

## 研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名: 金属錯体プローブを用いる遅延蛍光バイオイメージング

2. 研究代表者名: 松本 和子 (早稲田大学理工学部 教授)

### 3. 研究概要

本研究は、蛍光寿命の長い希土類蛍光錯体標識剤と時間分解蛍光測定法を中心に据え、蛍光標識剤と装置の開発、およびバイオへの応用を図ろうとするものである。即ち、希土類蛍光錯体標識剤の蛍光寿命が長いことと、光ブリーチングを起こしにくいという特徴に着目し、蛍光標識剤の改良とその応用分野を広げて、従来の蛍光標識剤の常識を変えようとするものである。この研究で取り組む応用分野としては、特定の mRNA の発現と動態を生細胞中で高感度に定量イメージングする方法や、組織中の細胞のアポトーシスを高感度に検出する方法の開発がある。標識剤の改良と観察装置の開発によって、これらの細胞の生命活動を数十分以上の長時間にわたって観察できるようにすることを目指している。

### 4. 中間評価結果

#### 4 - 1. 研究の進捗状況と今後の見込み

全体的に順調な研究進捗状況にあり、初期の目的はほぼ達成できている。マイクロアレイ用時間分解蛍光顕微鏡は、当初計画通りに開発が進行している。希土類蛍光標識剤については、高機能な標識剤DTBTA-Eu<sup>3+</sup>の開発に成功し、生物試料での実験、解析の大きな武器を得ている。蛍光ラベル剤については、励起波長の長波長化など、一層の改良を期待したい。

生細胞内部でのmRNAの1分子蛍光イメージングや、酸化ストレスマーカーHNE(ヒドロキシノネナール)の時間分解蛍光測定法の開発により、新たな展開の糸口が得られている。

これらの成功は、生細胞での観察手段を増やし、疾病機構の解明が進展することを期待させるものである。今後の研究計画も、それぞれのグループの研究進捗に合わせた計画となっており、目標も明確に設定されている。

#### 4 - 2. 研究成果の現状と今後の見込み

金属のキレート力の強い緩衝液中においても安定で蛍光を発する高機能な希土類蛍光標識剤DTBTA-Eu<sup>3+</sup>開発に成功したことは大きな成果である。生細胞内部でmRNAを1分子蛍光イメージングすることに成功し、またmRNAをスプライシングして複数波長の蛍光を1分子レベルで観察したことも評価出来る成果である。HNEを酸化ストレスマーカーとする研究も技術的インパクトが大きい。しかしながら、他の手法に対するこれらの方法の優位性を示し切れていないところが、今後の課題であろう。観察装置はほぼ整ったことから、これらを活用したデータ収集・解析が進展するものと思われる。対象とする細胞・組織も具体的に設定できているので、成果に繋がることを期待している。

#### 4 - 3 . 今後の研究に向けて

蛍光標識剤並びに遅延蛍光観察装置の開発、分析への応用、疾病解析への応用と役割分担が明確である。長時間測定が可能という特徴のある蛍光標識剤と装置を活用して、疾病解析事例の重要な発見を期待したい。遅延蛍光を利用することによってバックグラウンド蛍光を抑制できることは重要なポイントであり、遅延時間依存性をより詳細に検討することによって学術的価値も高まるであろう。蛍光波長を長波長化する予定があるとのことであったが、標識剤励起光源の問題の観点からも望ましい方向と思われる。また、組織内の特定タンパクの検出なども、研究課題に加えていくことが望ましい。

成果の発表がやや少ないようである。論文投稿・特許化を積極的に進める必要があるものと思われる。

#### 4 - 4 . 戦略目標に向けての展望

長時間の連続蛍光観測が可能である希土類蛍光錯体の特長を活かした遅延蛍光バイオイメージング法による具体的な疾病解析事例と、有効な疾病分野の提案、並びにそれらの定量化手法の開発を行うことによって、医療分野への大きな貢献が出来る可能性がある。また、mRNAの1分子観察の成功は、これからのRNAの研究に貢献しうる成果であり、今後の研究の方向に注目したい。

#### 4 - 5 . 総合的評価

中間評価段階までは、ほぼ順調に成果を挙げたと言える。さらに研究の加速により、後半の研究期間で疾病解明に繋がる具体的な成果を期待したい。有用な蛍光標識剤の選択も行われ、遅延蛍光観測装置、時間分解蛍光顕微鏡の立ち上げもほぼ完了しているため、これからの実証的な成果に結びつくであろう。他の手法に対するこの手法の優位性を明確にしきれていないことが弱点ではあるが、グループ間の連携も良好であり、細胞・組織レベルでの蛍光イメージング、1分子蛍光イメージング等に向けての研究展開が期待される。