

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20115008

研究課題名（和文） モデル小動物イメージングのための新しい遺伝子コード型プローブの開発

研究課題名（英文） Genetically encoded probes for molecular imaging in vivo

研究代表者

佐藤 守俊 (SATO MORITOSHI)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：00323501

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：プローブ、可視化、光制御、神経細胞、モデル小動物

1. 研究計画の概要

本研究では、「モデル小動物に基づくシステム分子行動学研究」に資する技術の創製を目的として、以下の3つの開発研究を行う。(研究目的 1) モデル小動物の神経細胞において極めて重要性の高い環状核酸を特異的にイメージングする遺伝子コード型の単色蛍光プローブを設計・開発し、既存の遺伝子コード型 Ca^{2+} 単色蛍光プローブとあわせて、モデル小動物の特定神経細胞における多成分同時 *in vivo* イメージングを実現する。(研究目的 2) 生体情報分子(キナーゼ、およびイノシトールリン脂質)の細胞内動態がそれぞれどのような細胞・個体機能を制御しているのかを明らかにすべく、それらの細胞内“局所的ノックダウンプローブ”を開発する。(研究目的 3) 従来にない全く新しい“光制御プローブ”を設計・開発し、モデル小動物の任意の特定細胞における細胞機能の光制御を実現する。

2. 研究の進捗状況

細胞内シグナル伝達の光制御を実現する分子プローブを開発するために、光受容タンパク質 (photoreceptor) の探索研究を行い、いくつかの photoreceptor が非常に興味深い特性を有することを見いだした。たとえば、Photoreceptor-X1 は、光照射依存的に約 100 万分子の複合体を形成することが明らかになったが、この photoreceptor-X1 を用いることにより、細胞内シグナル伝達に関連した同種・異種タンパク質の離合集散を自由自在に光制御できることを示しつつある。一方、Photoreceptor-X2 は、光照射依存的に二量体を形成することが明らかになったが、これを用いて、細胞内シグナルを光制御する分子プロ

ーブを開発している。

さらに、小動物の神経細胞で環状核酸の動態のイメージングを実現する遺伝子コード型の単色蛍光プローブのプロトタイプを既に開発しており、今後これをさらに改良して輝度等の向上を図ると共に、線虫の神経細胞に導入して生体 (*in vivo*) での評価を行う予定である。

細胞内“局所的ノックダウンプローブ”については、まず生体脂質であるホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸の“局所的ノックダウンプローブ”を設計し、これをコードする cDNA を遺伝子工学的手法に基づいて作製した。cDNA を培養細胞に発現させ、当該生体脂質の機能阻害能について培養細胞レベルでの基礎的評価を終えつつある。

なお、生体深部でのイメージングに有用な生物発光タンパク質の高輝度化、生物発光型のプローブの開発に関する研究についてもを行い、一定の成果を得ている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

研究計画はいずれも順調に推移しており、大きな問題は生じていない。生物発光タンパク質、生物発光プローブ、一部の蛍光タンパク質については、その多くが既に原著論文として出版済み、もしくは改訂中である。

4. 今後の研究の推進方策

主として光受容タンパク質 (photoreceptor) の開発研究において、予期せぬ発見に遭遇する幸運にも恵まれており、今後の更なる発展に繋げていきたいと考えている。特に、photoreceptor の機能を大幅に向上させるための変異導入と、最良型 photoreceptor を光ス

ッチドメインとして用いて細胞内のシグナル伝達を自由自在に光制御するための新しい分子プローブ開発に注力したいと考えている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- 1) H. Suzuki and M. Sato, “Genetically Encoded Fluorescent Indicators to Visualize Protein Phosphorylation by c-Jun NH₂-Terminal Kinase (JNK) in Living Cells” *Supramol. Chem.*, 22, 434-439 (2010). (査読あり)
- 2) S. B. Kim, M. Sato and H. Tao, “Molecular Tension-Indexed Bioluminescent Probes for Determining Protein—Protein interactions” *Bioconjugate Chem.*, 20, 2324-2330 (2009). (査読あり)
- 3) S. B. Kim, M. Sato and H. Tao, “Genetically Encoded Bioluminescent Indicators for Stress Hormones” *Anal. Chem.*, 81, 3760-3768 (2009). (査読あり)
- 4) S. B. Kim, M. Sato and H. Tao, “A Split Gaussia Luciferase-Based Bioluminescence Template for Tracing Protein Dynamics in Living Cells” *Anal. Chem.*, 81, 67-74 (2009). (査読あり)
- 5) S. B. Kim, M. Sato and H. Tao, “Circularly Permutated Bioluminescent Probes for Illuminating Ligand-Activated Protein Dynamics” *Bioconjugate Chem.*, 19, 2480-2486 (2008). (査読あり)

[学会発表] (計 9 件)

- 1) 佐藤守俊, 日本薬学会第130年会シンポジウム「薬学における生命志向型化学 (分子設計を基盤とした生命現象解明)」, 細胞内のシグナル伝達を可視化する分子プローブ, 岡山 (2010年3月29日)
- 2) M. Sato, Janelia Farm Conferecne on Fluorescent Proteins and Biological Sensors II, Imaging molecular processes in living cells, Virginia, USA (2009年11月3日)
- 3) 佐藤守俊, 日本分析化学会第58年会化学センサー懇談会, 細胞内のシグナル伝達を可視化する分子プローブ, 北海道 (2009年9月24日)
- 4) M. Sato, 2nd Swiss-Japanese Symposium on Bionanotechnology BioNano 2009, Imaging molecular processes in living cells, Aigle Castle, Switzerland (2009年9月11日)
- 5) M. Sato, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Single Cell Techniques, Fluorescent indicators to visualize molecular processes in living cells, New

York, USA (2009年7月17日)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]