



まるでバレリーナ！

イメージングの新技术を開発して、細胞膜タンパク質の複雑な動きを見たら

バレエと細胞生物学に共通点があるでしょうか？ 私たちが想像するより多くの共通点がありそうです。—— 沖縄科学技術大学院大学（OIST＝オイスト）、京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点（iCeMS＝アイセムス）の研究者らはこの度、細胞内のタンパク質の動きを1分子ずつ長時間追跡する新技术を開発することで、細胞の動く仕組みが見えてきました。本研究成果は日本時間4月3日午前0時に *Nature Chemical Biology* 誌（オンライン版）に掲載される予定です。



私たちの身体の中にある全ての細胞は、細胞膜で囲まれています。ちょっと驚くのは、細胞を外界から隔てるという大切な働きをもつ細胞膜は、固体ではなく「液体」でできていることです。そのため、細胞膜の中では、個々の分子は、まるで舞台上上がったバレエダンサーのように動き回ったり、時に静止したりしています。

OISTで膜協同性ユニットを率いる楠見明弘教授（京都大学名誉教授、iCeMS客員教授）は、これを以下のように表現します。「細胞膜で働くタンパク質分子群は、優雅にコーディネートされたダンスによって、細胞の外からやって来たメッセージ物質のシグナルを細胞内部に伝達しています。」

様々なタンパク質分子が細胞膜内をどのように動き、互いに結合するかを理解するため、楠見教授のチームを含む世界の数グループは、生細胞中の1蛍光分子をイメージングする方法（SFMI）を開発してきました。SFMIでは、細胞膜中の個々のタンパク質「ダンサー」（分子）たちに蛍光分子で標識を付け、この標識の動きを、自家製の1分子観察蛍光顕微鏡で撮影して、各ダンサーの動きや、ペアを組み替えていく様子などを追跡します。

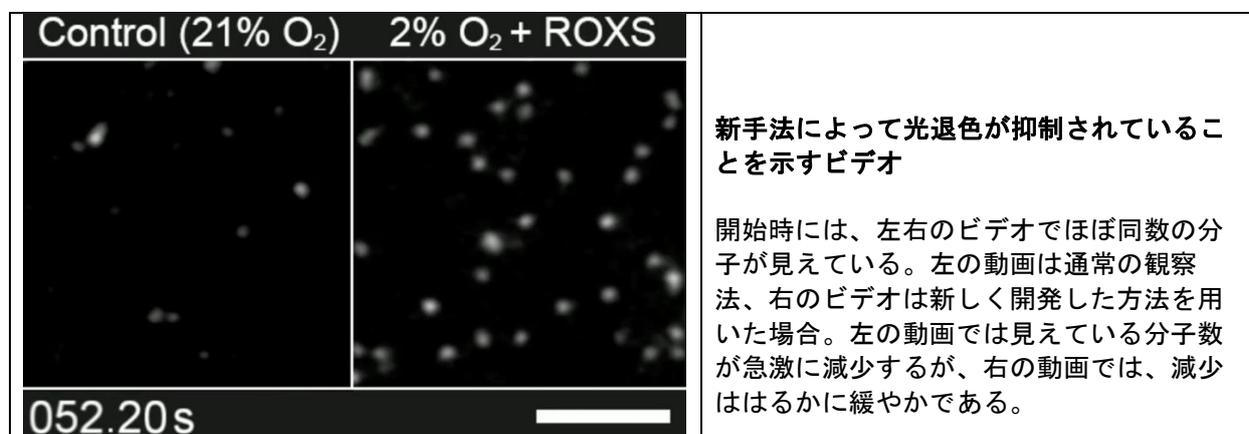


しかしながら、SFMIには問題もあります。顕微鏡下で観察を続けると、蛍光分子が発光しなくなるのです。「光退色」と呼ばれる現象です。このため、1個の分子を追跡できる時間は、従来は、10秒未満でした。「これまでは、例えば一幕5分間の場面を撮影するのに、10秒間の動画をランダムに撮影し、それを正しい順序でつないで映画を作るような作業をしていました」とOIST膜協同性ユニットの角山貴昭技術員は説明します。

そんな中、OISTの角山技術員と楠見教授、京都大学iCeMSの藤原特定准教授らは、SFMIにおいて光退色を抑制する方法を編み出しました。その方法は、特殊な化学物質と酸素分子を試料内に溶存させるというものです。

