

細胞内現象をリアルタイムに可視化する技術と光で操作する技術の開発

●宮脇 敦史 ◆水野 秀昭 ◆下園 哲 ◆深野 天 ◆筒井 秀和

理化学研究所 脳科学総合研究センター

<研究の目的と進め方>

生きた細胞や組織において、入力（外界刺激など）に依存して起こる、生体分子間相互作用（酵素—基質相互作用を含む）や生体分子の構造変化を出力として測定し、入力と出力との関係を解析するための光技術を開発する。光を用いることによって、入力の供給、出力の観察における高い時間・空間的分解能を追求することができる。たとえば、細胞のある細胞内小器官の一部で、ある生体分子を光によって瞬間的に活性化し、その分子に関わる複数の細胞内動態の時間的、空間的变化を蛍光イメージングによって解析していくような実験が考えられる。

当領域にあって、上記の技術開発を、バイオインフォマティクスを武器に展開させることを狙う。すなわち、ゲノム情報やシステム情報を活用し、“生きた細胞にどのような摂動を加えるか？何をどのように観察すると面白いのか？何と何を同時に観るべきか？”などを議論しながら、新しい蛍光色素、プローブの開発を行う。ゲノム解析、プロテオーム解析と比較して、生命システムに関する、より“柔らかい”あるいは“動的な”情報が得られることが期待される。

光を用いる可視化技術の中でも、可視域光を用いる蛍光イメージングは、その発展が世界的に注目されつつある。とくに蛍光蛋白質やQドットなどの台頭の影響が大きい。しかしながら、生命システムに関する問題を、蛍光イメージングによって見事に解明した研究例はまだ少ない。先述したように、生命システム論に基づいたイメージングデザインが必要である。また、光で操作する技術の発展によって、細胞内現象の拡がりをより定量的に記述することができるようになってきた。reaction-limitあるいはdiffusion-limitを区別することによってシミュレーションは大きく進展するはずである。

本研究では、とくに培養細胞（ガラス基板上の細胞）を材料に、一つ一つの細胞内あるいは細胞集団の中で展開される現象の時空間パターンを可視化・定量化し、そうしたパターンが生成する機序に関する知見を得ることを主目的とする。

<2007年度の研究の当初計画>

シナプス形成に関わる生体分子に注目する。その動きに関する半網羅的な解析を神経細胞において行う。神経細胞外の環境によってそういう動きがどのように変化するかを観る。なかでもアストロサイトの接着による神経細胞の成熟現象に注目する。こうした解析のための新しい単量体で使いやすい蛍光蛋白質を開発する。

細胞の増殖を、細胞の分化や細胞死と絡めて解析する技術を開発する。たとえば細胞の増殖期を休止期と区別して可視化する蛍光プローブを作製し、組織レベルでの実験を行う。

<2007年度の成果>

- 細胞周期リアルタイムにモニタする蛍光プローブを蛍光タンパク質をもとに開発した。このプローブを導入すると、分裂後からDNA複製前の時期にある細胞の核は赤色の、DNA複製から分裂前の時期にある細胞の核は緑色の蛍光を発するようになる。この技術を利用して、マウスに移植されたがん細胞の浸潤・転移や、マウスの胚で起こる神経細胞の分化、移動などにおける細胞周期進行の時空間パターンを観察することに成功した。

<国内外での成果の位置づけ>

蛍光タンパク質の特性を活用したイメージング技術の開発、および生物現象の時空間制御の漢籍に関しては、世界をリードしている。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

アストロサイトの接着による神経細胞の成熟現象に関する研究成果をまとめるのに苦労している。蛍光イメージングだけでなく、生化学的なデータも組み入れた多角的な理解を目指す必要がある。

<今後の課題>

- 細胞周期プローブを可視化する技術と光で操作する技術を組み合わせ、培養細胞社会における細胞増殖の時空間パターンの生成に関して理解を深める。
- 世界で最も大きいストークスシフト（励起波長と蛍光波長の差）を示す蛍光タンパク質（Keima）を用いた、一本のレーザー発振線で行うFCCS（fluorescence cross-correlation spectroscopy）技術の有用性をさらに証明する。
- フォトクロミズムを示す蛍光蛋白質 Dronpa の新しい変異体を用いた新しい3次元イメージング技術を開発する。すなわち、405nmと488nmの二つのレーザー光が同時に当たった部分でのみ蛍光シグナルを発生させるようなイメージングである。

<成果公表リスト>

0801281129

Asako Sakaue-Sawano, Hiroshi Kurokawa, Toshifumi Morimura, Aki Hanyu, Hiroshi Hama, Hatsuki Osawa, Saori Kashiwagi, Kiyoko Fukami, Takaki Miyata, Hiroyuki Miyoshi, Takeshi Imamura, Masaharu Ogawa, Hisao Masai, and Atsushi Miyawaki. (2008) Visualizing Spatiotemporal Dynamics of Multicellular Cell Cycle Progression. Cell, (in press).

0801281328

Shimozono S, Miyawaki A. (2007) A. Engineering FRET Constructs Using CFP and YFP. Methods Cell Biol. 85C:381-393.