

高性能な赤色蛍光カルシウムセンサー蛋白質

埼玉大学 脳科学融合研究センター

准教授 大倉 正道

教授 中井 淳一

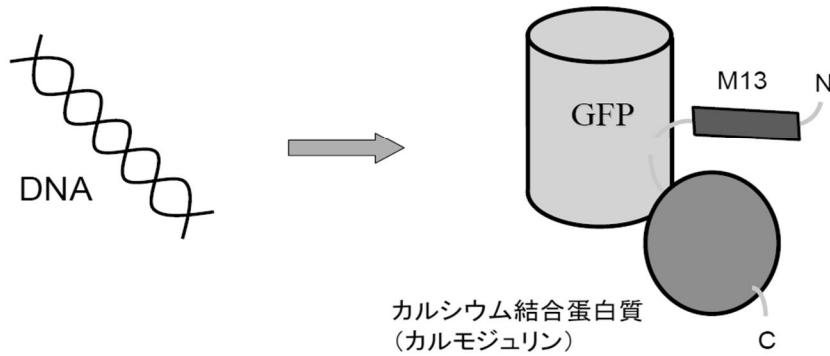
技術開発の背景

- (1) 従来の方法では測定困難または測定不可能な現象の研究
- (2) 生きた状態でのリアルタイムの観察
- (3) 蛍光蛋白質(GFP、RFPなど)のクローン化
- (4) 蛍光蛋白質を用いたセンサーの開発
- (5) CCDカメラなどイメージング技術の進歩

⇒ 蛍光分子(カルシウム)センサー開発

技術的内容の紹介(1)

GFPでできた蛋白質性蛍光カルシウムセンサー

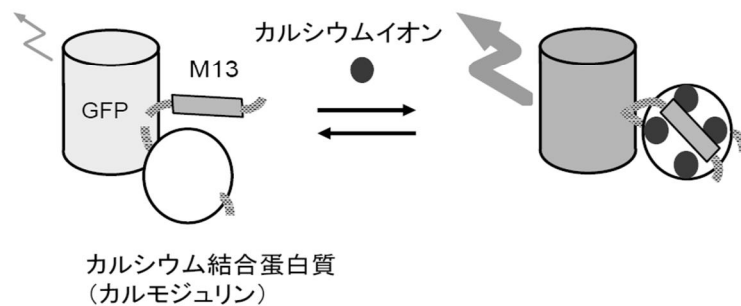


センサー分子は蛋白質でできており、細胞内でDNAから合成される。
センサーは1分子の蛍光蛋白質GFPに機能性蛋白質を結合して作られる。

3

技術的内容の紹介(2)

