



植物細胞の蛍光を 簡単な顕微鏡で観察してみよう

東京理科大学 創域理工学部
生命生物科学科 助教

はしもと けんじ
橋本 研志

東京理科大学 創域理工学部
生命生物科学科 教授

くちつ かずゆき
朽津 和幸

1. はじめに

物質（分子）が外部からの光エネルギーを吸収して励起状態となった後、元の基底状態に戻る際にエネルギーを光として放出する現象を蛍光と呼ぶ【図 1A】。励起状態から基底状態に戻る際、熱などの形でエネルギーを放出する分子が多い中で、特定の分子だけが蛍光を発することができ。与えた光（励起光）や蛍光の波長（すなわち色）は、蛍光を発する分子により異なる。また蛍光を発する場合も、吸収したエネルギーの一部は熱として失われるので、励起光と出てくる蛍光とは波長が異なる。いちばん身近な蛍光物質は、蛍光ペンのインクに入っている。黒い画用紙に黄色の蛍光ペンで文字や絵を書き、紫外線（UV）を当てると、光が当たった部分の蛍光分子が励起され、黄色い蛍光を放つ【図 1C】。いろいろな色の蛍光ペンで試してみよう！

この蛍光は、今や生物学や医学の研究にはなくてはならない技術（ツール）として使われている。一般の（明視野）顕微鏡は、対象全体の形を拡大して観察する道具だが、その際、特定の物質（分子）だけを光らせることができれば、その分子の存在する場所や動きなどを観察でき、形に加えて機能に関する情報も得ることができる。生物がもともと持っている蛍光物質や、特別な蛍光試薬で生物体内の特定分子（例えば DNA）を標識したものなど、組織や細胞中の「見たいもの」だけを暗闇に浮かぶ蛍光で観察できるのだ。私たちは、



【図 1】 (A) 蛍光現象の概念図。(B) 本稿で紹介した実験で使用した UV ライトの例。(C) 黒画用紙に蛍光ペンで描いた線を UV 光で照らした様子。

東京理科大学野田キャンパスにおける「サイエンス夢工房」やオープンキャンパスなどの機会に、最先端の研究や生物を学ぶ学生の教育に使っている蛍光顕微鏡を活用して、バイオイメージングの美しさ、楽しさを一般の方に体験していただくイベントを長年続けている¹⁻³⁾。

こうした高性能の蛍光顕微鏡はとても高額だが（数百～数千円！）、小・中・高等学校の理科室にあるような顕微鏡でも、少しの材料と工夫で、蛍光バイオイメージングの世界の一端を体験できる。

2. 準備するもの

- (1) 正立顕微鏡（対物レンズの先端が下を向いているタイプ）：最近はかなり安価なものも市販されている。4倍～10倍程度の対物レンズを使う。
- (2) UV ライト（365 nm 程度の波長の紫外光を出せるもの）：いわゆるブラックライト。【図 1B、C】のような、小型の懐中電灯タイプが便利。ホームセンターやインターネットなどで、2,000 円前後で購入できる。「395 nm」では波長が不適当なため蛍光を見にくいことが多い。使う際は、光が直接目に入らないように注意。
- (3) UV 保護ゴーグルまたは UV カット機能のついた

サングラス：目を保護するために、必ず着用すること。

- (4) その他、スライドグラス・カバーグラス・ピンセットなど。
- (5) できれば顕微鏡の接眼レンズに取り付けるタイプのスマホアダプター【図 2A】などを利用して、スマホを使って撮影できるようにすると良い。2～3,000 円程度で購入できるもので十分。
- (6) 観察対象。本稿では、東京理科大学野田キャンパス（自然豊かで、2018 年に日本生態系協会賞を受賞した！）に自生するトキワツユクサ *Tradescantia fluminensis* の葉を例に述べる。本稿の方法は、様々

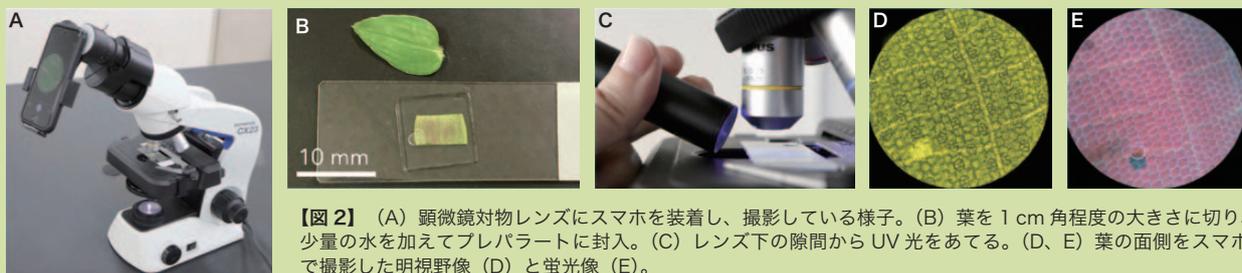
な植物の葉をはじめ、いろいろな生物試料に応用できるが、ツククサ、マルバツククサなどを含むツク

