

細胞質受容体の細胞核移行検出・シグナル強度定量検出ライブカメラシステム

岩手大学 工学部 化学・生命理工学科
生命コース

教授 福田 智一

2023年3月14日

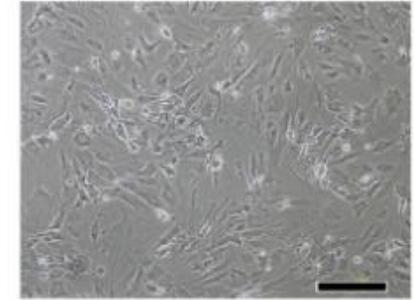
従来技術とその問題点

従来の細胞画像解析システム

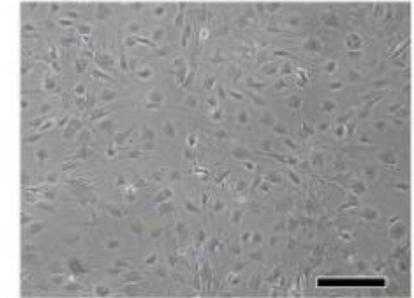
(例: フローサイトメトリーなど)

- ・ 特定した細胞の種類を認識し、
- ・ 細胞核の構造体の解析は可能。

Day2



Day7



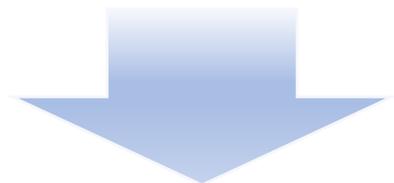
従来例: 固定写真

課題点

- ・ 生きている細胞核を追跡しながら、定量的なライブイメージング解析を行うシステムは少ない。

本システムの特徴

- 生きた細胞での核移行のライブイメージングを可能とした
- 低コストで定量化可能な自動ライブイメージングシステム
- 利用者の操作熟練度に依存しない簡便な定量化システム



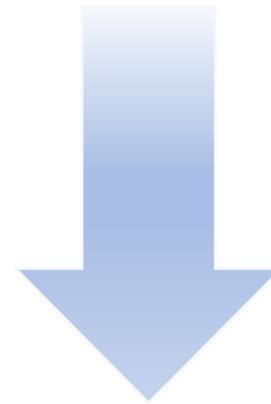
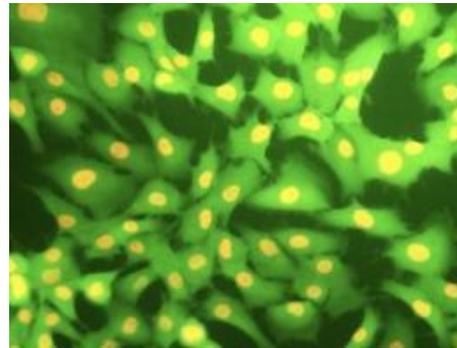
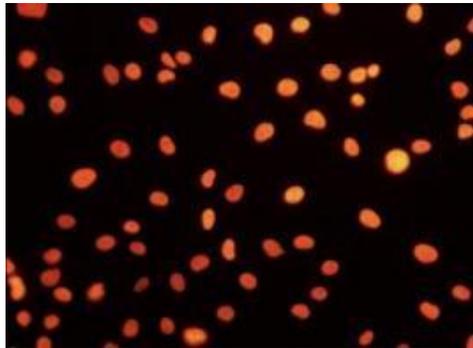
- ① 効率的に細胞核と細胞質それぞれのシグナル強度の時間的変化をライブイメージングで取得可能
- ② 大量の低分子化合物ライブラリーを用いて、特定の分子の核移行を阻止する化合物の開発が可能
- ③ 生きた細胞の核移行スピードを算出し、核移行が遅延もしくは阻害されていることを提供的に検出可能

本システムの応用例

【応用例】無限分裂するヒト毛乳頭細胞の核移行モーションの可視化

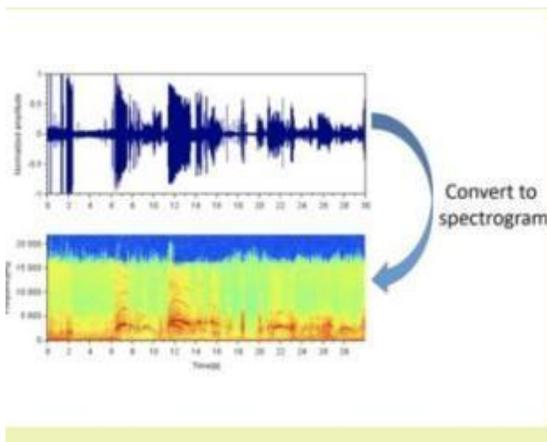
Step1

核を赤色、男性ホルモン受容体を緑色蛍光で、生きたまま、細胞を見える化



Step2

画像解析技術を使い、男性ホルモン受容体が核へ移行する現象を定量化
(画像データを定量的シグナルへ変換)



