

配布先: 文部科学記者会、科学記者会、名古屋教育記者会

2026 年 8 月 4 日

報道機関 各位

生きた植物で実証—同じ「色」の蛍光を「寿命」で見分ける ～より多くのタンパク質を同時に識別、植物の多重イメージング活用へ～

【本研究のポイント】

- ・蛍光波長(色)が極めて類似している複数の蛍光タンパク質^{注 1)}を、蛍光が減衰する速さ(蛍光寿命^{注 2)})の違いに基づいて明瞭に識別できることを示した。
- ・生きた植物細胞の中でも、複数種類の同系色蛍光タンパク質を同時に識別でき、赤色・緑色のいずれの蛍光タンパク質にも適用できることを示した。
- ・蛍光の「色」と「寿命」という異なる二つの情報を組み合わせることで、植物細胞で同時に観察できる対象を増やせる可能性を示した。

【研究概要】

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)の青山 剛士 研究員、杉本 渚 技術員、佐藤 良勝 特任准教授の研究グループは、蛍光寿命顕微鏡(FLIM^{注 3)})を用いて、生きた植物細胞内で蛍光波長が極めて類似する蛍光タンパク質を識別できることを実証しました。

蛍光タンパク質は、細胞内のタンパク質の位置や動きを可視化する、ライフサイエンス研究に欠かせないツールです。従来、複数の蛍光タンパク質を同時に観察するには、蛍光波長(色)が異なるタンパク質を組み合わせることが一般的でした。しかし、蛍光タンパク質は同じ色に光る場合でも、蛍光が減衰するまでの時間(蛍光寿命)は種類によって異なります。そこで研究グループは、蛍光寿命を測定できる FLIM を用い、同じ色の蛍光タンパク質を蛍光寿命の違いに基づいて識別できることを示しました。さらに、生きた植物細胞(コケ植物ヒメツリガネゴケ)でも識別に成功し、この技術が植物細胞における多重イメージングに有用であることを示しました。今後、蛍光の色と寿命を組み合わせることで、より多くのタンパク質を同時に見分けられるようになり、植物細胞内で起こる様々な現象を詳しく調べる手段として、幅広い活用が期待されます。

本研究成果は、2026 年 7 月 30 日に国際学術雑誌『Plant Physiology』に掲載されました。

【研究背景と内容】

生命科学研究において、細胞内でタンパク質がいつ、どこに存在するのかを調べるために、蛍光タンパク質を用いた観察は欠かせない手法です。近年では、緑色蛍光タンパク質 (GFP)をはじめ、青・黄・赤など可視光域のさまざまな色に光る蛍光タンパク質が開発されています。これらを用いて複数のタンパク質を異なる色で標識し、同時に観察する「多重イメージング」も広く行われています。しかし、同時に識別できる色の数には限りがあり、似た色に光る蛍光タンパク質を同時に観察して、それぞれを識別することは困難でした。

一方、蛍光タンパク質は色だけでなく、蛍光が減衰するまでのごくわずかな時間(蛍光寿命)も種類ごとに異なります。この違いを画像として捉える蛍光寿命顕微鏡 (FLIM) を用いれば、色による判別しにくい蛍光タンパク質も識別できる可能性があります。しかし、どの程度の蛍光寿命の差があれば識別できるのか、また、どのような蛍光タンパク質の組み合わせを識別できるのかは、これまで十分に明らかになっていませんでした。また、植物細胞は細胞壁や葉緑体由来する強い自家蛍光^{注 4)}があるため、色による識別がさらに難しくなる場合があります。しかし、植物細胞への FLIM の応用例はまだ限られていました。そこで研究グループは、生きた植物細胞内で、FLIM を用いて蛍光タンパク質をどこまで同時に識別できるかを検証しました。

