

各報道機関文教担当記者 殿

生体高分子の相分離環境を評価できる蛍光 プローブの開発に成功！

金沢大学新学術創成研究機構の羽澤勝治准教授，小林亜紀子特任助教，ウォング・リチャード教授，ナノマテリアル研究所の雨森翔悟助教，水野元博教授，理工研究域の西山嘉男助教，永谷広久教授，高橋憲司教授らの共同研究グループは，生命現象の基盤的機構である細胞内相分離を評価できる蛍光プローブの開発に成功しました。

近年，生体高分子が集まることで液滴を形成する現象（相分離）（※1）は，細胞内でおこる様々な生理機能の原動力であることが判明し，相分離の理解に向けた取り組みが世界中で行われています。しかし，相分離を評価するための現行研究ツールは高度な技術・設備を必要とするため，利便性の高い技術基盤整備をすることは急務の課題でした。

本研究では，周囲環境の煩雑性に応じて異なる蛍光を発するピレン化合物の特性を生かした蛍光プローブにより細胞内相分離環境の定量評価法を提案しました。この方法で，細胞内相分離の粘性や極性が細胞の状態に依存して変化することが判明しました。

相分離の形成異常は神経変性疾患やがん等の難治性疾病の要因であるため，相分離異常を検出するための診断ツール開発に応用されることが期待されます。本研究成果は，2021年7月15日に『iScience』誌のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

タンパク質やRNAなどの生体高分子が局所的に集まることで液滴を形成する相分離現象は，細胞内でおこる複雑な生命現象を効率よく進める基盤的機構として注目されています。細胞内相分離は，膜のような仕切を使わずに区画化するため非膜オルガネラともいわれています。現在，相分離を調べるための主なアプローチとして，対象とする被膜オルガネラの内部動態を解析できるFRAP（光褪色後蛍光回復法）（※2）やラベルした二分子間のFRET（蛍光共鳴エネルギー移動）（※3）を用いた相分離形成分子の動態解析が使われています。一方，これらの手法は，対象タンパク質を遺伝子工学技術で蛍光ラベルする必要性があり，高度な技術と時間を要するだけでなく，①解析対象が限定，かつ②汎用性が極めて低い，といった問題を抱えていました。そこで，本研究グループは，異分野融合研究により，周囲環境に応じた異なる蛍光特性を示すピレン化合物を利用したピレンダイマー型蛍光プローブ（Pyr-A）の開発に取り組みました（特願 2021-93100）。

【研究成果の概要】

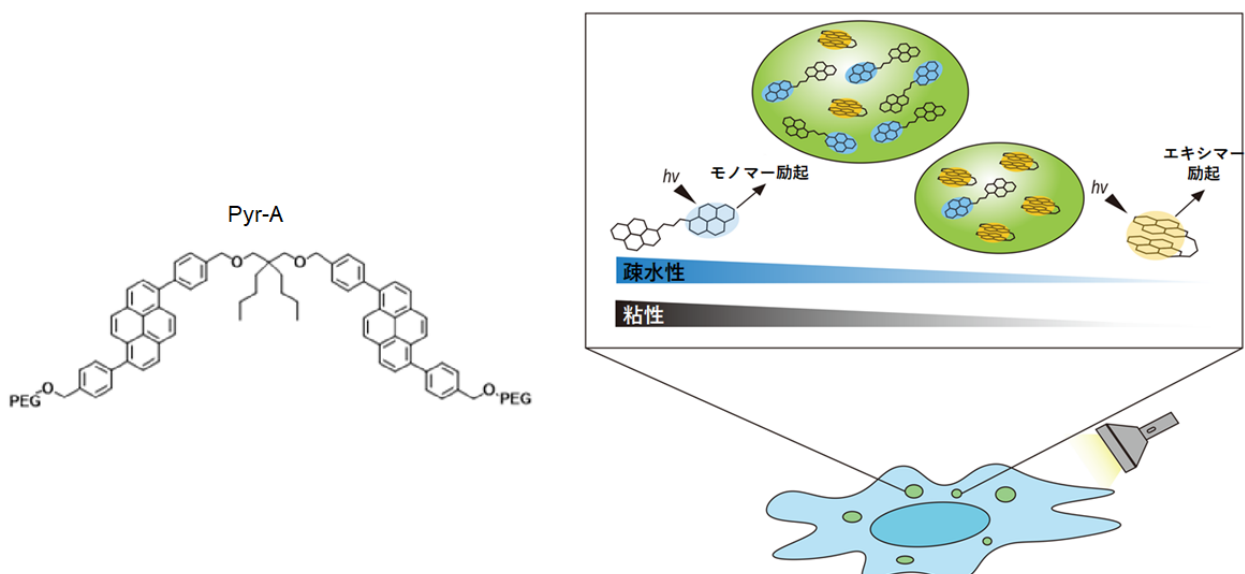
当異分野融合研究により、分子内エキシマー（※4）発光特性をもつピレンダイマー型蛍光プローブ（Pyr-A；図左）を開発しました。様々な条件下におけるPyr-Aの蛍光特性について調べると、極性溶媒中ではエキシマー発光，疎水性あるいは粘性環境下ではモノマー（※4）発光を示すことがわかりました。さらにエキシマーとモノマーの蛍光強度比（E/M比）測定により、Pyr-Aの濃度に関係なく観測対象の状態（極性、粘性）を定量化できることがわかりました。

