

【基盤研究(S)】

総合・新領域系 (複合新領域)



研究課題名 多点時空間相関解析法による細胞内分子複合体研究

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・教授 きんじょう まさたか
金城 政孝

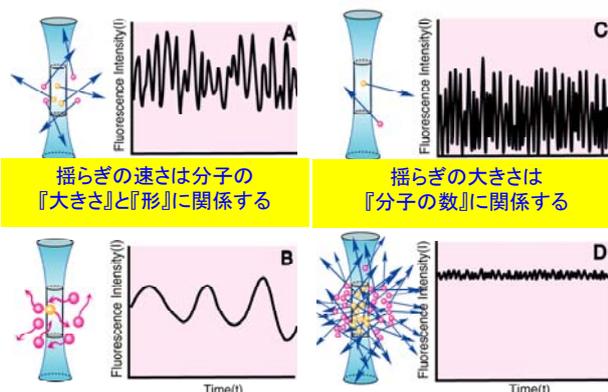
研究分野：複合新領域

キーワード：1分子科学

【研究の背景・目的】

蛍光相関分光法 (fluorescence correlation spectroscopy, FCS) はフェムトリットル (10^{-15} L) 程度の極微小な観察領域における分子の動きに由来する蛍光強度のゆらぎから、分子の大きさや形、ならびに分子数を解析し、それに基づいたダイナミックな分子間相互作用を単一分子レベルで解析可能な手法である (下図)。

揺らぎから引き出す分子の情報



しかし、FCS 測定を生細胞へ応用する場合の基本的な問題点として、細胞内の特定の1点でしか測定出来ないことが挙げられる。それを解決するため、申請者らは全反射光学系を利用した多点同時蛍光相関分光装置の試作と、細胞膜表面におけるタンパク質の動態・相互作用の解析を行ってきた。これまで細胞局所における生体膜の流動性の違いや、膜タンパク質の拡散などを明らかにし、生体膜表面におけるタンパク質の動態解析に非常に有効であることを示してきた。しかし、全反射光学系を利用している以上、測定はガラス界面すなわち、細胞膜上に限られてしまう。そこで申請者は、細胞機能を普遍的かつ1分子レベルで解析するために3次元多点同時測定 FCS の構築を行い、細胞内の任意の場所における分子複合体の形成・タンパク質相互作用解析が可能なシステムの構築を目指す。

【研究の方法】

本申請では、多点同時蛍光相関装置 (MP-FCS) の試作と、それを利用した生細胞内での分子間相互作用の解析を目的とする。MP-FCS 装置の光学系として空間光変調素子によるホログラム回折を

利用したレーザー光源の分岐、および検出系としての共焦点光学系の構築を行う。さらに検出装置の高度化を平行して行い、2色の蛍光色素を利用する FCCS (fluorescence cross-correlation spectroscopy) の構築を合わせて推進し、相互作用の検出効率を上げることを目指す。また、研究対象とする細胞内分子間相互作用はこれまで申請者らが研究を進めてきた核内転写因子の一つであるグルココルチコイドレセプターなどの細胞質-核間移行タンパク質を主とするが、これに縛られることなく広く対象とする。

【期待される成果と意義】

細胞生物学の分野では、先端的顕微鏡法の発展とともに細胞内の複雑な状況を可視化し、タンパク質の機能を探ることが、ますます重要で有効な方法と認識されるようになってきた。本研究の成果はこれまでの静的なイメージングの手法に加えて、分子の動きというダイナミックな情報を利用した細胞動態1分子イメージングシステムの構築につながり、1分子生体情報学の新たな進展が期待できる。さらに、単一細胞研究だけではなく、多細胞研究に応用することにより、細胞間情報伝達解析などへの応用展開も期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Yu Ohsugi, Kenta Saito, Mamoru Tamura and Masataka Kinjo
Lateral mobility of membrane-binding proteins in living cells measured by total internal reflection fluorescence correlation spectroscopy. *Biophys. J.* 91, 3456–3464 (2006)
- Yu Ohsugi and Masataka Kinjo.
Multipoint fluorescence correlation spectroscopy with total internal reflection fluorescence microscope. *J. Biomedical Optics* 14(1), 0140301-0140304, (2008)

【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

135,900千円

ホームページ等

<http://www.lfsci.hokudai.ac.jp/labs/infmcd/index.html>