まず、研究グループは、色が非常によく似た、4 種類の赤色蛍光タンパク質(mCherry、mRFP、mApple、tdTomato)について、in vitro で解析しました。これらは通常の蛍光強度イメージングでは全く区別できませんでしたが、FLIM で得られたデータを Phasor Plot 解析^{注 5)}によって解析したところ、すべてを明確に識別できました(図1)。中でも mCherry と mRFP は、波長差がわずか 3 ナノメートル(nm)、蛍光寿命の差も約 0.2 ナノ秒という極めて似た組み合わせでしたが、それでも識別できると示されました。

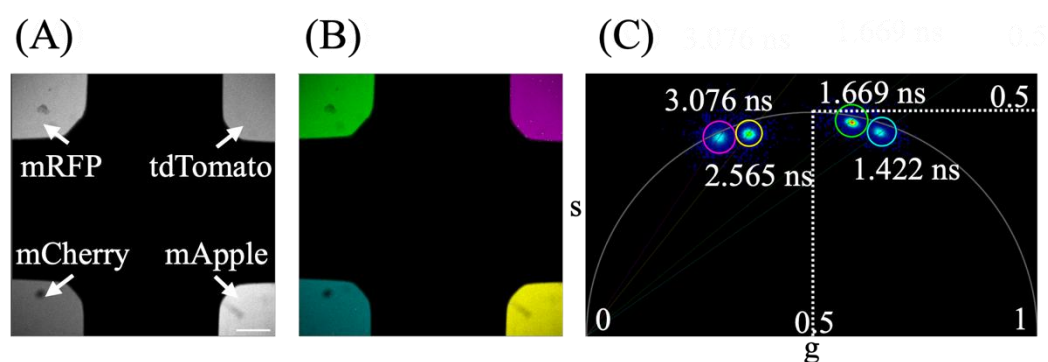


図1 in vitro における蛍光タンパク質の同時観察

mCherry, mRFP, mApple, tdTomato を同時観察したところ、蛍光強度画像(A)では区別できなかったが、蛍光寿命画像(B,C)では 4 種類すべてを明確に識別できた。(C)は Phasor Plot 解析と呼ばれる蛍光寿命の分離方法で、そこで分離した各蛍光タンパク質の信号を(B)に色分けして示している。

次に、この手法が生きた植物細胞内でも通用するかを調べるため、コケ植物ヒメツリガネゴケの原系体細胞^{注 6)}に蛍光タンパク質を導入しました。各蛍光タンパク質を核・ペルオキシソーム・葉緑体・細胞膜など異なる場所に局在するように設計し、蛍光寿命の差が大きい組み合わせと小さい組み合わせの両方を調べました。その結果、通常の蛍光強度画像では識別できない組み合わせでも、Phasor Plot 上では蛍光寿命の異なる別々の集団として分離され、それぞれが想定された細胞内の位置に対応していました(図2 上段)。緑色の蛍光タンパク質(GFP、NowGFP、BrUSLEE)の組み合わせでも同様の結果が得られ、この手法が蛍光タンパク質の色によらず有効であることが分かりました(図2 下段)。