続いて、試験管内におけるタンパク質の液滴や、細胞内における非膜オルガネラ一つである中心体を観察しました。タンパク質の液滴サイズが大きくなるにつれて、E/M比が減少し、疎水性かつ粘性が高まることがわかりました。また、中心体を構成するタンパク質分子centrinを可視化できる細胞にPyr-Aを取り込ませ、異なる細胞周期にある細胞内中心体の状態を調べました。細胞分裂期に向けて中心体が成熟する過程で、疎水性・粘性が上昇することを見出しました（図右）。

【今後の展開】

本研究で提案した蛍光プローブによる相分離環境の評価技術は、相分離した高次構造体の物理化学的性質を包括的かつ簡便に調べることを可能としました。相分離の状態-機能に関する情報が蓄積されることで、相分離の状態を指標とした新たな診断ツール開発や細胞治療法の創出につながることを期待されます。

当研究成果の概要図



【掲載論文】

雑誌名：iScience

論文名：A light-switching pyrene probe to detect phase separated biomolecules

(相分離した生体高分子の性質を調べるダイマー型ピレン蛍光プローブ)

著者名：Masaharu Hazawa, Shogo Amemori, Yoshio Nishiyama, Yoshihiro Iga, Yuki Iwashima, Akiko Kobayashi, Hirohisa Nagatani, Motohiro Mizuno, Kenji Takahashi, Richard Wong

(羽澤勝治^{1,2,3}、雨森翔悟^{1,2,4}、西山嘉男²、伊賀祥紘²、岩嶋友紀²、小林亜紀子¹、永谷広久²、水野元博^{1,2,4}、高橋憲司²、ウォング リチャード^{1,2,3})

1. 金沢大学新学術創成研究機構
2. 金沢大学理工研究域
3. 金沢大学ナノ生命科学研究所
4. 金沢大学ナノマテリアル研究所

掲載日時：2021年7月15日にオンライン版に掲載

DOI：<https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102865>

【用語解説】

※1 相分離

水と油のように異なる二つの液体が分離しそれぞれが相を形成すること。

※2 FRAP(光褪色後蛍光回復法)

微小空間内の分子の動態を見る方法の一つ。蛍光を発する物質に強い光を照射し、褪色させる。その後その空間で再度検出される蛍光を測定し、周囲から流れ込む蛍光分子の動きを解析する方法。

※3 FRET (蛍光共鳴エネルギー移動)

一つの蛍光分子が出すエネルギーにより、近くに存在する他の蛍光分子が光ることを利用した、二つの分子の距離を解析する方法。

※4 エキシマーとモノマー

いくつかの分子が互いに近くにいる時、一つの分子が光を吸収して励起状態になると、励起状態にはない他の分子と会合し、励起会合体（エキシマー）となる。会合していないものをモノマーという。

【本件に関するお問い合わせ先】

■ 研究内容に関すること

金沢大学新学術創成研究機構 准教授 羽澤勝治

TEL : 076-264-6206

E-mail : mhazawa@staff.kanazawa-u.ac.jp

■ 広報担当

金沢大学研究・社会共創推進部研究推進課

(新学術創成研究機構 事務担当)

TEL : 076-264-6186

E-mail : rinfi@adm.kanazawa-u.ac.jp