

プレスリリース

(報道は日本時間 5 月 19 日午前 6 時 [アメリカ東部時間 5 月 18 日午後 5 時] に解禁されます)

タイトル

ナノレベル電子顕微鏡法でイノシトール燐脂質がカベオラに集中することを発見した

ポイント

- ・ 膜脂質の分布をナノメートルのレベルで観察できる電子顕微鏡法を開発した.
- ・ 細胞運動や物質の取りこみに重要なシグナル分子であるイノシトール燐脂質の局在を定量的に決定することに成功した.
- ・ 細胞膜の直径 50-80 ナノメートルの凹み (カベオラ) にイノシトール燐脂質 [PI(4,5)P₂] が集中し, 他の領域の PI(4,5)P₂ と異なる挙動を取ることが分かった.

要旨

名古屋大学大学院医学系研究科 (研究科長・祖父江元教授) 分子細胞学分野の藤田秋一准教授, 藤本豊士教授らの研究グループは, 細胞膜での情報伝達に重要な役割を担うイノシトール燐脂質 [PI(4,5)P₂] の分布をナノメートルのレベルで決定することに成功した. この成果は, 米国科学アカデミー紀要 (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America) 電子版 [5 月第 4 週 (5 月 18 日〜22 日) 付け早版] に掲載される.

イノシトール燐脂質の一種であるフォスファチジルイノシトール 4,5-二燐酸 [PI(4,5)P₂] は細胞運動や物質輸送などを調節する上で重要な役割を担う分子である. 従来の光学顕微鏡を用いた方法では, PI(4,5)P₂ の分布を数ミクロンのレベルでしか観察できなかったが, 研究グループは電子顕微鏡を用いてナノメートル (1 ミリの 100 万分の 1) のレベルで見る方法を開発した. この方法を用いた観察により, 細胞膜にある直径 50-80 ナノメートルの凹みの開口部に PI(4,5)P₂ が強度に集中しており, 生理活性物質の刺激に対して, 他の領域の PI(4,5)P₂ とは全く異なる反応を示すことが明らかになった. この結果は同一の細胞膜に, 機能的に独立した複数の PI(4,5)P₂ の集団が存在することを初めて示したものであり, PI(4,5)P₂ の機能的意義の解明に大きく貢献する. また今回開発された方法は遺伝子操作などを必要としないため, 体内の細胞や疾患細胞に対しても応用が可能であり, 今後様々な応用が期待できる.

1. 背景

イノシトール燐脂質は細胞膜を作る脂質の一つであり, その一種であるフォスファチジルイノシトール 4,5-二燐酸 [PI(4,5)P₂] は細胞運動, 物質の取りこみや分泌, イオン輸送などを調節する上で重要な役割を担うことが知られている. しかし単純な脂質である PI(4,5)P₂ がなぜこのような多様な現象の調節を行うことができるのかは不明で, 細胞膜には複数の PI(4,5)P₂ の集団が独立に存在するのであろうと推測されてきた. この疑問を解決するためには PI(4,5)P₂ の分布を微細なレベルで捉えることが必要であるが, 従来の光学顕微鏡を用いた方法では数ミクロンのレベルでの観察しか行うことができなかった. また従来の方法では人工的な蛍光蛋白質プローブを予め細胞に発現させておく必要があるため, 動物個体中の細胞やヒト疾患細胞などへの応用は困難であった.

2. 研究成果

今回の研究では、電子顕微鏡を用いてイノシトール燐脂質の分布をナノメートルのレベルで見る方法を開発した。通常の電子顕微鏡法ではイノシトール燐脂質のように化学固定剤と反応しない分子の局在を決めることは困難であるが、液体窒素あるいは液体ヘリウムで細胞を急速に凍結し、さらに細胞膜を物理的に固定する方法を組み合わせることによって、イノシトール燐脂質を「その場」にとどめ、さらに特異的な標識を使って分布を可視化することができた。この方法の定量性は高く、細胞膜の異なる領域に存在する PI(4,5)P₂ の分布密度をナノメートルのレベルで比較することが可能になった。

この方法を用いて培養細胞や動物体内の細胞での PI(4,5)P₂ の分布を観察したところ、細胞膜にある直径 50-80 ナノメートルの凹み（カベオラ）の開口部に PI(4,5)P₂ が強度に集中していることが明らかになった。また細胞をアンギオテンシンⅡという生理活性物質で刺激すると、カベオラの PI(4,5)P₂ は、細胞膜の他の領域の PI(4,5)P₂ とは全く異なる時間経過で反応することが分かった。

カベオラには各種のイオンチャネル、トランスポーターがあり、また種々の物質の取りこみなどにも関わることが知られ、それらの機能のほとんどは PI(4,5)P₂ による制御を受ける。今回の結果は機能的に独立した複数の PI(4,5)P₂ の集団が細胞膜に存在することを初めて示したものであり、PI(4,5)P₂ によるシグナル伝達のカベオラとそれ以外の細胞膜領域では異なるタイミングで起こることを示唆する。

3. 今後の展開

今回開発した方法では、遺伝子操作や人工プローブの発現などを用いないため、特別な予備操作を行わなくても動物体内の細胞のイノシトール燐脂質の分布を解析することができる。従って従来の方法では解析が困難であった特殊な分化をした細胞や疾患細胞に対しても応用が可能であり、様々な疾患の病態解明に役立つ新たな知見をもたらすことが期待できる。

またイノシトール燐脂質には PI(4,5)P₂ を含めて7種類あり、それぞれが特異的かつ重要な機能を持つことが知られている。PI(4,5)P₂ 以外のイノシトール燐脂質に対しても、原理的には今回と同様の方法でナノレベルの解析を行うことが可能と考えられ、これらの脂質分子によって担われる細胞内の様々な現象の解明に大きく寄与すると思われる。

