

ITPプログラム中間報告書

平成 22 月 9 月 28 日

分子生命化学専攻 奥乃 靖弘

派遣先: スイス連邦工科大学理学部化学科タンパク質工学研究室

派遣期間: 2010 年 8 月 2 日 ~ 10 月 29 日

概要

派遣先であるスイス連邦工科大学ローザンヌ校(以下 EPFL)は、二校あるスイス連邦工科大学の一つで、フランス語圏の街ローザンヌにある。ローザンヌは大都市ジュネーブから電車で 30 分のところに位置するレマン湖沿いの中都市だが、EPFLの他に国際経営大学院など世界クラスの教育機関が複数あることや、オリンピック委員会本部、スイス連邦最高裁判所、ローザンヌ国際バレエコンクールがあることで欧州では有名な都市である。

EPFL は理系の単科大学であることから、東京工業大学と類似の組織体系をとっている。今回、報告者は理学科生化学分野のタンパク質工学研究室に所属し、SNAP-tag を応用した生体内低分子に対する蛍光センサーについて学ぶことを目的としている。



ROLEX センター



研究室からの風景

研究環境

理学科は学内で最大の規模を誇り、多数の研究室が属しているので、所属する研究棟は複数に分かれている。そして皆が使用する高価な機器(NMR や Mass など)はそれぞれの研究棟内で共有している、などといった日本の大学と類似の環境が見受けられる。しかし大きく異なる点として、

- ・ 実験器具や試薬は、研究棟内にある業者カウンターで発注・受け取りを行う。
- ・ 試薬の学内検索ができ、他研究室に試薬を借りに行くことが可能。
- ・ 研究室が所持していない機器を、他研究室で借りることが可能。

といった日本の大学では見られないことが挙げられ、研究室間の交流が盛んな印象を持っている。

研究テーマ

SNAP-tag を応用したサブスタンス P 蛍光イメージングプローブの開発

研究内容

サブスタンス P(Substance P)は、

H – Arg – Pro – Lys – Pro – Gln – Gln – Phe – Phe – Gly – Leu – Met – NH₂ の配列をなす 11 量体のタキキニン郡神経ペプチドである。生体内では、主に脳や脊髄に存在する特定の神経末端から放出され、炎症や痛みの伝搬に関わっている。またサブスタンス P は、リウマチやクローン病に関わり、そして様々な病状の代理マーカーにもなっているが、その作用機構の全貌は明らかにされていない。それゆえ、生体内でリアルタイムイメージングを行うことのできる蛍光プローブ法の開発は、非常に重要なことである。

一方、私がお世話になっている Kai Johnsson lab. ではタンパク質発現技術を用いて、様々な蛍光プローブが開発されてきた。そのなかの一つに、右図に示す FRET とタンパク質タグ技術を応用させた open-close 型プローブがある。その原理は、まず SNAP タグ-CLIP タグ-receptor を有するタンパク質を作成する。次に SNAP タグと共有結合を形成するベンジルグアニン (BG) にリンカーを介して、蛍光分子と検出する分子より低い結合定数を持った分子 (インヒビター分子) を繋げた物質を作用させ複合体を形成させる(中段)。そして、そこに検出する分子を作用させることで FRET が生じないようにし(下段)、蛍光スペクトル変化によって検出する、というものである。

そこで本研究では、上記の方法論を用いたサブスタンス P 蛍光イメージングプローブの作成を目的とし、筆者は、SNAP タグと結合させる部位の化学合成を担当している。

今研究では、インヒビター分子としてサブスタンス P 配列に変異を加え、結合定数を低下させたペプチドを採用し、現在までに合成配列の決定・合成と、ペプチドに付加させる BG 部位の合成を終えている。今後は、合成した固相上のペプチドに蛍光を付加し、切り出し・精製した後、BG 部位をさらに付加し、種々の分析を行う予定である。