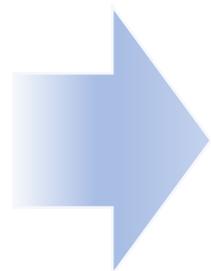
【用途】

細胞、生体分子の計測、追跡ソフトウェアとして
蛍光顕微鏡メーカーのオプションソフトとして提供 など

細胞シグナルの見える化技術

AGA (Androgenetic Alopecia): 男性型脱毛症

- 男性ホルモン(テストステロン、ジハイドロテストステロン)が原因
- 前頭部、頭頂部のみににおいて脱毛がおこるのが特徴



男性ホルモンによるAGAの発症の流れ

毛包(髪の毛の生産工場)拡大図

毛母細胞

毛

受容体

DHT

毛乳頭細胞

毛細血管

毛乳頭細胞に存在する酵素
5 α -リダクターゼ

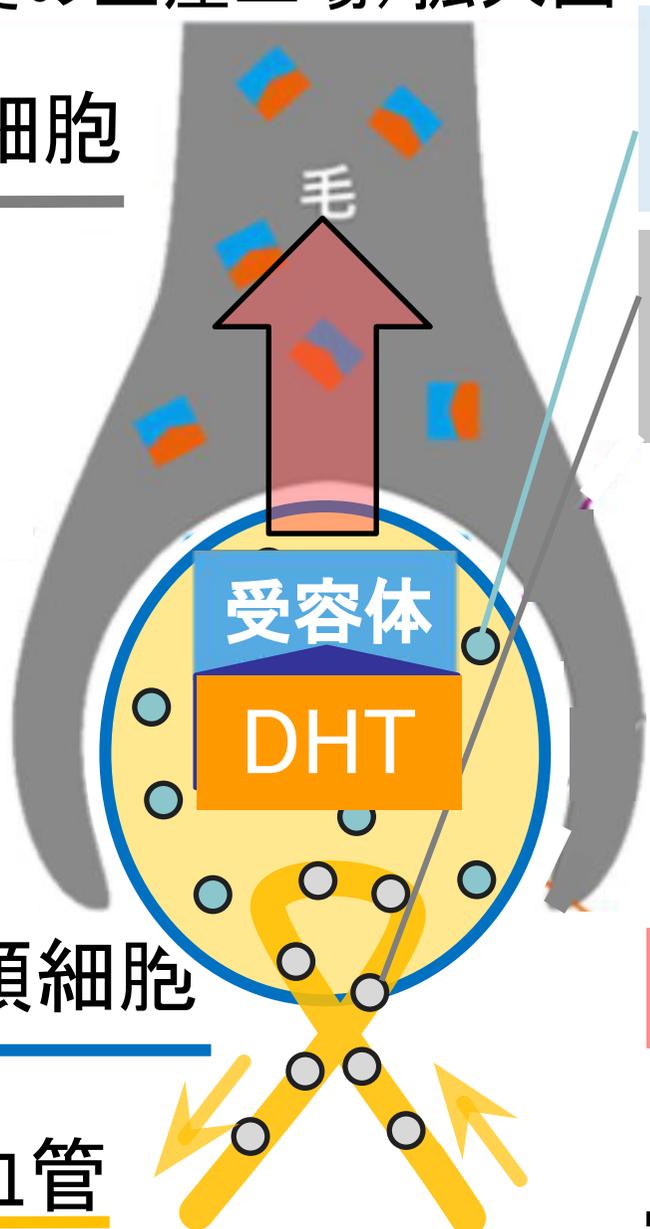
毛細血管から流れてくる男性ホル
モン、テストステロン

DHT(ジハイドロテストステロン)
生成、さらに強い男性ホルモンに変化する

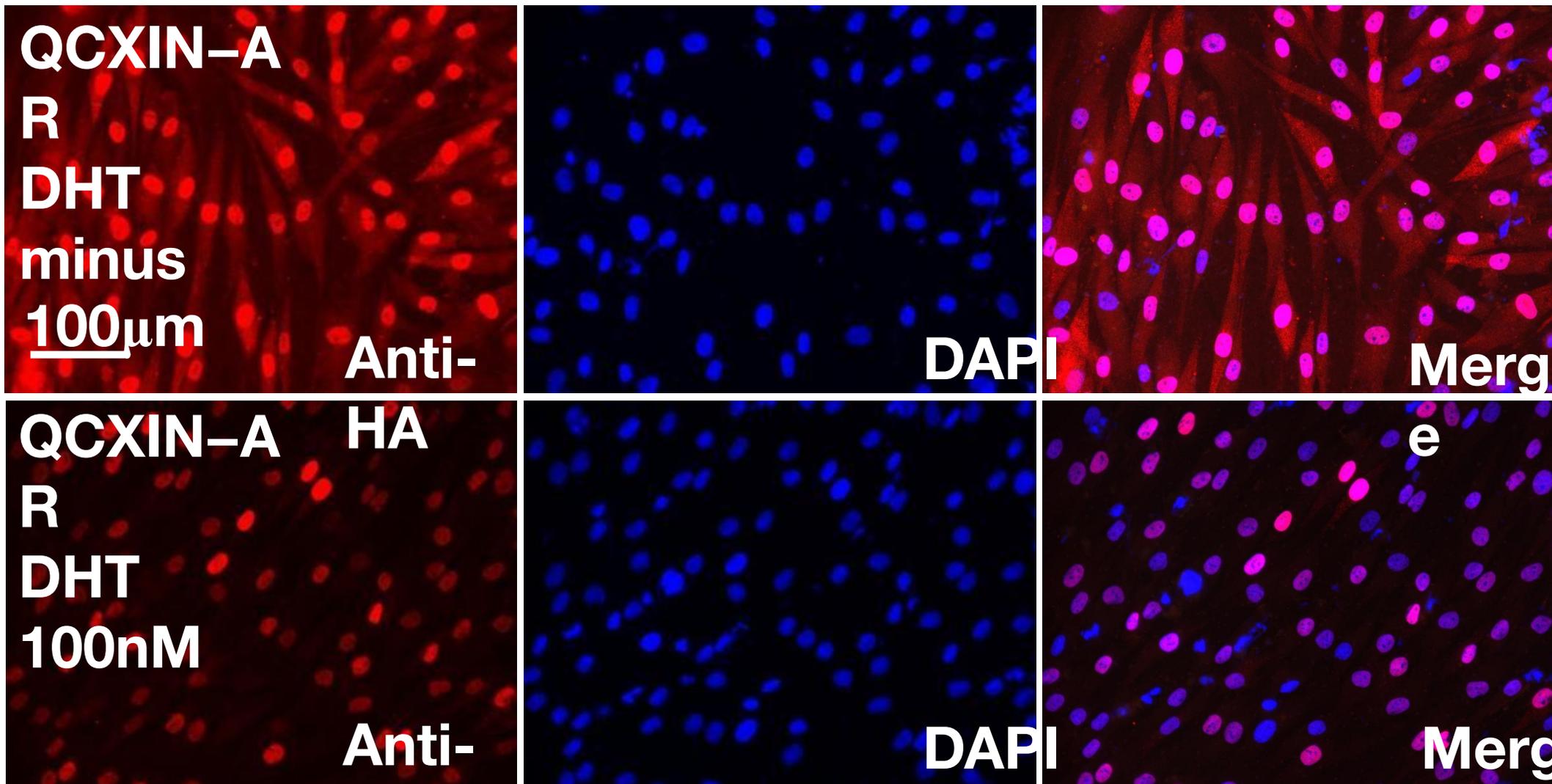
受容体と結合

核の中に入る(核移行)

