

課題番号	LS032
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	先端的光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・講師
氏名	高橋 倫子

1. 当該年度の研究目的

分泌への関与が示唆される中核分子の動態や構造変化を定量計測できるよう、蛍光標識プローブを多数作製し、観察のための準備を整える。

2. 研究の実施状況

インスリン分泌や神経伝達物質の放出に関連する中核分子の蛍光標識を多数施行した。

生きた標本において、分子の動きや構造変化を実時間でとらえるために、関心分子を遺伝子工学的に特異的に蛍光で標識する手法が使われている。本年度は、近年論文報告された新規色素分子の活用も積極的にはかり、膜融合に関連する SNARE 蛋白の標識を試みた。

- ・細胞膜側に発現する SNAP25 に二種類の蛍光色素を融合させた蛍光プローブを構築した。FRET (蛍光エネルギー共鳴移動) を起こす組み合わせと、起こさない組み合わせの二種類で、多種作製した。膵島や神経単離培養標本・スライス標本に発現させて、2光子顕微鏡で蛍光比分布を調査した。また、株化細胞にも遺伝子導入して蛋白合成・抽出を行い、in vitro での蛍光波長特性も計測した。
- ・同じく細胞膜側に発現する Syntaxin の蛍光標識にも複数挑戦し、細胞膜選択的な発現に成功した。一部には光活性化蛍光色素を用いており、拡散の評価に用いる準備が完了した。
- ・分泌顆粒膜側に発現する VAMP2 の蛍光標識も行った。顆粒外に分子間 FRET を起こしうる色素、顆粒内に別途独立に検出できる色素を融合させた。
- ・既存の SNAP25 分子内 FRET プローブのシグナルノイズ比を改善するために、色素の配置角度を変更させたプローブを複数種類作製した。神経細胞に発現させ、神経終末における蛍光比を測定し、変化幅の大きいプローブの同定を試みた。
- ・ウィルスベクター作製系の立ち上げを、共同研究者の助力により達成し、膵島のような初代培養標本に遺伝子導入する準備が整った。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件
会議発表 計1件	専門家向け 計1件 高橋倫子、インスリン分泌を起こす蛋白の構造変化、山の上ホテル(東京都千代田区)、2011年2月23日、第14回東京インスリン分泌研究会、世話人の一員として出席・発表 一般向け 計0件
図書 計1件	高橋倫子、門脇孝、臨床検査ガイド 2011-2012、Medical Practice 編集委員会、2011年、1082頁
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/
国民との科学・技術対話の実施状況	該当なし
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	該当なし
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	72,000,000	0	34,070,000	37,930,000
間接経費	21,600,000	0	10,221,000	11,379,000
合計	93,600,000	0	44,291,000	49,309,000

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	34,070,000	0	34,070,000	8,074,970	25,995,030
間接経費	0	10,221,000	0	10,221,000	0	10,221,000
合計	0	44,291,000	0	44,291,000	8,074,970	36,216,030

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	4,040,870	レーザー導入ユニット、コンピュータ等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	4,034,100	顕微鏡用レーザー修理
直接経費計	8,074,970	
間接経費計	0	
合計	8,074,970	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
レーザー導入ユ ニット	Sシステム	1	2,410,800	2,410,800	2011/3/25	東京大学
パーソナルコン ピュータ	OLMFV870S M	1	525,000	525,000	2011/3/7	東京大学
				0		