

# News Release



令和2年6月30日

各報道機関文教担当記者 殿

## がん細胞の運命を握る核膜分子輸送装置の内部構造「バイオフィラメント」のナノ動態の追跡に成功！

金沢大学ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構のリチャード・ウォング教授の研究グループは、ナノ生命科学研究所の中山隆宏准教授，古寺哲幸教授，安藤敏夫特任教授，ナノ生命科学研究所／がん進展制御研究所の大島正伸教授の研究グループおよび沖縄科学技術大学院大学（OIST）細胞分子シナプス機能ユニットのローラン・ギョー博士と共同で、**がん細胞の運命を決定する核膜孔複合体(NPC)(※1)の内部構造「バイオフィラメント」のナノ動態を追跡することに成功しました。**

核膜における唯一の分子輸送ポアを形成する NPC は、DNA へアクセスするすべての情報を監視する分子ナノゲートとして機能し、がん細胞の異常増殖や転移・浸潤などの悪性形質を促進します。したがって、NPC の作動原理を根本的に理解し制御することで、がんの克服が期待されます。しかし、NPC は 30 種類のタンパク質から成り立つ高次複合体であり、特に内部構造はフェニルアラニン-グリシン-ヌクレオポリン (FG-NUPs) (※2) に存在する天然変性ペプチド鎖（バイオフィラメント）のランダムな動的相互作用により形成される液-液相分離 (LLPS) 環境 (※3) にあるため、特定の構造を解析することが非常に難しく、バイオフィラメントの動態や機能相関については十分に理解されていませんでした。

今回、本研究グループは、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) (※4) や超解像顕微鏡などの先端バイオイメーjing、動態シミュレーション、バイオインフォマティクスやオルガノイド技術 (※5) などを駆使した統合解析により、NPC バイオフィラメントの時空間的ナノ動態を追跡することに成功しました。さらに、①大腸がん細胞の発症・悪性を誘導する転写因子 (※6) により、特定の FG-NUPs 「NUP214」の発現誘導が促進され、②がん細胞に特異的なバイオフィラメント動態異常を引き起こすことを明らかにしました。

**これらの知見は将来、分子レベルでの核膜ナノダイナミクスの理解・制御に基づく新たながん診断・治療法の開発につながることを期待されます。**

本研究成果は、2020年6月23日(中央ヨーロッパ時間)に欧州科学雑誌『*Biomaterials*』のオンライン版に掲載されました。

## 【研究の背景】

細胞の振る舞いを決定する DNA は、核膜で覆われた空間「核」に格納されています。核膜における唯一の分子輸送ポアを形成する核膜孔複合体 (NPC) は、核を出入りするすべての情報をコントロールする分子ナノゲートとして機能し、がん細胞の異常増殖や転移・浸潤などの悪性形質を促進します。したがって、NPC の作動原理を根本的に理解し制御することで、がんの克服が期待されます。

これまでにリチャード・ウォング教授らの研究グループは、世界最速の高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) による NPC の動的構造の撮影に世界で初めて成功し、NPC の変形と喪失はがん細胞の死に至るコードであることを報告しました (*ACS Nano* 2017, 11, 5567-5578)。また、NPC 内部構造の物性変化により特定転写因子の核内移行が調節され、がん細胞の悪性を亢進する仕組みを明らかにしました (*EMBO Reports*, 2018, 19, 73-88)。一方、NPC の内部はフェニルアラニン-グリシン-ヌクレオポリン (FG-NUPs) に存在する天然変性ペプチド鎖 (バイオフィラメント) のランダムな動的相互作用により形成される液-液相分離 (LLPS) 環境にあり、特定の構造を解析することが難しく、NPC の内部バイオフィラメントの動態は十分に理解されていません。核膜物質輸送の中核である NPC の作動原理を理解するには、内部バイオフィラメントの振る舞いについてナノスケールレベルの時空間的な解析と、これらの状態・機能相関についてさらなる研究が求められます。

## 【研究成果の概要】

本研究グループは、HS-AFM を使用し、大腸由来正常細胞、大腸がん細胞およびオルガノイドにおける NPC を 150 ミリ秒以下のタイムスケールで観察し、FG-NUP から成り立つバイオフィラメントの構造を明らかにしました。大腸がん細胞では、正常細胞と異なり単一バイオフィラメントの厚みが不均一になり、バイオフィラメントの回転や動きを活発にし、がん細胞に特徴的なプラグ構造を積極的に形成することを見いだしました。また、遺伝子干渉実験により、大腸がん細胞で過剰に発現する特定の FG-NUPs「NUP214」がバイオフィラメントの動態変化に影響していることを解明しました。

次に、大腸がん細胞およびオルガノイドに、FG-NUPs バイオフィラメント相互作用を阻害するトランス-1,2-シクロヘキサジオール (※7) を添加した NPC では、中央チャンネルに構成されるプラグのサイズが大幅に減少し、通常の繊維状構造に可逆的に戻ることが明らかとなりました。

