

細胞内相分離の挙動・物性を簡便 に定量解析できる蛍光プローブ

金沢大学 新学術創成研究機構
准教授 羽澤 勝治

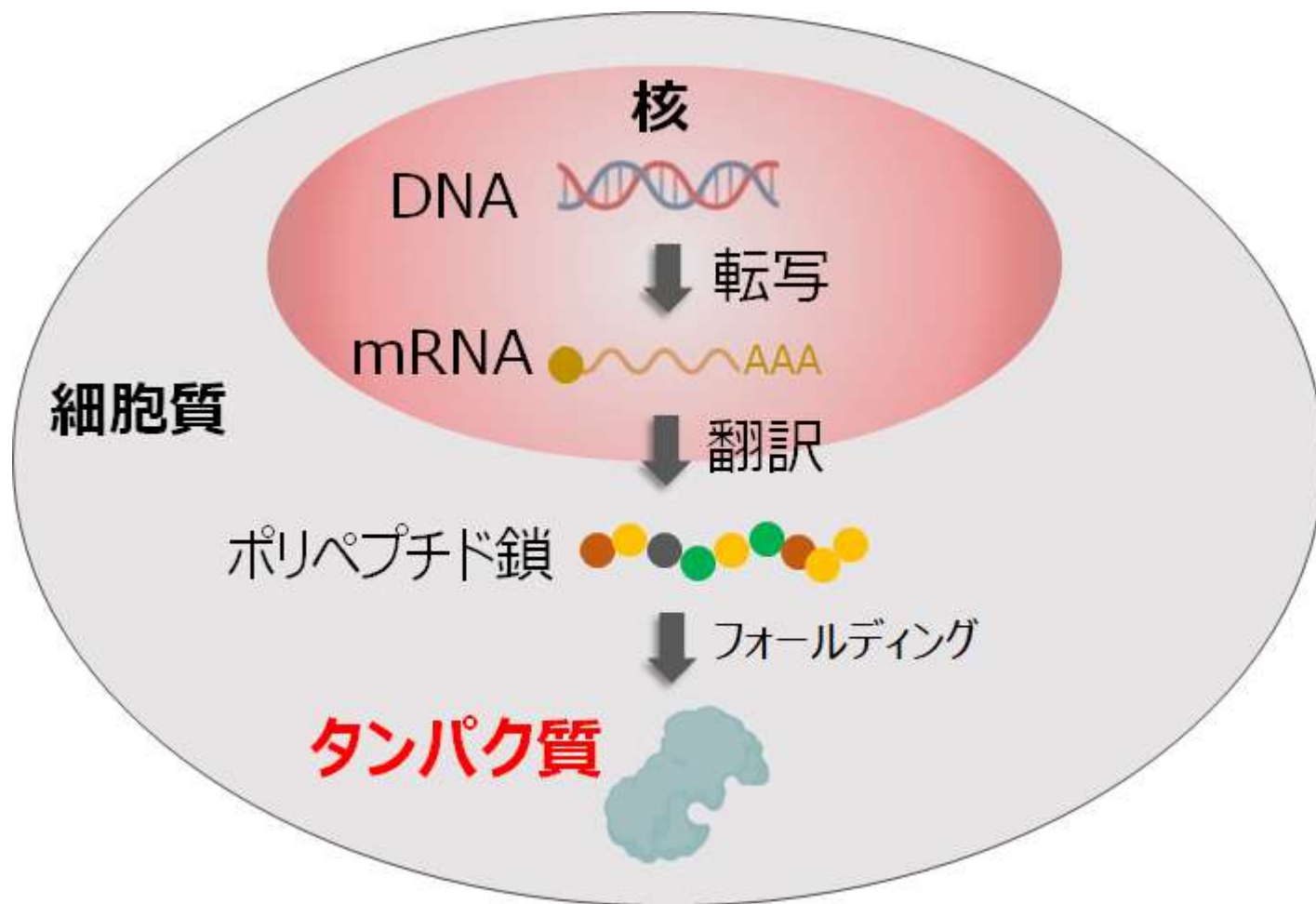
2022年8月18日

概要

細胞内でタンパク質や核酸などの**生体高分子**が**水と油のように