クサ科の植物は、細胞壁中に蛍光物質を多く含むので本実験に最適である。

3. 観察・撮影

目視観察の場合も、スマホを取り付けて撮影する場合も【図2A】、まずは通常照明で明視野観察し、顕微鏡のセッティングを整える。葉を適当な大きさに切り、プレパラートを作成【図2B】。葉の表と裏それぞれを上に向けたサンプルを用意する。明視野で焦点を合わせたら、通常照明を切る。周囲が明るいと蛍光が見えづらいので部屋を暗くする。対物レンズとプレパラートの隙間に、【図2C】のようにUVライトを当てると、

それぞれの細胞を縁取るような青い蛍光が観察できる【図2D】。これは主にツククサ科植物の細胞壁に多く含まれるフェルラ酸の蛍光である。赤く光るのは葉緑体に含まれるクロロフィル（光合成色素）の蛍光。筆者の実験環境では、10倍対物レンズでの観察・撮影が最適で、40倍など作動距離の短い対物レンズでは、プレパラートとの隙間が小さくてUV光を当てるのが難しい。



【図2】 (A) 顕微鏡対物レンズにスマホを装着し、撮影している様子。(B) 葉を1 cm角程度の大きさに切り、少量の水を加えてプレパラートに封入。(C) レンズ下の隙間からUV光をあてる。(D、E) 葉の面側をスマホで撮影した明視野像 (D) と蛍光像 (E)。

4. 注意

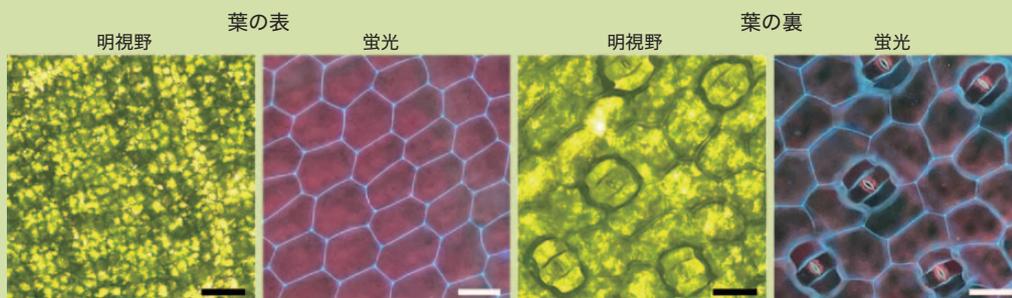
UV（紫外）光は目を傷めるおそれがあるので、絶対に直視しないこと。必ず保護ゴーグルなど着用し、周囲の人にUV光を向けてしまうこともないよう十分に

注意。またUV光以外でも、薄暗い部屋での長時間の顕微鏡観察は目が疲れやすい。目視観察は短時間にとどめ、スマホで撮影した画像をあとでじっくり堪能しよう。

5. 観察と考察のポイント

できるだけたくさんの写真を撮って、【図3】のように明視野像と蛍光像とをセットにして並べてみよう。葉の表面にはどのような形をした細胞があり、どのような機能を果たしているだろうか？ 気孔は見えるかな？ それぞれの細胞には葉緑体が含まれているだろ

うか？ 明視野像と蛍光像との比較や、葉の表裏の比較からどんなことが考えられるか、話し合ってみよう。また、カミソリとピンセットを使って、葉の表皮組織を剥いで観察したものと見比べるとよい。ツククサ科以外の植物ではどんなふうに見えるだろう？ 様々な蛍光観察を試してみしてほしい。



【図3】 葉の表裏それぞれで撮影した明視野像と蛍光像。図2D、Eのようにスマホ撮影した画像を拡大したもの。各写真右下の線（スケールバーと呼ぶ）の長さは100 μm（1 mmの1/10）を示す。

- 1) 朽津 和幸 自分のDNAを見てみよう～バイオイメーjingの世界～「理大 科学フォーラム」2007年10月号 p. 12-13.
- 2) 朽津 和幸 自分のDNAを見る～蛍光顕微鏡イメージングを用いた遺伝子リテラシー教育の試み～「理大 科学フォーラム」2008年7月号 p. 18-19.
- 3) 朽津 和幸 自分のDNAが見えたよ！～バイオイメーjingによる遺伝子リテラシー教育～ 実験医学 第26巻No. 16（10月号） p. 2596-2597（2008）