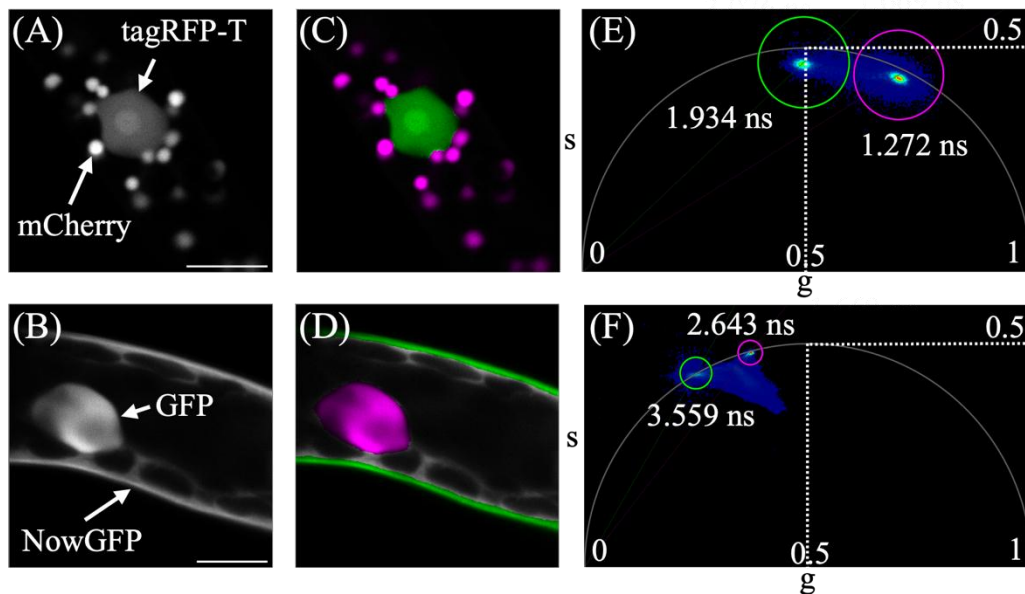


図2 植物細胞内における2種類の蛍光タンパク質の同時観察

in vitro での結果(図1)と同様に、植物細胞内でも蛍光強度画像(A,B)では識別できない蛍光タンパク質を、蛍光寿命画像および Phasor Plot 解析(C-F)では識別できた。上段(A,C,E)は赤色蛍光タンパク質(mCherryとtagRFP-T)、下段(B, D, F)は緑色蛍光タンパク質(GFPとNowGFP)を用いた実験であり、この解析手法が蛍光タンパク質の色にかかわらず有効であることが分かった。

さらに研究グループは、3種類の蛍光タンパク質を同時に識別できるかを検証しました。ペルオキシソーム・核・葉緑体にそれぞれ蛍光タンパク質を局在させたところ、蛍光強度画像では見分けられなかった3種類の信号を、Phasor Plot 上で三つの異なる集団として分離できました(図3)。興味深いことに、ペルオキシソームと葉緑体が隣接する境界部分では、両者の中間的な蛍光寿命を示す信号も観察されました。これは、異なる2種類の蛍光タンパク質が同一画素内に存在する領域も識別できる可能性を示しています。今後、タンパク質同士の相互作用を調べる手がかりとなることが期待されます。

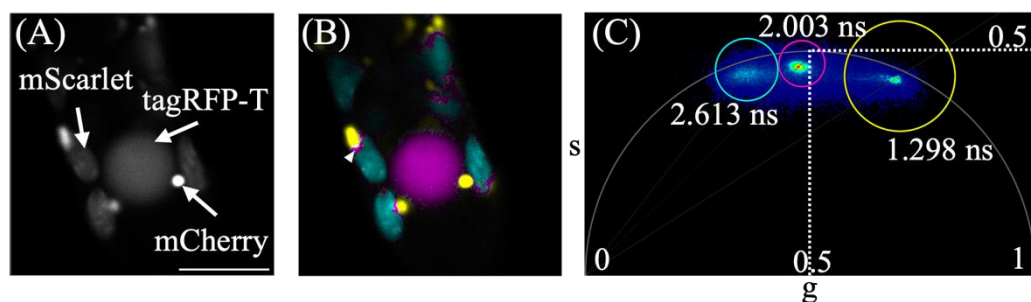


図3 植物細胞内における3種類の蛍光タンパク質の同時観察

3種類の蛍光タンパク質は、蛍光強度画像(A)では識別できなかったが、蛍光寿命画像および Phasor Plot 解析(B,C)では識別することができた。また、mCherryの信号(Bの黄色)と mScarletの信号(Bのシアン)のタンパク質が重なる領域(Bの矢頭)では、両者の中間的な蛍光寿命が観察された。

