

プログラム名： セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名： 合田 圭介

プロジェクト名： 細胞刺激技術開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成 28 年度

研究開発課題名：

化学的 1 細胞遺伝子解析技術の開発

研究開発機関名：

青山学院大学

研究開発責任者

田邊 一仁

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

本 ImPACT プロジェクトでは、希少な能力をもつ細胞を 1 個単位で抽出した後、その細胞が元の細胞群とどこが異なるのかを詳細に解析することで、セレンディピターの評価やさらなる細胞の進化につなげることを目標としている。そこで本研究課題では、新奇機能を有しているとおぼしき細胞を、視覚的に効率よく拾い上げる方法を開発する。本研究課題の特徴として、化学的なアプローチを選択する。化学は、膨大なジャンクの中から、目的の原子をターゲットにするサイエンスであり、生物学的手法に依らないヌクレオチド・原子単位の操作・分析を可能にする。本研究開発責任者田邊は、岡本グループと協力し、化学に立脚して、従来の解析技術とは一線を画す独自の 1 細胞解析技術を既に開発し、高い定量性やスループット計測を実現しつつある。この技術をさらに 1 細胞遺伝子解析情報に基づく細胞選別にも活かす。これは、単に細胞 1 コ 1 コをつぶさに解析するのではなく、多数の細胞を一挙に調べることができる。田邊が開発した技術は、目的の機能を発現した細胞でのみシグナルを発信することから、目的の機能を有する 1 細胞を選別・解析することを可能にする。このアプローチによって、新奇機能を示す細胞を、1 細胞レベルで標識する。標識シグナルをもとに細胞を選別し、これらを増殖させて、新奇機能細胞を大量に獲得する。その機能の起源を 1 細胞レベルで可視化する。今年度はラマンイメージングにより、細胞内温度を可視化する分子プローブを開発することを目的に、DNA の二重鎖形成をラマンスペクトルで識別することを試みた。DNA の二重鎖形成は温度によって制御できることから、温度センサーとしての活用が可能と期待した。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

DNA は外的環境変化に応じて多様な高次構造を形成する。例えば、二重鎖 DNA は温度上昇によって一本鎖に解離する一方で温度が低下すると二重鎖に戻る。また、三重鎖 DNA は酸性条件下で形成される一方で中性条件下では二重鎖に解離する。近年、DNA が示すこうした高次構造形成特性を温度センサーに活用しようとする試みが数多くなされている。本研究では、分子構造に起因するシグナルを非侵襲的に観測可能なラマンスペクトルを用いて生体内の微小環境を検出する DNA 型分子プローブの開発を目指した。まずはその第一段階として、DNA の高次構造の変化をラマンスペクトルで識別できるかを検討した。

アセチレンはサイレント領域と呼ばれる生体内物質によるラマン散乱がほとんど観察されない波数域にシグナルを発信する。そこで、アセチレンユニットをシグナル発信部として DNA 鎖に組み込み、高次構造の変化によってラマンスペクトルが変化するかを調べた。

2-2 成果

本研究では Figure 1 に示す 2 種類のアセチレンユニット含有チミジン(Ace, Phe)を合成し、DNA 鎖に導入した。

得られた DNA 1 のラマンスペクトルを測定したところ、Ace に対応するシグナルが 2115 cm^{-1} に、Phe に対応するシグナルが 2223 cm^{-1} に観測された(Figure 2)。シグナルの強度は Phe の方が強く、アシル基シグナルを増強することが示唆された。次に、DNA の高次構造の変化がラマンスペクトルに与える影響を調べるために、DNA 1 の相補鎖を加えて部分的な二重鎖を形成させた後、ラマンスペクトルを測定した。その結果、一本鎖部分にある Ace のシグナル強度はほとんど変化が見られなかった一方で、二重鎖部分にある Phe のシグナルはわずかに減弱した。

ただし、スペクトルの差はわずかであり、またこの変化が普遍的なものかわからなかったため、異なる配列をもつ DNA 鎖についても同じようにラマンスペクトルを測定し、検討したところ、DNA 1 から成る二重鎖と同じように Phe のシグナルのみわずかに減弱した。これらの結果から、DNA の二重鎖形成によって Phe のアセチレン部分の周辺環境が変化したことが、ラマン強度の変化につながったことがわかった。すなわち、二重鎖形成という高次構造変化をラマンスペクトルで可視化可能であることが示された。

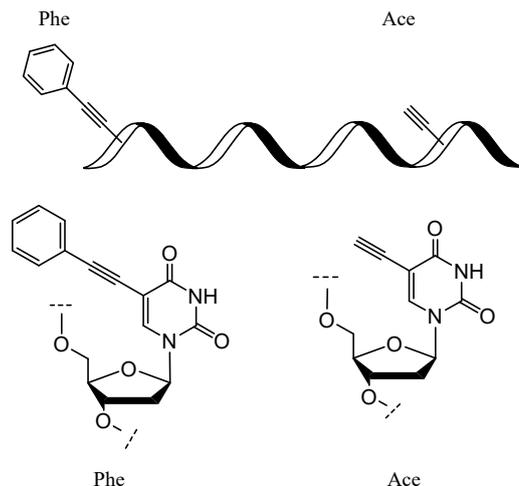


Figure 1. Chemical structure of DNA 1 containing Phe and Ace

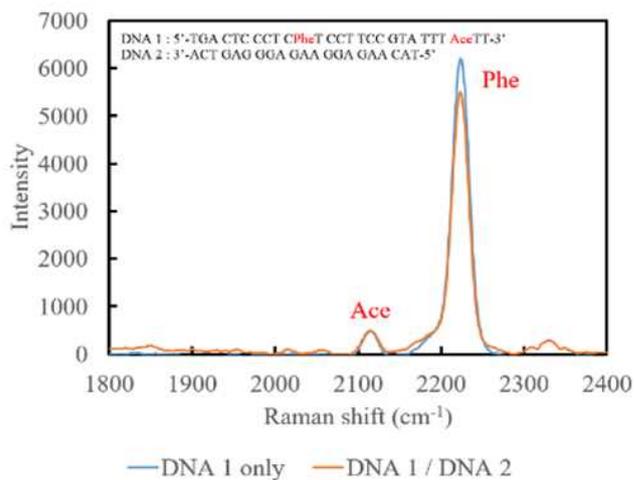


Figure 2. Raman spectra of DNA 1 in the presence or absence of its complementary DNA 2

2-3 新たな課題など

以上のように、今年度は DNA の二重鎖形成をラマンスペクトルで追跡することに成功した。しかし、二重鎖形成に伴うスペクトル変化はわずかであり、高感度な温度センサーを作成するためにはさらなる改良が必要である。今回は、チミジンの 5 位にアセチレンユニットを導入したが、今後は他の部位への導入を試みると共に、シトシンやグアニンなど、他の核酸塩基上に同ユニットを導入することによって、二重鎖形成によって大きくシグナルが変化するプローブを構築する予定である。プローブの改良が済み次第、温度センサーへの応用を図る。

3. アウトリーチ活動報告

該当なし