分離する現象（相分離）**は様々な**生命現象を発現する基盤機構**として注目されている。

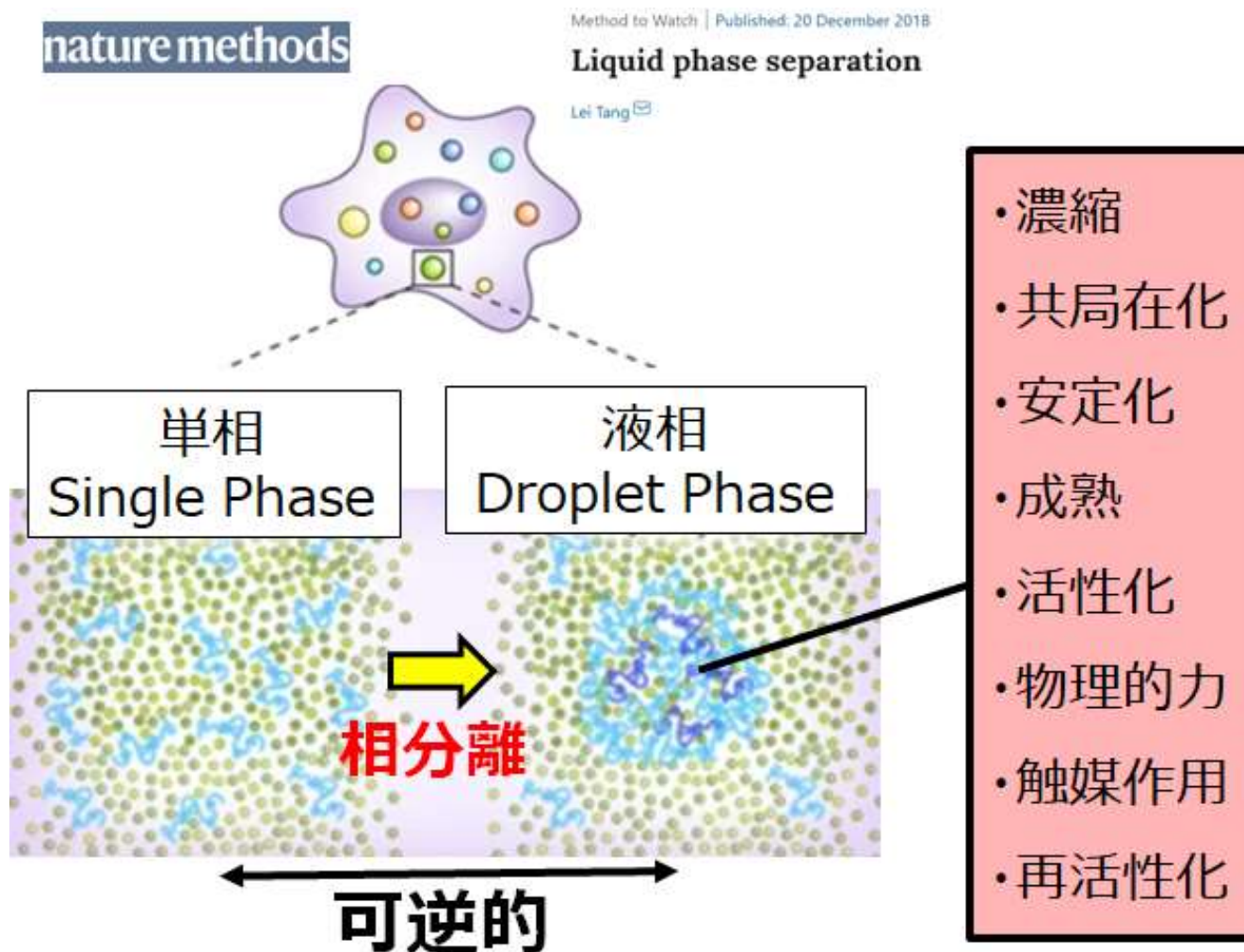
本発明は、**相分離した液滴**の物性や挙動を**簡単に定量評価**できる**世界初の蛍光プローブ**を開発した。

