

ネズミと会話ってできるの？

京都大学医学系研究科病態生物医学 / 生命科学研究科生体制御学

顕微鏡の歴史

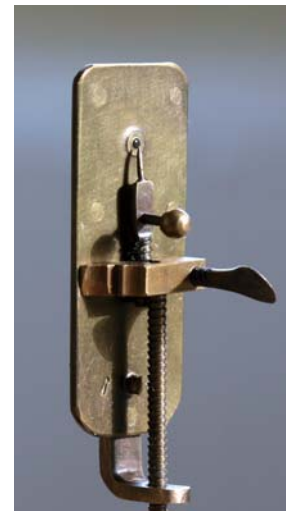
1590 年頃

オランダのヤンセン親子が顕微鏡の原形となるものを作った。



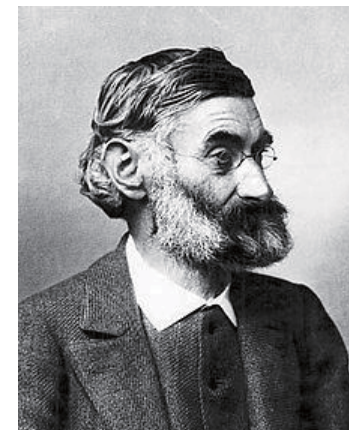
1680 年頃

レーウエンフックの顕微鏡で、初めて微生物の観察が行われた。

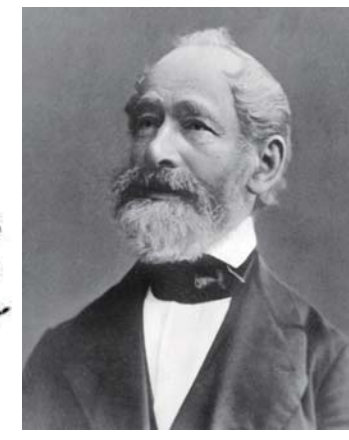


1870 年頃

アッペの発表した顕微鏡対物レンズ計算法をもとにツァイスが顕微鏡の性質を向上させ、製品化した。



$$d = \frac{\lambda}{2 \sin \alpha}$$



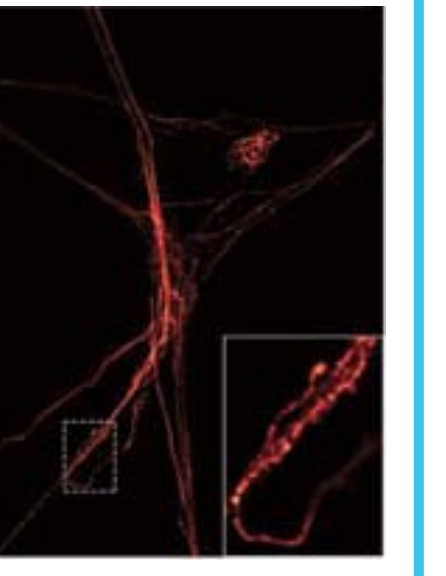
1936 年

位相差顕微鏡をゼルニケが発明。1953 年にノーベル物理学賞を受賞。



2014 年

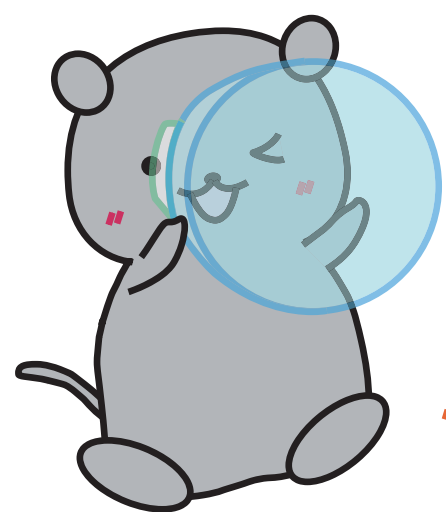
エリック・ステファン・ウィリアムの 3 名が超高解像度の顕微鏡を発明し、ノーベル化学賞を受賞。



