

NIKON JOICO AWARD

2019

NIKON JOICO AWARD



“NIKON JOICOAWARD” は、
顕微鏡によって得られた画像がもつ
「芸術性」と「学術性」を一つの研究成果作品として審査させていただき
新しいスタイルのアワードです。

今年度が第一回目となる本アワードに、
全国の多くの研究者の方々よりご応募をいただきました。
この場をお借りして御礼申し上げます。

このたび厳正かつ慎重な審査の結果、
芸術性と学術性を兼ね備えた研究成果に対して、
最優秀賞 "JOICO 賞" 1 名、優秀賞 1 名、特別賞 2 名が選ばれました。

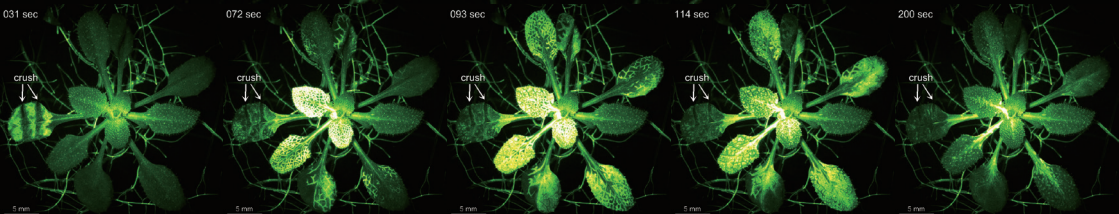
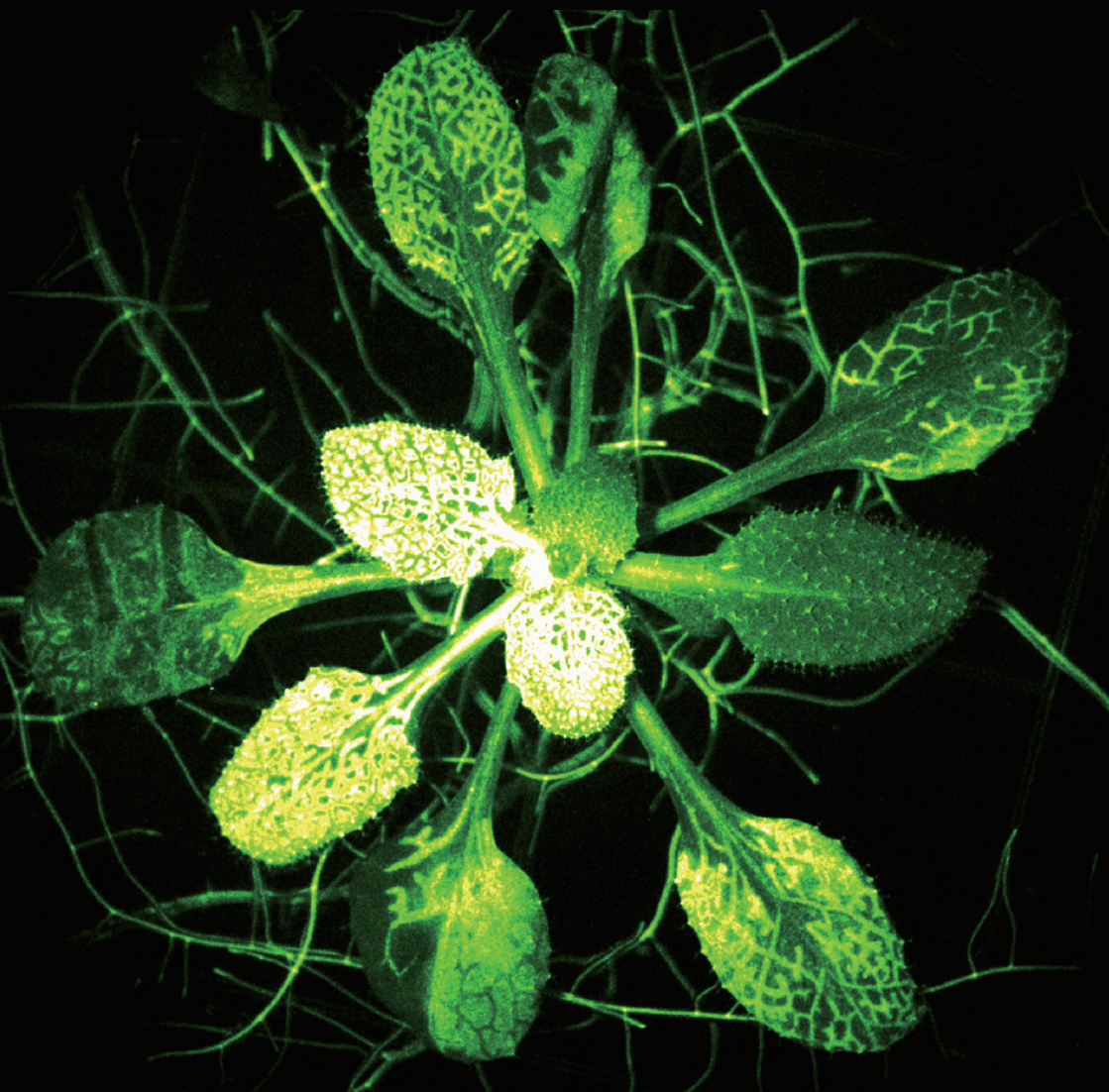
本冊子は、これからのイメージング業界をになう方々に、
顕微鏡を用いた最先端の研究、
そして研究者がワクワクしながら取り組んでいるサイエンスに触れていただく機会として、
ご活用いただけることを願って作成いたしました。

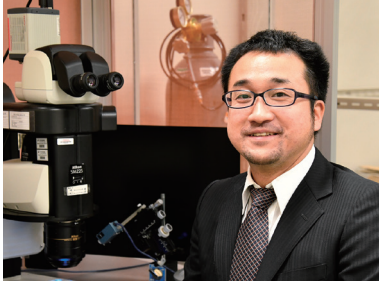
WEB サイトにも是非アクセスしていただき、
動画作品ならではの迫力を感じていただければ幸いです。

最優秀賞
“JOICO賞”

植物の長距離・高速カル

脳や神経をもたない植物が、傷つけられたことを感じ、
その情報を全身へ伝える瞬間を捉えた





とよた まさつぐ
豊田 正嗣

埼玉大学大学院
理工学研究科
准教授

受賞コメント

この度は、NIKON JOICO AWARD（最優秀賞 "JOICO 賞"）という栄誉ある賞をいただくことができ、たいへん光栄に思っております。

私はこれまで、顕微鏡を使って「見る」ということにこだわって研究を行ってきました。

この「見る」という力が、これまで静的だと考えられがちであった植物のダイナミックな情報処理システムの一端を浮き彫りにすることができ、しかも、その映像を高く評価していただけたことは、この上ない喜びであります。

本研究に携わってくださったすべての方に感謝申し上げますとともに、JOICO 賞の名に恥じぬよう、これからも唯一無二の研究を進めていきたいと考えております。

この度は、誠にありがとうございました。

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)

サンプル詳細 : カルシウムバイオセンサー GCaMP (GFP) 発現

観察手法 : 実体顕微鏡、蛍光

観察倍率 : x1

撮影年 : 2019年

顕微鏡データ : 動画

植物の長距離・ 高速カルシウムシグナル

研究の概要

脳や神経をもたない植物は、どのような仕組みを用いて傷つけられたことを感じ、その情報を全身に伝えるのだろうか？この生物学・農学における長年の謎を、広視野実体蛍光顕微鏡および高感度カルシウム / グルタミン酸バイオセンサー（GCaMP/iGluSnFR）を用いて解き明かすことに成功した（Toyota et al., *Science* 2018）。

シロイヌナズナの葉が傷つけられると、

- ① 損傷部位からグルタミン酸が流出する。
- ② このグルタミン酸をグルタミン酸受容体（GLR）が受容することで Ca^{2+} シグナルが発生し、
- ③ 養分を通す管である師管を介して遠くの葉に伝搬する（1mm/s）。
- ④ この Ca^{2+} シグナルが伝搬した葉では、将来の攻撃に備えて抵抗性が上昇する。

植物は、師管のような植物独自の器官と、進化的に保存された神経と共通のシステム（GLR）を組み合わせることで、長距離・高速情報伝達を可能にしていると考えられる。

論文

Toyota M*, Spencer D, Sawai-Toyota S, Wang J, Zhang T, Koo AJ, Howe GA, Gilroy S* (2018)

Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science*. 361(6407):1112-1115. (*, corresponding author)

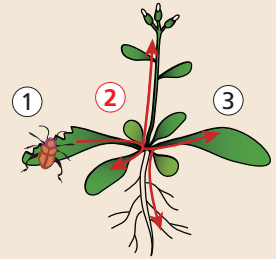
古くから…

植物は、昆虫などによって捕食された時

- ① 瞬時に傷つけられたこと感じ、
- ② 全身に情報を伝達させ、
- ③ 傷つけられていない器官（葉）でも抵抗性を上昇させる

ことが知られていた。

しかし…



生物学・農学に残された大きな謎

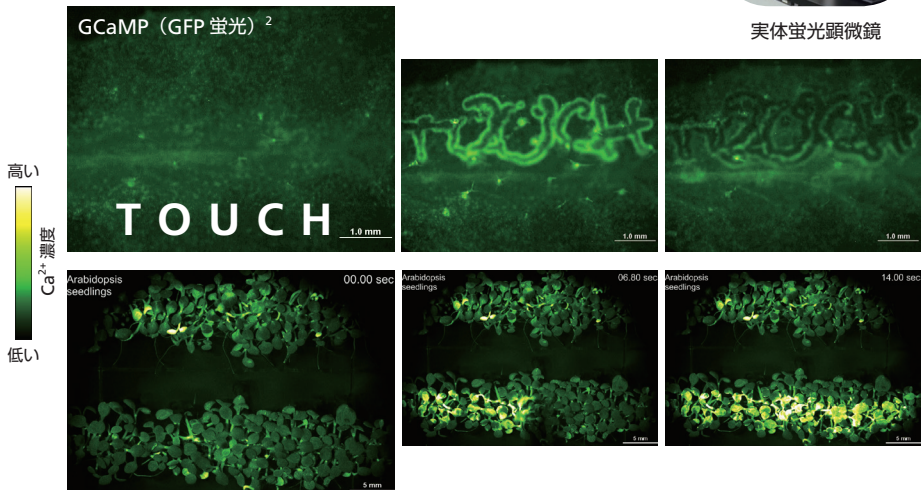
脳や神経（感覚器）を持たない植物が、どのような仕組みを用いて、傷つけられたことを感じ、その情報を全身へ伝えるのか？
は明らかになっていない。

先進のイメージング技術

植物の Ca^{2+} シグナル¹を、広視野（個体・集団レベル）かつリアルタイムイメージングすることが可能



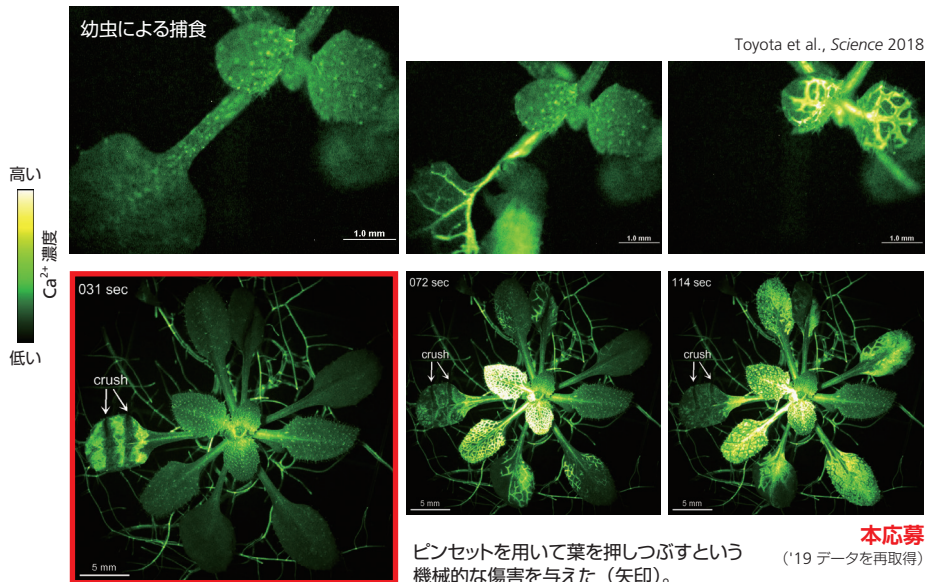
実体蛍光顕微鏡



接触によって起こる細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇（シロイヌナズナ³）

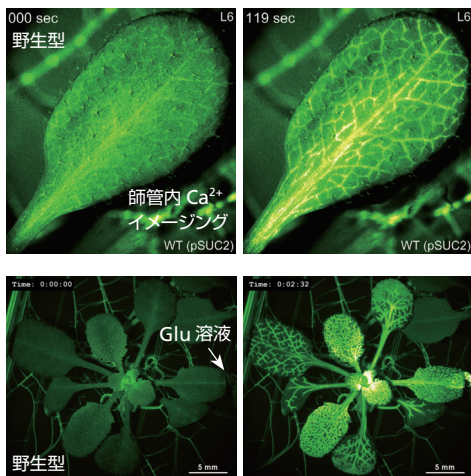
従来の概念を変える長距離・高速 Ca^{2+} シグナルの発見!

捕食された時や機械的に傷つけられた時に発生する植物の Ca^{2+} シグナルの可視化に成功



本論文で明らかにしたこと

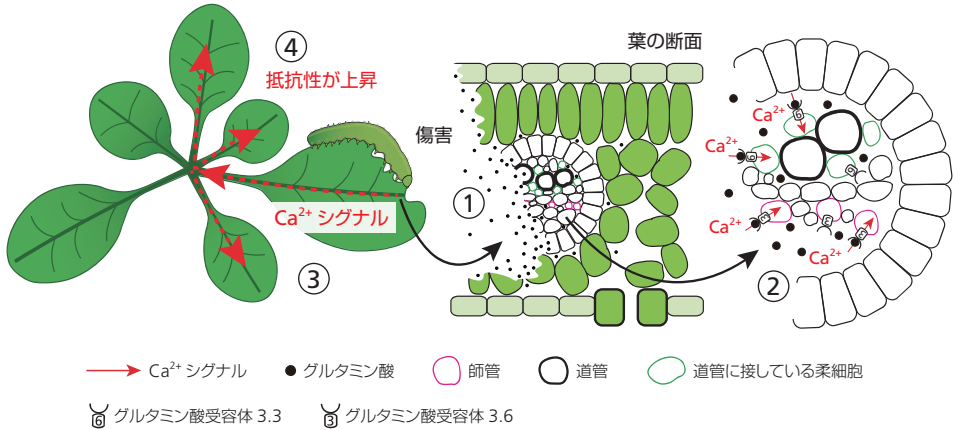
- シロイヌナズナの葉が傷つけられると、 Ca^{2+} シグナルが師管⁴およびプラズモデスマータ⁵を介して、約 1 mm/s の速度で (約 1 分で) 遠くの葉に伝搬する (右上図、YouTube 動画)。
- Ca^{2+} シグナルが伝搬した葉では、直接傷つけられていないにもかかわらず抵抗性が上昇する。
- 2 種類のグルタミン酸受容体⁶ (GLR3.3/GLR3.6) を欠損した変異体では、この長距離・高速 Ca^{2+} シグナルは発生しない。
- GLR3.3 および GLR3.6 は、 Ca^{2+} シグナルが伝搬する維管束 (師管など) に発現している。
- 葉にグルタミン酸⁷ (Glu 溶液) を投与すると、傷つけることなく長距離・高速 Ca^{2+} シグナルを発生させることができる (右下図)。
- iGluSnFR² を用いて細胞外のグルタミン酸イメージングを行ったところ、葉を傷つけると、損傷部位で即座にグルタミン酸レベルが上昇する。



Toyota et al., Science 2018

植物の傷害感知・高速伝達モデル

- ① 植物が傷つけられると、損傷を受けた細胞や組織からグルタミン酸が流出する。
- ② このグルタミン酸を GLR3.3 および 3.6 が受容することで Ca^{2+} シグナルが発生する。
- ③ この Ca^{2+} シグナルは、養分を通す管である師管を介して遠くの葉に伝搬する。
- ④ Ca^{2+} シグナルが伝搬した葉では、将来の攻撃に備えて抵抗性が上昇する。