従来、光退色防止のために使用されていた方法は、あまり効果的でない上、酸素を完全に除いてしまうなど、生きた細胞にとっては有害なものでした。しかし、この度OIST研究者らが編み出したのは、細胞を、生体内と同程度の低い酸素濃度の中に置き、「トロロックス」と「トロロックスキノン」という2種類のマイルドな化学物質を添加するものです。この方法は、細胞に悪影響を与えることなく、驚くほど有効に光退色を抑えました。

この新しいアプローチを用いることで、生細胞内の個々の蛍光分子の連続観察時間を400秒まで伸ばすことができました。「この方法は、蛍光分子の追跡可能時間を従来比で40倍にも引き延ばしてくれたのです」と楠見教授は話します。

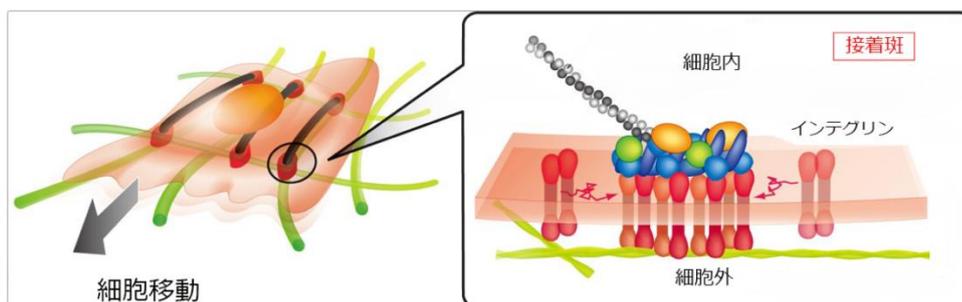


観察の時間ウィンドーが長くなることで、分子が細胞ではたらく仕組みを、直接に調べることが可能になりました。そこで、膜協同性ユニットの研究者は、「接着斑」という細胞膜の領域を研究しました。接着斑は、いわば細胞の「足」で、細胞はこれらの足を使ってあちこちへ移動します。例えば、ガン細胞が転移するときも、この接着斑という足を使います。

角山技術員と藤原准教授らは、特にインテグリンという膜分子の挙動を調べました。インテグリンは接着斑にあって、細胞骨格と細胞外基質を結合する細胞膜分子です。従来、インテグリンは、細胞の足の中でしっかりと固定されていると考えられていました。しかし、観察の時間ウィンドーを長くできたことで、インテグリン分子が何度も細胞の足構造の中で動いたり止まったりし、さらには一つの足構造から出て他の足へと移動する現象もはっきり見られたのです。



あたかも、ロッククライマーが次にしがみつく岩を探すかのように、インテグリン分子も次に結合できるポイントを探して拡散運動します。そのような地点を見つけると、それが安定しているかどうかを判断するため、一時的に結合します。安定していると判断すると、インテグリンはその新たな地点をしっかりとつかんで細胞を引き寄せ、それによって細胞は動く、ということが分かってきました。



接着斑におけるタンパク質の集合を示す模式図。
インテグリンは、細胞骨格(白黒の連珠状構造)と細胞外基質分子(緑のねじったリボン様構造)をつないでいる。

この新たな技術によって、細胞膜中のタンパク質ダンスを、滅茶苦茶にぶつ切りにして撮影した後でそれらを繋ぐというようなことをせず、一幕全体を一気に記録することができるようになりました。「この方法を使うと、細胞挙動の文脈を理解するに十分な長さで、各分子の運動を追跡できます。接着斑構成分子の1分子毎の挙動を理解することは、ガン細胞の体内での移動を阻止する薬剤の開発の一助にもなります」と、楠見教授は希望をもって語っています。

発表論文詳細

発表先および発表日 : *Nature Chemical Biology* 2018 年 4 月 2 日 (英国時間、オンライン版)

論文タイトル : Super-long single-molecule tracking reveals dynamic-anchorage-induced integrin function