1600 年

1800 年

2000 年



ペットボトルで作ったレーウエンフックの顕微鏡を覗いてみよう！

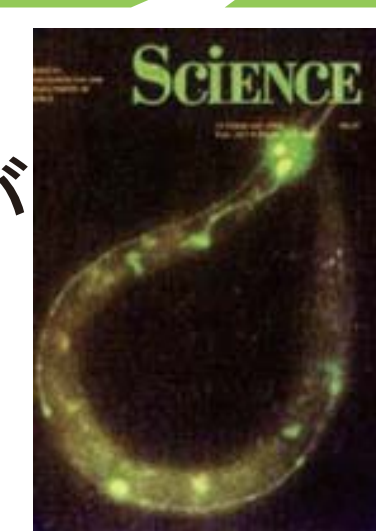
1958 年
松田道行
誕生



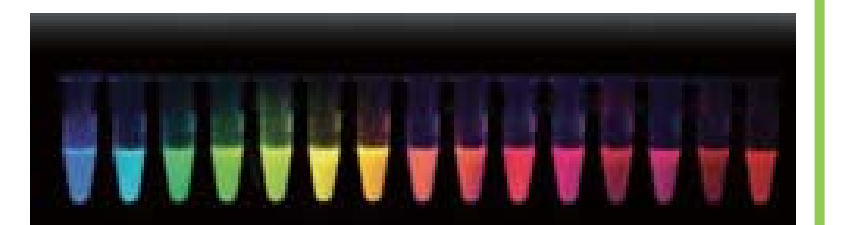
1960 年代
下村 脩が
緑色蛍光
タンパク質 (GFP) を発見



1990 年頃
チャルフィーが
GFP で光る
線虫を作る。



1994 年～
ロジャーが GFP の
カラーバリエーションを
作成



分解能

分解能

2つの点を「2つ」として
区別できる性能

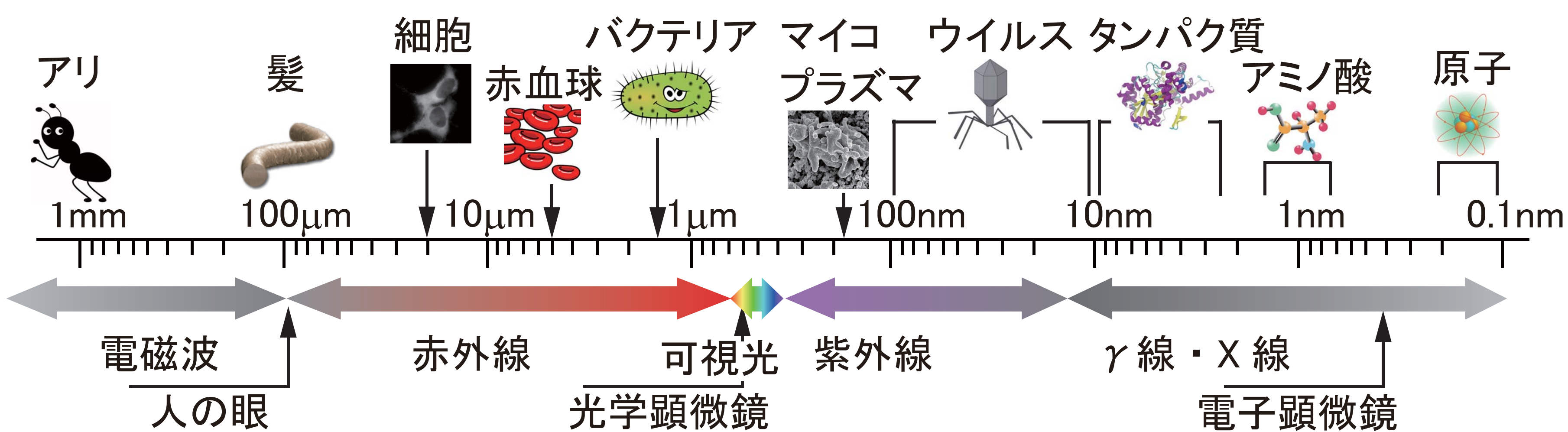
2点間の距離が短いとき

分解能
低い

区別できない

分解能
高い

区別できる



やってみよう！！

『分解能の違いで
物の見え方はどう変わる？？』

目

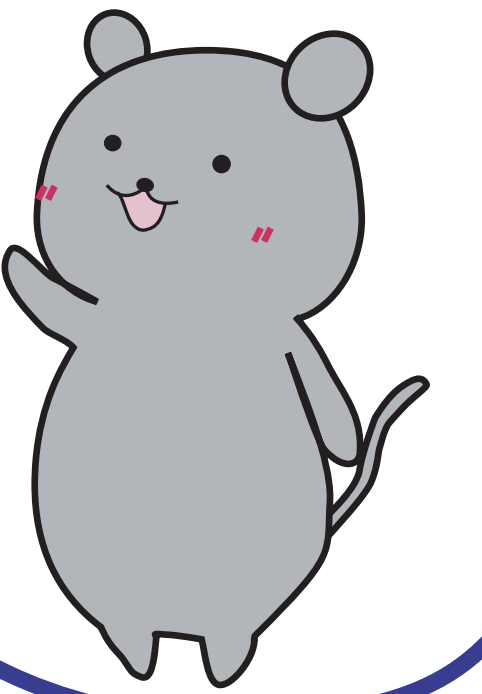
位相差顕微鏡

カメラ

レーウエンフック
の顕微鏡

顕微鏡

光の限界



『ノーベル賞！！

位相差顕微鏡・超解像顕微鏡って何がすごいの？？』

位相差顕微鏡

光の回折、干渉という2つの性質を利用
明暗のコントラストにより標本を可視化

回折とは

光が一部直進せず
回り込んで進む性質
⇒夕焼けが赤い理由



干渉とは

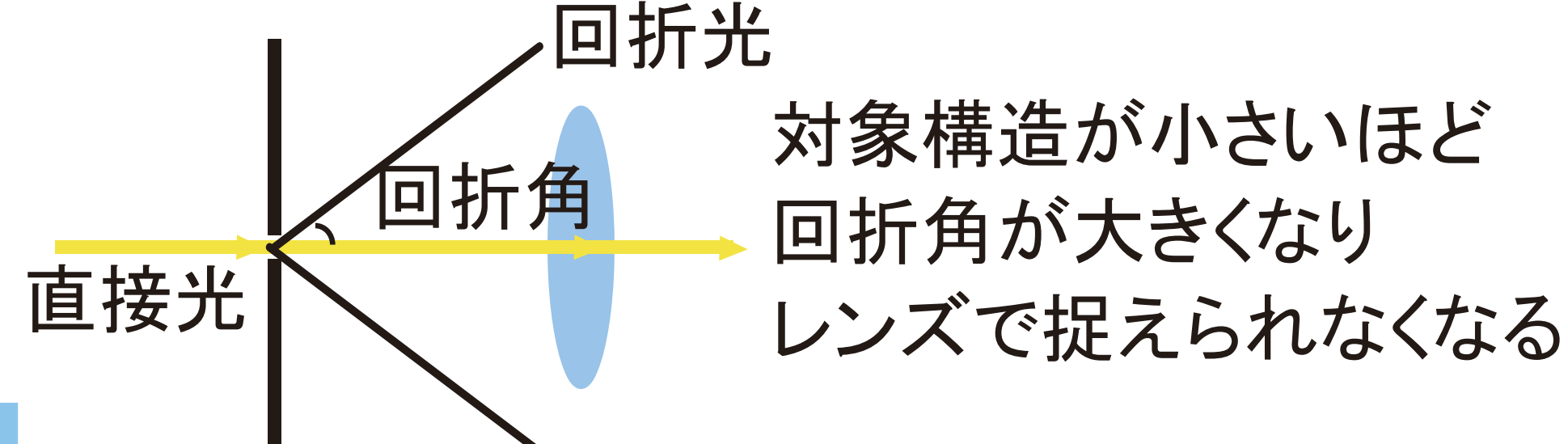
波が重なり、打ち消したり
弱めたりする性質
⇒DVD が七色に見える理由



超解像顕微鏡

蛍光分子の特性を巧みに利用
従来の限界を超えた細かい構造を可視化

回折限界



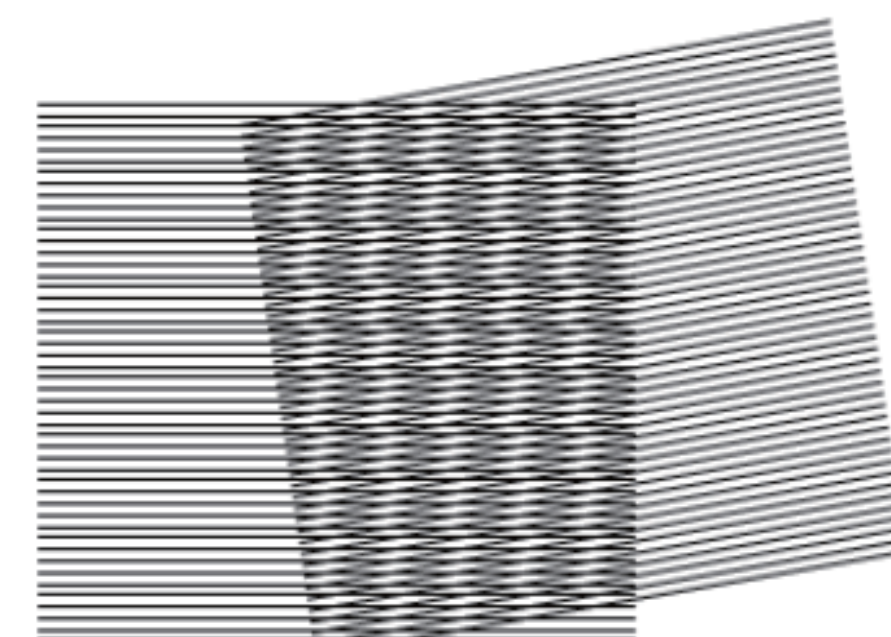
STED, PALM, STORM など
特性の異なる様々な手法が存在

『無色透明の生きた細胞が観察できる』

『顕微鏡でみえる解像度の限界を越えた』

『ノーベル賞を受賞した2つの発見により
分子レベルのライブイメージングが可能に』

ここでは超解像顕微鏡の手法の一つ
SIM = Structured Illumination Microscopy
にも応用されるモアレを実習しましょう！！



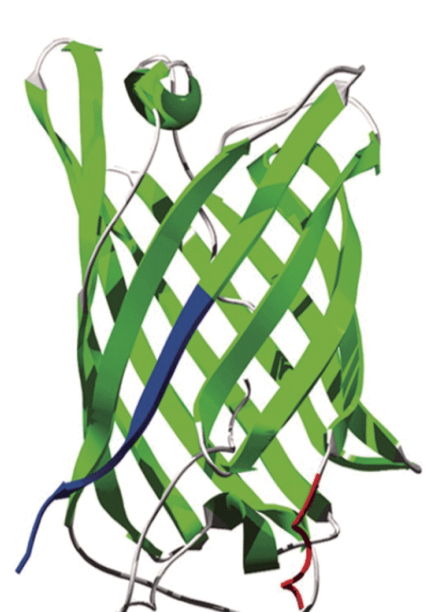
モアレ！？



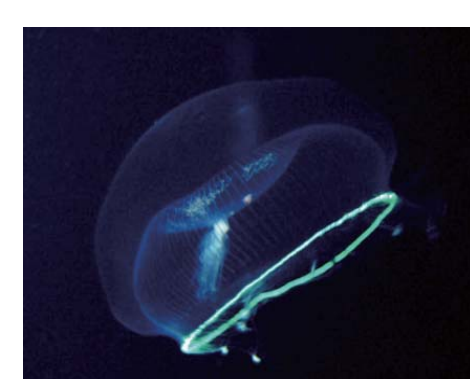
干渉により発生する縞模様。
規則正しい模様を複数重ねた時に
周期のずれにより視覚的に発生。