Take home message

進化的に動植物に保存された仕組み

グルタミン酸 /
グルタミン酸受容体 (GLR) /
 Ca^{2+} シグナル

+

植物特有の仕組み

師管 / プラズモデスマータ

↓

植物の“神経”のような仕組み

用語解説

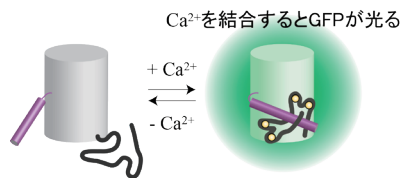
1. 細胞内Ca²⁺シグナル

細胞内に遊離しているカルシウムイオン (Ca²⁺) の濃度変化のことで、筋肉の収縮や神経伝達等、様々な生理学的役割を果たしている。一般的に、細胞内の Ca²⁺ 濃度は、細胞外に比べて 10000 倍程度低く保たれており、Ca²⁺ の濃度変化が次の生体反応を引き起こすスイッチ (シグナル) として働いている。

2. バイオセンサー

(GCaMP, iGluSnFR)

緑色蛍光タンパク質 (GFP) に、カルシウムイオンやグルタミン酸を結合するドメイン (領域) を融合したタンパク質 (Nakai et al., *Nature Biotechnology* 2001; Marvin et al., *Nature Methods* 2013)。GCaMP の場合、細胞内のカルシウムイオンを結合すると明るく緑色に光り (下図)、iGluSnFR の場合、グルタミン酸を結合すると、明るく緑色に光る。



3. シロイヌナズナ

(*Arabidopsis thaliana*)

キャベツ等と同じアブラナ科の1年草。寿命が短く、栽培および遺伝子組換えが容易であることから、世界中でモデル植物として研究されている。2000年に全ゲノムが解読された。

4. 師管

葉脈などの維管束を形成する組織の1つ。細胞が長く連なった管状構造になっており、光合成産物 (養分) を輸送する役割を果たしている。維管束を形成するその他の組織や細胞として、水を輸送する道管や伴細胞や柔細胞等が近傍に存在している。

5. プラズモデスマータ (原形質連絡)

隣り合う2つの植物細胞 (細胞質) をつなぐ孔。mRNA やタンパク質などの小分子が移動すると考えられている。構造は異なるが、機能的に動物細胞のギャップ結合に似ている。

6. グルタミン酸受容体

グルタミン酸を結合すると活性化する膜タンパク質であり、代謝型とイオンチャネル型の2種類に大別される。私たちの脳内では、ある神経細胞のシナプス前末端から放出されたグルタミン酸が、別の神経細胞のグルタミン酸受容体に結合することで、神経伝達を行っている。この興奮性シナプス伝達が、記憶や学習において重要な役割を果たしていると考えられている。

シロイヌナズナには、活性化するとイオンを透過させるイオンチャネル型グルタミン酸受容体に相同性の高い GLUTAMATE RECEPTOR LIKE (GLR) が20種類存在する。その内の2種類である GLR3.3 と GLR3.6 が傷害時に発生する長距離 Ca²⁺ シグナルに必須であることが本研究で明らかになった。

7. グルタミン酸

うまみ成分の1つであると共に、哺乳類の中枢神経系では興奮性神経伝達物質として働くことが知られている。

Memo

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Q & A

Q1 植物が獲得する抵抗性とはなんですか？

自由に動くことのできない植物は、害虫を物理（直接）的に攻撃することができません。そのため、害虫が嫌がるような物質、例えば、食べると消化不良を起こすような化合物をあらかじめ作っておくことで抵抗しています。

Q2 先生が発見された植物の防御の仕組みは、他の植物でも保存されていますか？

その可能性は高いと考えています。これまでタバコやイネなどの植物に Ca^{2+} のバイオセンサーを発現させてきましたが、調べたすべての植物で傷害時の長距離 Ca^{2+} シグナルが観察されています。

Q3 傷のない葉にグルタミン酸を投与するとどうなるのですか？

残念ながら Ca^{2+} シグナルは起こりません。植物の葉の表面は、ワックスなどの撥水性の高い物質で覆われていて、グルタミン酸溶液を葉に投与しても、グルタミン酸受容体 3.3 および 3.6 が発現している維管束組織（葉脈）まで到達できないからです。グルタミン酸溶液の浸透性を高めるなどの工夫が必要になります。

Q4 この発見によりどのような研究が今後期待されますか？

今回の研究で、グルタミン酸が傷つけられた場所のみならず遠くの葉でも傷害に対する抵抗性を上げていることがわかりました。植物の抵抗性を制御できるような新しいアミノ酸（グルタミン酸）型の肥料や農薬の開発につながると期待しています。

審査員より

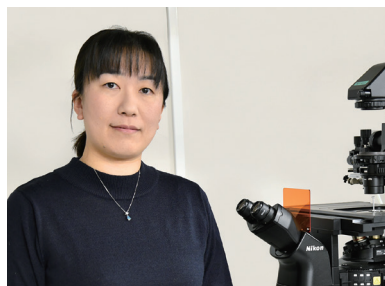
- 植物が侵害刺激に対して動物の情報伝達システムに近いグルタミン酸受容体とカルシウムシグナルを介して長距離伝達するという極めて科学的にインパクトの高い成果を元にした画像であり、極めて高く評価できる。動画も迫力のあるものであり、静的だと考えられがちな植物における活発な情報伝達の存在を示す価値のあるものである。
- 動くことのできない植物が、外敵の攻撃から身を守るために、動物のようにシグナルを伝達している様子が生き生きと可視化されている。学術的にも芸術的にもとても優れている。
- 生きている事を実感できる美しさや独創性がある。
- 反応が波のように伝わり発光する様が幻想的。
- 本研究の長距離・高速カルシウムシグナルの発見は、植物研究の歴史の中で長らく存在した固定概念を打ち破る画期的・革新的なものである。この研究成果は研究者だけでなく、一般の人たちにも大きなインパクトを与えるものであり、またサイエンス誌に掲載されているという意義をはるかに凌駕する歴史的価値があると見える。
- 学術的な価値も高いが、非常に美しい動画として可視化していることに価値がある。

優秀賞

花のなかの秘密

小さな花の奥深くで、花粉管がめしべの中を伸びる様子が見えた。
花粉管を色分けすることで、一本一本の様子を正確に見比べることができた。





みずた ようこ
水多 陽子

名古屋大学
高等研究院・
トランスフォーマティブ生命分子研究所
特任助教

受賞コメント

この度は、記念すべき第一回にこのような大変素晴らしい賞を賜り、誠にありがとうございます。

顕微鏡をのぞくたび、予想通りの時と思いがけない世界が広がっている時があり、いつも新鮮な驚きをもって研究しています。

小さな花の中で繰り広げられるダイナミックな植物の受精。私にとってイメージングとは、謎に包まれた世界の一端を垣間見ることができる魔法のような方法です。

この作品が皆様にとって植物、ひいては生物の不思議に想いを馳せる一端となりましたら幸いです。

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の花のめしべ

サンプル詳細 : 蛍光タンパク質 (mApple, Venus, mTFP1) 標識花粉管、ClearSee による透明化
観察手法 : 2光子励起顕微鏡、蛍光
観察倍率 : x25
撮影年 : 2015年
顕微鏡データ : 静止画

花のなかの秘密

研究の概要

生物の成り立ちやしくみを知るうえで、からだの構造を観察することはとても重要である。しかし、多くの生物のからだは不透明なため、奥深くを見ることは難しい。特に植物は、葉緑素に代表されるようなさまざまな自家蛍光⁵物質を持ち、屈折率¹の異なる細胞からできているため、切片の作成や解剖をおこなわずに内部を見ることは困難であった。

