複屈折: 試料中の光波の振動方向により屈折率が違う性質。屈折率は光速度に反比例するので、試料中の光波の振動方向により、光速が異なる性質とも言える。複屈折は異方性結晶の光学的性質の一つである。

脚注2) 複屈折位相差: 複屈折性の試料を単色光が透過すると、振動方向が直交する2つの光波(e波とo波)に分かれる。このe波とo波の位相のズレを複屈折位相差(Birefringence retardationあるいは、retardance)と呼ぶ。

た。これは“牧場のように自由に”という井上先生の方針が大きいと思う。この自由は放任ではない。井上先生と Rudolf には議論に付き合ってもらい、的確なアドバイスを頂き、また、複屈折と偏光の講義(11回)をして頂いた。これは本当に役立った。私は自分の仕事だけを考えて“牧場で暮らす”ことができたのだ。アメリカでは give and take と言われるが、私にはあてはまりそうにない。give して頂いたものは多すぎて余りある。

井上先生が実験中に、「こんな××××だと団先生に叱られてしまうな」と自分自身におっしゃるのを何度か聞いた。団勝磨先生のことである。80歳代後半までご自分で実験を続け論文を書き続けた方である。私は『風姿花伝(花伝書)』の年代稽古の条の最後の一節を思い浮かべた。“本当の花はいつまでも残る。枝葉が減って、ますます映える花こそ、本当の花である。”と、生涯、優れた能を舞い続けた観阿弥を、この本は賞賛している。この“花”とは能の芸力のことだ。能と生物学では対象そのものは大きく違うが、本質には共通点があるのではないかと私は感じた。

Rudolf は New Pol-Scope の生物学への応用の他に、この顕微鏡画像の3D デコンボリューションを進めている。点像分布関数(PSF)を元に、計算で光学的切片を求めるのだ。この方法は蛍光顕微鏡では確立しているが、偏光顕微鏡では行われていない。これが確立すれば、分厚いサンプルの光学的切片が無染色で観察可能になり、Rudolf の顕微鏡は強力な研究手段となる。成功を願っている。Rudolf も含めた MBL の研究者は、ほとんどすべてソフトポジション(外部資金のみでサポートされる)である。これはアメリカでも厳しい部類に入るそうだ。グラント獲得に大変な労力を費

やしていた。うまく行くことを心から願っている。

私は MBL で2年7ヵ月を過ごし日本に帰った。MBL で学んだことを自分の仕事に活かしたいと思う。現在は細胞の蛍光観察が広く行われ、偏光はマイノリティである。しかし、流行が正しいとは思わない。偏光顕微鏡と生理学とを組み合わせれば面白い仕事ができると思う。私は MBL では生物学者として働き、光学の仕事をしなかったが、光学に興味を持つきっかけを与えられたことを嬉しく思う。今後、少しでも光学を勉強し仕事に生かしたい。最後に、この小文は、物理学者としても光学の分野で素晴らしい業績を上げている井上先生と Rudolf を見て、“門前の小僧”が感じたことであると、申し添えて筆を置かせて頂く。

謝 辞

今回の留学にあたり、快く推薦状を書いて下さった平本幸男先生、田沢仁先生、高橋三保子先生、内藤豊先生、アドバイスを頂いた杉晴夫先生、菊山宗弘先生、MBL でお世話になった井上信也先生、Dr. R. Oldenbourg, Dr. P. J. S. Smith, Mr. B. Knudsen, Mr. T. Gierr, Ms. K. Hammar, Ms. J. MacNeil, Dr. L. F. Jaffe, Dr. N. Sharshar, Dr. P. Tran, に感謝を表します。

文 献

- 1) Katoh, K. et al.: Biol. Bull., 191: p270-271, 1996.
- 2) Katoh, K. et al.: Biol. Bull., 193: p219-220, 1997.
- 3) Katoh, K. et al.: Mol. Biol. Cell, 10: p197-210, 1999.
- 4) Katoh, K. et al. Proc. Natl. Acad. Sci., (in press)
- 5) Katoh, K. et al.: (in preparation)
- 6) Oldenbourg, R.: Nature, 381: p811-812, 1996.