問い合わせ先

名古屋大学医学部・医学系研究科

所属・職名：分子細胞学分野・教授

氏名：藤本 豊士

TEL: 052-744-2000

FAX: 052-744-2011

e-mail : tfujimot@med.nagoya-u.ac.jp

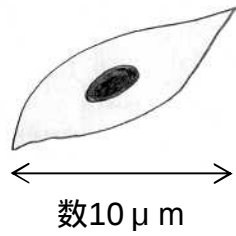
広報担当

名古屋大学医学部・医学系研究科総務課総務企画掛

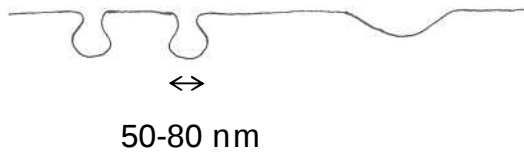
TEL:052-744-2775

FAX:052-744-2785

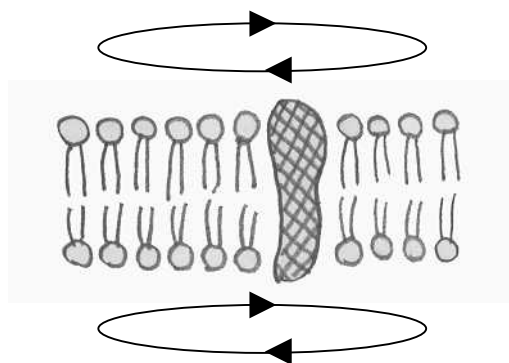
e-mail : iga-souk@post.jimu.nagoya-u.ac.jp



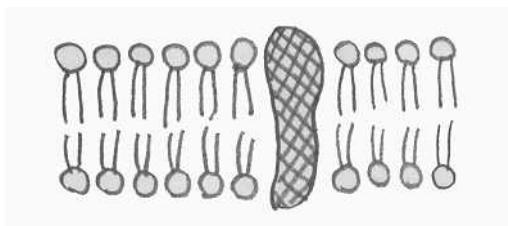
従来の方法では細胞膜全般の
PI(4,5)P₂の量的変化を捉える
ことしかできなかった



今回新たに開発した方法では、
細胞膜の局所的に分化した領
域ごとのPI(4,5)P₂の分布を比
較することができる

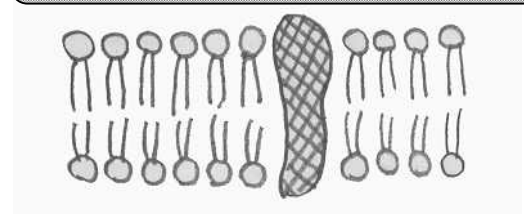


膜の分子はたえず動いている

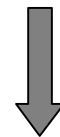


薬剤で分子の動き(特に脂質の動き)を止めることは難しい

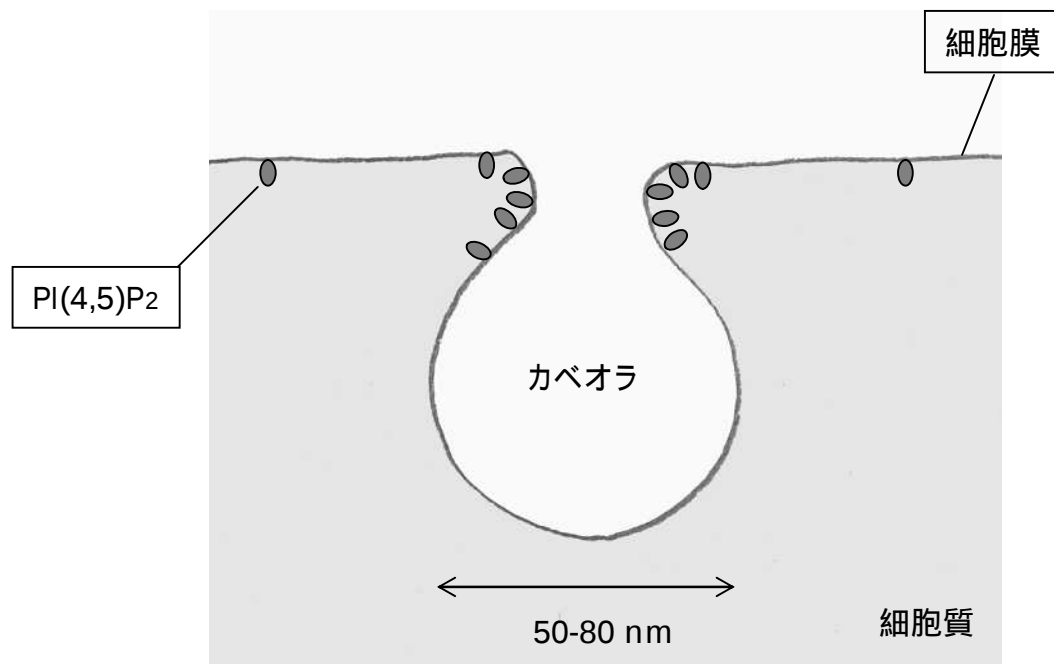
冷却した純銅ブロック



液体窒素(もしくは液体ヘリウム)で冷却した純銅ブロックに圧着することにより、分子の動きは一瞬にして止まる



この状態を維持したまま PI(4,5)P₂に標識を結合させ、電子顕微鏡で観察した



細胞膜の小さな凹みであるカベオラの開口部付近にPI(4,5)P₂が特に密集して分布し、しかも細胞膜の他の領域にあるPI(4,5)P₂と異なる挙動をとることが分かった。カベオラには多くの機能的に重要な分子が存在することが知られており、PI(4,5)P₂はそれらの制御に関わると推測される。