これらにより、NPC 内部の LLPS 環境の形成から消失過程におけるバイオフィラメントの時空間的振る舞いを可視化することに初めて成功しました。

## 【今後の展開】

本研究では、何十年も不可能とされてきた、NPC 内部のバイオフィラメントの追跡と操作を可能にし、がん細胞に特徴的なバイオフィラメントの動態異常と機能相関について明らかにしました。本成果は、細胞内におけるさまざまな分子反応の場として注目されている LLPS 環境の物性解析における HS-AMF の有用性を提示するとともに、分子レベルでの核膜ダイナミクスを理解・制御に基づく新たながん診断・治療への応用が期待されます。

本研究は、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）、日本学術振興会科学研究費助成事業（17H05874, 17K08655）、小林国際奨学財団、島津科学技術振興財団、金沢大学新学術創成研究機構ユニット研究推進経費、金沢大学超然プロジェクトの支援を受けて実施されました。

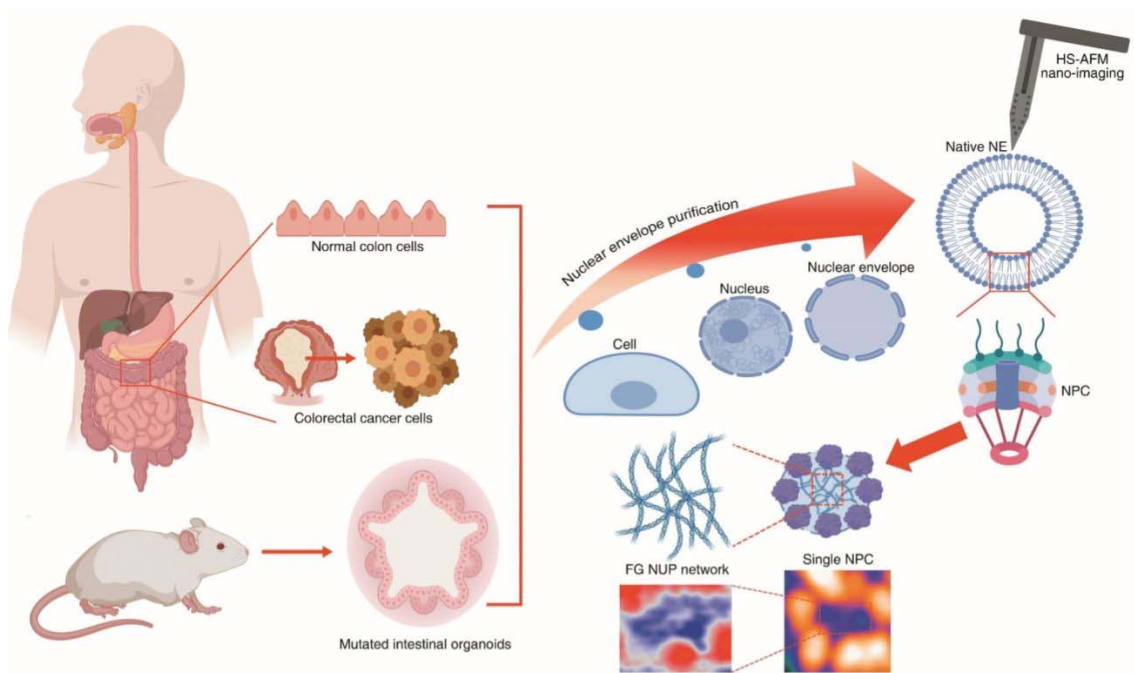


図 1. 哺乳類のがん細胞と 3D オルガノイドからのネイティブ核膜孔の操作と追跡の概略図

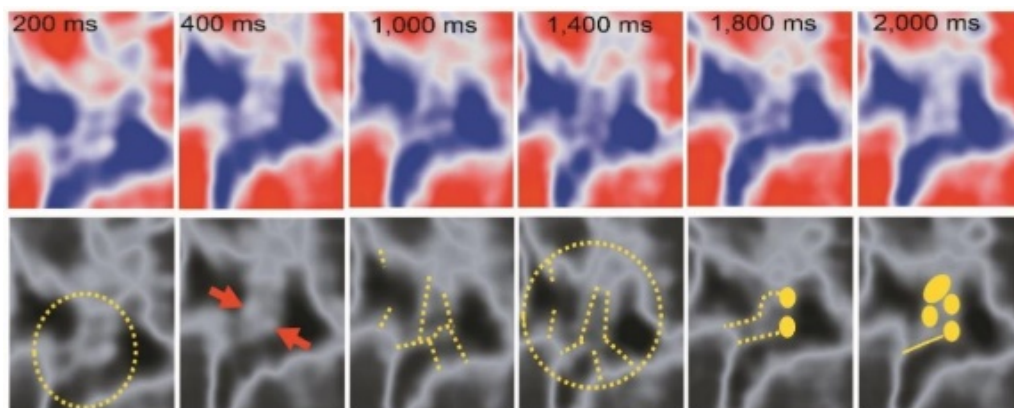


図 2. HS-AFM の観察例

核膜孔内の単一ナノフィラメント構造のライブ追跡。核膜孔の中央チャンネル内のネイティブシングル FG フィラメント（高さ $\sim 1.5$  ナノメートル (nm)）の急速なコンフォメーション連続変化の一例を示す。