生命現象を制御するタンパク質



生命現象を理解 = タンパク質が機能する仕組み

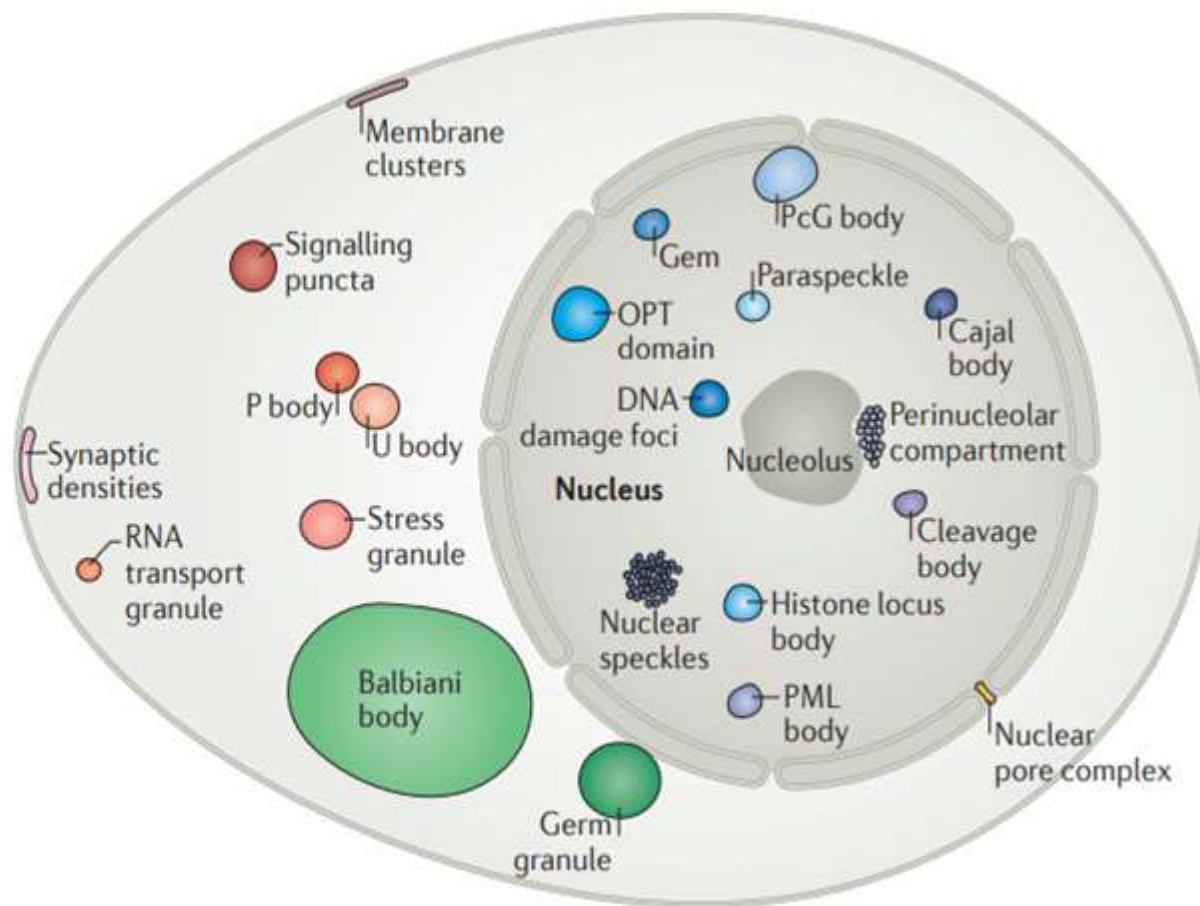
相分離によるタンパク質の機能化



相分離はタンパク質が機能する環境をつくる