GFP: 細胞との対話に大切なツール

オワンクラゲの作る緑色蛍光タンパクとして発見



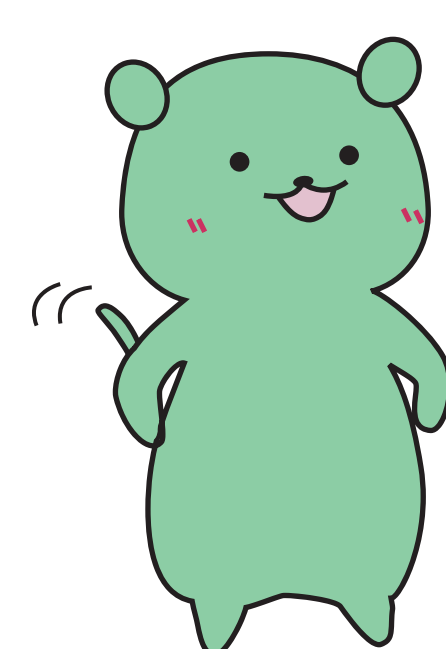
GFP



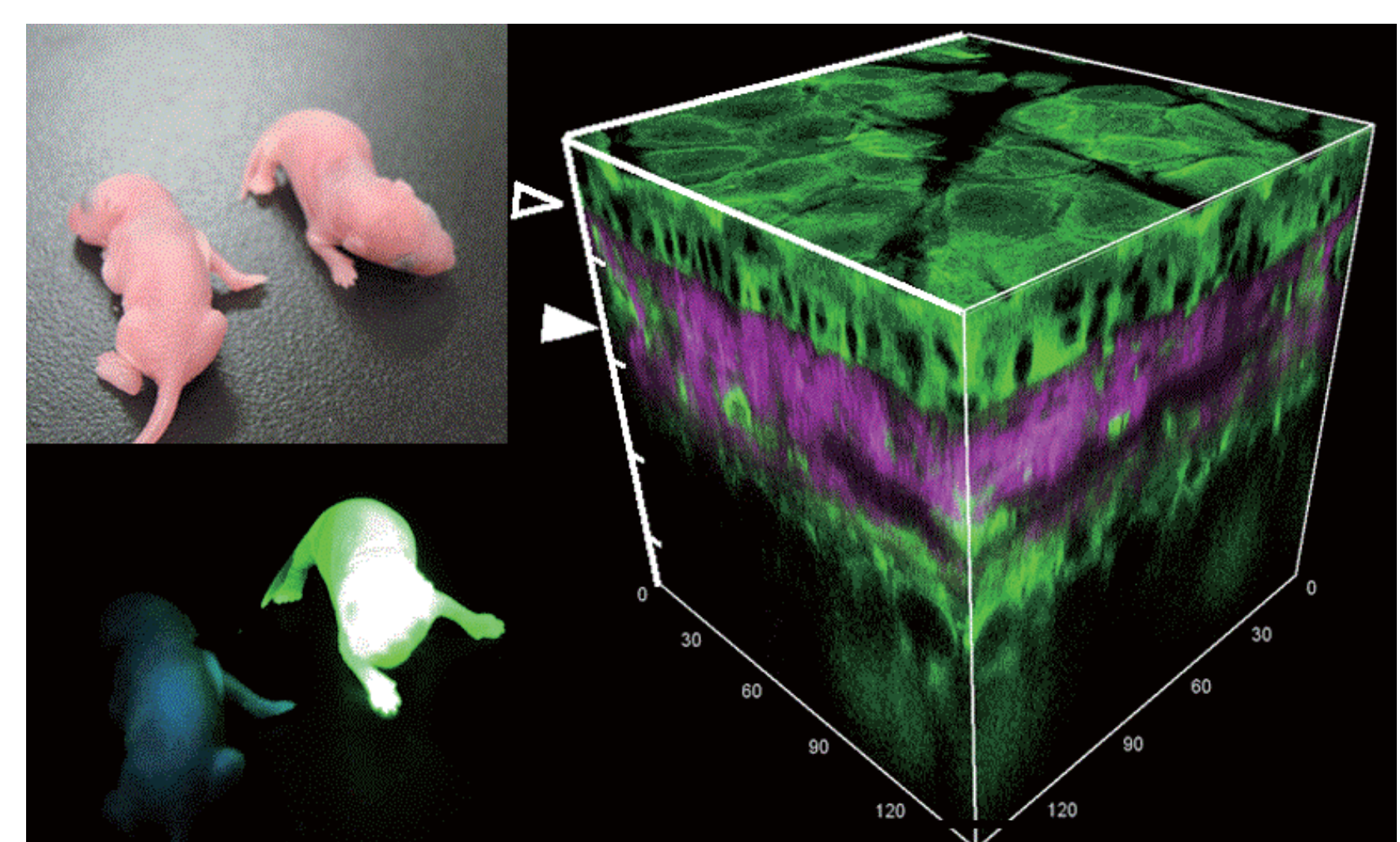
オワンクラゲ

GFP タンパク質の一部、
Ser65-Tyr66-Gly67 の環化・酸化により
発色団として機能。

目的とするタンパクのマーカールとしてのみでなく、
様々な細胞内事象のモニターとして用途が拡大。



