

魚の胚発生における増殖と分化、 生きたまま観察に成功

細胞周期を可視化する蛍光プローブ「zFucci」を開発

2009年11月17日プレスリリース

——細胞周期について教えてください。

沢野：細胞は分裂を繰り返して増殖します。この細胞分裂のサイクルを「細胞周期」といいます。細胞周期は、分裂が起こるM（Mitosis）期と、DNAが複製するS（Synthesis）期、それぞれの間をつなぐG1（Gap1）期、G2（Gap2）期からなり、G1→S→G2→M→G1→……の順に進みます。

——2008年に開発した蛍光プローブ「Fucci」はどんなものですか。

沢野：Fucciは、個体や組織、細胞などの細胞周期を時空間的に可視化できるプローブです。私たちはFucciを発現するマウスの作製に成功しており、胚発生を細胞周期の情報と絡めて理解することが期待されています。しかしながら現段階で、マウスの胚発生を長時間にわたりライブイメージングすることは技術的に困難です。そこで、透明性が高く母体外で胚発生が進むゼブラフィッシュに着目し、魚版Fucciの開発を目指したのです。

——Fucciを改良して開発したのがzFucciですね。

沢野：FucciはCdt1とGemininという2種類のタンパク質からできており、これらのタンパク質は、細胞周期の進行に伴って交互に分解され、分解されない時期には蓄積します。このメカニズムを利用して、2種類のタンパク質にそれぞれ異なる色（赤と緑）の蛍光タンパクを結合し、発色するようにしたのがFucciです。Fucciを全身に発現するマウスでは、体中の細胞核をG1期に赤色、S/G2/M期に緑色に発色させることができました。ところが、ゼブラフィッシュにFucciを用いたところ、うまく機能しませんでした。これはCdt1の分解機構が、哺乳類とほかの生物種とで異なることによるものでした。この差異を分析し、プローブを検討した結果、ゼブラフィッシュでも機能する「zFucci」を開発できたのです。

——zFucciでどんな実験をしたのですか。

杉山：zFucciを全身に発現するゼブラフィッシュを作製し、「Cecyl（Cell cycle illuminated）」と名付けました。共焦点

細胞は分裂を繰り返し増殖する——この生命の営みの根幹となっている現象を、個体が生きたままリアルタイムで観察することができると、生命科学は大きく進展する。今回、理研脳科学総合研究センター 細胞機能探索技術開発チームと科学技術振興機構（JST）は、自然科学研究機構 生理学研究所と共同で、細胞周期の進行をリアルタイムで可視化できる蛍光プローブ「zFucci」を開発、さらにzFucciを全身に発現するゼブラフィッシュ「Cecyl」の作製に成功した。Cecyl個体の細胞周期を時間を追って撮影したところ、胚発生の形態形成過程における細胞の増殖と分化との協調関係をとらえることに成功した。この成果について、沢野（阪上）朝子客員研究員、杉山真由ジュニア・リサーチ・アシエイト、宮脇敦史チームリーダーに聞いた。

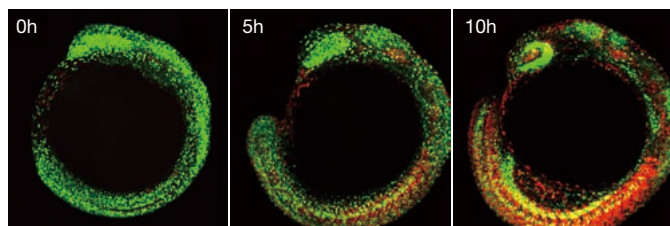


写真 Cecyl の器官形成での細胞周期の進行

発生とともに、緑色（細胞増殖を示す）が減り、赤色（G1期および細胞分化を示す）が増える。観察の後期においても、細胞増殖の盛んな器官（網膜や脳）に緑色のシグナルが検出された。受精後12時間で観察を開始し、その時点として0h（時間）としている。

レーザー走査顕微鏡を使って、生きたままのCecylで、さまざまな器官形成での細胞周期の進行を観察しました。その結果、胚発生の形態形成過程で、細胞の増殖と分化が協調しながら進む様子を詳細にとらえることに成功しました（写真）。

——今後の展開は。

宮脇：この成果を発表した後、zFucciの提供依頼が増えつつあります。細胞周期を赤や緑とは違う色で観たいという要求は高く、zFucciもFucci同様に実験に応じた色を選別できるように多色化を目指します。今後、さまざまな研究者によって、ある時期、ある細胞種においてzFucciを発現するようなCecylの兄弟がつくられていくと思います。さらに、zFucciのゼブラフィッシュ個体と、すでに作製されたさまざまなゼブラフィッシュ変異個体とを掛け合わせることで、魚の胚発生における増殖と分化の複雑なメカニズムが解明されていくと期待しています。

zFucciおよびCecylの提供については下記ホームページをご覧ください。

zFucci：細胞機能探索技術開発チーム (<http://cfds.brain.riken.jp/Fucci.html>)

Cecyl：文部科学省「ナショナルバイオリソースプロジェクト ゼブラフィッシュ」 (http://www.shigen.nig.ac.jp/zebra/index_en.html)

※この研究はJST戦略的創造研究推進事業ERATO型研究「宮脇生命空間情報プロジェクト」の一環として行われたものです。

●米国科学アカデミー紀要『Proceedings of the National Academy of Sciences』オンライン版（11月18日）掲載