



細胞膜を可視化する新規蛍光プローブの最前線

仁子陽輔 Yosuke NIKO

蛍光イメージングは、生体由来試料(細胞、組織など)内の構造や機能を低侵襲的かつ高い時空間分解能で観察できる手法である。一方、その観察性能は顕微鏡性能のみならず、蛍光プローブの特性(標的選択性、輝度、耐光性、励起・蛍光波長など)に強く依存する。そのため、多様な発色団が開発された現在においても、高性能な蛍光プローブの創出は我々化学者が担う重要な研究課題となっている。本稿では、近年大きな進展を遂げている細胞膜標的プローブ(以下、細胞膜プローブ)に焦点を当て、その重要性と動向について紹介する。

はじめに

細胞膜は細胞の内外を隔てる単なる壁ではなく、シグナル伝達や膜輸送、免疫応答など基本的な細胞機能が生じる場である。20世紀末に、K. SimonsとE. Ikonenらは、細胞膜におけるコレステロールとスフィンゴ脂質に富む動的な膜ドメインの存在と、そこへの膜タンパク質の集積によって細胞機能が制御されるとする「ラフト仮説」を提唱した¹⁾。以降、膜ドメインの動態や分布、さらには細胞膜の微細な形態変化を可視化するためのツールが要求されるようになり、細胞膜プローブ開発が活発に進められてきた²⁾。近年では、AIを用いた画像解析の進展により、細胞形態情報と細胞機能(幹細胞分化状態、がん細胞の転移能や薬剤耐性など)との相関を理解しようとする試みも進んでおり³⁾、細胞形態を高精度に描出する細胞膜プローブへの関心は一層高まっている。本稿では、その最先端にあたるプローブ群について紹介したい。

低分子型細胞膜プローブの構造

古典的な細胞膜プローブとして、蛍光標識レクチン(小麦胚芽凝集素(WGA)、コンカナバリンA)が知ら

にこ・ようすけ

高知大学教育研究部総合科学系複合領域科学部門准教授

〔経歴〕2015年東京工業大学大学院理工学研究科博士課程修了、博士(工学)。同年日本学術振興会海外特別研究員(ストラスブール大学)、16年より現職。JST A-STEP本格型「普及型コンパクト多光子顕微鏡ユニットの開発」プロジェクトの研究者代表。〔専門〕有機化学、光化学、蛍光イメージング。〔趣味〕Wリーグ観戦。



れている。しかし、これらは分子サイズが大きく、細胞膜上の糖鎖と多価的に相互作用するため、細胞膜動態や微細構造の解析には必ずしも適していない。

そこで近年では、低分子蛍光色素にアンカー分子を導入した細胞膜プローブが多数開発されている^{2,4)}。この分野を先導しているのが、KlymchenkoおよびMelyらのグループである。同グループは、2007年に長鎖アルキル基と双性イオンからなるアンカー分子を設計し、高い細胞膜標的性を示すプローブF2N12Sを報告した(図1)⁵⁾。アルキル基は脂質膜中の疎水部と、双性イオン部位は親水部ヘッドグループとの相互作用することで、細胞膜への高い親和性を実現している。同グループはこれ以前から様々なプローブを開発しているが²⁾、本アンカーの登場が細胞膜プローブの開発を加速させたと言ってよい。

このような双性イオン型アンカー分子とシアニン系色素を連結することで、高輝度・高耐光性な細胞膜プ

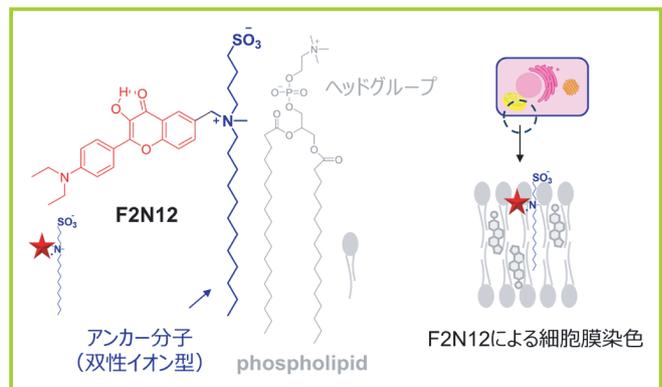


図1 双性イオン型アンカー分子を有する細胞膜プローブF2N12

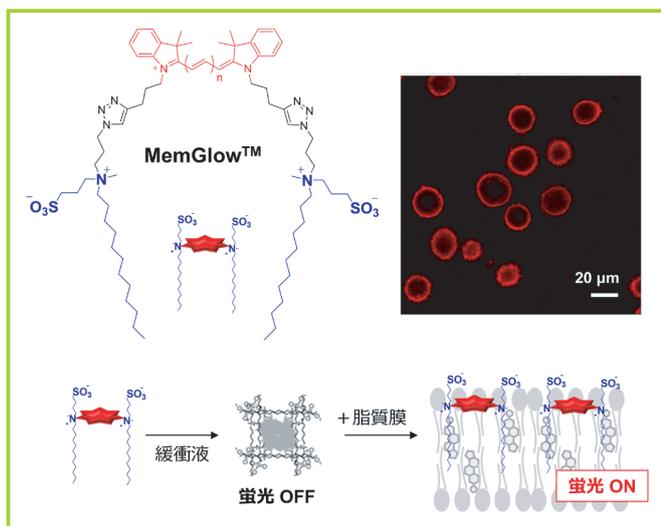


図2 (上段) MemGlow™ シリーズの構造とその培養細胞 (ヒト前立腺がん細胞, caki-1) イメージングへの利用例; (下段) MemGlow™ シリーズの蛍光 OFF-ON 機構