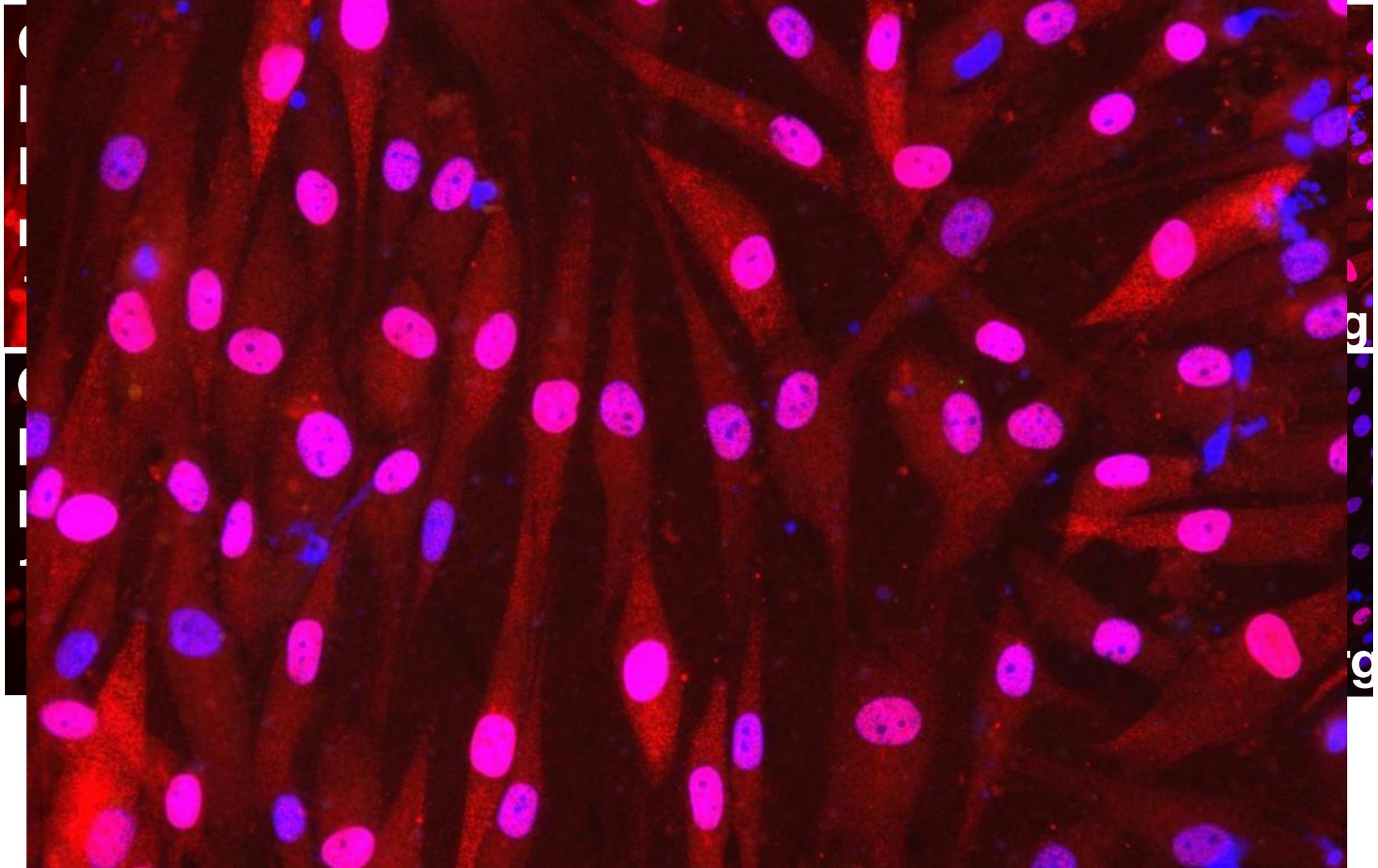
薄毛が進行する!



