

ディビジョン番号	10
ディビジョン名	分析化学

大項目	1. 分析化学
中項目	1-17. バイオ分析
小項目	1-17-2. 細胞情報の動態分析

概要（200字以内）

生きた細胞の中での生体分子の動態を高い時空間分解能で可視化する技術の開発が進んでいる。Fura-2などの合成有機分子に加えて、遺伝子工学的アプローチにもとづいて多くのプローブが開発されている。Readout に関しても、蛍光のみならず生物発光, MRI など多様化が進んでいる。将来の新しい薬物スクリーニングシステムの構築や in vivo での可視化計測技術としての発展が期待される。

図1 生きた細胞内の分子過程の可視化計測

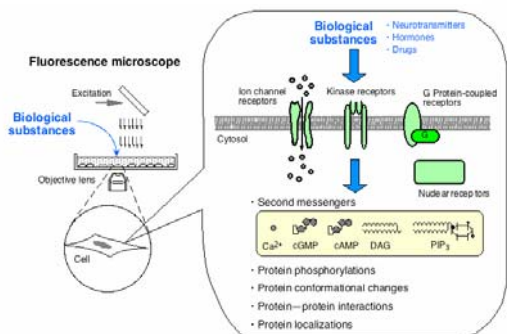
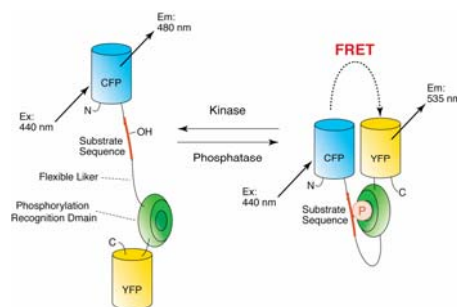


図2 蛋白質リン酸化を可視化計測する蛍光プローブ



現状と最前線

カルシウムと結合して蛍光波長を変化させる Fura-2 は 1985 年に開発された合成有機蛍光プローブであり、一つ一つの生きた細胞内におけるカルシウムの複雑な動態を見事に可視化して、我々の生命に対する理解を一変させた。この研究により、数十万個の細胞をすりつぶして生体イオンや脂質、蛋白質などの構成成分を抽出し、それを電気泳動やクロマトグラフィで分析する、いわゆる従来の破壊分析法だけでは生命を理解できないことを我々に実感させた。カルシウムに加えて、ナトリウム、マグネシウム、一酸化窒素など、比較的単純な構造のイオン・小分子を対象として、合成有機蛍光プローブが現在までに開発され、それらを生きた細胞内での当該イオン・分子の可視化計測に利用できることが示されている。

一方で、蛍光プローブの開発において重要な「分析対象の分子認識」という点において、合成有機分子のアプローチには限界があるということが従来より指摘されている。細胞機能において重要な役割を果たす蛋白質、脂質などは、合成有機分子のアプローチで特異的に分子認識するには余りに複雑なのである。近年、蛋白質ドメインを分子認識素子として活用し、遺伝子

工学的アプローチに基づき、セカンドメッセンジャーと呼ばれるカルシウム、一酸化窒素、環状核酸や脂質などの生体イオン・小分子、RNA、あるいは蛋白質リン酸化、GTP 結合蛋白質の活性化、蛋白質相互作用、蛋白質のオルガネラへの移行・局在化など、細胞内の種々の分子過程をそれぞれ可視化計測する蛍光プローブが開発されている。このように遺伝子工学的手法に基づいて開発された蛍光プローブは、従来の破壊分析法が明らかに出来なかった細胞内の分子過程の時空間動態を次々と明らかにしている。

プローブの readout に関しては、蛍光のみならず、ルシフェラーゼを用いた生物発光プローブや、ガドリニウム錯体を用いた MRI プローブについても開発が始まっている。現在までの蛍光プローブは、主に細胞の可視化計測に用いられているのに対して、生物発光や MRI プローブは、透明でないサンプルであるマウスなど、特に生体深部での *in vivo* 可視化計測のためのツールとして期待されている。ただし、蛍光プローブにおいても、近年の蛍光蛋白質の多色化を背景として、長波長の蛍光スペクトルを有するプローブを開発し、生物発光や MRI プローブと同様に、それらを *in vivo* 可視化計測に用いる研究も始まっている。また、多色蛍光を用いた複数の分子過程の同時可視化計測に関する研究も始まっている。

細胞内での蛋白質の局在の変化を追跡することは、その蛋白質の細胞内動態を理解する上で極めて重要である。この目的のために、PA-GFP, Dronpa, あるいは Kaede など、光刺激により蛍光強度の ON/OFF あるいは蛍光スペクトル変化を生起する蛍光蛋白質が開発されている。また合成有機フローブの FIAsh, ReAsH が開発されている。

#### 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
  - プローブによる検出対象の多様化
  - 細胞内の複数種分子過程の同時可視化計測
  - 組織レベルでの細胞内分子過程の *in vivo* 可視化計測
- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
  - バイオチップとプローブの融合技術開発に基づく薬物スクリーニングシステムの構築
  - マウスなど生体深部における一つ一つの細胞内の分子過程の *in vivo* 可視化計測

#### キーワード

蛍光, 発光, イメージング, 細胞, *in vivo*

(執筆者: 佐藤守俊)