ローブ群 (MemGlow™ シリーズ) が開発された (図2)⁶⁾。これらは両親媒性構造を有するため、水中で凝集体を形成して非発光性となる一方、脂質膜存在下で凝集が解消され強く発光する。この蛍光 OFF-ON 特性により、洗浄操作を必要としないウォッシュフリー染色が可能であり、超解像イメージングへの応用も報告されている。さらに、アンカー分子の双性イオン部分をアニオン性基に置換することで水中分散性を向上させたプローブも開発され、生体イメージングへの応用も進んでいる^{7,8)}。

しかし、これらのプローブには、生きた細胞の細胞膜を長時間観察することが難しいという課題がある。培養細胞観察では、血清成分へのプローブ吸着を避けるため無血清条件が用いられるが、その場合、細胞は短時間で飢餓状態に陥ってしまうのである。

最新の低分子型細胞膜プローブ

Klymchenko らは最近、上記の課題を克服する最新型の細胞膜プローブ MemGraft を報告している⁹⁾。本プローブは、短鎖のアルキル基を有するアンカー分子と活性エステルをシアニン色素に導入した構造をもつ (図3)。アルキル基の短鎖化により膜表面への緩やかな吸着が起これ、続いて活性エステルが膜タンパク質中のアミンと結合することで、安定な膜標識が実現される。ポリメチン鎖長を変えることで蛍光色も制御できる。このプローブを用いると、血清を含む培地中でも数時間にわたり細胞膜を明瞭に観察でき、しかも (共焦点顕微鏡イメージングで用いられる濃度範囲で

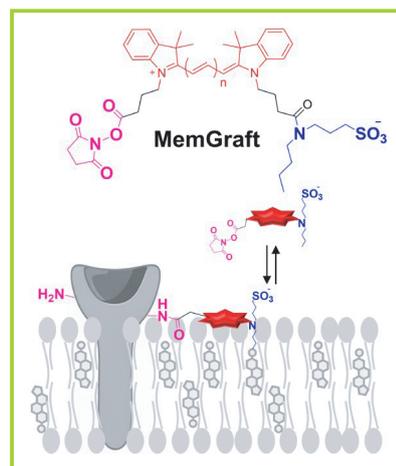


図3 MemGraft の構造と細胞膜染色機構

は) 細胞毒性も低い。また、膜タンパク質と共有結合しているためプローブの細胞間移動が抑制され、異なる蛍光色で染色した細胞との共培養観察や、疑似カラー表現による細胞識別 (cell barcoding) も可能である。

おわりに

本稿で紹介したように、細胞膜プローブは比較的シンプルな有機化学的発想にて設計されているものの、これらが生命科学分野にもたらす波及効果は非常に大きい。今回は割愛したが、Nile Red のような環境応答性色素にアンカー分子を導入することで、細胞膜の秩序性評価を可能としたプローブも多数報告されている²⁾。なお、これら細胞膜プローブは、細胞外小胞の染色にも利用できることが知られている¹⁰⁾。今後、生体応用をはじめとしたさらなる広がりを期待したい。

- 1) K. Simons, E. Ikonen, *Nature* **1997**, 387, 569.
- 2) A. S. Klymchenko, R. Kreder, *Chem. Biol.* **2014**, 21, 97.
- 3) A. Prasad, E. Alizadeh, *Trends Biotechnol.* **2019**, 37, 347.
- 4) A. S. Klymchenko, *Acc. Chem. Res.* **2023**, 56, 1.
- 5) V. V. Shynkar, A. S. Klymchenko, C. Kunzelmann, G. Duportail, C. D. Muller, A. P. Demchenko, J.-M. Freyssinet, Y. Mely, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 2187.
- 6) M. Collot, P. Ashokkumar, H. Anton, E. Boutant, O. Faklaris, T. Galli, Y. Mely, L. Danglot, A. S. Klymchenko, *Cell. Chem. Biol.* **2019**, 26, 600.
- 7) D. I. Danylchuk, I. Khalin, Y. V. Suseela, S. Filser, N. Plesnila, A. S. Klymchenko, *Anal. Chem.* **2025**, 97, 8268.
- 8) T. Uemura, R. Kawakami, H. Seki, S. Yoshida, M. Murakami, T. Imamura, S. Hadano, S. Watanabe, Y. Niko, *Chem. Sci.* **2025**, 16, 13368.
- 9) N. Aknine, R. Pelletier, A. S. Klymchenko, *JACS Au* **2025**, 5, 922.
- 10) V. Hyenne, S. Ghoroghi, M. Collot, J. Bons, G. Follain, S. Harlepp, B. Mary, J. Bauer, L. Mercier, I. Busnelli, O. Lefebvre, N. Fekonja, M. J. Garcia-Leon, P. Machado, F. Delalande, A. Amor López, S. Garcia Silva, F. J. Verweij, G. van Niel, F. Djouad, H. Peinado, C. Carapito, A. S. Klymchenko, J. G. Goetz, *Dev. Cell.* **2019**, 48, 554.

© 2026 The Chemical Society of Japan