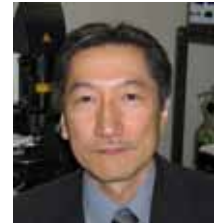


蛍光ブドウ糖トレーサー法の実用化技術の開発

育成研究：JST イノベーションサテライト岩手 平成 20 年度採択課題

「蛍光ブドウ糖トレーサー法の実用化技術の開発」

代表研究者：弘前大学 大学院医学研究科・統合機能
生理学講座 准教授 山田勝也



研究概要

ブドウ糖(グルコース)には互いに鏡像関係にある D 型と L 型が存在し(図 1)、生物は D 型のみを細胞内に取込み利用する。その取込みの様子を D-グルコースを蛍光標識した 2-NBDG で可視化、L-グルコースを蛍光標識した分子と比較して正確な評価を可能にした。

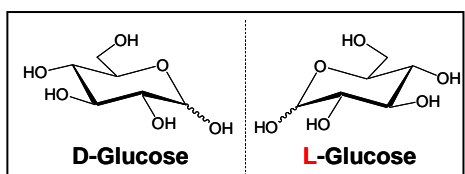
研究内容、研究成果

グルコースは大腸菌から哺乳類まで、生物の生存維持に欠くべからざる基本的なエネルギー源であり、また細胞が様々な生体分子を合成する際に利用する原料でもある。従って活発に活動する細胞ほどグルコースが必要になり、例えばガン細胞は非常に多くのグルコースを取込むことで知られる。従って、グルコースの細胞内への取込みの様子を調べれば、細胞の生死はもとより細胞内の代謝に関する情報を得ることができ、基礎研究分野、ガン診断などの医療分野、細菌の繁殖が問題となる食品衛生・水質検査分野など様々な分野に役立てることができる。

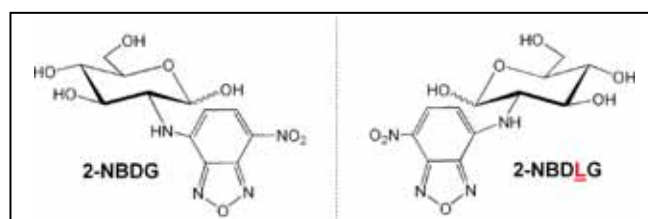
蛍光分子 NBD を D-グルコースに結合した 2-NBDG (図 2 左)は、大腸菌など微生物の生死判定の目的で開発し(松岡ら、1996)、哺乳類ではグルコーストランスポーターを通過してグルコースとよく一致する仕組みで細胞内に取込まれることが判明した(山田ら、2000)。このため、2-NBDG は細胞内へのグルコース取込みを可視化する目的で現在世界で最も広く用いられている分子となっている。しかし、2-NBDG の細胞内への取込み量を正確に評価するには、細胞膜への非特異吸着の程度や細胞内での代謝、光照射による退色などの情報が必要とされていた。そこで、細胞が取込まない L-グルコースに蛍光基 NBD を結合した 2-NBDLG(図 2 右)を開発した。2-NBDLG は 2-NBDG と物理化学的性質が等しく、2-NBDG の対照物質として優れた性質を備えていたことから製品化し、共同研究企業の(株)ペプチド研究所および国内試薬大手の和光純薬工業(株)等から販売開始した(図 4、国際特許公開番号 WO2010/016587A1)。また 2-NBDG と同時に使用できるように開発した 2-TRLG(図 3)は、2-NBDG の緑色蛍光に対して赤色蛍光を示し、また細胞膜に吸着しない為様々な用途に利用できる。

今後の展開、将来の展望

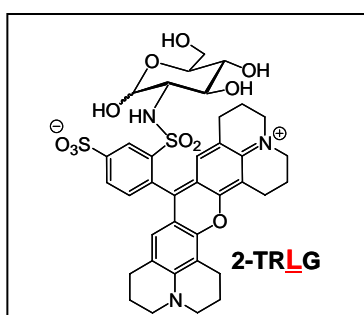
2-NBDG と各種蛍光 L-グルコース誘導体を組み合わせることで、グルコースの細胞内への取込みを正確に可視化することが可能となった。現在これらの分子をガン診断などの医療分野、食品衛生分野などに応用するための研究が進んでいる。従来の放射性標識グルコースを用いる方法より簡便かつ安全で、細胞一個一個のグルコース取込みを直接目で見ることのできる蛍光標識グルコース誘導体は、今後様々な分野への応用が期待される。



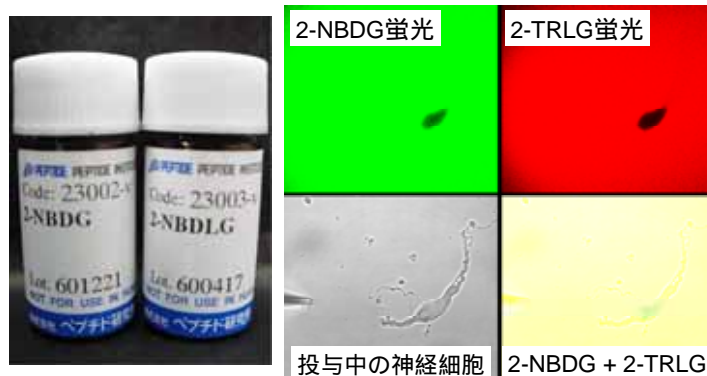
[図 1] 天然型の D-グルコース(左)と非天然型の L-グルコース(右)の構造。大腸菌から哺乳類まで多くの生物の細胞は、D-グルコースを選択的に細胞内に取込み、エネルギー源や代謝の原料として利用する。



[図 2] 天然型の D-グルコースに NBD 基を結合した 2-NBDG (左)に対して、非天然型の L-グルコースに NBD 基を結合した 2-NBDLG (右)を開発。両者は物理化学的性質が等しいことから、細胞に適用した際の蛍光強度を比較すれば、細胞内への立体選択的な取込み量がわかる。共に緑色の蛍光を発する。



[図 3] 非天然型の L-グルコースにテキサスレッド (TR)を結合した 2-TRLG の構造。赤色蛍光を示す。



[図 4] 左：蛍光標識 D - グルコース誘導体 2-NBDG と L-グルコース 2-NBDLG 【(株)ペプチド研究所、和光純薬工業(株)取扱い】
右：2-NBDG と 2-TRLG 投与中、緑色に光る神経細胞(右下図)。

■ 研究体制

◆ 代表研究者

〔弘前大学 大学院医学研究科・統合機能生理学講座 准教授 山田勝也〕

◆ 研究者

菅世智子(弘前大学) 渡邊誠二(弘前大学) 長友克広(弘前大学) 佐々木綾子(弘前大学) 古川正仁(弘前大学) 成田るみ子(弘前大学) 松岡英明(東京農工大学) 齊藤美佳子(東京農工大学) 豊島正(株)ペプチド研究所) 西内祐二(株)ペプチド研究所) 山本敏弘(株)ペプチド研究所)

◆ 共同研究機関

東京農工大学、株式会社ペプチド研究所

■ 研究期間

平成 20 年 4 月 ~ 平成 23 年 3 月