

先端技術キーワード解説

知っておきたい最新の動き

[超解像蛍光顕微鏡]

今月（2015年4月15日）、理化学研究所から、オリンパス株式会社と共同で、世界最高のシャッター速度で、生きた細胞内の微細構造の観察ができる「超解像蛍光顕微鏡」を開発したとの報告がありました。

これにより、ウィルスの感染や増殖の様子を直接見ることが可能となり、疾患の理解や治療法の開発につながることを期待できるとのことです。

この「超解像蛍光顕微鏡」とはどのようなもののでしょうか。まずは、顕微鏡の歴史を振り返ってみます。

最初に開発され、現在も普及しているのが「光学顕微鏡」です。扱いやすいのですが、可視光の「回折限界」（分解能は波長の1/2が限界）があり、空間分解能は、200nmまでが限界です。大きさが100nm程度であるウィルスなどは見ることはできません。

この「回折限界（可視光）」の突破について、二つのアプローチがあります。

一つは、電子顕微鏡です。可視光ではなく、波長1nm以下の電子線を照射します。空間分解能は上がりますが、致命的な条件があります。真空中で高エネルギーの電子線を照射するために、生きたものを観察することはできません。

もう一つは、蛍光顕微鏡です。原理は、蛍光・燐光現象を応用するものです。物質に外部から紫外線やX線などを照射すると、その物質の原子がその特定の波長のエネルギーを吸収、その後、そのエネルギーを放出するために、光（励起光）を放出します。その励起光を観察するものです。

この蛍光顕微鏡を、始めに高解像度に発展させたものが、ドイツのシュテファン・ヘル博士が開発した誘導放出制御法（STED：Stimulated Emission Depletion）です。まず、レーザーで、観察物に極小のスポット（緑色）を作成します。そのスポット上に、さらに、ドーナツ型レーザー（赤色）を照射します。これにより、その周囲の分子に脱励起現象が起こり、回折限界のスポットがさらに小さくなります。ヘル博士は、これにより、10nmスケールでの観察に成功しました。

次に、さらに、超高解像度としたものが、蛍光分子局在化法（PALM：Photoactivated Localization Microscopy）です。単一分子毎に観察する手法により、超解像度を実現しました。

蛍光分子の輪郭は、回折の影響でクリアではありません。このため、観察視野内の多くの蛍光分子は、にじんだまま重なったような像となります。そこで、それぞれの蛍光分子を独立に光らせることができれば、その位置を精密に特定することができます。その上、1分子ずつ精密に計測すれば、画像処理で回折の影響を除去した画像を作り出すことができます。これが蛍光分子局在化法の原理です。これを考案したのが、米国のエリック・ベツィグ博士です。

なお、ドイツのシュテファン・ヘル博士、米国のエリック・ベツィグ博士、そして、単一分子観測の基礎を確立した米国のウィリアム・モーナー博士の3博士は、2014年、ノーベル化学賞を授賞しています。

今回、報告のあった「超解像蛍光顕微鏡」は、スピニングディスク（縞模様あるいは点状の開口パターンを持つ円盤）を高速回転させることで、高速に共焦点画像を得るものです。

この方式を最適化することにより、これまで、1枚の画像を作成するために数秒以上の撮影時間が必要だったものが、今回、1秒間に100コマの撮影に成功したとのこと。

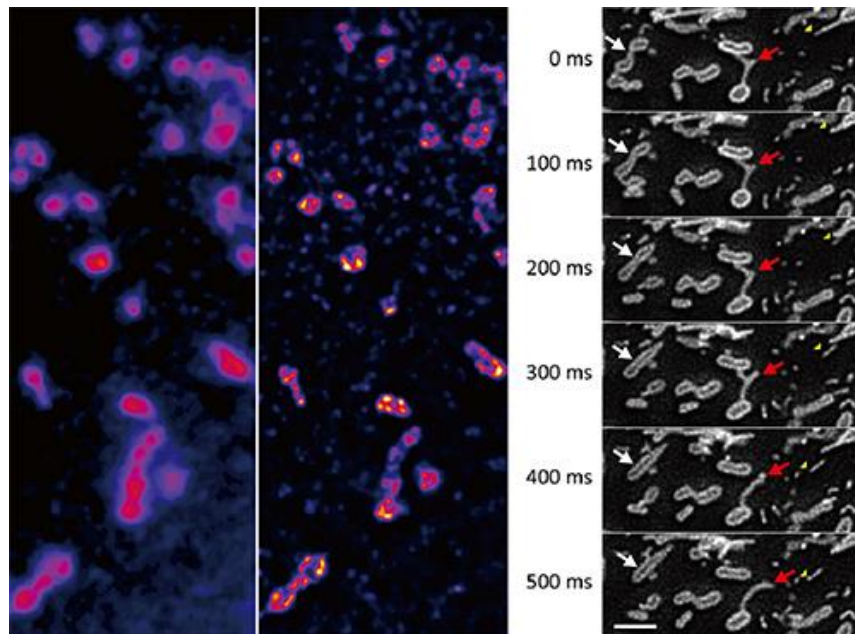


図 ミトコンドリア外膜の動態 (参考文献 1) から引用)

左 : 従来の蛍光顕微鏡像。回折限界により構造の細部がボケてしまっている。

中央 : スピニングディスク超解像顕微鏡による画像。外膜の構造がクリアに撮影されている。

右 : スピニングディスク超解像顕微鏡で 100 ミリ秒ごとに撮影した画像を並べたもの。ミトコンドリアが融合する様子 (白矢印) やミトコンドリア外膜が伸び出して激しく動く様子 (赤色矢印) などが観察される。

生きた細胞の中で動くものを、直接、観察する「ライブセル・イメージング」。これは、疾患の理解や治療法の開発に飛躍的な貢献をもたらします。それが、今、手の届くところまで来ているようです。

(参考文献)

1) シャッター速度世界一の超解像蛍光顕微鏡を開発 — 生きた細胞内で動く微細構造の観察に成功 —、
理化学研究所 報道発表資料 http://www.riken.jp/pr/press/2015/20150415_1/

(注)

本解説は、執筆当時の状況に基づいて解説をしております。ご覧になる時には、状況が変わっている可能性がありますので、ご注意ください。

Copyright (C) Satoru Haga 2015, All right reserved.

技術・経営の戦略研究・トータルサポーター		工学博士 中小企業診断士 社会保険労務士(登録予定) 代表 芳賀 知
ティー・エム研究所		
E-Mail: info_tm-lab@mbn.nifty.com		URL: http://tm-lab@a.la9.jp/