相分離による細胞機能の制御

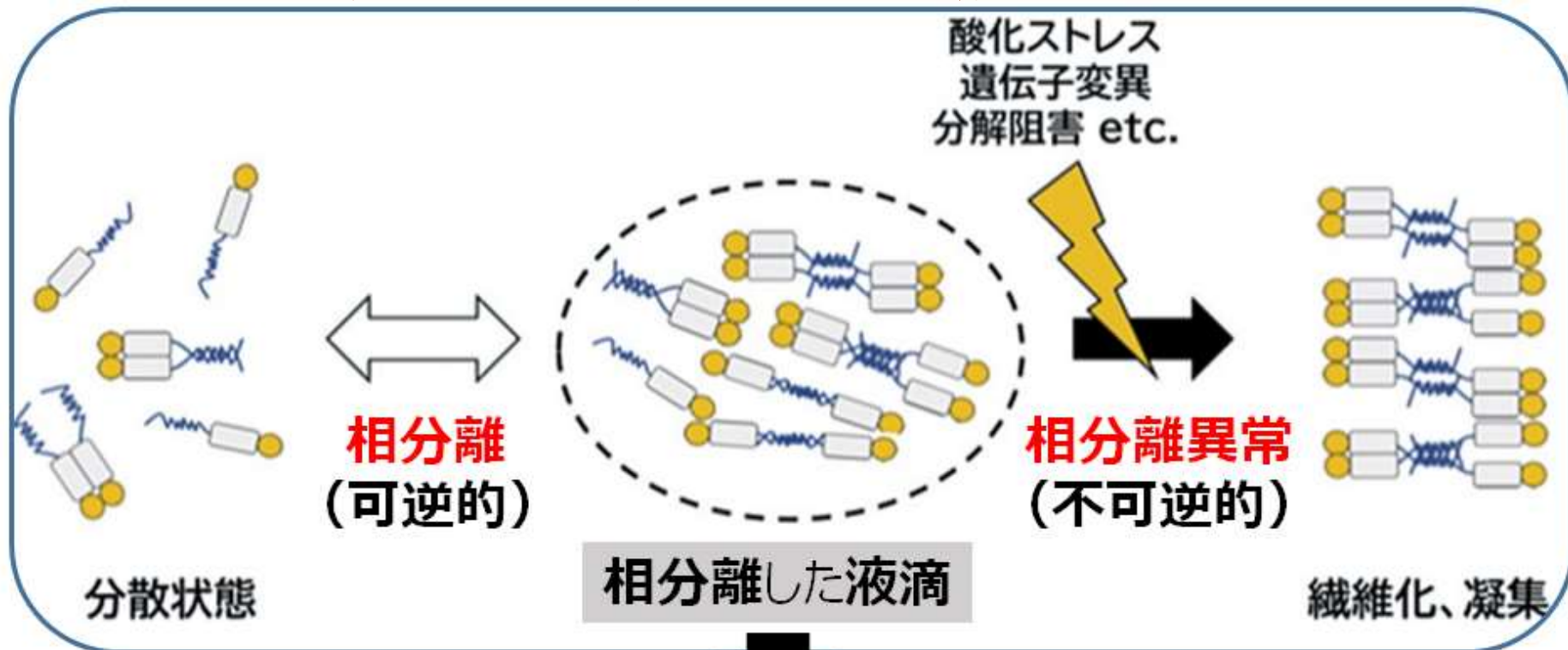
- クロマチン構造
- 転写
- DNA損傷修復
- 細胞分裂
- タンパク質品質管理
- オートファジー
- 免疫応答
- 神経情報伝達
- Etc...



