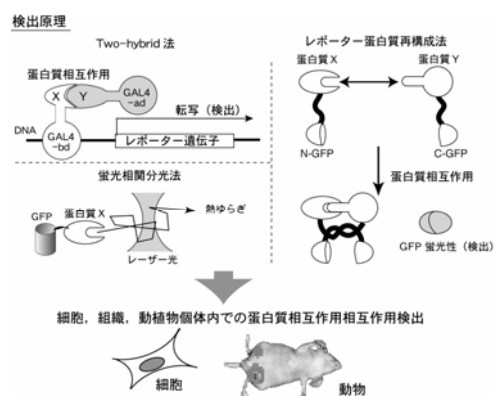


ディビジョン番号	10
ディビジョン名	分析化学

大項目	1. 分析化学
中項目	1-17. バイオ分析
小項目	1-17-6. 蛋白質相互作用

概要（200字以内）

蛋白質相互作用の検出は、これまで破壊分析が行われてきた。近年、生きた細胞内における相互作用をその場で観察するために、レポーター遺伝子を利用した two-hybrid 法、レポーター蛋白質の相補性 (complementation) を利用した方法、あるいは再構成 (reconstitution) を利用した方法などが開発されている。生きた組織や動物個体内での蛋白質相互作用検出が、今後の重要な課題である。



現状と最前線

細胞内で機能する蛋白質間相互作用が、いつ、細胞内のどこで、どの程度起きているかを時空間解析しその機能を詳細に解析することは、現在の生命科学研究の重要な課題である。これまで既知の蛋白質間相互作用の結合能を評価するために、ゲル濾過法による分子量変化の測定や、表面プラズモン共鳴を利用した誘電率変化の測定、生化学的には抗原抗体反応を利用した免疫沈降法などが開発されてきた。これらの分析法はいずれも、細胞をすりつぶして相互作用検出する破壊分析に基づいている。近年、生きた細胞内で蛋白質間相互作用を簡便に測定する新しい原理に基づく方法が開発されている。一つは、遺伝子にコードされたレポーター蛋白質を利用する方法である。細胞内における蛋白質相互作用の現象を遺伝子上で行い、レポーター蛋白質発現に情報変換し、蛍光や発光により検出する方法である。バックグラウンドシグナルが低く、かつレポーター蛋白質発現に増幅課程が加わるため高感度検出が可能である。細胞は酵母が代表的であるが、動物細胞を用いたレポーターアッセイ法も近年開発されている。別法は、スプリットしたレポーター蛋白質を検出対象とする相互作用蛋白質に連結し、相互作用した時に再構成されるレポーターの機能（蛍光や発光シグナル）を検出する方法である。再構成法には、スプリットしたレポーターが自発的に機能回復する complementation 法と、レポーターを完全に再構成する reconstitution 法とがある。どちらも、レポーターが非常に近接しないと

レポーター蛋白質の再構成は起こらないため、検出可能かどうかは相互作用する蛋白質の立体構造やN末端とC末端の空間的配置に大きく依存する。分光技術を利用した相互作用検出には、相互作用する蛋白質に蛍光蛋白質を連結し、相互作用にともなう蛍光強度の揺らぎの変化を検出する蛍光相関分光法が開発されている。蛋白質間相互作用にともない蛍光強度の揺らぎが小さくなる。この原理を利用して、細胞内の蛋白質相互作用を可視化する方法が開発されている。しかし、細胞内の如何なる蛋白質相互作用に対しても検出可能な非破壊分析法は、未だ存在しない。生きた細胞内でおこる蛋白質相互作用を時空間解析するためには、新たな検出原理の概念の創出が必要である。現在は生きた細胞内の相互作用をリアルタイムに検出する方法、また動植物個体内での相互作用を低侵襲的に検出する方法の開発が重要課題である。レポーター蛋白質には、蛍光検出には緑色蛍光蛋白質（GFP）とその誘導体、あるいは発光蛋白質が最も多く用いられている。今後は、蛍光や発光以外の fMRI や PET 測定のためのプローブが開発され、生きた細胞や動植物個体内の相互作用解析に応用されることが期待される。また、蛋白質相互作用の強さの程度は生体内のシグナル伝達過程を理解する上で重要である。将来的には、生体内で機能する蛋白質の相互作用の強さを、判定的に解析する技術が必要になる。

#### 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
- ・ 生きた細胞内の蛋白質相互作用がリアルタイム（秒オーダー）で検出可能
- ・ 分子量 100K を超える蛋白質間相互作用の検出が可能
- ・ PET や fMRI のための相互作用検出プローブの開発
  
- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
- ・ 生きた動物・植物個体内の蛋白質間相互作用を低侵襲的に検出する方法の開発
- ・ 1動物個体から複数の蛋白質相互作用検出が可能
- ・ 動植物個体内での相互作用の強さが半定量解析可能

#### キーワード

レポーター遺伝子, 蛋白質相互作用, 蛍光, 発光

(執筆: 小澤岳昌 )