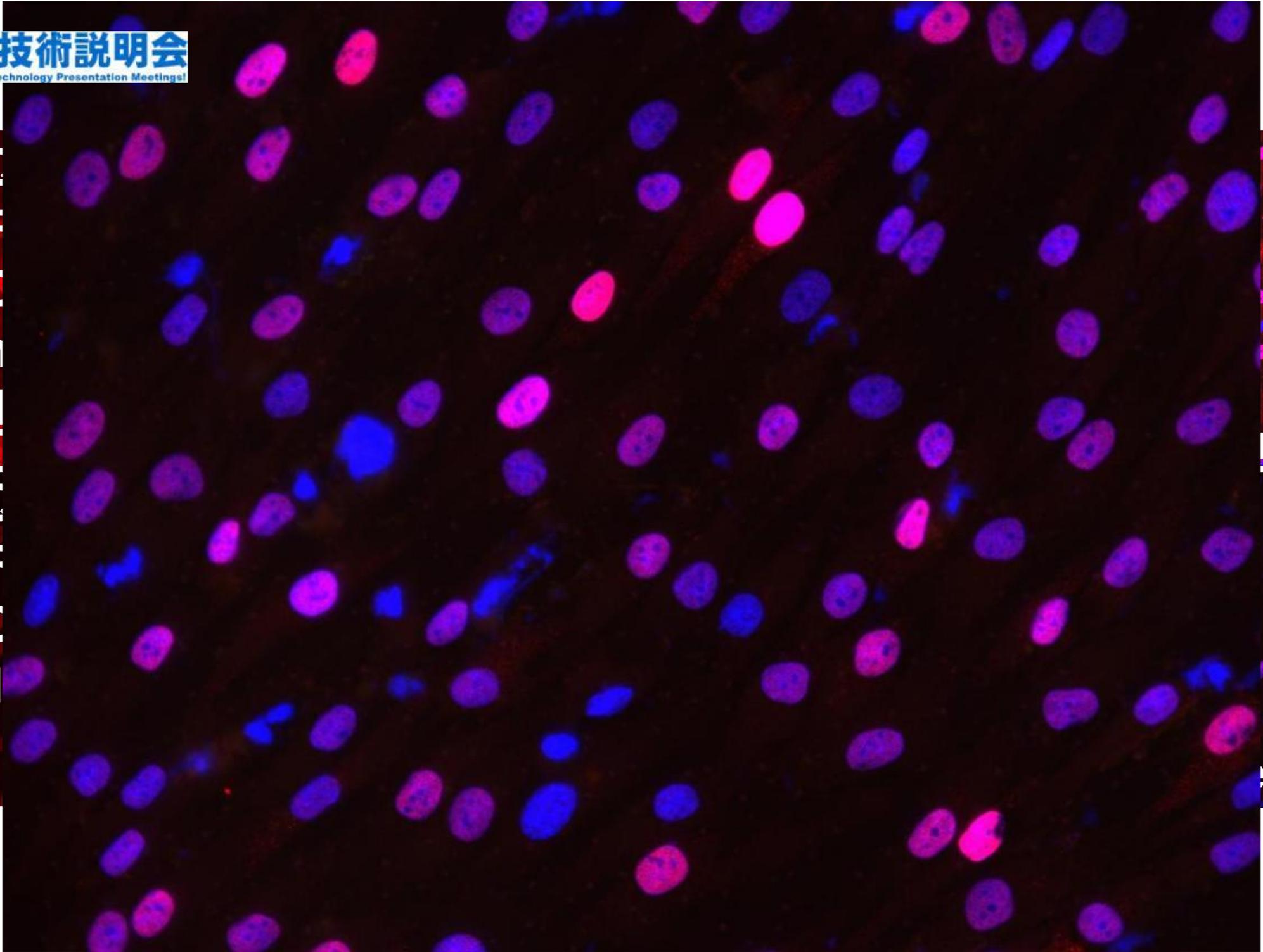
本システムの応用例



従来技術、免疫染色によるARの核移行



C
F
D
1
3
C
F
D
1



rg

erg

新技術による男性ホルモン受容体の検出



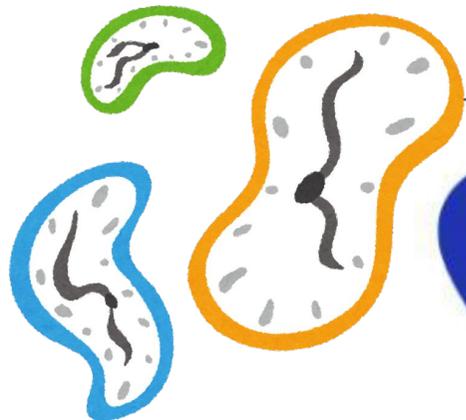
生きている状態でARが見えるといいな...

>> 死んだ細胞を染めることになる、時間経過は見えない



一度樹立すると永遠に使えた方がいいな...

