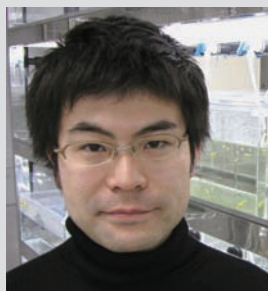


赤外線レーザーで遺伝子スイッチを入れる

単一細胞内で遺伝子の機能を解析する新しい顕微鏡技術



出口 友則

でぐち ともり

tomonori-deguchi@aist.go.jp

セルエンジニアリング研究部門
組織・再生工学研究グループ
研究員
(関西センター)

組織形成のメカニズムを解明することは、組織再生に役立つ遺伝子や薬剤の発見につながります。そこで、組織形成を研究するのに適したモデル動物であるメダカを使ってリンパ管、骨、神経などの組織形成メカニズムの研究を行っています。また、同時に組織再生に役立つ遺伝子や薬剤の発見を効率的に行うためのシステム作りも行っています。

関連情報：

● 共同研究者

川崎 隆史、藤森 一浩（産総研）、弓場 俊輔（独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構）、亀井 保博（大阪大学）、高木 新（名古屋大学）、船津 高志（東京大学大学院）

● 参考文献

[1] Y. Kamei *et al.*: *Nature Methods*, 6(1), 79-81(2009).

● プレス発表

2008年12月15日「赤外線レーザーで単一細胞内の遺伝子のスイッチを入れる」

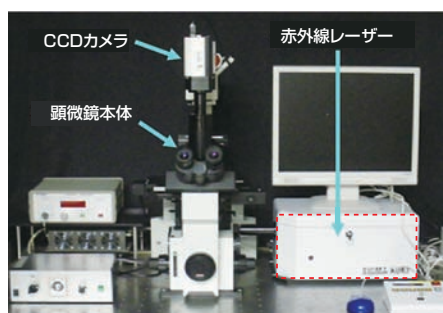
● この研究は、独立行政法人科学技術振興機構のさががけ（PRESTO）および独創的研究成果育成事業の支援を得て行いました。

IR-LEGO 顕微鏡の開発

私たちは、ほぼすべての生物が持っている熱ショックに反応する細胞機構に着目し、赤外線レーザーを照射して狙った細胞だけを加熱し、熱ショック応答により調べたいタンパク質を作らせるための顕微鏡を開発し、IR-LEGO（赤外線レーザー誘起遺伝子発現操作：Infrared laser evoked gene operator）顕微鏡と名付けました。赤外線（波長1480 nm）は効率よく水分子を温めることができますが、加熱し過ぎると細胞が死んでしまうため、厳密な温度制御が要求され、顕微鏡下の微細領域の温度変化を測定する技術が不可欠でした。私たちの研究グループは緑色蛍光タンパク質（GFP）を温度計として利用し、これを実現しました。これにはGFPの持つ「温度上昇によって蛍光強度が減少する」という性質を利用しました。まず、遺伝子組み換え技術で大腸菌にGFPを発現させ、ゲル内に均一に分布するように埋め込みます。このゲルを赤外線で局所的に加熱し蛍光強度の減少をビデオ記録して、蛍光強度の減少量から温度を算出しました。さらに空間的な熱の広がり具合を顕微鏡レベルで解析し、単一細胞でだけ熱ショック反応を起こさせる加熱を制御することに成功しました。

遺伝子の機能解析に有効

この顕微鏡を利用して実際に生きている線虫（長さ1 mm）の単一細胞で遺伝子発現を起こしてみました。遠位端細胞（DTC）と呼ばれる細胞は体の中を移動しながら生殖器官を作り上げます。DTC細胞の移動方向は別の細胞で発現している細胞誘導にかかわる遺伝子（UNC-6）によって制御されており、UNC-6遺伝子が欠けてい

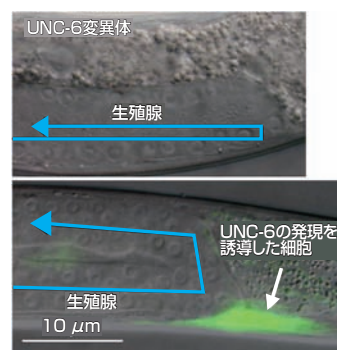


IR-LEGO 顕微鏡システム

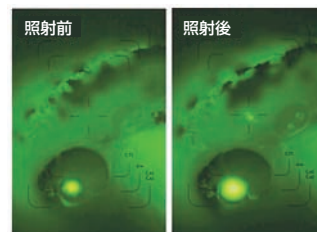
る線虫の変異体ではDTC細胞の移動も変化し、正常な生殖器官が形成されません。このUNC-6欠損変異体に熱ショックでUNC-6を発現する遺伝子を導入し、本来UNC-6を発現するはずの細胞に赤外線を照射してその細胞にだけUNC-6を発現させました。すると、DTC細胞は高い確率で正しい方向に移動できるようになり、正常な生殖器官を形成しました。この実験は、UNC-6にはこの細胞において特定の時期に発現することでDTC細胞の移動を誘導するという本来の機能があることを、初めて直接的に証明したものです。ほかの細胞でUNC-6を発現させてもDTC細胞の移動を正しく誘導しませんでした。これは試験管内の実験では証明することはできないことで、今回開発したIR-LEGOの技術が生体の細胞内における遺伝子の機能解析に大変有効であることを示しています。

今後の展開

将来の医学応用を視野に入れると、より人に近い脊椎動物での応用が重要になるため、現在ゼブラフィッシュやメダカを中心に応用を検討しています。そして、基礎研究のためにもほかの生物への応用に協力する体制を整えます。



UNC-6 変異体（上図）と IR-LEGO による赤外線照射で UNC-6 遺伝子が発現（GFP も発現）させたことで正常に形成された生殖腺（下図）



レーザー照射によりゼブラフィッシュの神経細胞で GFP を発現