

セミインタクト細胞系と可視化技術を駆使したタンパク質・遺伝子
ネットワーク可視化解析システムの構築とその応用

オーガナイザー 高橋一暢（東大院理）

村田昌之（東京大学・大学院総合文化研究科）

生命とは何なのか？これまで、その問いに対する答えを求めて、生物を構成する部品の基本である生体高分子の研究が進められてきました。しかしながら、それらの生体高分子が複雑に絡まりあう生命現象の理解のためには、個々の細胞の状態、さらにその細胞の局所で起こるダイナミズムを解析することが必要となってきます。つまり、蛋白質の機能を生命現象という流れのなかで理解する場合、その蛋白質が存在する環境、場、細胞周期での時期を含めたもっと大きな枠組みでとらえることが重要となってきます。そのためには蛋白質が機能する本来の場所と時間における分子レベルでの定量的な解析が可能な実験系が必要となります。

本講演で講師を務めてくださる村田先生は‘セミインタクト細胞系’という試験管では再構成できない細胞内の環境を提供する（細胞を試験管にする）実験系と‘光学顕微鏡による可視化技術’を組み合わせた細胞内蛋白質機能解析システムを用いて、細胞内で起こる複雑なイベントを再構成し、それを可視化することで生化学的、生物物理学的に解析されています。今回は、再構成、可視化されたオルガネラのダイナミクス、蛋白質の輸送の解析結果を、映像をまじえて紹介させていただくとともに、セミインタクト細胞系の展望についてお話していただきます。皆様のご参加をお待ちしています。

セミインタクト細胞系と可視化技術を駆使したタンパク質・遺伝子 ネットワーク可視化解析システムの構築とその応用

村田昌之

(東京大学・大学院総合文化研究科)

生命現象の理解には、複雑で協奏的に起こる生命現象の素過程をそれに関わる遺伝子の転写制御やタンパク質の動態情報をもとに記述することが必須である。そのためには、先ず、注目する生命現象に関する遺伝子群を網羅的に探索し、解析すべき遺伝子産物の抽出・絞り込みを行うための一連の解析技術開発が必要不可欠である。その上で、対象とする遺伝子産物、すなわちタンパク質の細胞内動態をできるだけ細胞形態・細胞機能を保持した状態で高精度に計測・解析できる技術の開発も必要不可欠である。後者の技術要素とは、つまり、その生命現象に関わる複雑なタンパク質ネットワークの「素過程を抽出し解析できる優れた解析技術」の必要性に他ならない。われわれは、「GFP 可視化技術」と「セミインタクト細胞系」を最適にカップルさせることにより、この要求を満たすべく「単一細胞内タンパク質ネットワーク可視化解析システム」の構築を目指している。

セミインタクト細胞とは、連鎖球菌の酵素感受性毒素であるストレプトリシン O (streptolysin O: SLO) などを形質膜に作用させることにより、形質膜を部分的に透過性にした細胞である。オルガネラや細胞骨格はインタクトに保持したまま、細胞質を流出させることができるため、ここ（細胞を一個の試験管に見立てて）に新たに外部より分画した細胞質成分と ATP 再生系などを添加し、細胞質に依存的な細胞内のイベント（細胞内膜動過程、タンパク質間相互作用、タンパク質の輸送やターゲティング、タンパク質分解、転写、翻訳など）を可視化し分析的に再構成することが可能である。例えば、発生・分化段階の異なる細胞質を入れ替えることによってセミインタクト細胞内の環境を擬似的に「異なる発生段階や分化段階の細胞内環境」に同調することができる。また、正常細胞と疾患細胞の細胞質を入れ替えることによって、擬似的な病態細胞を

作成することも可能であろう。そして、この様な細胞内環境で上記細胞内イベントが受ける影響、導入した標識タンパク質の動態、膜不透過性の薬剤や抗体の効果などを生物物理学的、生化学的手法を駆使して可視化解析することができる。

今回は、本システムを用いた細胞周期依存的なオルガネラダイナミクスやタンパク質輸送の可視化・再構成、それらを制御するタンパク質ネットワークの解析結果を **movie** をまじえて紹介するとともに、われわれが構築しているゲノム解析技術をベースにしたセミインタクト細胞系による新規のタンパク質機能解析法を紹介する。また、セミインタクト細胞系を利用した核のリプログラミングとその再生医療への応用、創薬支援技術を目指したセミインタクト細胞アッセイのハイスループット化とそのために開発した「セミインタクト細胞自動作成装置」など、最近のセミインタクト細胞技術の応用面での新展開を紹介する。