

【基盤研究(S)】

総合系（複合領域）



研究課題名 進化工学を利用した蛍光プローブの開発研究

埼玉大学・大学院理工学研究科・教授

なかい じゅんいち
中井 淳一

研究課題番号：15H05723 研究者番号：80237198

研究分野：複合領域

キーワード：脳機能プローブ

【研究の背景・目的】

2008年にノーベル化学賞を受賞した下村博士が発見した緑色蛍光タンパク（GFP）がクローン化されてから、蛍光タンパク質およびそれを応用した可視化技術は生物、医学分野で非常に重要な技術となっている。我々はGFPをもとに蛍光Ca²⁺プローブG-CaMPを開発してきた(図1, Nakaiら Nat Biotechnol 2001)。また最近では赤色蛍光カルシウムプローブ(R-CaMP)も開発している(Inoueら Nat Methods 2015)。これらのプローブは線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウス、等多くのモデル生物で利用され、神経細胞の活動のモニターや、再生医療の基礎研究でも分化した細胞の活動のモニターに応用されている(Roellら Nature 450, 816, 2007)。一方、ペプチドアプタマーは特定の分子と特異的に結合するペプチドで、通常ランダム配列の巨大なライブラリー中から選び出してくる。アプタマーは近年、分子認識が可能な生体物質として、生物工学的応用、薬剤への応用が検討されている分子である。本研究ではG-CaMPの蛍光リポーター部分を用い、分子認識部分にペプチドアプタマーを結合させ、種々の分子を認識できる蛍光プローブを迅速に作成する技術を開発する。

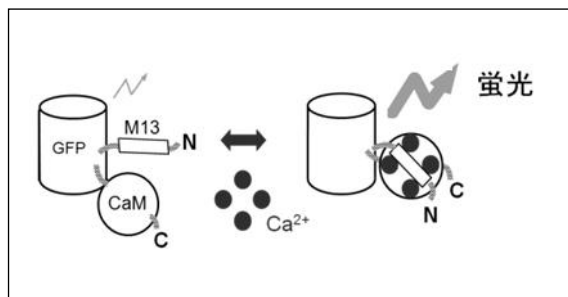


図1 G-CaMP

【研究の方法】

本研究では(1)機能的アプタマーを用いた蛍光プローブ開発、(2)ランダム配列を持つアプタマーを用いた蛍光プローブ開発、および(3)高速スクリーニング法の確立、の3つの研究を行う。

G-CaMPのリポーター部分にすでに基質に結合することが確かめられている機能的アプタマーや、ランダム配列を持つアプタマーを結合させ、高速スクリーニング法により基質と結合する蛍光プローブを

スクリーニングする(図2)。

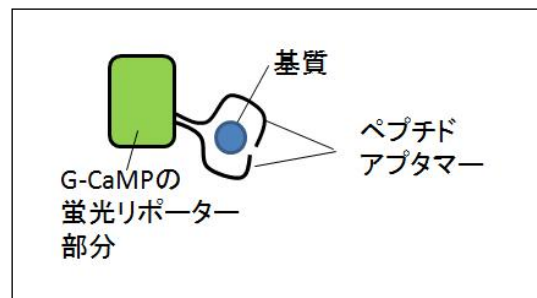


図2 新規プローブ

【期待される成果と意義】

可視化技術は生物学、医学、薬学においてますます必要とされている重要な技術である。本研究は蛍光プローブの革新的開発手法に関するものであり、新たに開発する方法論では、蛍光プローブの作成でペプチドアプタマーを用いることにより、これまでより短時間に高性能な蛍光プローブが開発できるようになる。また、本研究で開発が見込める高性能な蛍光プローブを生物学、基礎医学、疾患の原因解明、創薬、疾患バイオマーカー等の検査薬、医薬品に利用することにより人類社会に貢献できると期待される。可視化技術は日本が得意としている分野であり、日本の優位性を維持し、またさらに高めることができる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nakai J, Ohkura M, Imoto K: A high signal-to-noise Ca²⁺ probe composed of a single green fluorescent protein. Nat Biotechnol 19, 137-141, 2001.
- Inoue M, Takeuchi A et al: Rational design of a novel high-affinity, ultrafast, red calcium indicator R-CaMP2. Nat Methods 12, 64-70, 2015.

【研究期間と研究経費】

平成27年度-31年度 154,500千円

【ホームページ等】

<http://subsi.saitama-u.ac.jp/>
jnakai@mail.saitama-u.ac.jp