Banai, et al., *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017

相分離異常は様々な疾病の原因となる

相分離と難治性疾患ALS



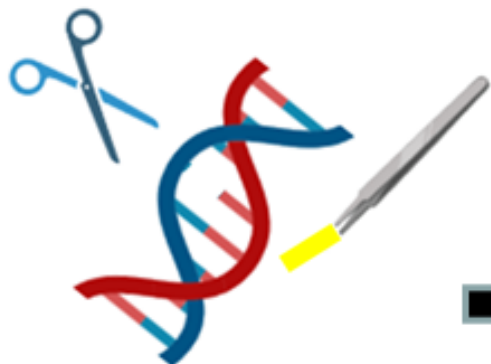
相分離体のレオロジー特性と機能

粘性・流動性

相分離ダイナミクスを理解 = 生命現象を理解

レオロジー特性を知る意義

合成生物学：細胞内に**人工**相分離構造をつくり、調べる



タンパク質に
仕掛けを仕込む

- 蛍光タンパク質
☞ タンパク質が**光る**
- 光応答タンパク質
☞ タンパク質が**集まる**

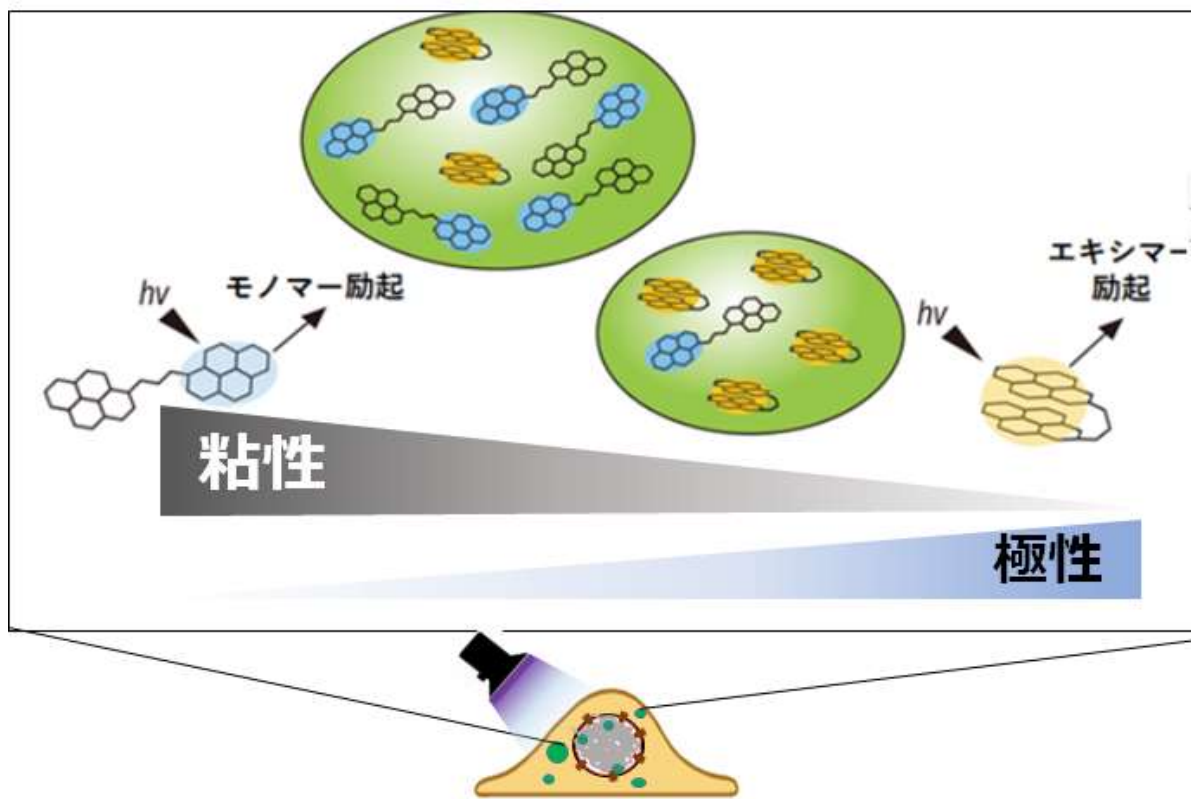
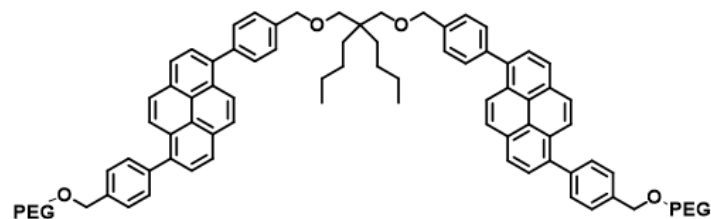
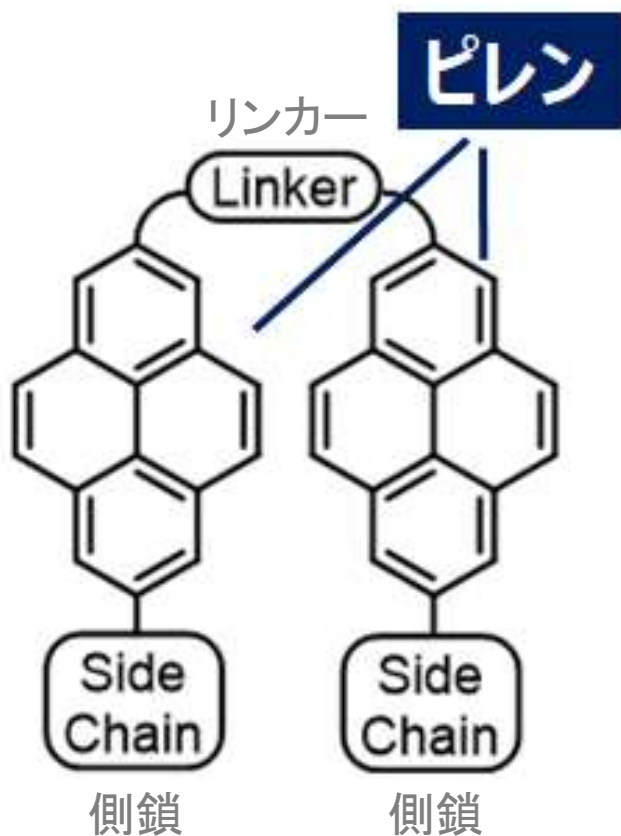
レオロジー特性