GFP を発現する
遺伝子改変動物が
生命現象の解明に大活躍！



光で解き明かす、細胞 1 つ 1 つの心のかたち。

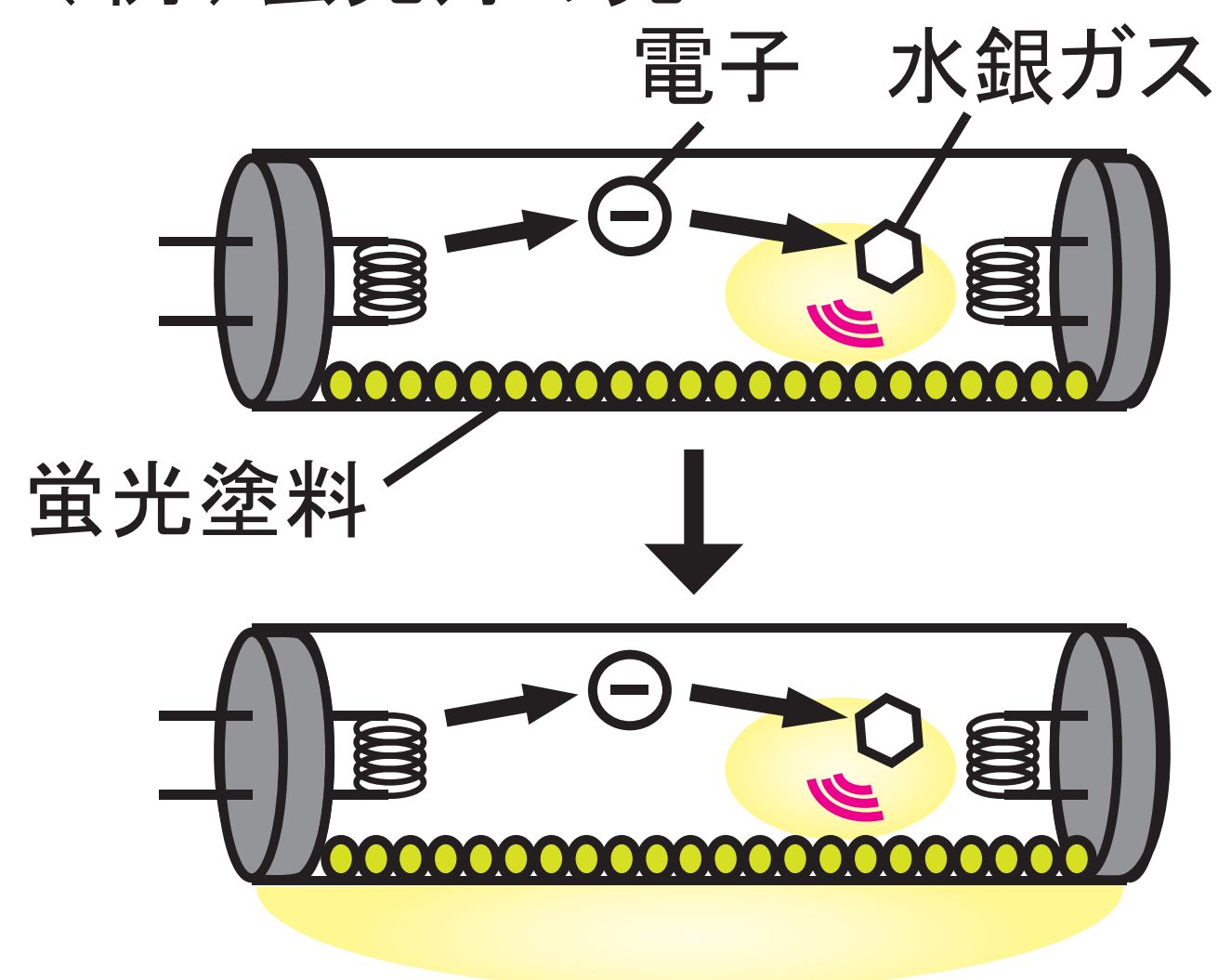
松田道行研究室



蛍光と発光の違い

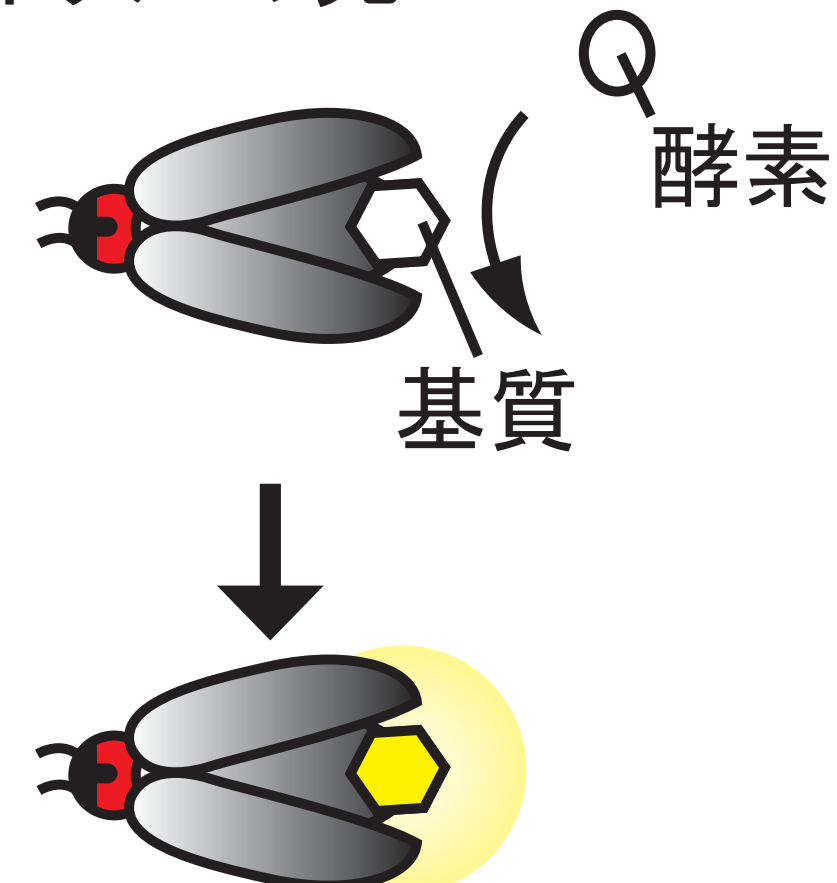
蛍光…光のエネルギーを利用してよりエネルギーの低い光を発すること

(例) 蛍光灯の光



発光…酵素が基質を酸化する化学反応のエネルギーを利用して光ること

(例) ホタルの光

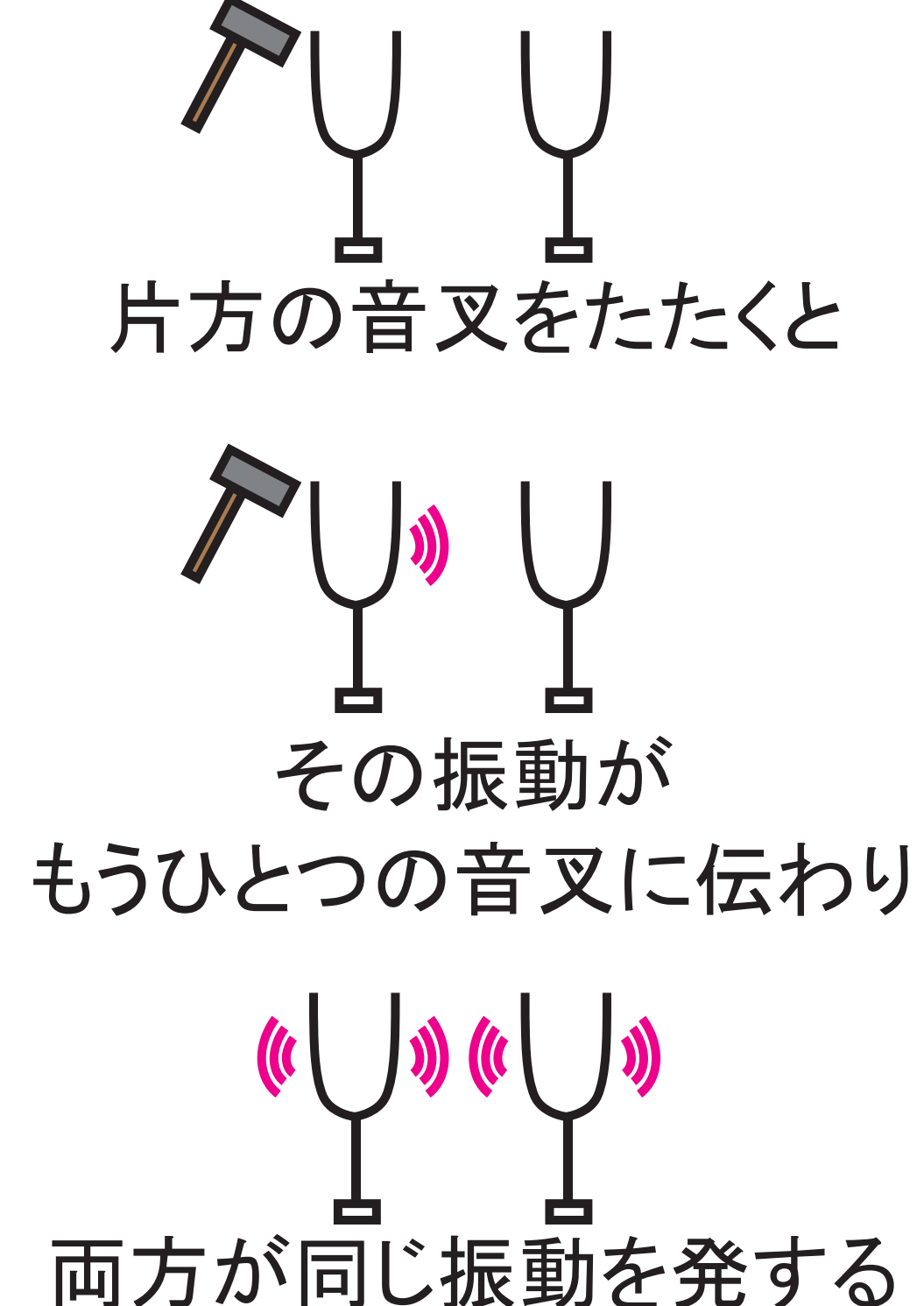


ホタル (= 蛍) は蛍光ではなく発光！

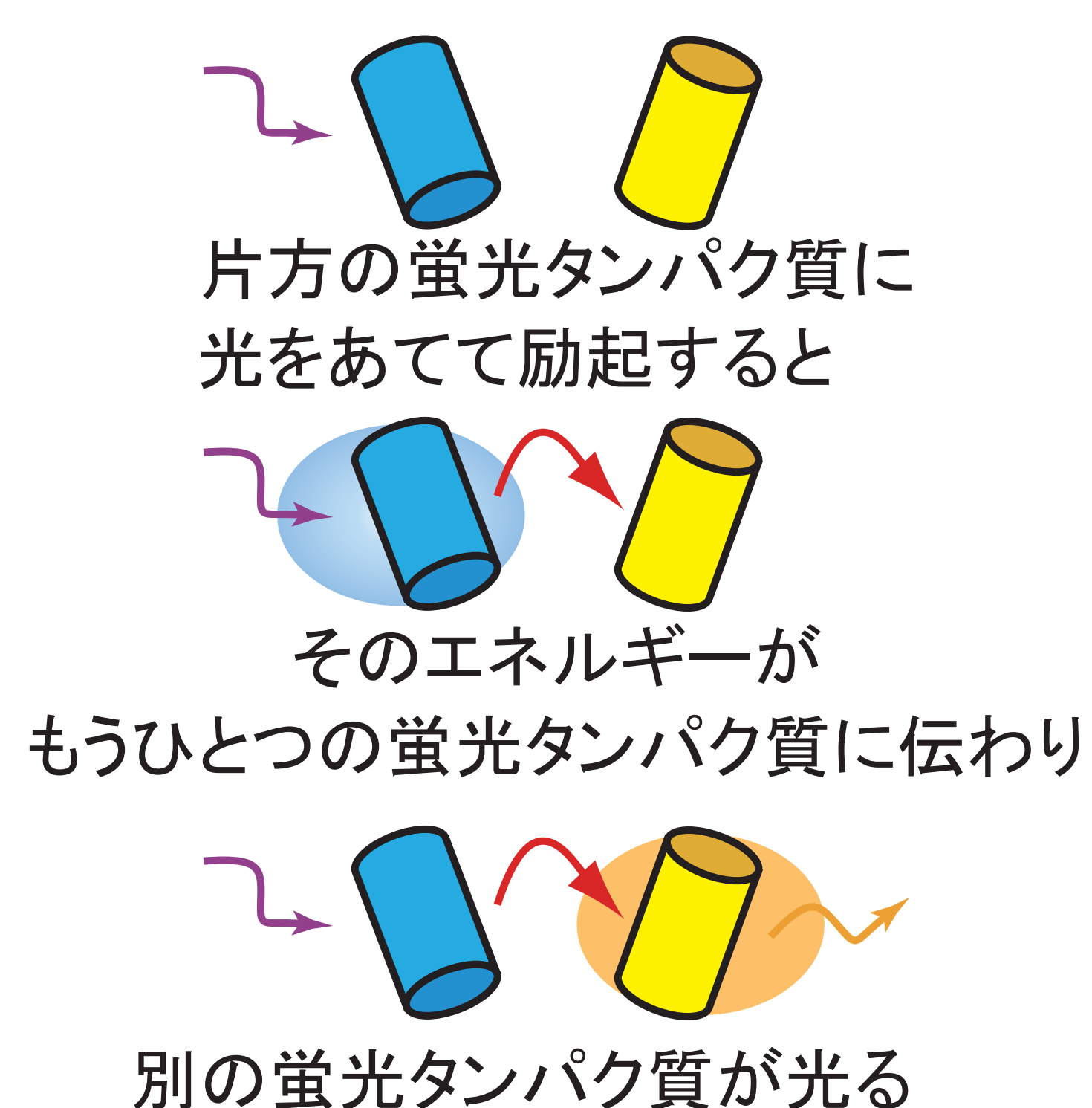
RET (エネルギー共鳴移動) とは

ある物体のエネルギーが別の物体へと移動して同じように振る舞うこと

音の RET

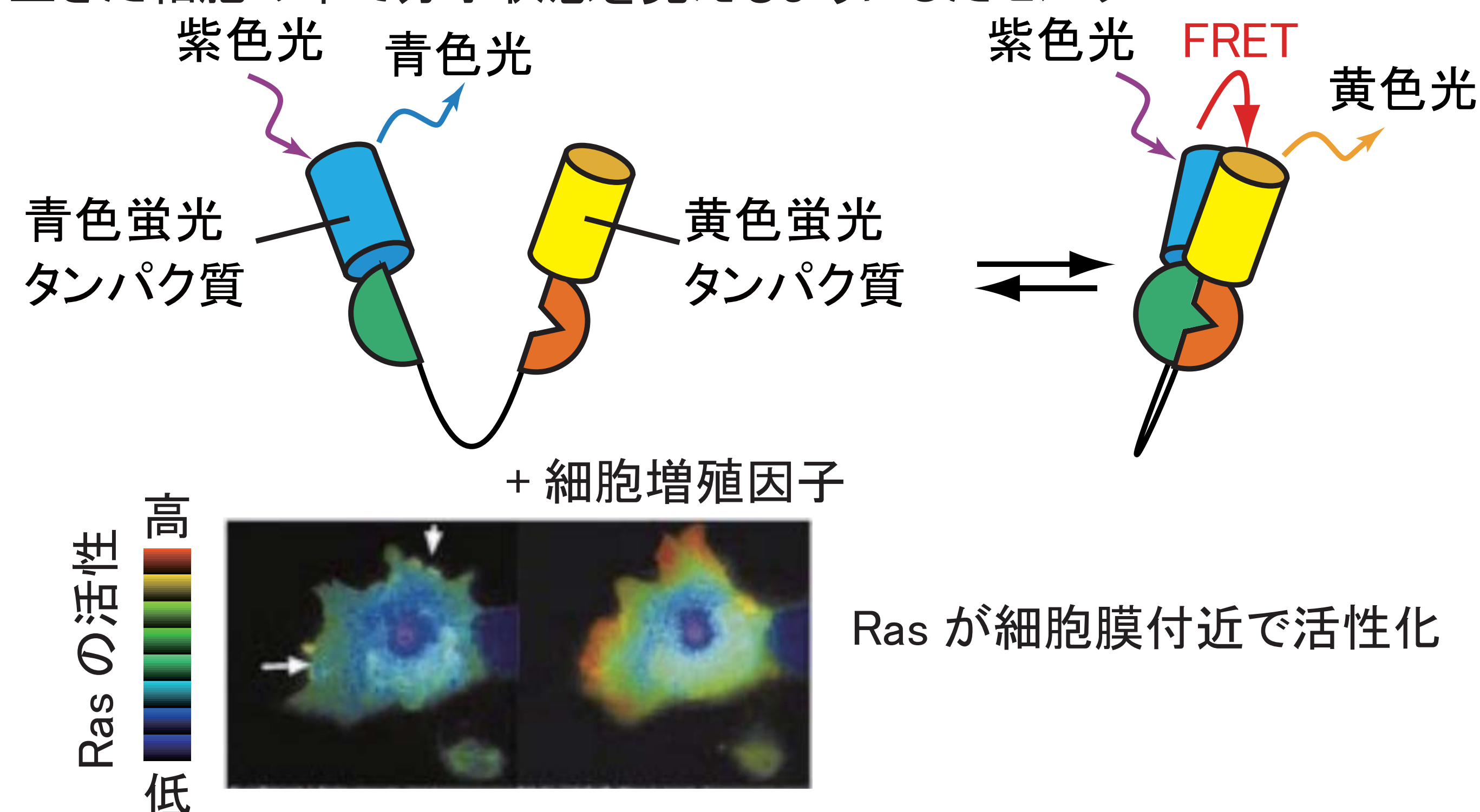


蛍光の RET (= FRET)



FRET バイオセンサーで分かる細胞内の分子活性

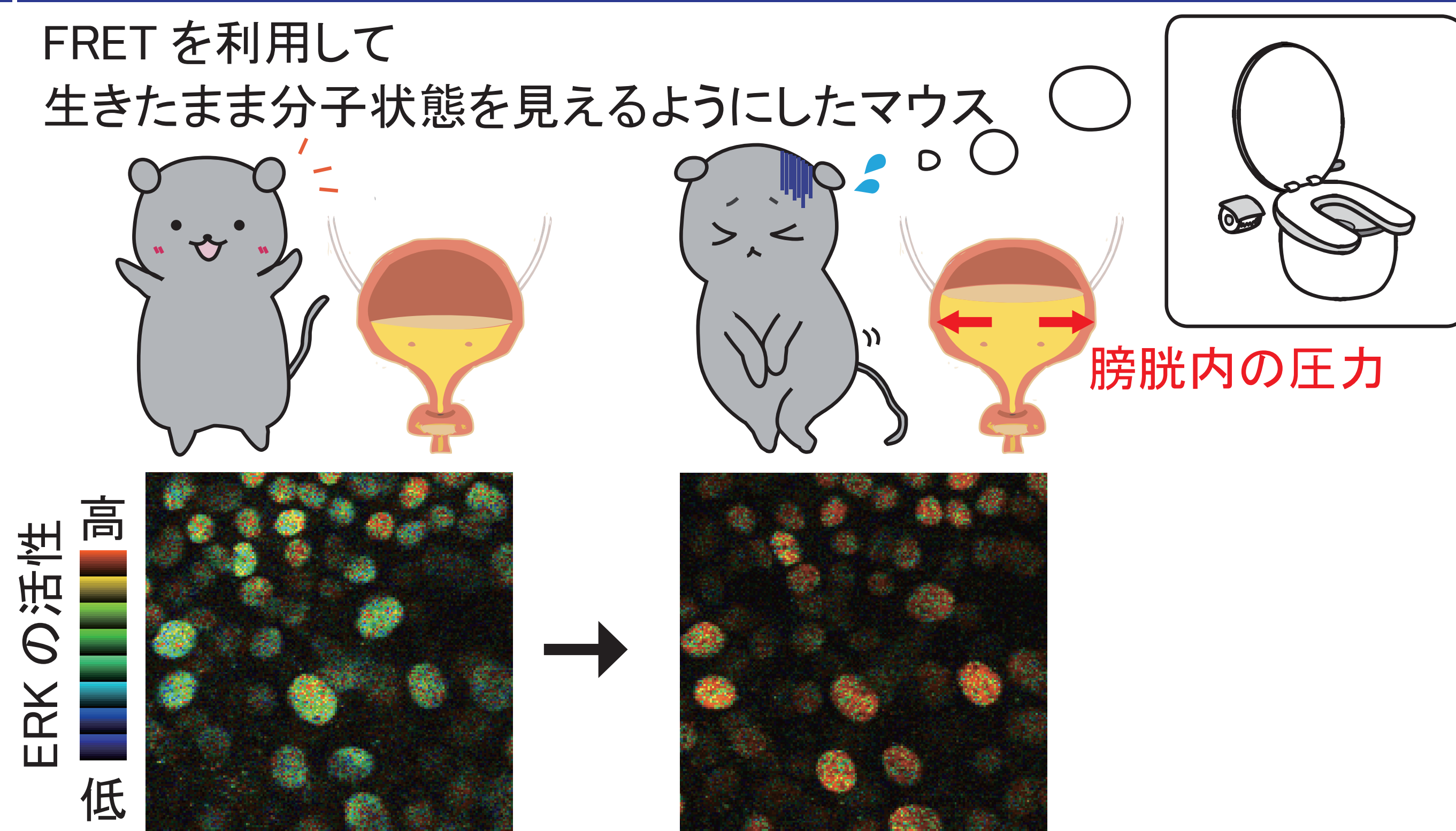
FRET を利用して
生きた細胞の中で分子状態を見えるようにしたセンサー



Ras が細胞膜付近で活性化

マウス生体内の分子活性

FRET を利用して
生きたまま分子状態を見えるようにしたマウス



おしっこしたいマウスの声を聴くことが可能に！

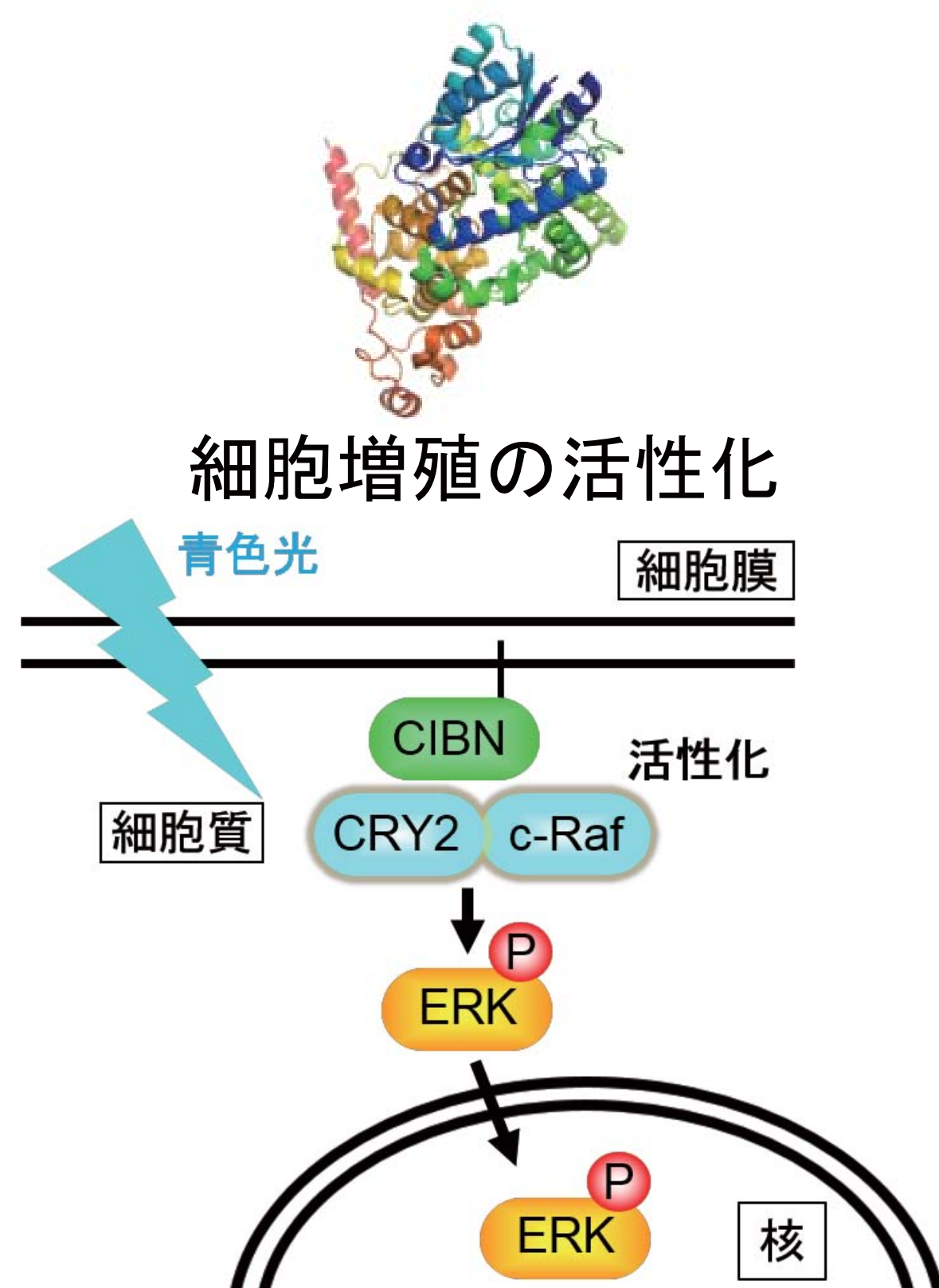
光遺伝学のツール

アサガオが朝に咲く仕組み

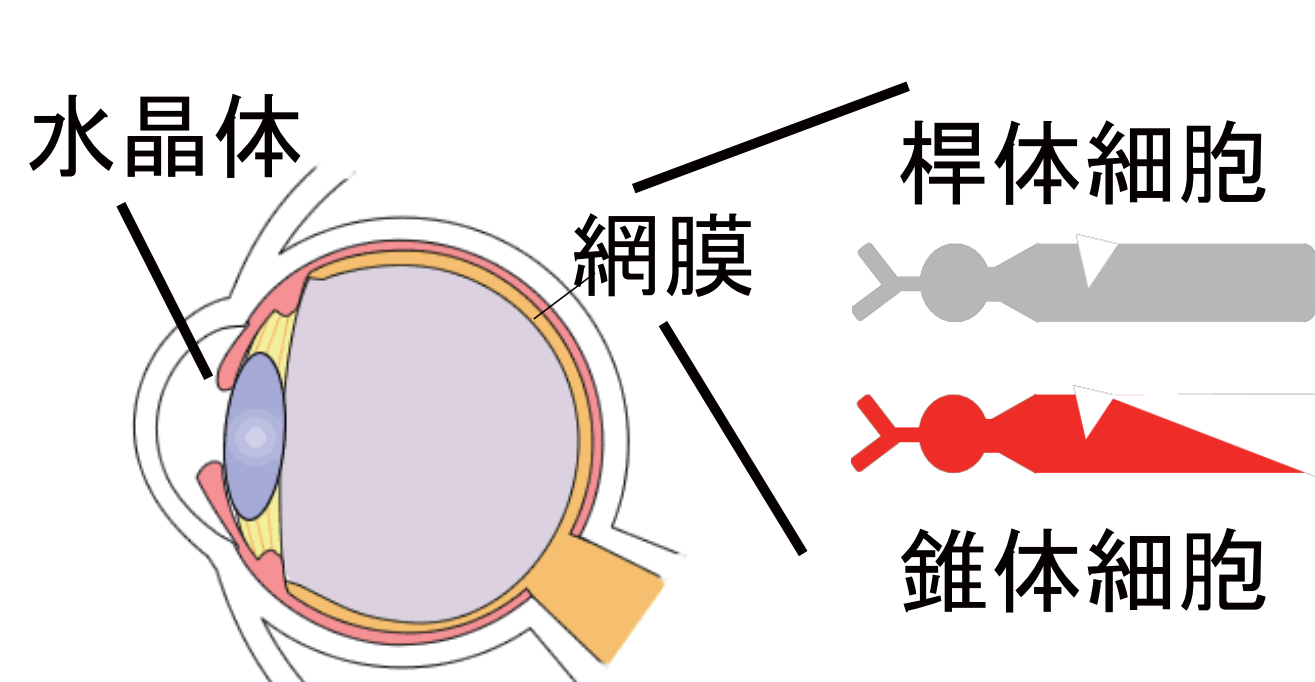


