



Onset timing of transient gene expression depends on cell division

導入された遺伝子は細胞分裂依存的に発現を開始する

(JBB, Vol.109, No.1, 62 – 66, 2010)

袴田 和巳^{1*}・藤田 聡史²・三宅 淳¹

生体の構成単位は細胞であり、細胞はその中でさまざまな代謝反応が同時に発生している。細胞が細胞であることを維持するためには細胞内のさまざまな代謝反応が調和していることが必要だ。つまり、細胞を理解するためには遺伝子やタンパク質を含む代謝反応を理解することが重要であり、その中でも良く知られた研究分野の一つがシグナル伝達経路の解明であろう。このシグナル伝達の研究について、生物学的にはどのようなアプローチが取られているかを非常に乱暴に説明するなら、「対象となるタンパク質（遺伝子や代謝物質など）を抽出し、その相互作用を調べる」と言えるであろう。さて、ここで話を細胞に戻し、シグナル伝達の各反応がどこで発生しているかを考えるとそのほとんどは例外なく「細胞の中」であることに気づく。しかしながら現状のタンパク質の抽出は多数の細胞（しばしば 10^4 個以上）を掻き集めて行う。一方、近年では細胞毎に遺伝子発現が大きく異なることが盛んに報告されている¹⁾。すなわち、細胞の中の遺伝子発現は一つひとつ大きく異なっているのに対象となるタンパク質を膨大な細胞から抽出しているという矛盾した状況であることが分かる。ではどうすればよいのだろうか？ 近年では一細胞の測定が可能となりその変化を経時的に追うことも可能となっている。つまり、「一つの細胞」を「経時的に」かつ「多量に」追跡することが重要なのである。これにより細胞毎にシグナル伝達がいづつ始まっているか、細胞間でどのくらいの差異があるのかを明らかにすることが可能となり、適切な細胞内のダイナミクスを知ることが可能となると考えられる。

では細胞内でシグナル伝達がいづつ始まるのかについて簡単に知る方法はあるのだろうか？ 本研究ではこのような疑問に対してアプローチを行った。行ったことは非常に単純であり、HeLa細胞にpCMV-EGFPを遺伝子導入し位相差画像と蛍光画像を経時的に取得するのみである。実験はシンプルではあるが、きれいな細胞の連続画像はシンプルには撮れなかった。細胞画像が機械認識しやすいような播種密度で実験を行うこと、細胞が連続撮像でも死なないように蛍光の照射時間を最適化することなど、「解析しやすいような」実験を行うなど、解析方法を念頭に実験をデザインすることが重要となる。図1Aに細胞の経時的な蛍光画像の数値化したデータを示す。各細線が一細胞を示し太線が平均値を示す。各細胞の挙動は急激に蛍光輝度が増加しているのに対して平均的な挙動はなだらかに上昇している。これは細胞内の挙動と

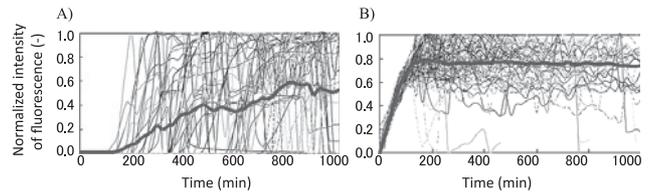


図1. 遺伝子発現の時間推移. A) 従来の計測による遺伝子発現の時間変化. B) 細胞分裂を起点にした遺伝子発現の時間変化. 各図とも太い黒実線は平均値を示す.

平均挙動が大きく異なっていることを示しており細胞内ダイナミクスは単純な平均化では代表できないことを意味している。これを蛍光輝度の位相を合わせた場合が図1Bである。平均的な挙動と細胞内の挙動が類似していることが直

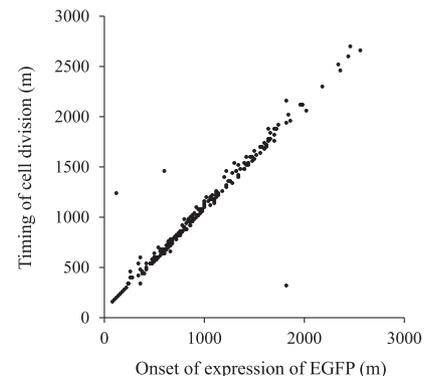


図2. 細胞分裂と遺伝子発現開始時間の相関図

感的にわかる。それではどのように位相を揃えればよいのだろうか？ 図2に細胞分裂時間と遺伝子発現の開始時間をプロットしたものを示す。非常に強い相関($R=0.96$)を示していることが分かる。これはほとんどすべての細胞が細胞分裂後に遺伝子発現を開始していることを示している。この結果については遺伝子導入試薬、遺伝子の種類によらず普遍的であることを確認している²⁾。すなわち外来遺伝子を導入した場合その発現するタイミングは細胞分裂であり、これを起点として細胞内ダイナミクスを明らかにすることが出来ることを示唆している。現在、筆者らは細胞分裂を現象の起点とした細胞内のダイナミクス解析をEvent driven time lapse analysisと名付け研究の展開を図っている。

- 1) Chang, H. H. *et al.*: *Nature*, **453**, 544 (2008).
- 2) Hakamada, K. and Miake, J.: *J. Biosci. Bioeng.* (in press)

*著者紹介 ¹大阪大学大学院基礎工学研究科(助教) E-mail: hakamada@bpe.es.osaka-u.ac.jp
²産業技術総合研究所