

細胞の自殺(アポトーシス)を生きた生物の中で研究する手法を初めて開発

生物の発生の過程で、細胞は分裂増殖する一方ではなく、ときにプログラムされた細胞の自殺すなわちアポトーシスをおこす。アポトーシスが正しくおこらないと、がんや自己免疫疾患などの重篤な疾病につながってしまう。アポトーシスはSmacというタンパク質が引き金となっておこることがわかっているが、その働きを生きた多細胞生物（生物個体）で研究した例はなかった。本研究ではこれを研究するための分子センサーの開発に成功した。これにより得られる知見はアポトーシスの関与する疾患の発症メカニズムの解明やこれら疾病に対する新薬の開発に大きく貢献するものと期待される。

【B1009Y】

生物個体を生きたまま観察することが可能な細胞死関連タンパク質の蛍光センサー開発

(東大院理) ○那須雄介・竹内雅宜・小澤岳昌 [連絡者：小澤岳昌, 電話：03-5841-4351, E-mail：ozawa@chem.s.u-tokyo.ac.jp]

【背景】 我々ヒトを含む多細胞生物が受精卵から分裂を繰り返す事で形成される時(この過程を発生と呼ぶ)、細胞は増殖するだけでなくときに自殺する。これは**アポトーシス**と呼ばれる多細胞生物の生存に必須な細胞死機構であり、その機能不全は癌や自己免疫疾患等の重篤疾病を引き起こす。近年、アポトーシスは Smac と呼ばれるタンパク質がミトコンドリア(細胞内小器官のひとつ)から放出される事で引き起こされる事が明らかになった(図1)。以来 Smac に関する培養細胞を対象とした研究が多数報告されたが、生物個体の研究は皆無であった。アポトーシスの機構をより詳細に明らかにするためには、多細胞からなる生物個体を生きたまま解析する事が必要である。そこで**本研究では Smac の放出を個体レベルで可視化検出できる分子センサーの開発を目的とした**。この新規センサーは培養細胞の研究ではわからなかった生物個体内の発生過程における Smac 動態を明らかにし、**癌や自己免疫疾患、AIDS などアポトーシスの機能不全が関与する疾患の新規薬剤開発に大きく寄与する**。

【研究の内容】 生物個体の Smac 放出を可視化検出するためには、Smac の放出が起きた時のみ細胞が蛍光を示すセンサーの開発が必要である。そこで蛍光タンパク質の自発的再構成に基づく Smac 放出センサーを考案した(図2)。Smac に蛍光タンパク質 GFP OPT の断片(GFP 11 OPT, 蛍光性なし)を融合したタンパク質(**Smac-GFP 11 OPT**)および、GFP OPT のもう片方の断片(**GFP 1-10 OPT**, 蛍光性なし)の2分子を細胞に発現させる。前者はミトコンドリア中に局在しており、細胞質中に発現する後者は隔絶され再構成反応は起きない(細胞は蛍光性を示さない)。細胞にアポトーシスを誘導する刺激(紫外線など)が入るとミトコンドリアから Smac-GFP 11 OPT が放出され、GFP 1-10 OPT との自発的再構成により蛍光が回復する(細胞は蛍光を示す)。したがって、**本センサーは Smac 放出を起こした細胞のみ特異的かつ高 S/N 比で蛍光検出する事が可能である**。このセンサー分子を小型魚類ゼブラフィッシュに導入しアポトーシス刺激として紫外線を照射すると、照射の約 9 時間後に背から尾部にかけて蛍光を示す細胞が多く観察された。紫外線を照射しない場合にはこのような蛍光性細胞の増加は見られず、**開発されたセンサーがゼブラフィッシュ個体において Smac の放出を可視化検出できた事が示された**。現在、今回開発した蛍光センサーを用いてゼブラフィッシュの発生過程における Smac 放出によるアポトーシスを観察・解析中である。**本研究で得られる知見はヒトの基礎医学(アポトーシスの関与する疾患の発症メカニズムの解明やそれに基づく新規薬剤開発等)の発展に多大な貢献が見込まれる**。

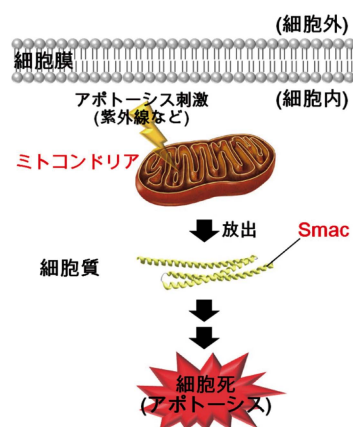


図1. Smac 放出によるアポトーシス
紫外線等の刺激に反応してミトコンドリアから細胞質へ Smac が放出され、それが引き金となり最終的に細胞は死ぬ(アポトーシス)。

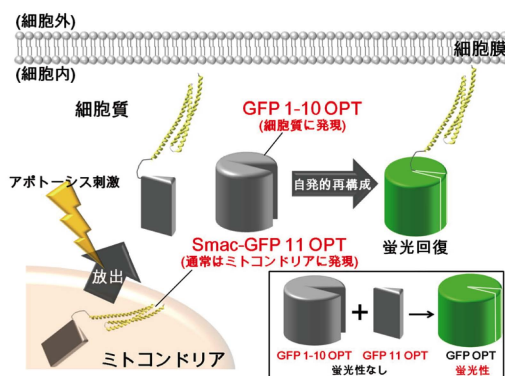


図2. Smac 放出センサーの原理図
(右下) 蛍光タンパク質 GFP OPT の自発的再構成。GFP OPT は GFP 1-10 OPT と GFP 11 OPT に二分割すると蛍光性を失うが、この二断片を混ぜるとそれぞれが会合して蛍光性を取り戻す。