アサガオは光を感知して、咲く時間を調整する。これはクリプトクロム (CRY) やフィトクロム (Phy) というタンパクが受光器となり、朝を認識する。

CRY を使った光遺伝学

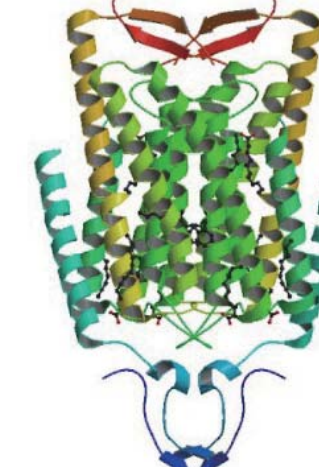


目が光を感知する仕組み

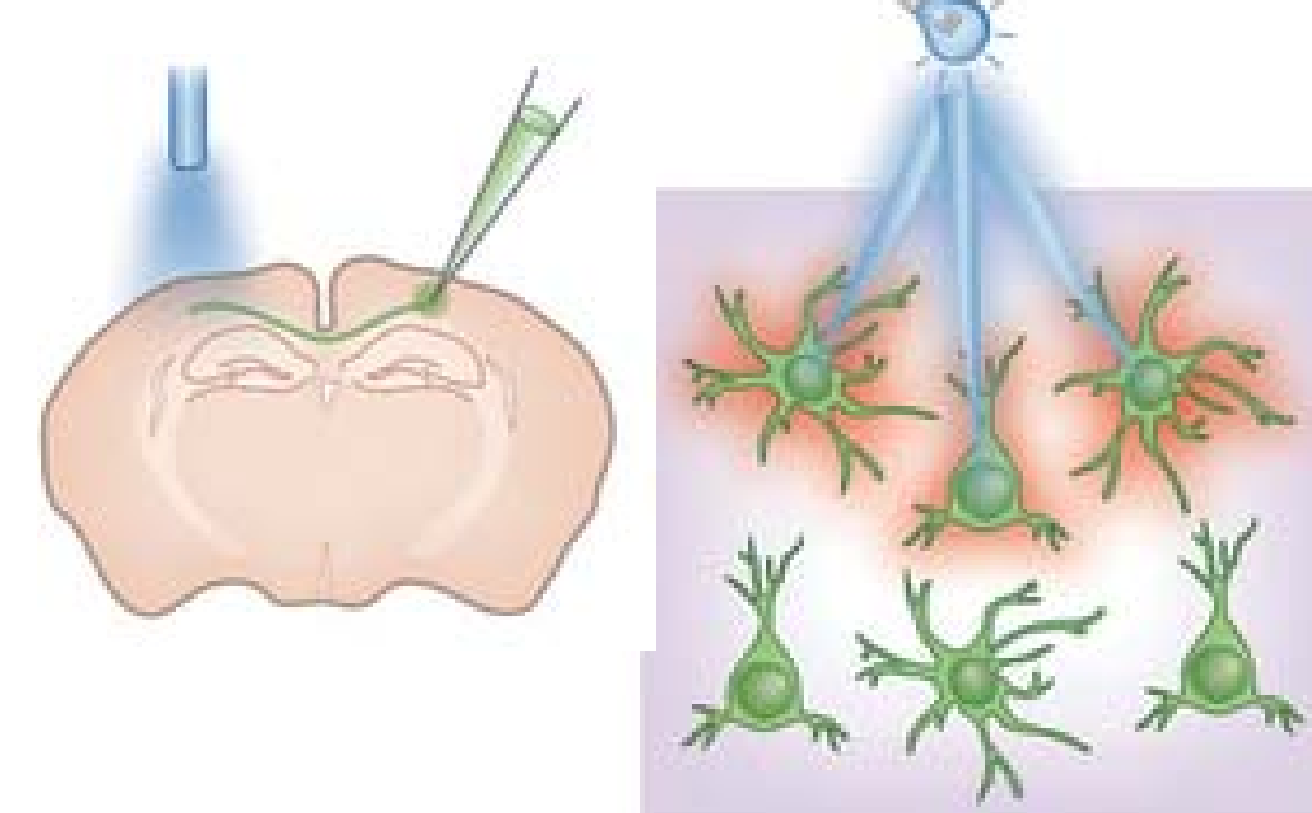


網膜の桿体細胞にあるロドプシンは我々が持つ光センサー。光遺伝学では、ロドプシンの仲間で電流を制御できるチャネルロドプシン (ChR) がよく使われる。

ChR を使った光遺伝学

