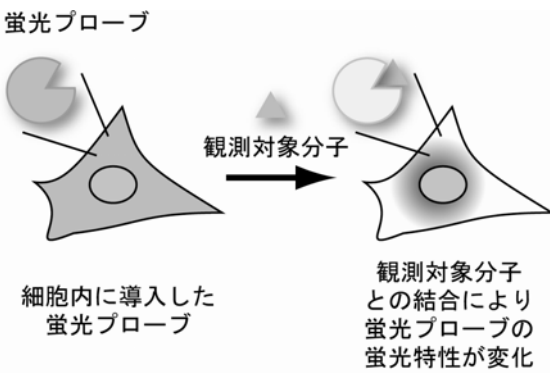


ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体機能関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体機能関連化学
中項目	1-2. ケミカルバイオロジー
小項目	1-2-2. 分子プローブ

<p>概要（200字以内）</p> <p>近年、蛍光プローブの発達により、生きた細胞内におけるシグナル伝達分子の動態をリアルタイムでイメージすることが可能になった。現在まで様々な蛍光プローブが開発されており、観測対象分子との結合特性や細胞内への導入法が蛍光プローブにより大きく異なる。今後、シグナル伝達経路の全貌解明に向けて、数多く存在するシグナル伝達分子のそれぞれをより特異的・選択的に高感度検出する技術開発が期待される。</p>	 <p style="text-align: center;">細胞内蛍光プローブによるシグナル伝達分子イメージングの模式図</p>
<p>現状と最前線</p>	
<p>近年、蛍光分子プローブを用いたバイオイメージングによって、細胞内のシグナル伝達が解き明かされつつある。蛍光プローブとは、観測対象分子と特異的に結合することで、その蛍光特性が大きく変化する分子である。現在までに、有機合成的に合成した蛍光性低分子プローブやGFPなどの蛍光性蛋白質を利用する方法、リセプター蛋白質に蛍光修飾する方法などの様々な手法を用いて蛍光プローブが開発されている。しかし、観測対象分子に対する選択性・特異性の精度が低いことや、蛍光プローブを細胞内に導入する方法などの問題が山積していることから、細胞内で可視化可能な生体分子の数は限られており、シグナル伝達物質間の動態を網羅的に解明することが困難であるのが現状である。これらの問題を解決するために、現在細胞内分子イメージングを指向した研究が活発に行われており、以下にその数例を紹介する。</p> <p>蛍光性バイオセンサーの構築において、観測対象分子に対する選択性・特異性は極めて重要な要素の一つである。このため細胞内イメージングに使用される蛍光プローブとして、蛍光性バイオセンサーの土台に天然のリセプター蛋白質を利用する手法が最適な手法の一つであると考えられている。天然のリセプター蛋白質は、基質に対して極めて高い親和性・特異性を保持しているため、バイオセンサーの土台に最適である。リセプター蛋白質と基質との三次元構造情報が得られている場合、その構造情報を基に基質結合部位近隣に蛍光分子を部位特異的に修飾することにより、リセプター蛋白質を蛍光センサー化することが可能になっている。この</p>	

概念を利用して、PLC δ PH ドメインと呼ばれるタンパク質を土台に IP₃ センサーの開発に成功している¹⁾。また基質結合により大きな構造変化を引き起こす場合、蛍光性蛋白質 YFP・CFP 間の蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 効率の変化を利用してセンサー化することができる。この手法を応用して、東京大学の梅澤らが、二次情報伝達物質や多くの細胞内情報伝達に共通する蛋白質リン酸化、蛋白質間相互作用、cGMP 等のセカンドメッセンジャーなどを単一細胞レベルで可視化できる蛍光プローブ分子の開発に成功している²⁾。

Fura2 に代表されるカルシウムセンサーなどの蛍光性低分子プローブは、その使用の簡便さから蛍光プローブの開発において期待されている技術の一つである。特筆すべき例として、フルオレセインなどの長波長光で励起可能な蛍光団であっても、それらの蛍光特性は光誘起電子移動 (PeT) をキーステップとすることで論理的に制御可能であることがあげられる。この知見に基づき、現在までに一重項酸素検出蛍光プローブや高感度 NO プローブなど種々の新規機能を有する蛍光プローブの開発に成功している³⁾。また、金属錯体を利用した蛋白質のリン酸化を検出するプローブも開発されている。この蛍光プローブはジピコリルアミンをリガンドとして有する二核亜鉛錯体であり、亜鉛-リン酸アニオン間の配位化学を利用して水中においてリン酸アニオン種と強く相互作用する。また二核錯体に蛍光性分子を導入することにより、リン酸アニオンの認識を蛍光変化により簡便に検出することに成功している。

in vitro セレクション法を利用した網羅的な蛍光性センサー作製法が報告されている。RRE RNA と Rev ペプチドの複合体を基本骨格とし、RNA にランダムな塩基配列を導入することによりリボヌクレオペプチド複合体 (RNP) ライブラリーを構築し、in vitro セレクション法を適用することで基質結合性 RNP リセプターを作製後、ペプチドサブユニットに蛍光分子を標識することにより、基質分子の結合に伴い蛍光強度が変化する RNP センサーの開発に成功している。この手法は、様々な親和性・選択性・蛍光特性を有するバイオセンサーが一度に得られる点において優れた手法であると考えられる。

また、有機分子をもとにした、遺伝子中の一塩基変異を検出する分子プローブも開発されており、ハンチントン病発症の原因遺伝子である (CAG)_n トリヌクレオチドリピートを検出する分子として期待される。

(1) K. Sugimoto, R. Sakaguchi, Y. Mori and T. Morii, *Recent Res. Devel. Chem*, **2004**, 2, 73. (2) 佐藤守俊, 梅澤喜夫, *現代化学*, **2002**, 377, 48. (3) 浦野泰照, 長野哲雄, *現代化学*, **2002**, 381, 44.

将来予測と方向性

・ 5年後までに解決・実現が望まれる課題

蛍光プローブの基質に対する選択性の向上

・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題

細胞内で使用可能な蛍光プローブの種類増加

キーワード

バイオセンサー、蛍光プローブ、細胞内イメージング、シグナル伝達経路

(執筆: 森井 孝)