

「化学・生物系の新材料等の創製」

平成 13 年度採択研究代表者

岡畑 恵雄

(東京工業大学大学院生命理工学研究科 教授)

「生体分子間相互作用を連続的に検出するための
多機能型水晶発振子マルチセンサの設計と開発」

1. 研究実施の概要

本プロジェクトでは、A)より複雑な生体内での分子間相互作用の解明、B)そのための多機能でかつ高感度な水晶発振子マイクロバランス法の開発、を大きな柱として研究を進めていく。

申請者らはこれまでに水晶発振子マイクロバランス法を用いて、以下に示すような種々の生体分子間相互作用を定量的に評価してきた。例えば、水晶発振子基板上に核酸塩基であるチミンを固定化すると相補的な塩基対であるアデニン誘導体の結合が重量変化として追跡でき、その結合速度が媒体(期待、水中、超臨界流体中)の溶媒和により変化することを見出している。また、基板上に糖脂質単分子膜を固定化すれば、レクチンの結合が検出できる。DNA一本鎖を固定化すれば相補的な二本鎖形成(ハイブリダイゼーション)、二本鎖DNAを固定化すれば塩基配列特異的に結合するタンパク質の結合が追跡できる。

これらの成果を基にして、今年度は水晶発振子上でDNAの酵素反応と、タンパク質-タンパク質間相互作用について検討した。その結果、DNA上でのポリメラーゼ反応では、酵素のDNA上への結合、DNA鎖の伸長反応、反応後の酵素の脱離反応の各過程が同時に定量できることがわかった。従来のRIラベル化電気泳動法などに比べて各反応過程の速度定数が定量的に求められることがわかった。また、生体内でのタンパク質消化機構のモデルとして、タンパク質のユビキチン化反応についても検討し、水晶発振子上でタンパク質-タンパク質間相互作用が定量できることもわかった。

今後は、より複雑な生体分子間分子認識として、水晶発振子上での糖鎖認識や酵素反応についても検討する。また、水晶発振子の新しい利用法として、外部刺激に応答した分子間相互作用の制御を重量変化として追跡する方法についても検討する。

2. 研究実施体制

(1) 岡畑グループ

① グループ長名: 岡畑 恵雄(東京工業大学大学院 生命理工学研究科 教授)

② 研究項目

1) DNA-タンパク質間相互作用の解明

2) タンパク質の発現とタンパク質間相互作用の解明

3) 複雑系タンパク質間相互作用の解明と構築

(2) 関グループ

① グループ長名: 関 隆広 (東京工業大学 資源化学研究所 助教授)

② 研究項目

1) 水晶発振子の多機能化

(3) 古澤グループ

① グループ長名: 古澤 宏幸 (東京工業大学 ベンチャービジネスラボ非常勤職員)

② 研究項目

1) 水晶発振子の振幅変化の制御