相分離の役割

相分離の操作

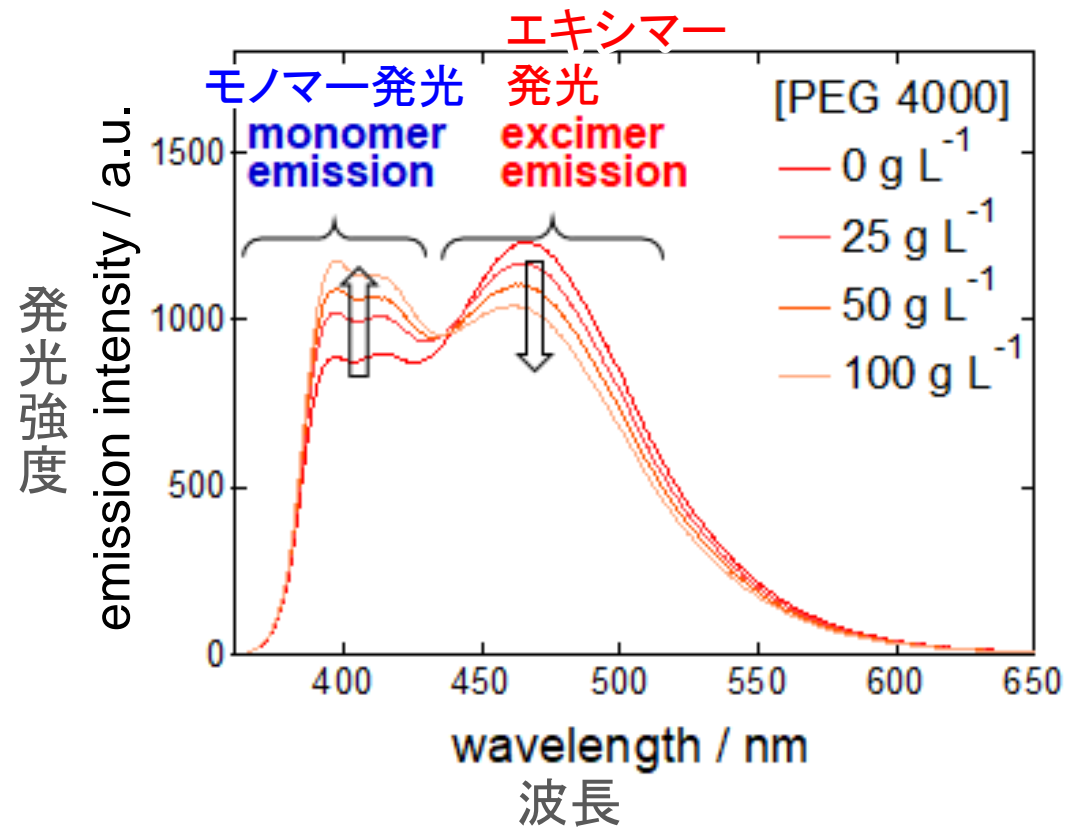
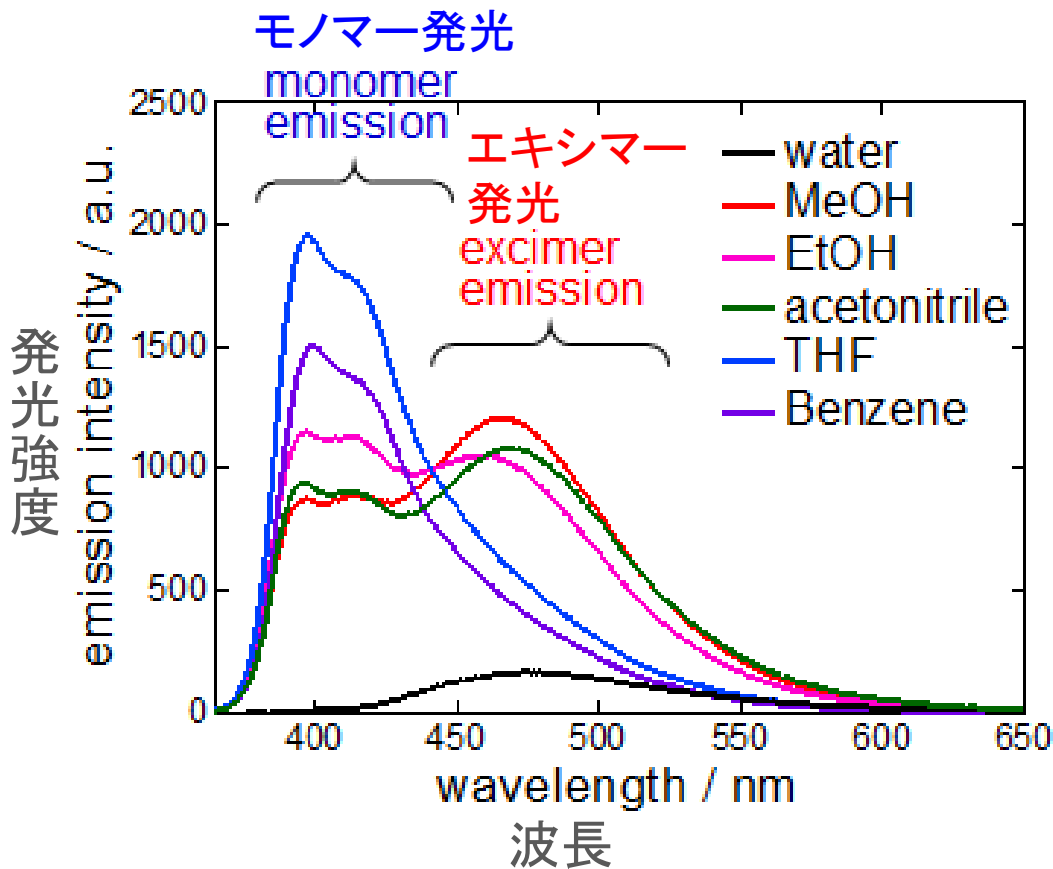
レオロジー特性と生命現象の紐づけ