>> 普通は完全に同じものは使えない

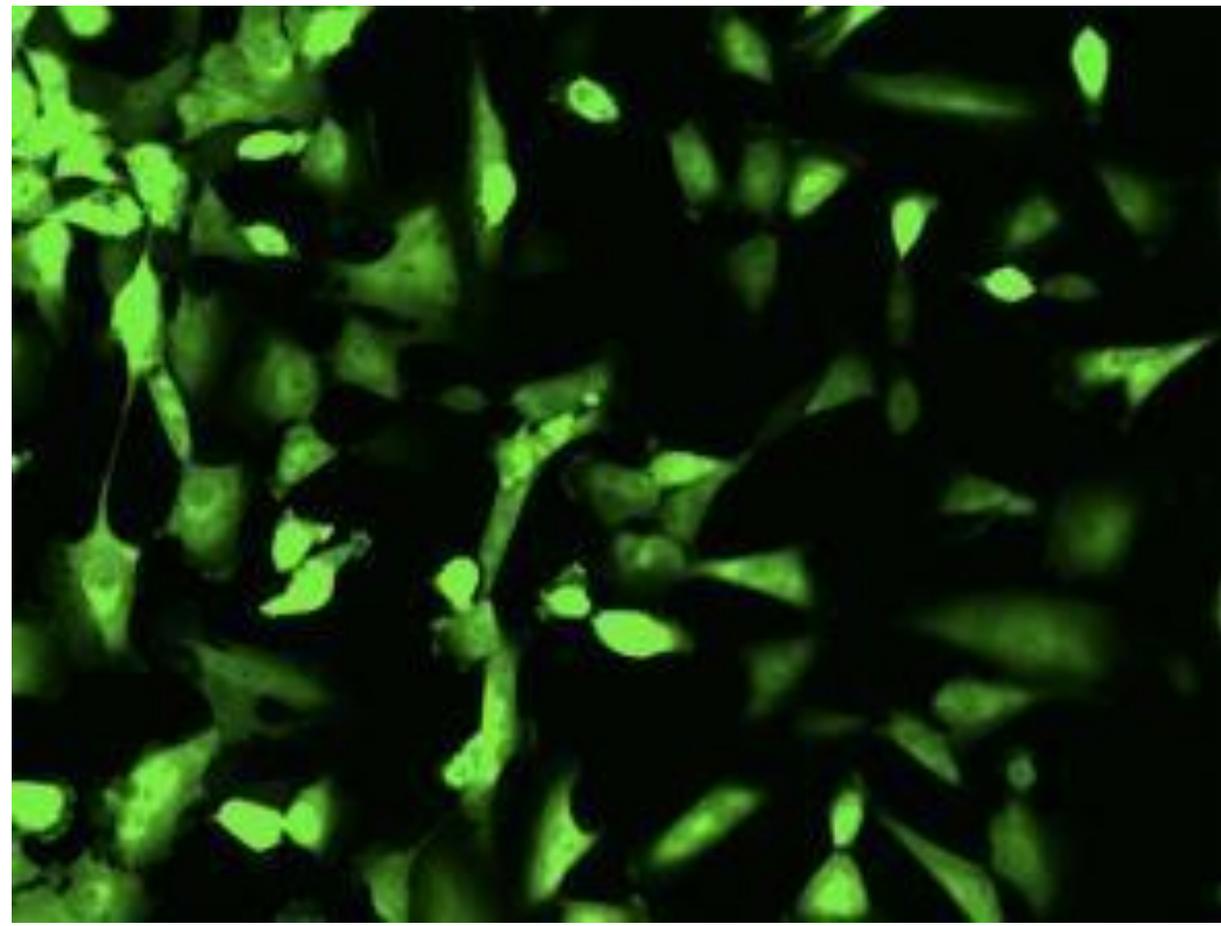


定量的かつ、オートでできるといいな...

>> 全部の位置を指定してカウントと定量するなんて無理、無限に時間がかかる

本システムの応用例

蛍光タンパク質を使えば、生きたままの
男性ホルモン受容体が見れるかも？



Azami green 蛍光タンパク質と男性ホルモン受容体を結合させた

本システムで用いるタイムラプス撮影用ツール

培養対策



褪色対策

フィルター： MF10+MF20

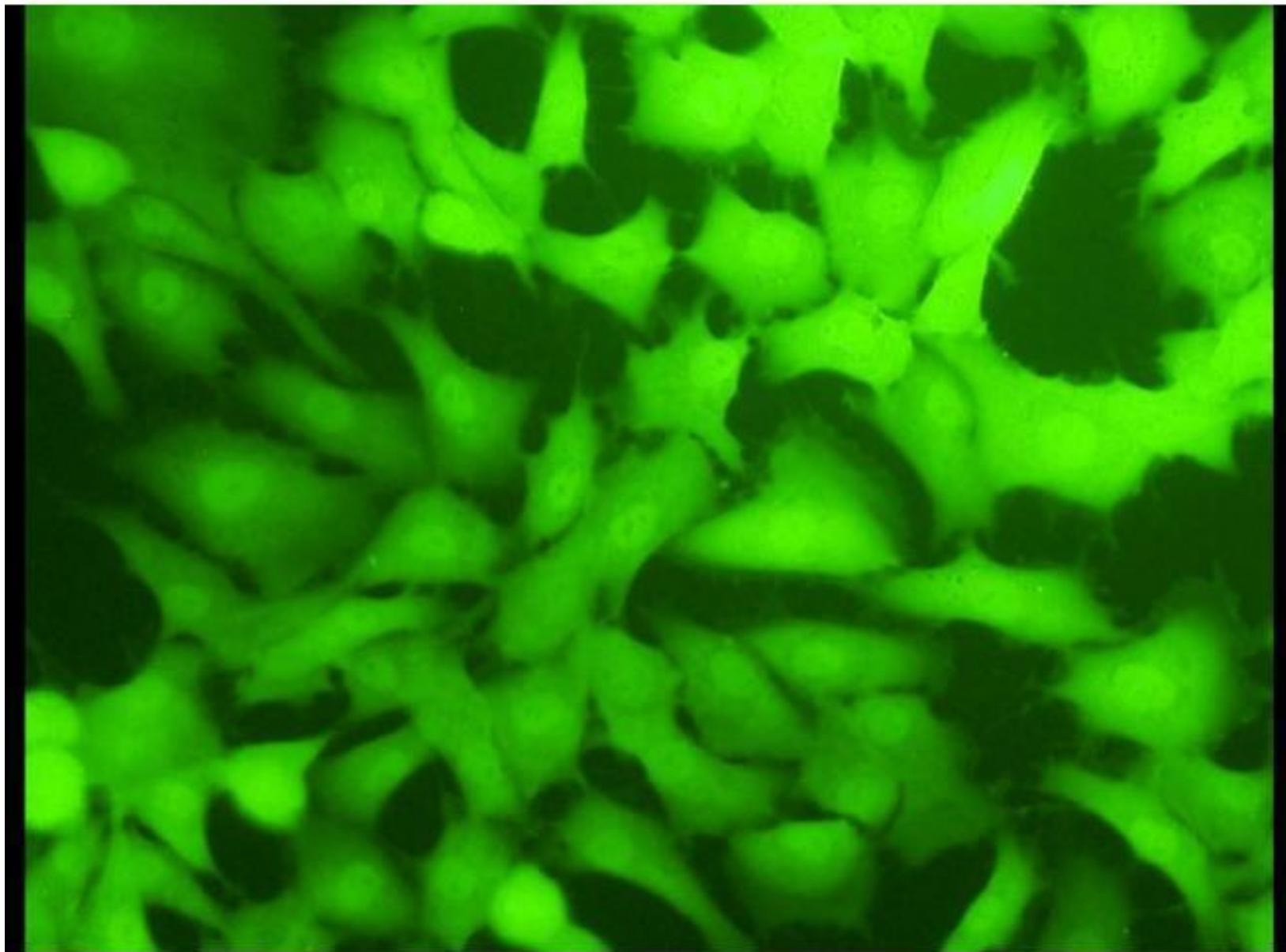
+



褪色防止剤

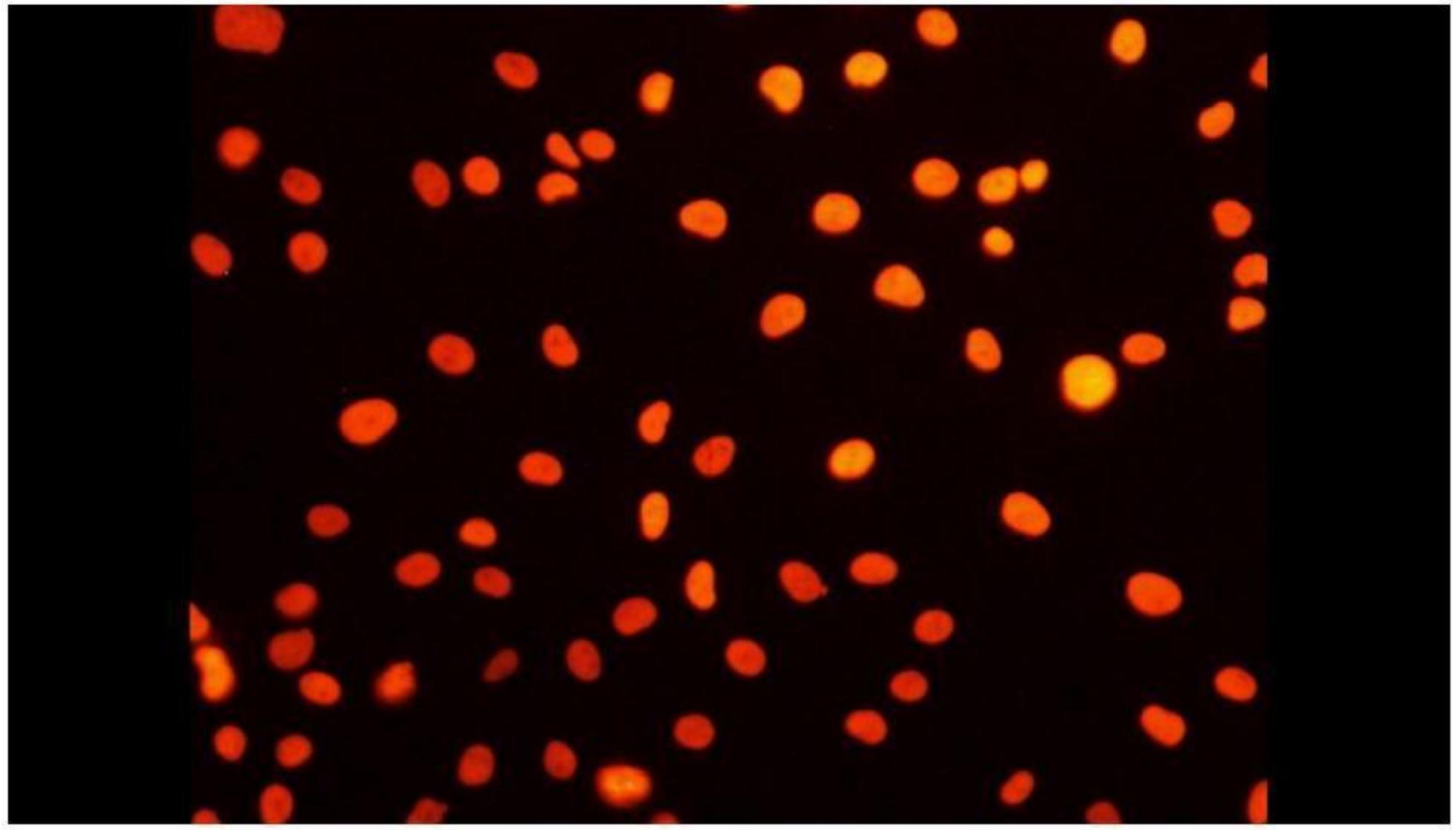
タイムラプス撮影①

男性ホルモン受容体のタイムラプス動画



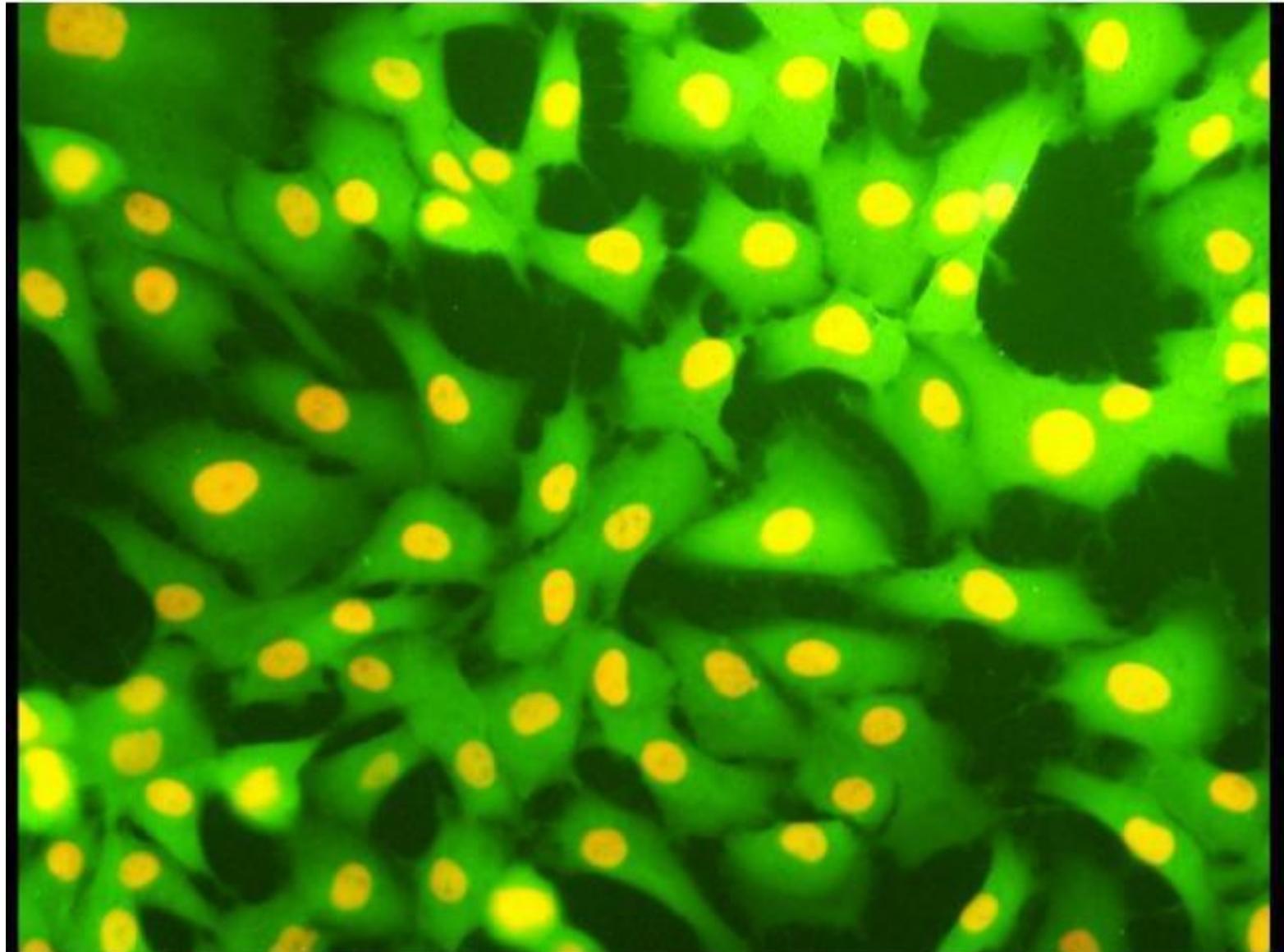
タイムラプス撮影②

毛乳頭細胞の核のタイムラプス動画



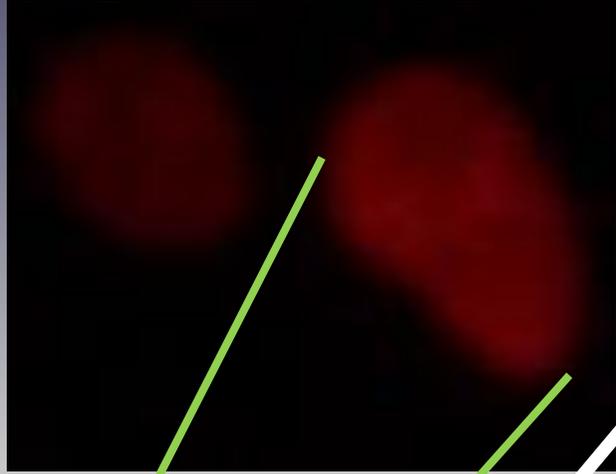
タイムラプス動画(①+②)の合成

男性ホルモン受容体が核へ移行する場面の合成動画



