

膜交通の可視化最前線

中野 明彦

(理研・基幹研／東大・理系・生物学)

細胞内で新たに合成されたタンパク質が、その機能を果たすべき場所にどのように運ばれて定着するかという細胞内輸送の問題は、細胞生物学の非常に重要な分野の1つである。なかでも、オルガネラとオルガネラを結ぶ輸送過程は、小胞輸送あるいは膜交通 (membrane traffic) と呼ばれ、さまざまな生命活動の高次機能に重要な役割を果たしていることが知られている。

この小胞輸送を担う小胞は、直径 50-100 nm という非常に小さな膜構造であり、従来は電子顕微鏡でしか見ることができなかったが、近年のさまざまな蛍光プローブの開発と光学顕微鏡技術の発達によって、そのダイナミクスが生きた細胞の中で観察できるようになりつつある。

私は、実は生物物理分野の出身なのであるが (ご無沙汰を続けているのであまり知られていないが、学生時代に最初に入会したのが生物物理学会である)、学位取得後タンパク質分泌の研究を始めたのを契機に、生化学、遺伝学、分子生物学、細胞生物学と次第にその得意分野をシフトさせながら、膜交通における選別輸送のメカニズムを解明しようと、ずっと分子レベルの視点から研究を進めてきた。しかし一方で、実際に細胞の中で起こっていることを目で見えていないというじれったさも感じ、GFP が普及し始めて可視化が大発展の兆候を見せ始めていた 1997 年に、東大から理研に移籍して新しい研究室を主宰することになったのを契機に、本気でライブイメージングに取り組むことになった。

輸送小胞の大きさは、光学顕微鏡の分解能の限界とされる 200 nm よりはるかに小さいが、光子を発してさえいれば、どんなに小さくても検出は可能なはずである。問題はむしろそのスピードで、細胞内をどのくらい速く動き回っているものか見当もつかなかったから、どのような顕微鏡ならその動きをつかまえられるものか、雲をつかむような話でもあった。

そんなとき、横河電機のスピニングディスク方式の高速共焦点スキャナと運命的な出会いがあり、さらに NHK の超高感度カメラ Super HARP との幸運な出会いがあつて、経済産業省-NEDO の「ダイナミックバイオ」プロジェクトに採択され、大きな予算をいただいて、横河電機、NHK 技研、NHK

エンジニアリングサービス，日立国際電気，産総研，都臨床研との共同研究によって5年にわたる装置開発を進めることができた。いま，理研と産総研に設置されるプロトタイプ機は，分光画像3波長同時取り込み：1億1千万データ/秒，高速3次元（Z軸10 μ m）：30立体/秒，背景光ノイズ：励起光の1.1 x 10⁻⁹以下，光増倍率：1000倍，カメラ性能：130万画素，30 fps または6.5万画素180 fps という，既存の市販機に比して冠絶たる性能を誇っている。純国産技術を駆使してこのような装置を作り上げることができたのは，実に幸せなことであったと思う。

この共焦点システムを用い，10数年にわたり続いていたゴルジ体内タンパク質輸送に関する大論争に終止符を打つことができた。ゴルジ槽が新たに生じ，時間とともに性質を変え，いずれ消滅していくという「槽成熟」説が正しかったことを証明したばかりでなく，電子顕微鏡でなければ見えないと思われていた槽の網目構造を明瞭に観察し，その中でモザイク上に存在するゴルジ膜の成分が，非常にダイナミックに混合と分離をくり返すさまも明らかにすることができた。それは，この高性能顕微鏡で高精度の観察を行うことにより，デコンボリューション処理がきわめて有効にはたらいて，3Dで50 nm という，驚くべき空間分解能を達成できたからである。その後，STED や PALM といった新しいレーザー照射システムを用いて光の回折限界を越えるという論文がさらに続々と発表され，顕微鏡技術の発展はとどまるところを知らない。さらなる時空間分解能の向上には，またいくつかのブレークスルーが必要になることだろうが，細胞内でダイナミックに起こっている現象を1つでも多く理解するために，限界への挑戦をこれからも続けていきたいと考えている。

右図
達成された高い空間
分解能（酵母ゴルジ
体）