開発した蛍光プローブ(第一世代)の概要



細胞内の相分離レオロジー特性解析に成功

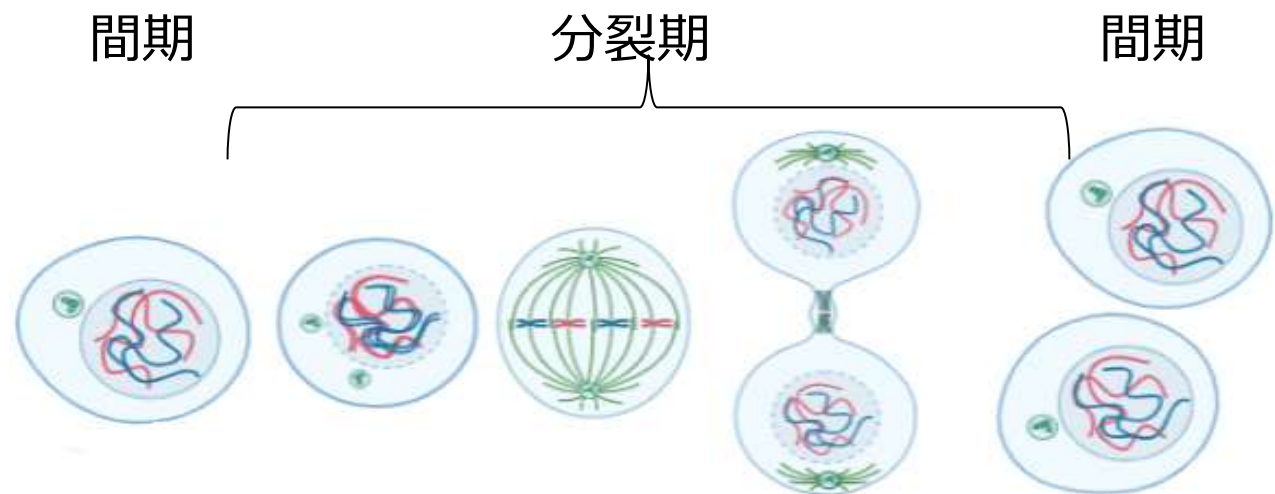
開発した蛍光プローブの性能①



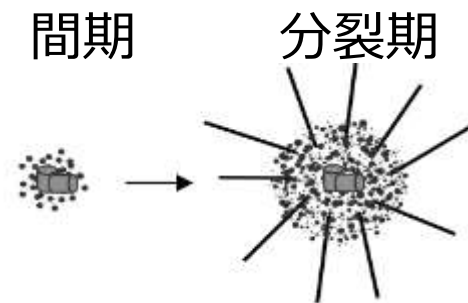
モノマー: 単量体 エキシマー: 励起二量体

マイクロ空間の極性・粘性に応じた蛍光特性

開発した蛍光プローブの性能②



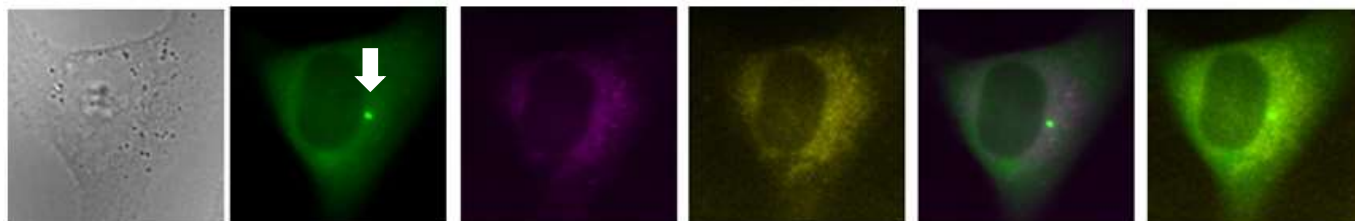
中心体の成熟



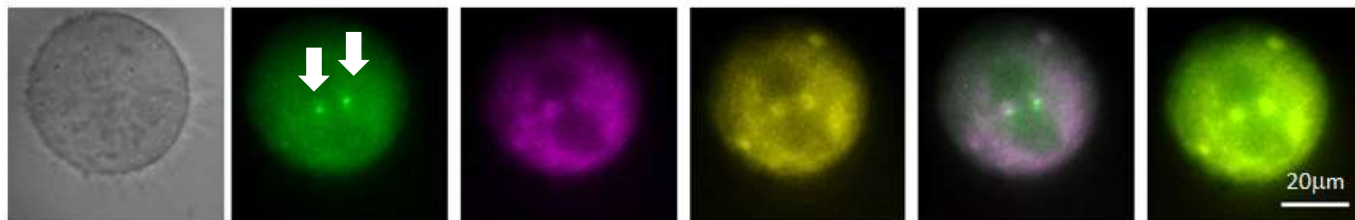
粘性 ↑
極性 ↓

微分干渉観察 セントリン1-GFP モノマー エキシマー GFP/モノマー GFP&エキシマー

間期

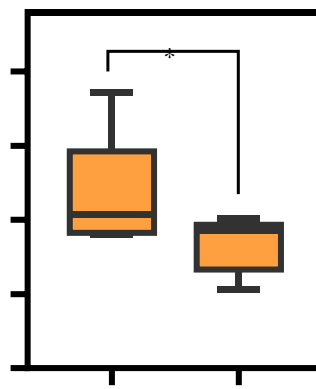


分裂期



エキシマー / モノマー

Excimer/Monomer



間期 分裂期

マイクロ空間の物性を蛍光イメージング

従来技術とその問題点

- ・ **自発的に**起こる**相分離**を捉えるスタンダードな**解析ツール**が存在しない。
- ・ 人工的に操作した相分離の性質や生物学的機能を調べている。
 - 時間とコストが大きい
 - 対象が限定されている
 - 汎用性が低い

新技術の特徴・従来技術との比較

- 自発的に起こる細胞内相分離の粘性特性を評価できる。
- 本技術の適用により、異常相分離の診断や制御が可能となる。

想定される用途

- 細胞内で自発的に発生する相分離体の粘性測定
- 相分離の機能 - 粘性特性パネルを活用した細胞診断
- 蛍光プローブの高度化による、異常相分離体の解体

実用化に向けた課題

- 蛍光プローブの粘性感度を向上するために、化合物の最適化が必要である。
- 蛍光プローブに標的指向性を付与するために目的とする相分離体の組成解明や構成因子に親和性を示す化合物の探索

企業への期待

- シミュレーションで化合物の特性・機能を予測する技術をもつ、共同研究を希望。
- 生体高分子のレオロジー特性を指標とした生物実験試薬・ツール開発を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 蛍光プローブ、液相の極性及び粘性を評価する方法、並びに化合物
- 出願番号 : 特願2021-093100
- 出願人 : 金沢大学
- 発明者 : 羽澤勝治、他6名

お問い合わせ先

金沢大学ティ・エル・オー

TEL 076-264-6115

FAX 076-234-4018

e-mail info@kutlo.co.jp