DOI : 10.1038/s41589-018-0032-5

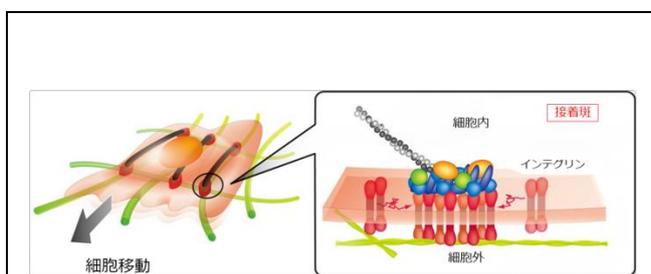
著者 : Taka A. Tsunoyama^a, Yusuke Watanabe^b, Junri Goto^b, Kazuma Naito^b, Rinshi S. Kasai^c, Kenichi G. N. Suzuki^{b,†}, Takahiro K. Fujiwara^b and Akihiro Kusumi^{a,b,c,*}

^aMembrane Cooperativity Unit, Okinawa Institute of Science and Technology, Onna-son, Okinawa 904-0495, Japan. ^bInstitute for Integrated Cell-Material Sciences (WPI-iCeMS) and ^cInstitute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan.



参考図

文中の図及び以下の写真と動画は <https://filesender.oist.jp/filesender/?vid=15f3cbb1-2939-ffe9-6aa6-00002b70976c> からダウンロードしてご利用いただけます。クレジットは全て OIST と明記の上ご利用ください。



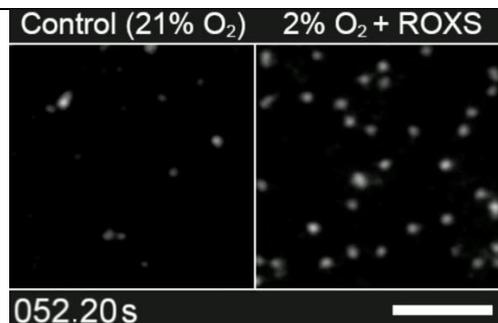
(図 1) 接着斑
接着斑におけるタンパク質の集合を示す模式図。インテグリンは、細胞骨格(白黒の連珠状構造)と細胞外基質分子(緑のねじりリボン様構造)をつないでいる。



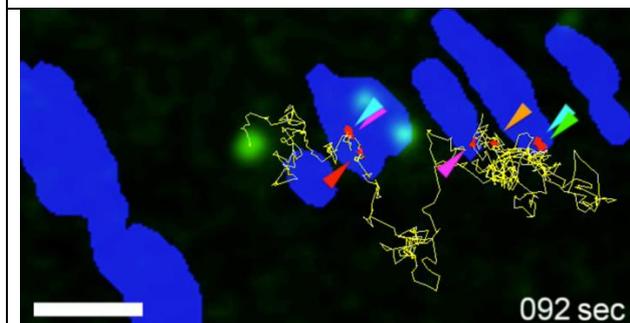
(写真 1) 自家製の生細胞内 1 分子追跡用ステーション
生細胞中で多数の蛍光標識分子を 1 分子分解能で追跡するため、膜協同性ユニットが特別に組み立てた顕微鏡



(写真 2) 膜協同性ユニットの顕微鏡コックピット
1 分子イメージングステーションのコックピットで装置を制御して、タンパク質のパレエを観察する角山貴昭技術員



(動画 1) 新手法によって光退色が抑制されていることを示すビデオ
時刻 0 では、左右のビデオでほぼ同数の分子が見えている。左の動画は通常の観察法、右のビデオは新しく開発した方法を用いた場合。左の動画では見えている分子数が急激に減少するが、右の動画では、減少ははるかに緩やかである。



(動画 2) 多数のインテグリン分子が動きまわっている様子を 1 分子精度で観察した生細胞 SFMI 動画
接着斑は青色で示されている。緑の輝点は、1 分子のインテグリン。この動画は実時間の 6 倍速で再生している。黄色の軌跡をつけたインテグリン分子をご覧いただきたい。この分子は、ブラウン運動に加え、ときどき一時停止する。これを、Temporary Arrest of Lateral diffusion (TALL; 一時停留)と呼んで表示している。この分子は、その後、接着斑から出て、細胞膜上を拡散して、そこでも一時停留という現象を見せた。一般細胞膜上での TALL は接着斑内の TALL より短い傾向にある。さらにその後、この分子は別の接着斑に入り、また長い TALL を示した。