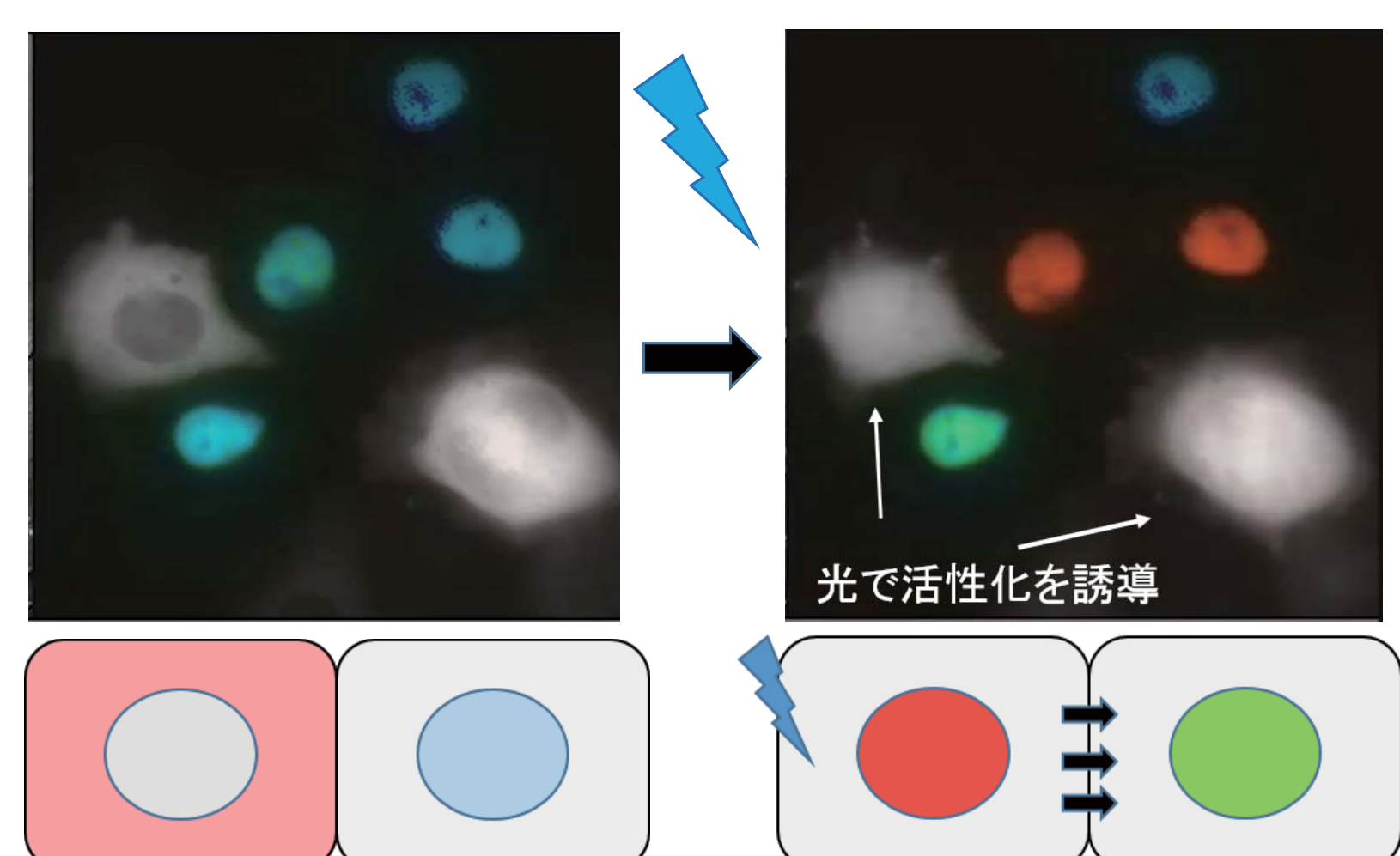


神経の活性化



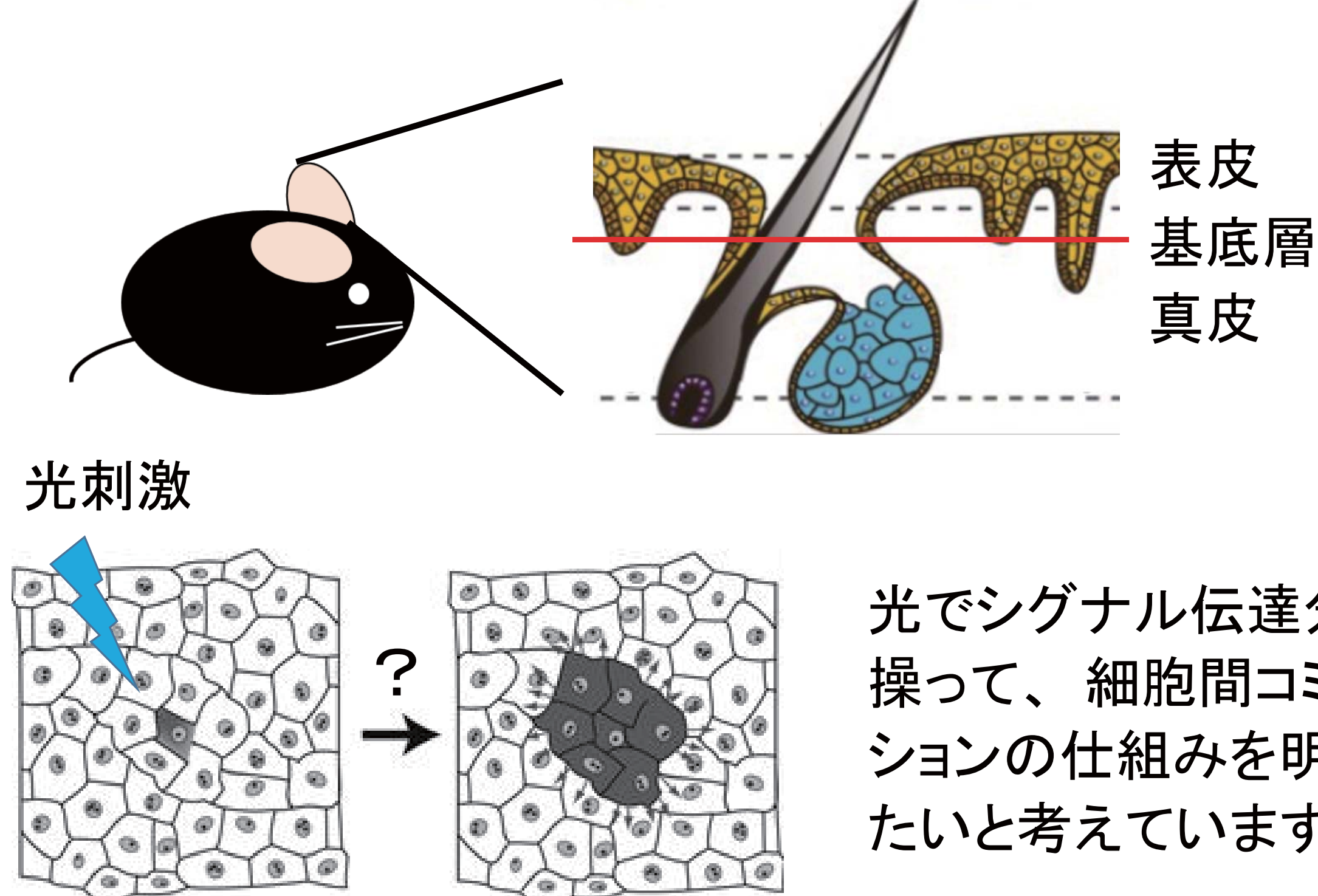
Adam M Packer, et al. Nature Neuroscience 2013.

光で培養細胞を操る



ERK の FRET バイオセンサー発現細胞と光誘導 ERK 活性化システム発現細胞の共培養。光刺激で ERK シグナルを活性化させると、ERK 活性化が隣の細胞に伝わっていく様子がわかる。

光でマウスを操る



光でシグナル伝達分子を操って、細胞間コミュニケーションの仕組みを明らかにしたいと考えています。