本システムの処理工程

核移行の定量化



一度に100個近く細胞、4時間の動画撮影、1フレームごとの画像部位を指定

細胞核と輪郭のマスクを作成



赤チャネルから細胞核の位置を検出



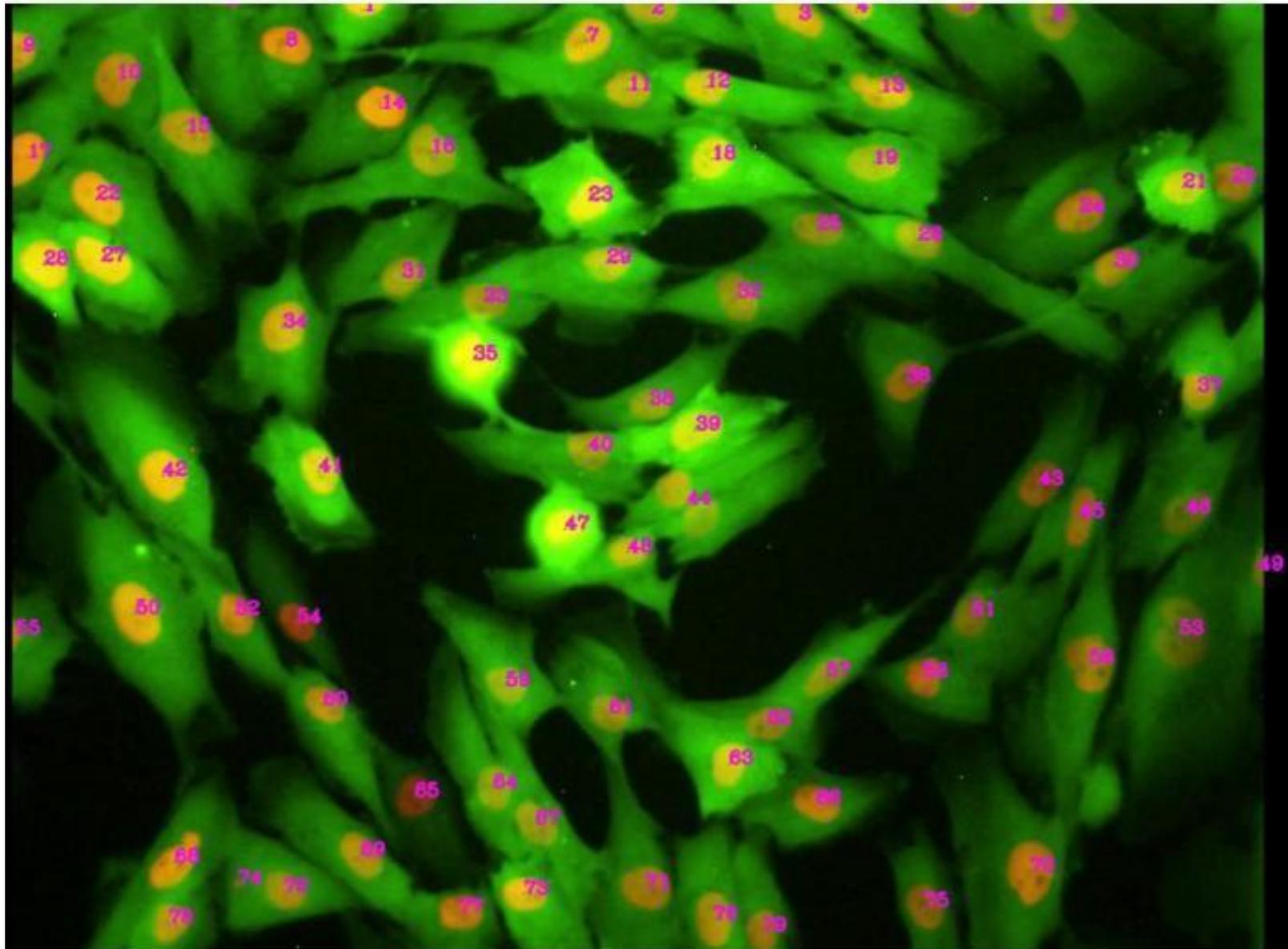
緑チャネルから細胞核まわりを切り抜き



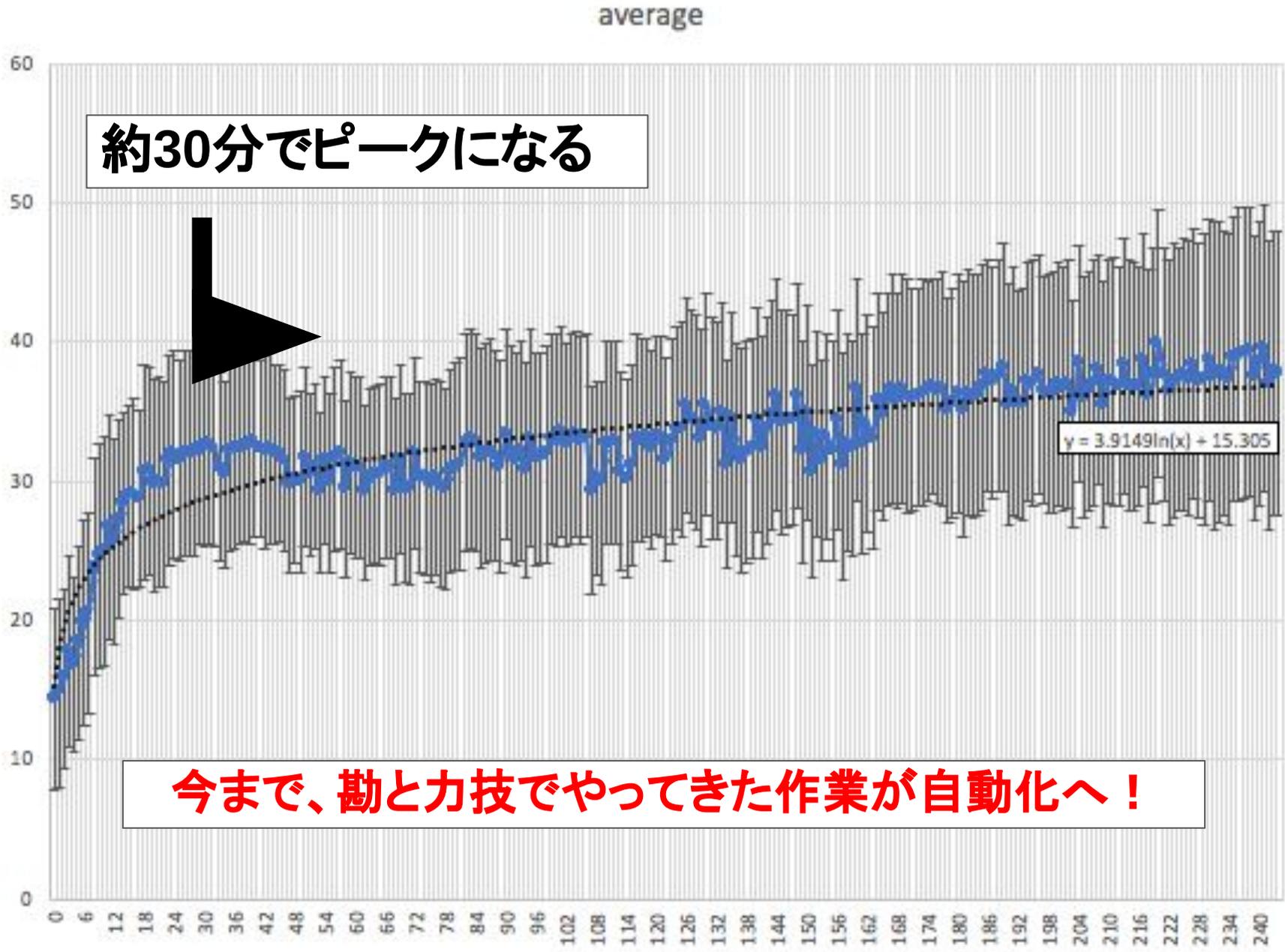
細胞核と細胞質が分けられデータを取得

核移行の定量化の動画

細胞核領域を特定し、追跡対象にユニーク番号付与→各細胞の定量化



核移行の定量化を一度にできるよ！



想定される用途

- 異なるスペクトルの蛍光タンパク質のライブイメージング動画(タイムラプス)による定量化
- 超解像顕微鏡による撮影動画への本システムの適用により、高精度な動画での可視化・自動定量化システムの提供が可能

実用化に向けた課題

- 本システムは、タイムラプスで同時撮影した2つ以上のスペクトルを持つ動画データを画像合成処理した動画データから定量化を行っているため、“リアルタイムのライブ映像”ではありません。

企業への期待

- 顕微鏡やフローサイトメトリーを製造販売されている企業様のオプションのソフトウェアとしての「動画可視化・定量化プログラム」として商品化されることを期待します。
- 本システムを用いて低分子化合物を用いた特定の分子の核移行を阻止する化合物の開発に興味をもつ企業様との共同研究。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞質に存在する受容体の核移行検出方法、及び細胞核及び細胞核及び細胞質のシグナル強度検出方法
- 出願番号 : 特願2022-155331
- 出願人 : 岩手大学
- 発明者 : 明石卓也、福田智一
深澤瑞基、ウータオ

お問い合わせ先



岩手大学

研究支援・産学連携センター 知財ユニット

TEL 019-621-6494

FAX 019-604-5036

e-mail iptt@iwate-u.ac.jp