

生細胞蛍光イメージングによる細胞核ダイナミクスの解析



研究ノート

平岡 泰*

Dynamics of nuclear structures and chromosomes

Key Words : the cell nucleus, fluorescence microscopy, live-cell imaging

1. はじめに

ゲノム解析が進み、様々な生物でゲノム塩基配列が解読されているが、遺伝子の発現は一次元の配列情報だけで制御されるわけではない。一つの個体を形成するすべての細胞は同一のDNA塩基配列を持つにも関わらず、生体内の異なる細胞がそれぞれに異なる機能を発現する。さらに、近年、分化した細胞から万能細胞を作ることが可能になっているが、これは少数の遺伝子を活性化するだけで細胞の運命を変更できることを示している。このように細胞ごとに特異的な遺伝子発現パターンを与えることにより、さまざまな細胞システムが構築され、複雑な生命現象を実現することができる。遺伝情報を担うDNAは段階的な構造形成を経て染色体にたたみ込まれ、染色体は細胞核に収納されている。DNAは長大な分子であり、ヒトの細胞を例にとると、太さ2ナノメートルで全長が2メートルにも及ぶ長大な分子が、直径が約5マイクロメートルわずか100フェムトリットルの細胞核に収納されていることになる。この空間の中で数万に及ぶ遺伝子の発現が正確かつ調節的に進行する。これは、DNAが細胞核内で秩序だった構造を取り、その構造が正確に制御されていることを想像させる。細胞核は遺伝子が働くための空間的な枠組みと言えるが、この枠組みは一

定不変でなく、その働きに応じてダイナミックに変動するものである。このような機能構造を実現する分子的基盤は何なのか。このような問から私たちの研究は出発した。

2. 生細胞蛍光イメージング技術の開発

細胞内での調和のとれた制御を理解するために、どのタンパク質がいつどこで働くかを、個々の細胞で観察することが重要である。このような目的を実現するために、細胞内の見たい分子だけを選択的に蛍光染色して、生きている細胞で画像化することを試みた。これは、ショウジョウバエ初期胚を用いて実現し、細胞核分裂を生きたまま蛍光観察することに成功した[1]。さらに、この生細胞蛍光イメージング技術をヒト培養細胞に拡張し、ヒト細胞が分裂する時の染色体分離を生きたまま追跡することを可能にした(図1)[2]。これにより、抗ガン剤などの薬理作用を視覚化できるようになった。さらに、1990年代半ばにオワンクラゲの蛍光タンパク質



*Yasushi HIRAOKA

1957年1月生
京都大学大学院理学研究科生物物理学専攻博士課程修了(1985年)
現在、大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞ネットワーク講座 細胞核ダイナミクス研究室 教授 理学博士 細胞生物学、生物物理学
TEL : 06-6879-4620
FAX : 06-6879-4620
E-mail : hiraoka@fbs.osaka-u.ac.jp

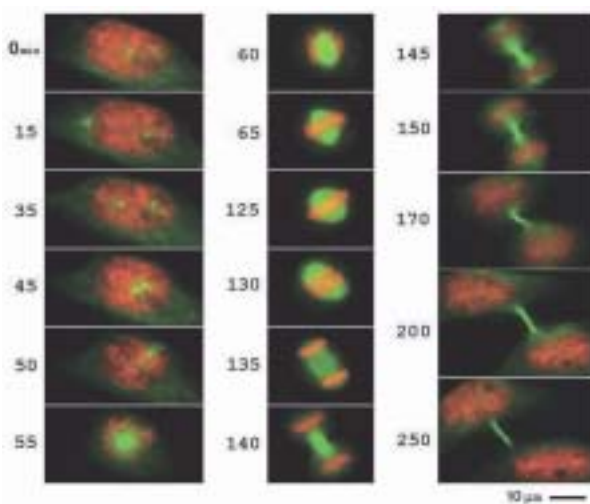


図1 ヒト生細胞の蛍光イメージング
細胞分裂期の染色体分離の連続観察[2]。
染色体(赤)と微小管(緑)

(GFP)が発見されたことによって、遺伝子レベルでタンパク質の蛍光ラベル化ができるようになった。現在では、生細胞蛍光イメージングは、広範な分子細胞生物学の研究に利用できる技術となっている。

3. ショウジョウバエ初期胚の細胞核構造の研究

デコンボリューション法で分解能を上げることによって、細胞核内での染色体の三次元配置を解析できるようになった。この方法で、ショウジョウバエ初期胚の核内染色体配置を解析したところ、染色体のセントロメアとテロメアが細胞核内の決まった領域にあることがわかり、その配置に規則性が見いだされた。この時期のショウジョウバエ初期胚では、多数の細胞核が胚の表面近くに一層に整列し、細胞核分裂が同調して進行する。このような表層に整列した細胞核のすべてで、セントロメアは胚表層に近い側に局在し、テロメアは胚表層から遠い側に局在した(図2)[3]。ヒトの表皮組織など細胞の配置に方向性のある組織では、同様の配向した細胞核構造が見られるのではないかと予想している。

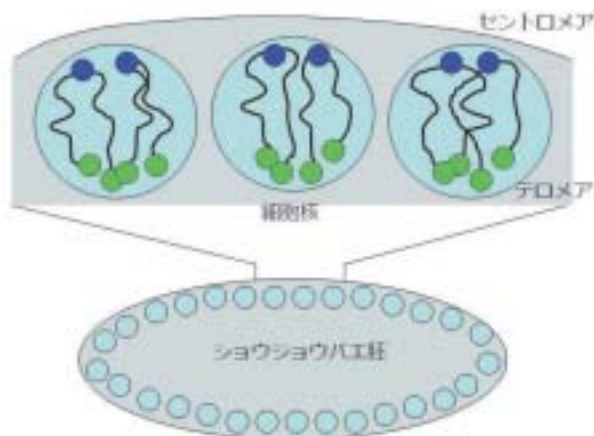


図2 ショウジョウバエ初期胚に見られる染色体の配向
細胞核内で染色体が規則的に配向する。すべての核で、セントロメアは胚の表層側に、テロメアは内側に局在する[3]。