【成果の意義】

本研究の意義は、蛍光の「色」と「寿命」という、互いに独立した二つの指標を組み合わせることで、ライブイメージング技術における「同時に観察できるタンパク質の種類には限りがある」という制約を緩和する道を示した点にあります。植物細胞では、細胞壁や葉緑体に由来する強い自家蛍光があるため、色だけを用いて複数のタンパク質を識別することは特に大きな課題でした。今回、生きた植物細胞の中でも蛍光寿命を指標に識別できることを実証したことで、今後、蛍光寿命を利用した多重イメージングが植物細胞の解析に広く活用され、従来は同時に捉えにくかった複数のタンパク質の局在や動態の研究が進むことが期待されます。

本研究は日本学術振興会 科学研究費助成事業『JP21K19256』、『JP21H00364』、『JP22H04718』、『JP22H04926』、『JP22K21352』、『JP23H04739』、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 CREST『JPMJCR1924』、文部科学省 ムーンショット型研究開発制度『JPMJMS2033-11』、公益財団法人 ヤンマー資源循環支援機構、公益財団法人 豊秋奨学会、公益財団法人 内藤科学技術振興財団の支援を受けて行われました。

【用語説明】

注 1) 蛍光タンパク質:

光を当てると特定の色に光る性質を持つタンパク質。遺伝子操作によって観察したいタンパク質と融合させることで、生きた細胞の中でその位置や動きを可視化できる。代表的なものに GFP(緑色蛍光タンパク質)などがあり、生命科学研究に広く利用されている。

注 2) 蛍光寿命:

蛍光分子が光を吸収して励起状態になってから、元の状態(基底状態)に戻るまでの平均時間。通常はナノ秒単位で表される。蛍光分子の種類によってこの時間の長さは異なる。

注 3) 蛍光寿命顕微鏡 (FLIM):

蛍光分子の蛍光寿命の違いを画像として捉えることができる顕微鏡技術。Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy の略。

注 4) 自家蛍光:

生体内にもともと存在する分子が、光の照射によって発する蛍光。植物では、クロロフィルや細胞壁成分などが主な由来となる。

注 5) Phasor Plot 解析:

FLIM で得られた各画素の蛍光寿命のデータを、グラフ上の座標として表し、その分布から蛍光タンパク質の種類を見分ける解析手法。蛍光寿命が近い画素同士はグラフ上で近い位置に、蛍光寿命が異なる画素同士は離れた位置に集まるため、色では区別できない蛍光タンパク質であっても、グラフ上の集団として視覚的に見分けることができる。

注 6) 原糸体細胞:

コケ植物が孢子から発芽した直後に形成する、糸状に連なった細胞。細胞の成長や分裂が盛んであり、内部の様子を顕微鏡で観察しやすいことから、植物の基礎的なしくみを調べるためのモデルとしてよく用いられる。

【論文情報】

雑誌名: Plant Physiology

論文タイトル: Fluorescence lifetime-based multiplex imaging in living plant cells

著者: Tsuyoshi Aoyama*, Nagisa Sugimoto*, Yoshikatsu Sato* (*本学関係者)

DOI: 10.1093/plphys/kiag475

URL: <https://doi.org/10.1093/plphys/kiag475>

※【WPI-ITbM について】(<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) は、2012 年に文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI) の 1 つとして採択されました。

ITbM では、精緻にデザインされた機能をもつ分子 (化合物) を用いて、これまで明らかにされていなかった生命機能の解明を目指すと共に、化学者と生物学者が隣り合わせになって融合研究をおこなうミックス・ラボ、ミックス・オフィスで化学と生物学の融合領域研究を展開しています。「ミックス」をキーワードに、人々の思考、生活、行動を劇的に変えるトランスフォーマティブ分子の発見と開発をおこない、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といったさまざまな課題に取り組んでいます。これまで 10 年間の取り組みが高く評価され、世界トップレベルの極めて高い研究水準と優れた研究環境にある研究拠点「WPI アカデミー」のメンバーに認定されました。



東海国立大学機構は、岐阜大学と名古屋大学を運営する国立大学法人です。
国際的な競争力向上と地域創生への貢献を両輪とした発展を目指します。

東海国立大学機構 HP <https://www.thers.ac.jp/>