作動メカニズム

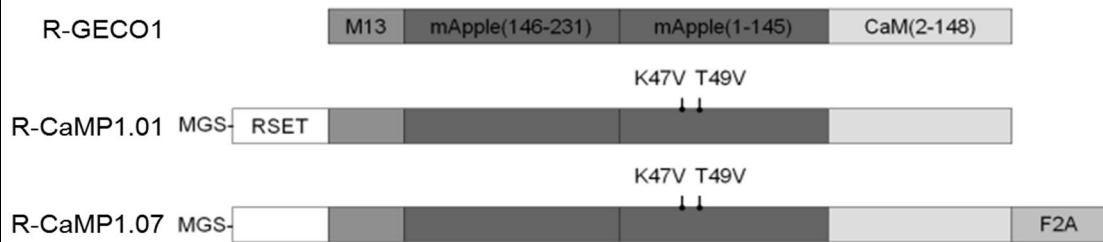


カルシウムイオンがセンサー分子に結合すると立体構造が変化し、蛍光が強くなる

4

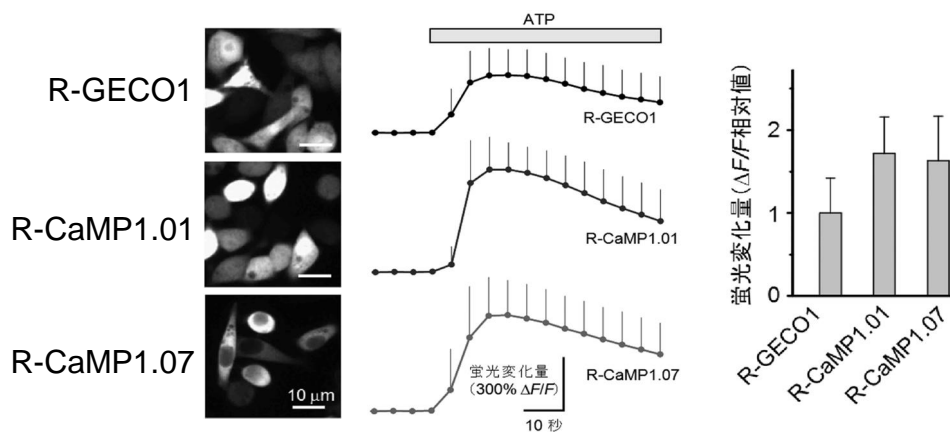
技術的内容の紹介(3)

従来のセンサーR-GECO1と本発明のセンサーR-CaMPsの構造



技術的内容の紹介(4)

従来のセンサーR-GECO1と本発明のセンサーR-CaMPsを組み込んだ細胞における薬剤投与時の蛍光変化



R-GECO1は発現後に細胞質から核内への移行を示すが、R-CaMP1.07では核内への移行は見られない。

R-CaMP1.07は、R-GECO1に比べて約1.5~2倍大きな蛍光変化を示す。

従来技術とその問題点

(1) 単一GFPの構造変化を用いるセンサー

- 細胞の緑色自家蛍光によるノイズの影響を受けやすい。
- 光活性化プローブ蛋白(ChR2)との併用時には測定上の工夫が必要。

(2) 単一RFPの構造変化を用いるセンサー(R-GECO1)

- 微弱な(S/N比が小さい)シグナルの判定が困難。
- 細胞質と核に局在するため、両部位での蛍光変化の時差を考慮した測定が必要。

新技術の特徴・従来技術との比較

- (1) 赤色蛍光を用いるため、細胞の緑色自家蛍光の影響を受けにくい。
- (2) 青色光での励起を行わないため、青色光刺激で細胞機能を操作しながら同時に赤色蛍光で細胞機能を測定することが可能。
- (3) 従来 of 緑色センサーとの併用により、2か所のシグナルを同時に測定することが可能。
- (4) 従来 of 赤色センサーよりも蛍光変化が大きく、かつピーク蛍光が明るい。
- (5) 従来 of 赤色センサーは細胞質だけでなく核内にも局在するという問題点があったが、本発明の赤色センサーではこの問題点が解消された。

マッチングが想定される用途

- 本技術の特徴から、動植物や細胞などに組み込むことでメリットが大きくなると考えられる。
- 薬剤スクリーニングや薬物試験
- 環境モニタリング
- 遺伝子治療、移植医療、再生医療
- 細胞—マシンインターフェイス
- 研究開発

想定される業界

想定されるユーザー

殺虫剤、製薬メーカー（薬物スクリーニング等）

環境汚染等の評価組織（モニタリング）

高度医療（遺伝子治療、移植医療、再生医療、細胞—マシンインターフェイス）

研究所

実用化に向けた課題

- 現在、カルシウム測定についてすでに細胞、実験動物の生体内で測定が可能なところまで開発済み。
- しかし、今後、この技術を人体に応用した場合、遺伝子導入の倫理的問題と、生体内でいかに侵襲を少なく光学測定するかが課題である。

11

企業への期待

- 光学測定技術を持つ企業、移植再生医療、細胞—マシンインターフェースの共同研究を希望。
- 薬剤のスクリーニングが必要な企業、バイオモニタリングを行う企業、遺伝子治療、移植医療、再生医療分野への展開を考えている企業には、本技術は有効と思われる。

12

本技術に関する知的財産権

- “ 発明の名称 : 赤色蛍光蛋白質を用いたカルシウムセンサー蛋白質
- “ 出願番号 : 特願2012-137434
- “ 出願人 : 埼玉大学
- “ 発明者 : 大倉正道、中井淳一

13

お問い合わせ先

埼玉大学

オープンイノベーションセンター

産学官連携推進部門

TEL ; 048-858-3849

FAX ; 048-858-9419

e-mail coic-jimu@ml.saitama-u.ac.jp

14