4. 分裂酵母の減数分裂期の染色体配置の研究

染色体の規則的配置の分子的基盤をさぐるための実験系の一つとして、分子遺伝学が容易な分裂酵母を選び、減数分裂期の染色体の挙動を解析した。特に、減数分裂過程での相同染色体の対合は、その後起こる染色体の分離を正常に行うために重要な過程である。はじめ離れていた一対の相同染色体が対

を成すためには、染色体が核内を移動し、相同なパートナーを見つけなければならない。分裂酵母の核内染色体配置を解析したところ、体細胞分裂から減数分裂に移行すると、セントロメアが束ねられた構造から染色体末端テロメアが束ねられた構造に劇的に変化することを発見した[4]。体細胞分裂期の間期核では、セントロメアがSPB(動物の中心体に相当する微小管重合中心)の近くに集合している。一方、減数分裂に誘導すると、セントロメアはSPBから離れ、代わりにテロメアがSPBの近くにクラスターを形成する(図3)。その後、ヒトなど高等動植物でも同様のテロメアクラスターが発見され、生物種を越えて共通にテロメアが生殖に重要な役割を持つことがわかった。私たちは、分裂酵母の生細胞観察により、この減数分裂期のテロメアクラスターが相同染色体の正常な対合過程に重要な役割を持つことを明らかにした[5]。また、ゲノムワイドな検索から、テロメアクラスター形成に必要な新規のタンパク質を同定し、Bqt1・Bqt2と名付けた[6]。減数分裂の進行に伴ってBqt1・Bqt2が発現し、テロメアとセントロメアの核内配置を逆転させる様子を図3にまとめた。これは、細胞質の微小管モーターを用いて、核膜越しに染色体を移動させるメカニカルな仕組みであり、生物に普遍的なものと考えられる[7]。

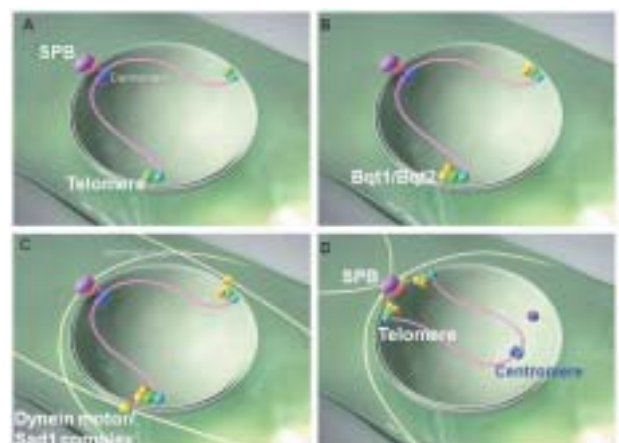


図3 分裂酵母減数分裂期の染色体配置転換

(A) 体細胞分裂期には、セントロメアがSPBにクラスターし、テロメアは核膜上に散在する。(B) 減数分裂に誘導すると、接合フェロモンの作用でBqt1/Bqt2タンパク質複合体が発現し、テロメアに局在する。(C) Bqt1/Bqt2がテロメアに局在すると、核膜上のSad1タンパク質複合体を介してダイニンモーターがテロメアに局在し、微小管が形成される。(D) 微小管とダイニンモーターの働きによってテロメアが核膜上をSPBに束ねられる。セントロメアはSPBから解離する[7]。

5. 今後の展望

細胞の正常な働きは多くのタンパク質の調和の取れた連携作業によって営まれる。細胞機能の遺伝的な制御の仕組みを、個々の遺伝子産物の記述にとどまらず、細胞の物質的実体を意識し物理化学的な視点に立って、生きている細胞という時空間の中で理解することを目指したい。そのために、蛍光顕微鏡によるイメージングの手法と分子遺伝学の手法を併用して、生命現象を顕微鏡でビジュアルに捉え、その分子的な実体を遺伝的に解明する。生物材料として、主に分裂酵母とヒト培養細胞を用い、分子遺伝学的解析の容易な分裂酵母でゲノムワイドの解析を進め、得られた知見をヒト細胞に拡張して検証する。分裂酵母とヒトでよく保存されているものについては、分裂酵母での機能的な解析が真核細胞に普遍的なメカニズムの理解につながると考えている。また、異なる部分については、ヒトと分裂酵母でその仕組みを比較することで、共通する部分と進化の過程で変化してきた部分を理解できると期待している。

参考文献

- 1) Hiraoka, Y., Minden, J. S., Swedlow, J. R., Sedat, J. W. and Agard, D. A. (1989) Nature 342: 293-296.
- 2) Haraguchi, T., Kaneda, T. and Hiraoka, Y. (1997) Genes Cells 2: 369-380.
- 3) Hiraoka, Y., Agard, D. A. and Sedat, J. W. (1990) J. Cell Biol. 111: 2815-2828.
- 4) Chikashige, Y., Ding, D. Q., Funabiki, H., Haraguchi, T., Mashiko, S., Yanagida, M. and Hiraoka, Y. (1994) Science 264: 270-273.
- 5) Ding, D. Q., Yamamoto, A., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2004) Develop. Cell 6: 329-341.
- 6) Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2006) Cell 125: 59-69.
- 7) Chikashige Y, Haraguchi T, Hiraoka Y (2007) Chromosoma 116: 497-505.