## 【掲載論文】

雑誌名：Biomaterials

論文名：Spatiotemporally tracking of nano-biofilaments inside the nuclear pore complex core  
(核膜孔複合体内部バイオフィラメントの時空間的ナノ動態)

著者名：Mahmoud Shaaban Mohamed, Masaharu Hazawa, Akiko Kobayashi, Laurent Guillaud, Takahiro Watanabe-Nakayama, Mizuho Nakayama, Hanbo Wang, Noriyuki Kodera, Masanobu Oshima, Toshio Ando, Richard W. Wong

(マホモド・シャーバノ・モハンメド<sup>1</sup>, 羽澤勝治<sup>2,4</sup>, 小林亜紀子<sup>2</sup>, ローラン・ギョー<sup>3</sup>, 中山隆宏<sup>4</sup>, 中山瑞穂<sup>4,5</sup>, 王瀚博<sup>6</sup>, 古寺哲幸<sup>4</sup>, 大島正伸<sup>4,5</sup>, 安藤敏夫<sup>4</sup>, リチャード・ウォング<sup>2,4</sup>)

1. 金沢大学新学術創成研究機構 (研究当時)
2. 金沢大学新学術創成研究機構
3. 沖縄科学技術大学院大学細胞分子シナプス機能ユニット
4. 金沢大学ナノ生命科学研究所
5. 金沢大学がん進展制御研究所
6. 金沢大学大学院新学術創成研究科融合科学共同専攻博士前期課程

掲載日時：2020年6月23日 (中央ヨーロッパ時間) にオンライン版に掲載

DOI：10.1016/j.biomaterials.2020.120198

## 【用語解説】

### ※1 核膜孔複合体

細胞核を覆う膜にある穴である核膜孔を構成するタンパク質の集合体。普段は細胞質と核の間の物質輸送を担う。

### ※2 フェニルアラニン-グリシン-ヌクレオポリン (FG-NUPs)

アミノ酸の一種であるフェニルアラニンとグリシンの繰り返し配列を持つ核膜孔複合体構成タンパク質。

### ※3 液-液相分離 (LLPS)

二つの液体が混ざらずに互いに排除しあい、二相に分離する状態。細胞内にはタンパク質や核酸が局所的に凝集した液滴が多数存在し、これらは液-液相分離 (LLPS) 環境にある。核内への分子輸送ルートである NPC 内部は、バイオフィラメントの密集により「NPC 内部」と「それ以外」を隔てる LLPS 環境にある。この LLPS による条件的相分離により、さまざまな物質が核内へ自由拡散するのを防いでいる。

#### ※4 高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM)

探針と試料の間に働く原子間力を基に分子の形状をナノメートル ( $10^{-9}$  m) 程度の高い空間分解能で可視化する顕微鏡。HS-AFM は、金沢大学ナノ生命科学研究所の安藤敏夫特任教授の研究グループによって開発された超高速で観察できる AFM で、サブ秒 (~0.1 秒) という時間分解能でタンパク質などの生体分子の形状や動態を観察することができる。

#### ※5 オルガノイド技術

未分化細胞や前駆細胞を三次元的に培養することにより、物理的・生理学的に臓器や組織の特徴を持つ細胞集団を作製する技術のこと。オルガノイドはさまざまな疾患や薬物効果の研究に用いられる。

#### ※6 転写因子

DNA に結合し、DNA 情報を活性化する分子の一つ。

#### ※7 トランス-1,2-シクロヘキサンジオール

液-液相分離環境の形成に関わる分子間相互作用を阻害する薬剤。本薬剤により、NPC 中央部に存在するバイオフィラメント相互作用が低下し、NPC の選択的分子輸送機能は破綻する。

---

### 【本件に関するお問い合わせ先】

#### ■研究内容に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所／新学術創成研究機構 教授  
リチャード・ウォング (Richard Wong)  
TEL : 076-264-6250  
E-mail : [rwong@staff.kanazawa-u.ac.jp](mailto:rwong@staff.kanazawa-u.ac.jp)

#### ■広報担当

金沢大学総務部広報室  
上沼 孝平 (かみぬま たかひら)  
TEL : 076-264-5024  
E-mail : [koho@adm.kanazawa-u.ac.jp](mailto:koho@adm.kanazawa-u.ac.jp)

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室  
米田 洋恵 (よねだ ひろえ)  
TEL : 076-234-4556  
E-mail : [nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp](mailto:nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp)