



研究課題名 タンパク質化学に立脚した革新的生細胞内分子分析法の創製

東京大学・大学院理学系研究科・教授

おざわ たけあき
小澤 岳昌

研究分野：理工系・化学・複合化学・分析化学

キーワード：生体分析

【研究の背景・目的】

生命の素過程を化学的視点から理解する試みは、科学全体の発展の為に極めて重要な課題である。この課題に挑むため、生命現象に学習した新しい化学的基盤技術の創出が強く求められている。我々は独自に初めて見出した現象—プロテインスプライシング反応による緑色蛍光タンパク質 (GFP) の再構成—の発見に端緒をなし、生細胞内で分子の素過程を可視化するプローブ開発を展開してきた。本研究では、タンパク質再構成法をさらに発展させ、生細胞中の分子素過程を解明する新たな基盤技術の開発を目的とする。具体的には、

- 1) 生きた細胞内の生体分子の機能を可視化する分子プローブ
- 2) 細胞内シグナル伝達に関与する新規分子種同定法
- 3) 生体分子の機能を時空間制御する機能性分子材料

の開発を目指す。タンパク質化学に関する知見を元に、分子科学と遺伝子工学の最先端技術を利用して、革新的生体分子分析法を創出する。

【研究の方法】

タンパク質再構成法の基盤技術(図1)を展開し、3分子間タンパク質相互作用、脂質、Gタンパク質をターゲットとした可視化プローブを開発する。タンパク質の立体構造と機能に関する情報に基づき合理的な設計を行う。遺伝子工学手法ならびに合成化学を利用して、作製する分子の機能評価を、試験管内および細胞内で行う。さらにランダムなアミノ酸の変異導入・削除・挿入を行う「分子進化法」を取り入れ、タンパク質ライブラリーから

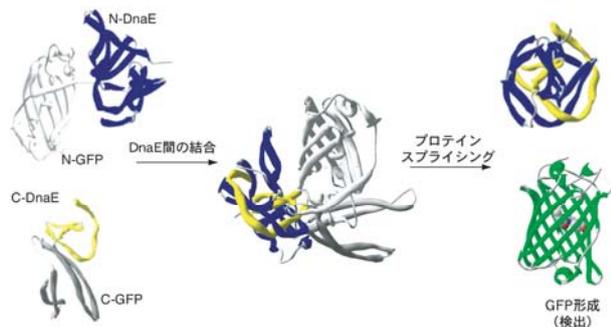


図1. プロテインスプライシング反応による蛍光タンパク質 (GFP) の形成。N末とC末のGFP (N-GFP (薄灰)、C-GFP (濃灰)) にスプライシングを起こすタンパク質N-DnaE (青)、C-DnaE (黄) を連結する。連結したタンパク質を細胞内で発現するとDnaE間で相互作用しスプライシング反応が起こる。その結果、N-GFPとC-GFPが組み替わって蛍光性のGFP (緑) が形成される。

目的の機能性分子をスクリーニングする。新規分子種同定法では、生理活性物質のスクリーニング法を開発し、遺伝子ライブラリーとケミカルライブラリーから、開発する機能性分子を用いて、目的とする機能性分子を探索する。光制御分子の開発では、光受容タンパク質と機能性分子の融合タンパク質を作製し、生細胞内で酵素活性やRNAの機能を光制御する分子プローブを創出する。

【期待される成果と意義】

本研究は、個々の分子反応の素過程を探究する分子科学と、要素還元的に現象の解明を試みる生命科学との中核に位置し、分野横断的な研究領域を開拓する分析法の創出を目的としている。GFPの発見やその開発に高い評価が与えられたように、蛍光や発光を利用した独自の生体分析技術を開拓し、この分野を先導し、そして世界を牽引する意義は極めて大きい。また本研究は、精度・感度・スループット性能の優れた、機能性分子の開発を目指しており、基礎生命科学研究の発展のみならず、創薬や医療のための解析ツール、化学汚染物質のスクリーニング、環境モニタリングなど社会にも大きく貢献することが期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- “Imaging Dynamics of Endogenous Mitochondrial RNA in Single Living Cells”, T. Ozawa, Y. Natori, M. Sato and Y. Umezawa, *Nature Methods*, **4**, 413-419 (2007).
- “A genetic Approach to Identifying Mitochondrial Proteins”, T. Ozawa, Y. Sako, M. Sato, T. Kitamura, and Y. Umezawa, *Nature Biotechnol.*, **21**, 287-293 (2003).

【研究期間と研究経費】

平成21年度—25年度

82,100千円

ホームページ等

<http://www.chem.s.u-tokyo.ac.jp/users/analyt/index.html>

ozawa@chem.s.u-tokyo.ac.jp