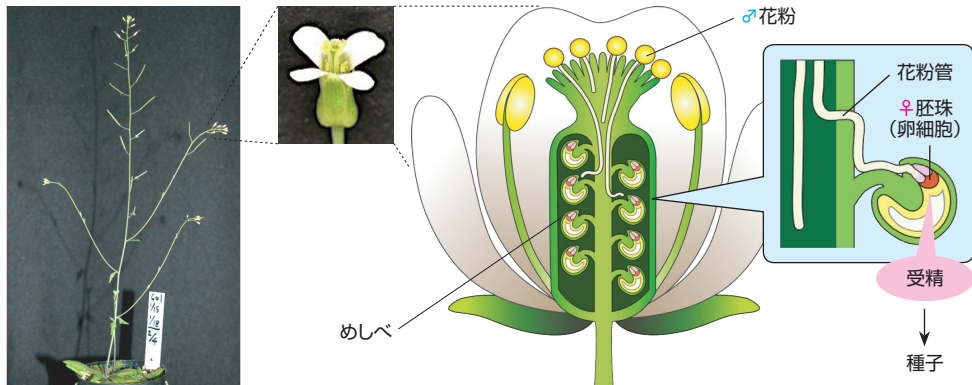
そこで本研究では、蛍光タンパク質⁷を残したまま丸ごと植物を透明化する試薬を開発した。ClearSeeと名付けたこの試薬によって、モデル植物だけでなく、いろいろな植物を透明化することが初めて可能になった。これにより、これまで誰も見たことのない植物のからだの奥深くを、構造と蛍光を保持したまま観察することができる。

本作品はシロイヌナズナの花に、青、緑、赤の3色の蛍光タンパク質で標識した花粉を受粉²し、ホルマリン固定した後にClearSeeで透明化し観察したものである。普段は花の中に隠れて見えない花粉管³をカラフルに色分けすることで、めしべの中をそれぞれの花粉管がどのように伸びて受精し、種子をつくるのかを詳細に観察することができた。

論文

Daisuke Kurihara, Yoko Mizuta, Yoshikatsu Sato, Tetsuya Higashiyama (2015)
ClearSee: a rapid optical clearing reagent for whole-plant fluorescence imaging.
Development. 142(23): 4168–4179.

花のなか (シロイヌナズナ)

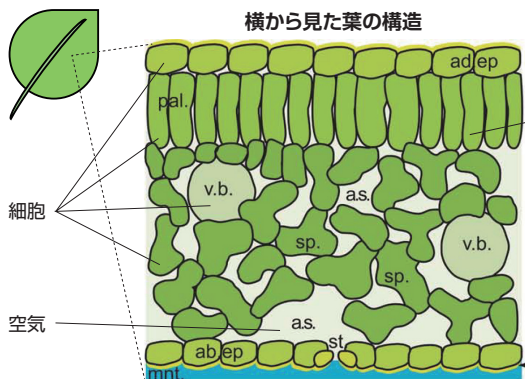


- 植物のからだは不透明なため、内部の観察が難しい
- 花粉管が伸びる場所は**花の一番奥**に包まれているため、種子ができる仕組みを研究するには**解剖**や**切片**を用いることが多い

組織の構造が失われたり、
蛍光タンパク質による解析が難しい

研究の妨げに

植物の組織と自家蛍光



(Littlejohn et al., 2014)

葉はもともと取り込んだ光を
逃さない構造をしている

葉緑体クロロフィル⁴



強い自家蛍光
(赤)

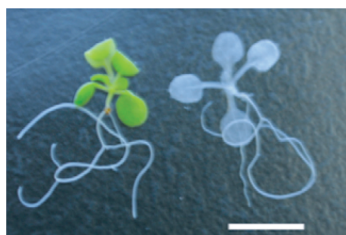
観察の
妨げに

クロロフィルを植物から取り除き
蛍光タンパク質が消えない
植物透明化試薬を探索した

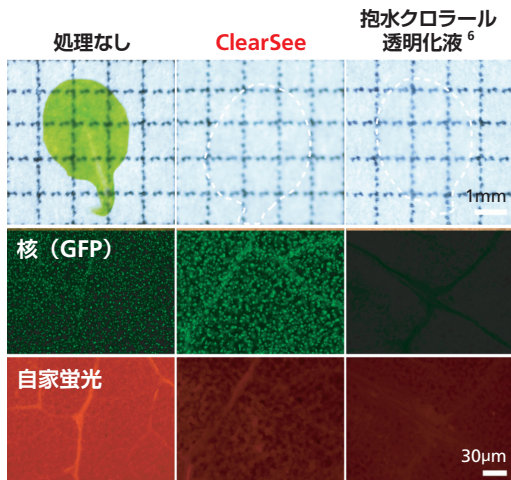
植物透明化試薬 ClearSee



処理なし (PBS) ClearSee



4日後



ホルマリン固定後に
浸けておくだけで透明に

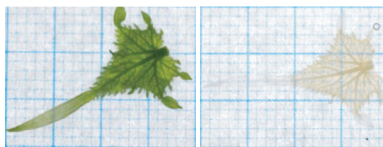
ClearSee では自家蛍光が消え、
GFP (蛍光タンパク質) を保持したまま透明化

ClearSee による色々な植物の透明化

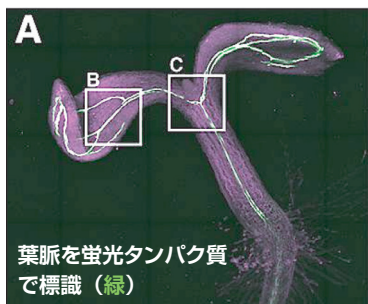
トマトの葉



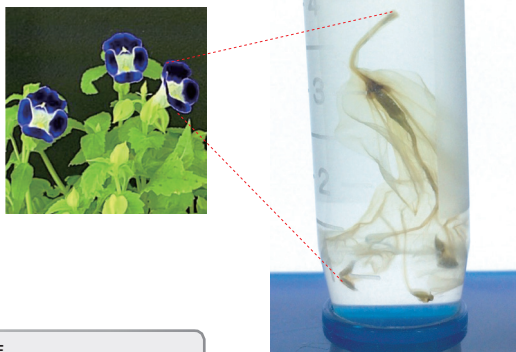
キュウリの葉



シロイヌナズナのめばえ

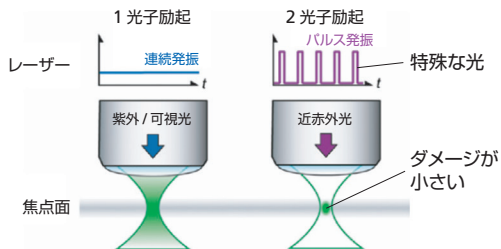
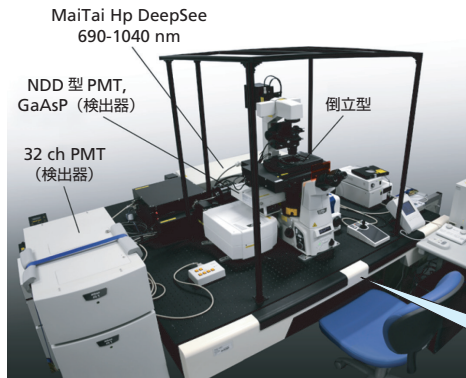


トレニアの花



蛍光タンパク質を保ったまま、
様々な植物のいろいろな組織を浸けるだけで透明化できる

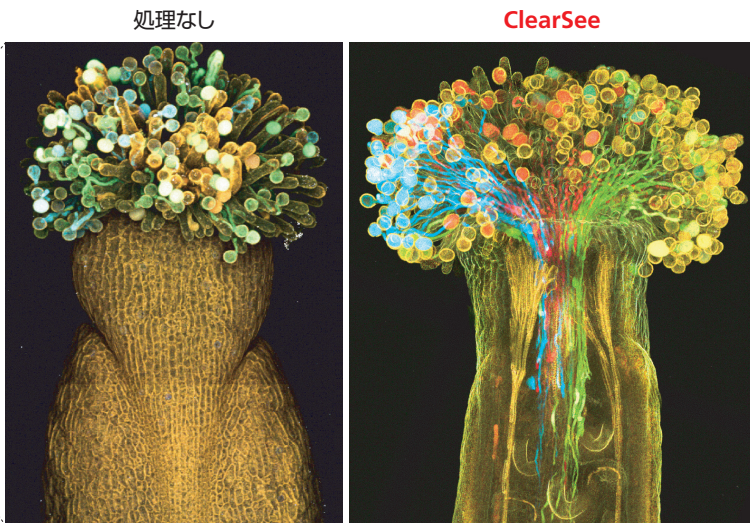
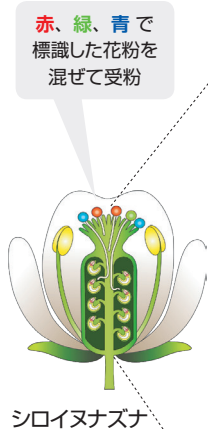
二光子励起顕微鏡で見る花のなか



Mizuta et al. (2014) Plant Morph.

