

Journal Club (2023 年 6 月 12 日) まとめ

担当: 麻生 啓文

発表論文:

Susanne C. M. Reinhardt, Luciano A. Masullo, Isabelle Baudrexel, Philipp R. Steen, Rafal Kowalewski, Alexandra S. Eklund, Sebastian Strauss, Eduard M. Unterauer, Thomas Schlichthaerle, Maximilian T. Strauss, Christian Klein & Ralf Jungmann

Ångström-resolution fluorescence microscopy

Nature. 2023 May 24; 617: 711-716

doi: 10.1038/s41586-023-05925-9

研究目的および概要:

高解像度の蛍光顕微鏡は、生命システムを解析するのに有用である。特に、従来の蛍光顕微鏡の解像度を超える超解像顕微鏡技術が発展し、その解像度は 5 nm を達成していた。しかし、生体分子メカニズムの解析において、その解像度はまだ不十分である。そこで本研究では、RESI (resolution enhancement by sequential imaging) を開発し、1 nm 以下、つまり Å (Ångström) 単位の解像度を達成した。

Exchange-PAINT という DNA 標識技術を用いて標識した検体を、超解像顕微鏡 SMLM で繰り返し撮影した。その画像データの解析において、従来の手法では 1 箇所からのデータ (localization) から 1 点を導出していた。しかし、RESI を用いた解析では複数箇所からのデータ (K localizations) を用いて解析する。その結果、画像の精度、つまり解像度を Å 単位まで改善できることを示した (図 1)。

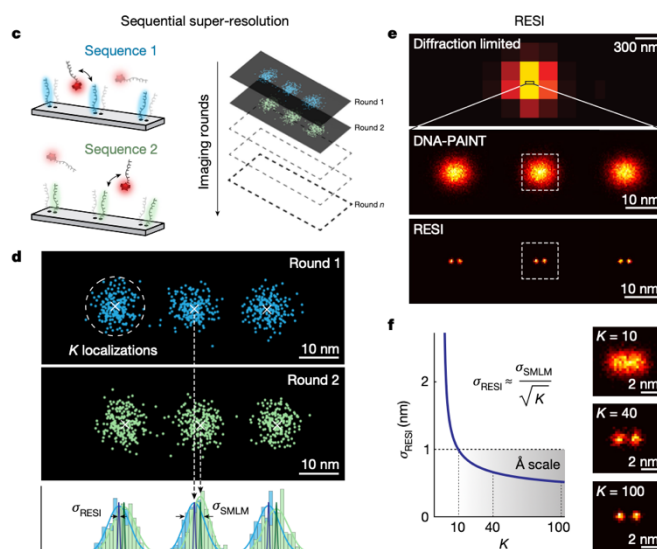


図 1

RESI の解像度を確認するために、1 塩基対の距離だけ離れた 1 本鎖 DNA を DNA origami によって作製し、それらを別の点として識別できるかを確認した。その結果、従来の手法では 1 点として認識してしまうそれらの 2 本の 1 本鎖 DNA を、RESI では異なるものとして識別できることを実証した (図 2)。

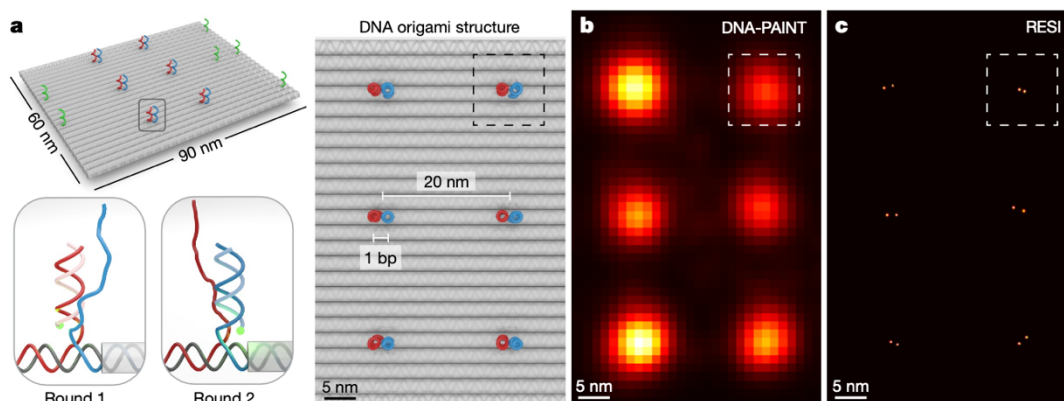


図 2

先行研究と比べて何がすごい？ 技術やアプローチのキモはどこ？：

- 蛍光顕微鏡で Å 単位の解像度を達成したことが、この研究の素晴らしい点である。キモとなる技術は既存の、しかし最先端の顕微鏡技術 (SMLM) とナノテクノロジー (Exchange-PAINT) を組み合わせた画像取得パイプラインであり、キモとなるアプローチはその画像を掛け合わせることで解像度が改善されるという RESI のアイデアを考案したことである。

どうやってこの手法/仮説の有効性を検証したのか：

- 本手法 (RESI) を提案後に、1) 核膜孔複合体 (NPC) を構成するタンパク質の一つである Nup96 の位置を Cryo-EM と同程度の精度で検出できること、2) DNA origami によって作り出した 1 塩基対の距離に位置する 2 本の 1 本鎖 DNA を識別できることの計 2 点を実証することで、本手法の解像度が Å 単位の達成していることを示した。

その他、議論した内容 (ネガティブコメントや limitation もあれば)：

- 生命科学における新規のテクノロジーを生み出したことを報告する論文であり、その技術の適用範囲は広大である。また、さまざまな研究領域で生み出された技術や理論を取り入れられている大変学際的な研究である。これらの理由から、本研究は Nature 誌に相応しい研究と言える。
- 本研究はあくまで技術開発の論文であり、それをどのような目的で使用するかはユーザーが考えることである。
- Fig. 4 にて、リツキシマブが結合した CD20 分子が 2 量体として存在していることを示しているが、その画像取得のための実験条件にポジコン、ネガコンがなく、本当に CD20 を検出できているのか疑念が残る。

この研究をさらに発展させるとしたら：

- 空間的な情報の改善は概ね限界を迎えつつあるように見えるので、解像度を維持しつつ時系列データを取得できるような手法の開発が望まれる。