生き物のからだの深いところの
観察に適した顕微鏡

二光子励起 (Ex.990 nm)



- 解剖などをおこなわずに**めしべを丸ごと観察**できた
- **花粉管が伸びる様子**や、どの花粉管がどこを伸びるのかといった、組織を残した空間的な研究ができるようになった

Q & A

Q1 透明化試薬 ClearSeeはどのような技術的背景があり開発されたのですか？

従来の植物用の透明化試薬は構造にダメージを与えたり、蛍光タンパク質が消失したりといった問題点がありました。近年、動物分野では Scale 溶液や SeeDB といった透明化法が開発されました。そこでこれらを参考に、上記問題を解決する植物に最適化した透明化試薬、ClearSee が開発されました。

Q2 透明化試薬 ClearSeeで透明化が難しい植物はありますか？

溶液が浸透しない堅い組織を持つ樹木や、水をはじく表面構造を持つ植物は透明化が難しいです。

Q3 花粉管が束の様な構造から下へ行くにつれ
同じ花粉由来の花粉管で収束しているのはなぜですか？

画像はめしべの奥に向かって撮影した複数の画像を、内部がよく分かるよう手前側を除き、奥側のみを合成しています。収束したように見えるのは、手前側の花粉管の像が除かれているためです。

Q4 クロロフィル以外にイメージングの妨げになる物質はありますか？

細胞壁に含まれるリグニン（高分子のフェノール性化合物）が妨げとなります。

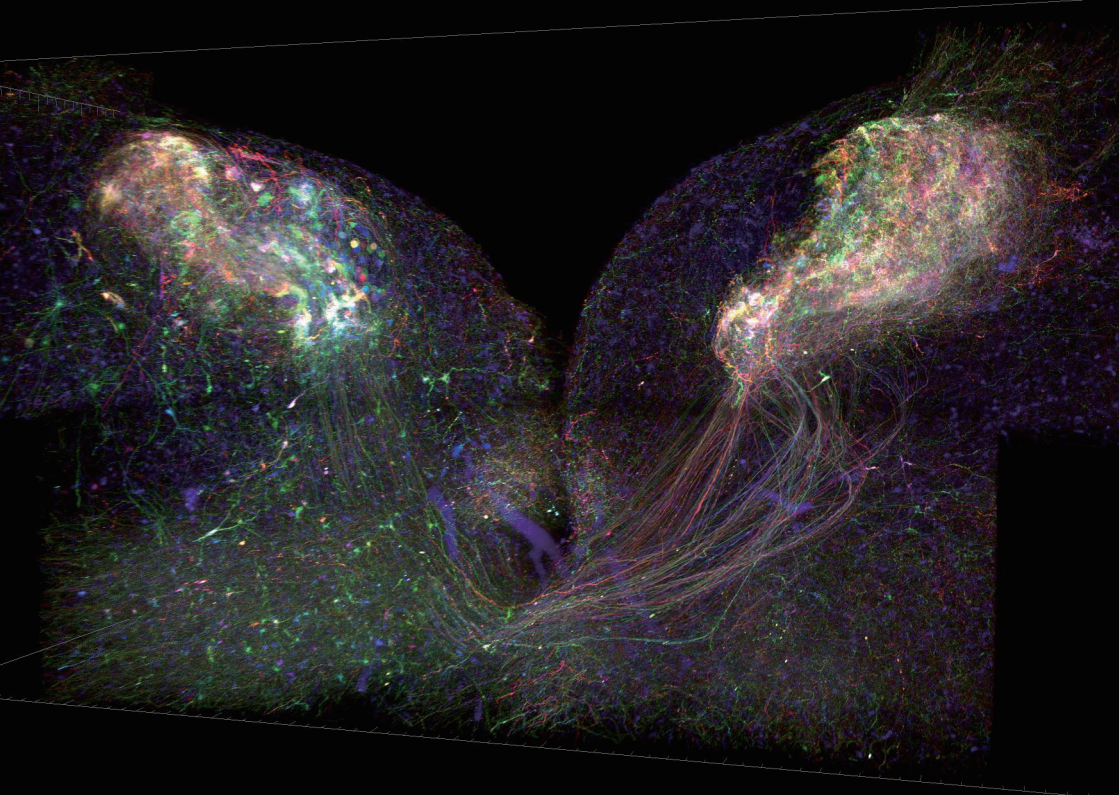
審査員より

- ClearSee という植物組織の透明化、組織観察のための新しい手法の開発をベースとして、この方法を花粉管の伸長の過程に適用して、構造を維持したまま個々の花粉管の形態を解析することに成功した点は高く評価できる。二光子励起顕微鏡による画像もきわめて美しく、花の中にもう一つの花が咲いている様にも見える。
- 色とりどりの花束のようで純粋に美しい。植物の生物学として学術的にレベルの高い研究である。
- 植物の内部構造及び内部細胞を研究するために重要な透明化技術を開発した研究である。植物研究に幅広く貢献する可能性を持ち、極めて重要な技術である。
- 花の内部にもこのような綺麗な構造があることは、非常に驚きであり、色鮮やかで極めて美しい作品である。将来的には、この 3D 画像も見るのが楽しみに思われる。

特別賞

両耳間時差を検出する脳

音源定位の手がかりとなる両耳間時差を検出する脳幹聴覚回路において、
個々の神経細胞が形成する配線の3次元的な構造を可視化した。



幹聴覚神経回路



YouTube



えがわりょう
江川 遼

名古屋大学大学院
医学系研究科 細胞生理学分野
特任助教

せきかわ ひろし
関川 博

医学部生

くば ひろし
久場 博司

教授

受賞コメント

このたびは特別賞に選出いただき、大変光栄に存じます。

研究を進める過程にはしばしば心が震えるような瞬間があります。私の場合、その1つは組織の中に潜んでいる神経回路の美しさを実際に目の当たりにするときです。

細胞たちは、こんなにも精巧な構造をどうやって組みあげるのでしょうか。そのしくみを解明すべく、基礎配属の医学部生達とともに日々研究に明け暮れています。

神経回路の魅力と研究の興奮を、この作品を通じて少しでも共有できれば幸いです。

ニワトリ胚（胚齢 15 日）、脳幹、大細胞核（NM）ニューロン

サンプル詳細 : Tetbow、CUBIC 法による組織透明化

観察手法 : 共焦点顕微鏡、蛍光

観察倍率 : x10

撮影年 : 2019 年

顕微鏡データ : 動画

両耳間時差を検出する 脳幹聴覚神経回路

研究の概要

両耳間時差を検出する脳幹聴覚回路の構築メカニズム

哺乳類や鳥類の多くは左右の耳に入力する音の時間差と音圧¹差の両方を手がかりとして音源定位を行っておりますが、実験動物として広く使われているマウスでは可聴域²が異なるため時差検出回路が機能しておらず、遺伝子工学⁷的な手法を使った時差検出回路の研究は進んでいませんでした。

私たちはニワトリ胚における脳幹⁴聴覚回路でフレキシブルな遺伝子導入法を確立し、時差検出回路の可視化や操作を実現しました。

論文

Hiroshi Kuba (2012)

Structural tuning and plasticity of the axon initial segment in auditory neurons.
The Journal of physiology. 590(pt22): 5571-5579.

久場博司 . (2016)

" 両耳間時差検出の神経回路機構 . "
Audiology Japan. 59(4): 211-217.

音源定位 ～音はどこからやってくる？～



私たちは常に音に囲まれて暮らしています。普段から無意識のうちに音の聞こえてくる方向を理解して、自分の周りの空間を認識しています。それによって、声をかけられて振り返ったり、街中で車が近づいて来ることを感じ取れたり、映画館ではスクリーンの中にいるかのような音の臨場感を味わうことができたりします。

音がどこから聞こえてきたのか分かる能力のことを**音源定位**と言います。この能力はヒト以外の動物にも備わっていて、鳥類で優れていることが知られています。例えばフクロウは真っ暗闇の中でも音だけを頼りに獲物を捕まえることができます。



音源定位はどうやって行われているのでしょうか？
それにはまず、**左右2つの耳で音を聞く**ことが必要となってきます。

音源定位の手がかり：両耳間時差

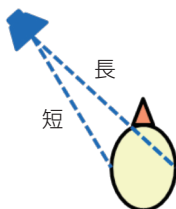
左右それぞれの耳では音の聞こえ方がわずかに異なり、その違いが音源定位の手がかりとなります。重要な手がかりの1つが音入力の**時間差**です。

音源が真正面にある場合



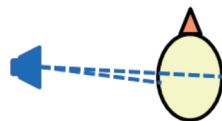
両耳間時差：なし

音源が斜め前にある場合



両耳間時差：小

音源が真横にある場合



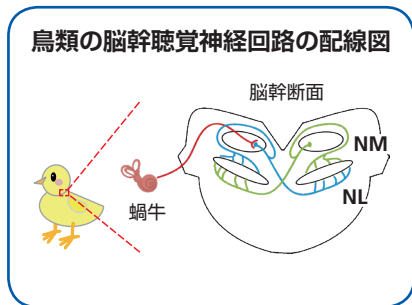
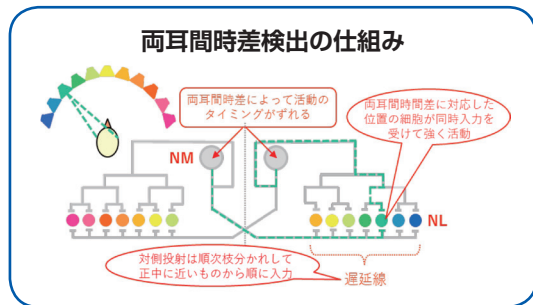
両耳間時差：大

音源の方向によって、左右の耳に音が到達する時間に差が出ます。これを**両耳間時差**といいます。とはいえ、音は秒速 340m もの速さで伝わりますから、その時差はたったの 1 ミリ秒（1000 分の 1 秒）未満しかありません。しかしながら、私たちは音源の方向が 1 度違って認識することができます。これは時差にして**約 10 マイクロ秒（10 万分の 1 秒）**というとても驚異的な精度です。

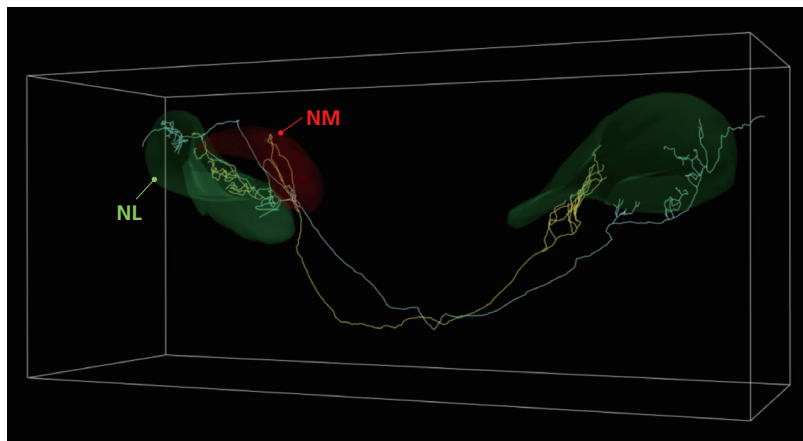
この計り知れないほどのわずかな差を検出しているのは、他にもない私たちの脳です。脳の中には、**両耳間時差を検出するための神経回路**が存在しているのです。

両耳間時差を検出する脳幹聴覚神経回路

両耳間時差を検出する神経回路は、脳幹という部位に存在しています。この回路の研究は特に鳥類で進んでいます。まず音の情報は耳の奥にある蝸牛³で神経活動に変換され、その後脳幹へ伝えられます。鳥類の脳幹には **NM**⁵ と **NL**⁶ と呼ばれる神経細胞が集まった領域が左右に各一対あります。NM は同側の蝸牛から入力を受け取って、その活動を同側と対側の NL へ伝えます。この NL で左右の時間情報が比較されることによって両耳間時差が検出されます。



一本一本の配線の可視化



両耳間時差を検出するカギとなるのは、NM から NL へとつながる神経細胞の配線です。この配線はとても規則正しく並んでいて、それぞれが異なる音の高さの情報を伝えています。私たちは、遺伝子工学的な方法を駆使して、この回路の**配線の本一本を可視化・操作する技術を確立**しました。この技術を使って両耳間時差を検出する精密な回路がつけられる仕組みについて研究しています。

Q & A

Q1 音の高さにより反応する神経細胞が違うそうですが、なにが違うのでしょうか？

蝸牛には特定の高さの音に選択的に反応する細胞が規則正しく並んで存在していますが、同様の位置関係が聴覚情報を受け取る脳幹や大脳皮質の聴覚野でも保たれています。各領域を結び配線は混線せずに音の周波数情報を伝えているのです。このような細胞の配置は周波数地図（トノトピー）と呼ばれています。トノトピー形成の背景には複雑かつ精密な分子メカニズムが存在していると考えられていますが、その詳細はまだよくわかっていません。私たちが最も解き明かしたい謎の一つです。

Q2 NLでは時間差情報をどのようにして検出しているのでしょうか？

NMの配線の形が両耳間時差検出のカギとなっています。シート状に並んだNLの神経細胞は左右のNMの配線から全く同時に入力を受けた時に強く活動しますが、その入力のタイミングは遅延線という枝分かれした配線様式によってわずかにずれます。その入力のずれによって、NLでは両耳間時差に対応して活動する神経細胞の位置が決まります。

Q3 音圧だけの場合、音源定位の精度はどうなりますか？

また時差を検出することにより、音源定位の精度がはどのようにあがるのでしょうか。

音圧差の手がかりだけでは特に低音域での音源定位の精度が低下してしまうと考えられます。低音域の音は障害物を回り込む様に伝わるので、左右の耳で聞こえる音の大きさに差が出にくい性質があります。逆に時差だけでは、高音域での音源定位の精度が低下してしまうと考えられます。音は波の位相のピークで神経活動に変換されるので、周波数が高まって位相の幅が短くなると、位相のずれを正確に検出することが難しくなってしまいます。時差と音圧差の両方を手がかりに使うことで、幅広い音域での正確な音源定位が可能になります。

Q4 上下方向の音源定位の仕組みはなんですか？

音波は耳にぶつかるで反射したり回り込んだりしますが、そのパターンは音の周波数ごとに異なります。これによって、音が来る方向によって特定の周波数が強まったり弱まったりして聞こえるのです。生き物はこの変化のパターンを無意識に学習して上下方向の音源定位に役立てています。そのため、例えば耳の内側の凹凸を粘土などで埋めたりすると上下方向の音源定位ができなくなります。

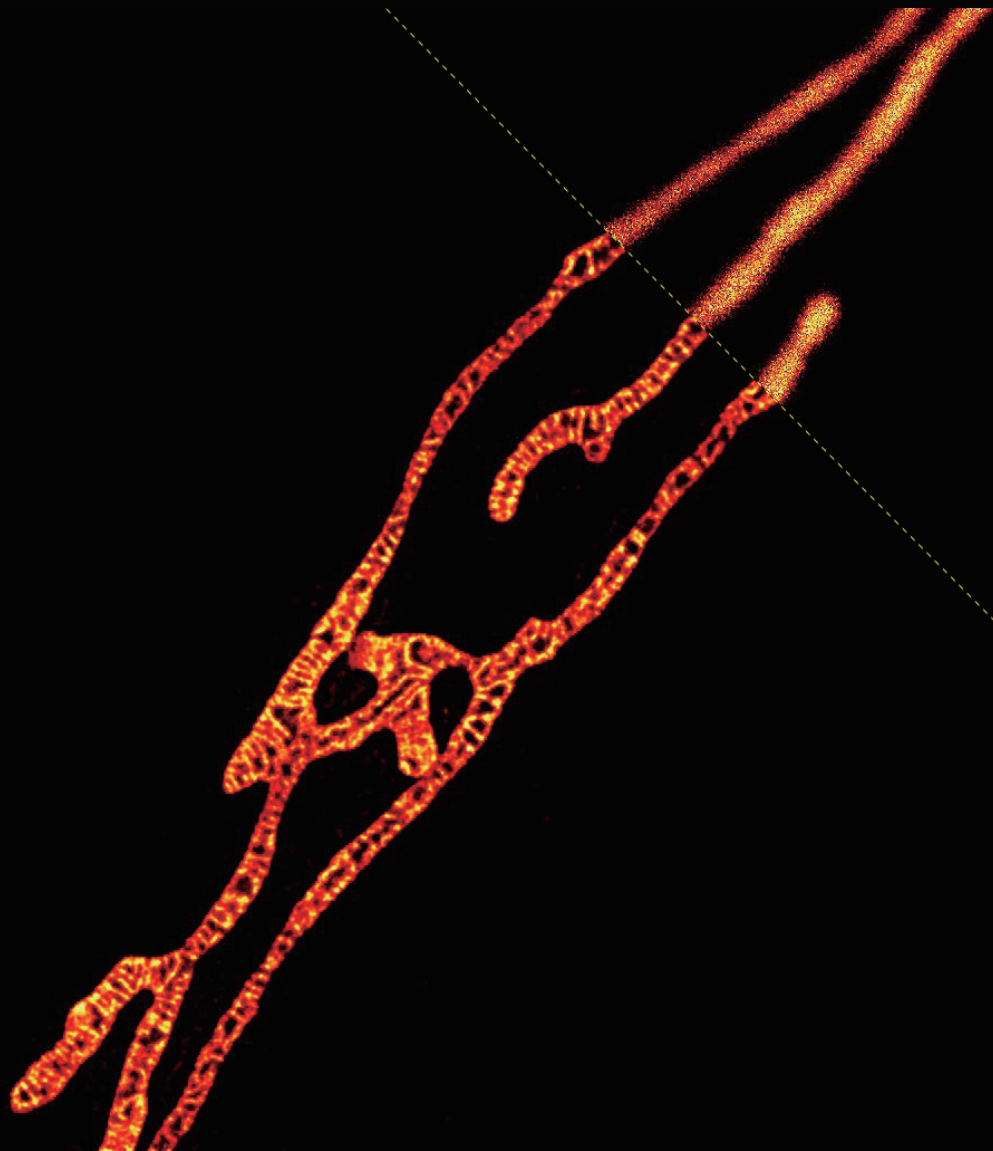
審査員より

- 音源定位位に関する脳幹の神経回路を個別に同定、観察するための手法の開発は高く評価できる。組織透明化手法をうまく利用したイメージング技術についても優れている。
- 通信ビッグデータを用いたインスタレーションを彷彿とさせるビジュアルで、観る人の想像を掻き立てる表現。
- 神経科学者を魅了する神経回路の美しさを可視化している。
- 宇宙を連想させるような神秘性があり、幻想的で極めて美しい作品である。
- 見た目インパクトがある。神経回路が美しくとても宇宙の広がりのように神秘さを感じた。

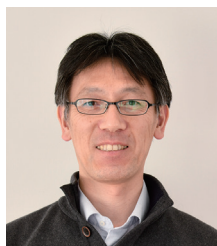
特別賞

細胞飢餓状態で発達した

栄養飢餓状態の細胞において、伸長したミトコンドリアの内膜構造が密になっている様子を超解像顕微鏡によって捉えた。



ミトコンドリア内膜の超解像画像



た き ま さ や す
多喜 正泰

名古屋大学
トランスフォーマティブ生命分子研究所^{*1}
特任准教授

わん ちえんがん ^{*1}
王 晨光
博士研究員

さとう よしかつ ^{*1}
佐藤 良勝
特任准教授

おかだ やすし
岡田 康志
理化学研究所
生命機能科学研究センター
細胞極性統御研究チーム
チームリーダー

やまくち しげひろ ^{*1}
山口 茂弘
教授

受賞コメント

この度は栄えある第一回 NIKON JOICO AWARD において特別賞をいただきましたこと、心より嬉しく思います。本作品は、共同研究者の皆様との成果の一つであり、ここに改めて熱く御礼申し上げます。

細胞の構造や機能をありのままに映し出すイメージング画像は、私達にとって重要な研究成果であるだけでなく、一つの芸術品と思っています。

今回の受賞を励みに、学術性と芸術性をより高みにもっていけるよう、研究に邁進していきたいと思いをします。

ヒト由来細胞株 HeLa 細胞、ミトコンドリアのクリスタル

サンプル詳細 : 飢餓状態下の細胞膜透過性ミトコンドリア蛍光標識剤 (MitoPB Yellow) 標識した HeLa 細胞

観察手法 : 超解像顕微鏡、蛍光

観察倍率 : x100

撮影年 : 2018 年

顕微鏡データ : 静止画

細胞飢餓状態で発達した ミトコンドリア内膜の超解像画像

研究の概要

極めて高い耐光性をもつミトコンドリア蛍光標識剤「MitoPB Yellow」を開発し、ミトコンドリアの折りたたまれた内膜構造（クリステ）を超解像 STED イメージングによって、細胞が生きたままの状態でも鮮明に可視化することに成功した。

MitoPB Yellow は、ミトコンドリア内膜のタンパク質と結合し、強く発光するという性質をもっているため、細胞飢餓状態¹⁰においてクリステ密度が高くなる様子や、ミトコンドリア DNA¹¹の複製阻害によって、クリステ形態が変化する様子を生細胞中で観測することができた。さらに、超耐光性とも形容できる光安定性により、クリステ構造の経時的な形態変化をリアルタイムで捉えることが可能になった。

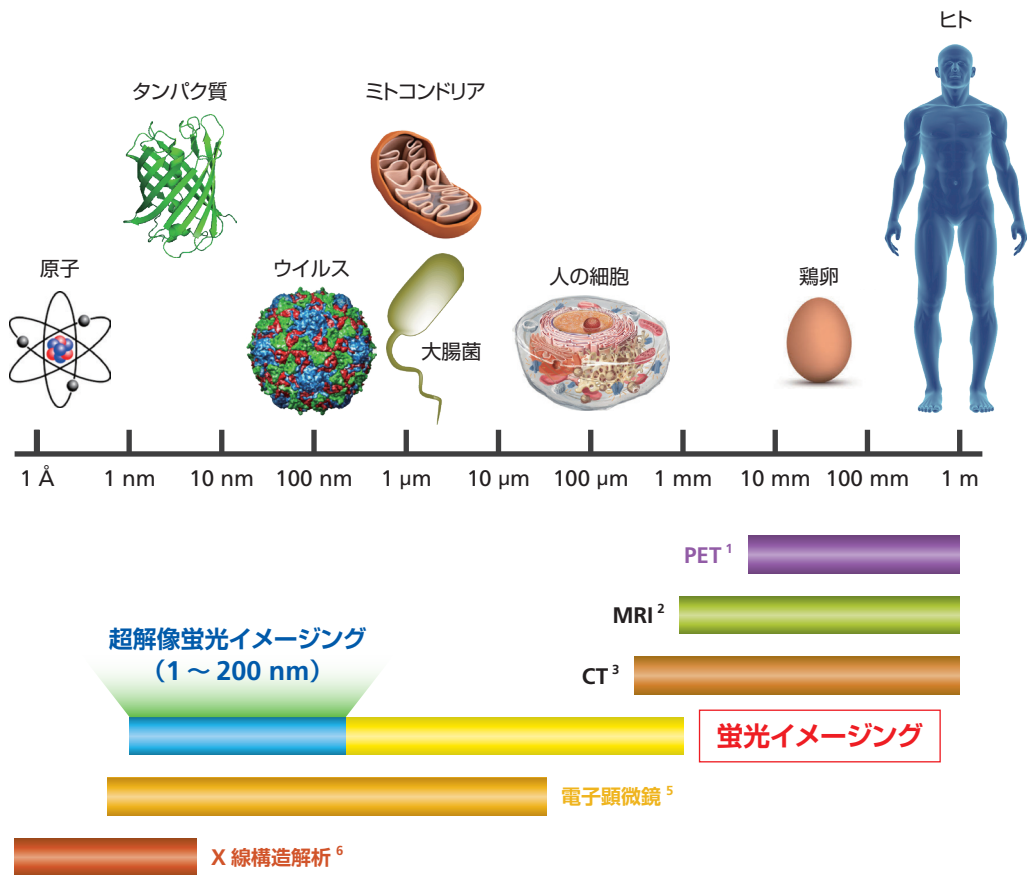
論文

Chenguang Wang, Masayasu Taki, Yoshikatsu Sato, Yasushi Tamura, Hideyuki Yaginuma, Yasushi Okada, Shigehiro Yamaguchi (2019)

A photostable fluorescent marker for the superresolution live imaging of the dynamic structure of the mitochondrial cristae.

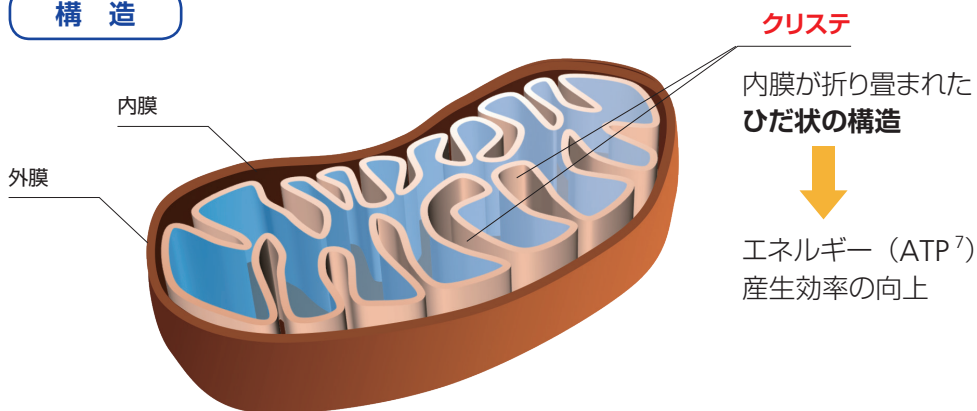
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 116(32): 15817-15822

観察対象の大きさと計測手法



ミトコンドリアの構造と機能

構造



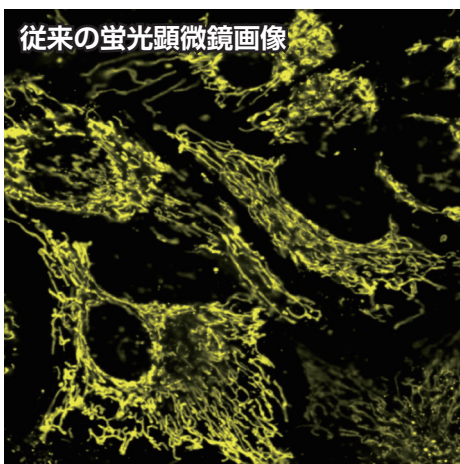
機能

- エネルギー合成
- 活性酸素⁸の発生
- アポトーシス（細胞死）⁹の制御
- カルシウムの貯蔵

ミトコンドリアの機能異常



ミトコンドリア病やパーキンソン病
などの神経変性疾患¹³



従来の蛍光イメージング手法では、
クリステ構造を生きた細胞で観察することができなかった

研究成果と展望

課題

超解像イメージング⁴ 画像の取得には強いレーザー光照射が必要

➡ 光照射でも退色しないミトコンドリア標識剤が求められていた

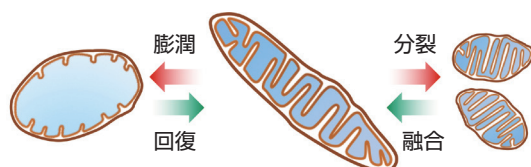
成果

超耐光性ミトコンドリア内膜標識剤の開発に成功

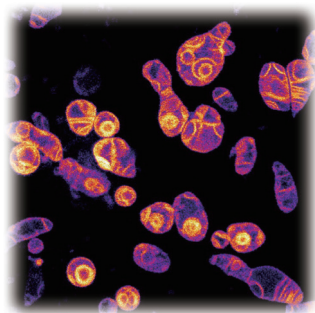
- 生きた細胞のクリステを明瞭に可視化
- クリステの動きをライブで撮影
- クリステの形態異常を簡便に検出

展望

神経変性疾患の診断薬や
治療開発ツールとして利用



代謝疾患¹²・神経変性疾患・がん・老化などにおける
ミトコンドリアの形態変化と細胞機能の解明に期待



ミトコンドリア DNA の複製阻害
によって引き起こされるクリステ
の形態異常

用語解説

1. PET

ポジトロン断層法。陽電子検出を利用したコンピューター断層撮影技術。

2. MRI

核磁気共鳴画像法。磁場と電場を利用した生体の画像化技術。

3. CT

コンピュータ断層撮影法。放射線を用いて撮影した体の断面像をコンピューターによって再構成する画像化技術。

4. 超解像イメージング

光の回折限界を超える分解能で撮像するイメージング技術。細胞の微細構造を捉えることができる。

5. 電子顕微鏡

観察対象に電子線をあてて拡大像を得る顕微鏡。高い空間分解能を特徴とする。

6. X線構造解析

試料に照射したX線の回折を解析することによって、分子の3次元構造を決定する手法。

7. ATP

アデノシン三リン酸。生命活動の細胞活動エネルギー。

8. 活性酸素

酸素が外部からの刺激によって、より反応性が高い状態に変化したもの。

9. アポトーシス

遺伝子で決められたメカニズムにおこるプログラムされた細胞死。

10. 細胞飢餓状態

アミノ酸などの栄養成分が含まない培地で培養した細胞。

11. ミトコンドリア DNA

ミトコンドリアに関わる遺伝情報が含まれる DNA。

12. 代謝疾患

代謝に関わる酵素の遺伝子が変異し、それによって引き起こる病気の総称。

13. 神経変性疾患

神経細胞のなかで、ある特定の神経細胞群が徐々に障害を受け脱落してしまう病気。

Memo

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Q & A

Q1 クリステの形態変化はどのようにおこるのですか？ またそれは細胞機能にどう影響を与えているのですか？

クリステの形態変化機構についてはまだわかっていません。ミトコンドリア機能と形態、さらに細胞機能との関連性を明らかにすることは非常に重要な研究課題となっています。今回の技術によって、生きた細胞内におけるクリステを明瞭に観察することが可能になったことから、それらの機構解明に期待されます。

Q2 なぜこれまで生きた細胞のクリステ構造を観察することが困難だったのでしょうか？ 観察手法とミトコンドリア標識剤はあったと思うのですが。

細胞によってばらつきはありますが、隣接するクリステの距離は 100 nm 以下です。これは光の回折限界よりも近接しているため、従来の光学顕微鏡では両者を独立に観察することはできません。超解像顕微鏡であればクリステを観察することは理論上可能ですが、これに適したミトコンドリア標識剤はこれまで存在しませんでした。今回の MitoPB Yellow は極めて高い光安定性と内膜選択性を有していることから、超解像顕微鏡によるクリステ観察が実現できました。

Q3 ミトコンドリアの異常が引き起こす疾患に対し、 どのような薬が開発されているのですか？

ミトコンドリア機能の障害により引き起こされる病態は、ミトコンドリア病として難病指定されています。原因遺伝子は同定されつつありますが、有効な薬の開発までには至っていません。MitoPB Yellow と超解像顕微鏡の組み合わせにより、新薬のシーズ探索や薬の作用機序解明などが進展することを期待しています。

審査員より

- ミトコンドリアの内膜は超解像顕微鏡を用いなくともその解像が不可能な微細構造であるが、生きた細胞で超解像顕微鏡を使用する際の課題点として、蛍光プローブの褪色があった。このイメージは新しく開発された超耐光性の標識プローブを用いて、細胞の飢餓に応答して形態を変化させたミトコンドリアを見事に捉えたものとして価値がある。
- ミトコンドリアの内部構造を可視化する技術を開発した重要な論文である。将来的な医学応用への可能性が感じられる。
- 超解像イメージング法の今後の展開に非常に貢献するものである。
- PNAS に報告されたレベルの高い研究である。

審査員紹介



石井 優 先生

大阪大学大学院 医学系研究科
免疫細胞生物学研究室
教授



岡部 繁男 先生

東京大学大学院 医学系研究科
医学部 神経細胞生物学分野
教授



小原 圭吾 先生

関西医科大学 生命医学研究所
細胞機能部門
部門長 講師



根本 知己 先生

自然科学研究機構
生命創成探究センター
バイオフィotonics研究グループ
生理学研究所
バイオフィotonics研究部門（兼任）
教授



平井 宏和 先生

群馬大学大学院 医学系研究科
脳神経再生医学分野
教授

株式会社ニコン デザインセンター

橋本 信雄

センター長

岩村 暢彦

Life Imaging Lab
室長

今野 純

エクスペリエンスデザイングループ
グループ長

馬場 健司

ID グループ
グループ長

前川 明哉

UI & インタラクションデザイングループ
グループ長

NIKON
JOICO
AWARD



<http://www.nikon-instruments.jp/jpn/bioscience-products/joico/award>



NIKON JOICO AWARD
WEB site

株式会社 **ニコン インステック**
NIKON JOICO AWARD 事務局
E-mail : Nit.Biomarketing@nikon.com