

細胞の動的・高次構造体  
2022 年度採択研究代表者

2022 年度  
年次報告書

蓑島 維文

大阪大学 大学院工学研究科  
准教授

持続可能な標識法による時間無制限オルガネラ動態イメージング

## 研究成果の概要

本研究課題では、標的タンパク質に入れ替わり可能な蛍光プローブを添加することで、実質的に蛍光ラベル化状態を長時間維持できる手法を開発する。この手法を用いて1分子イメージング、生細胞イメージング、超解像イメージングを行うことで、細胞内オルガネラのような高次構造体を観察し、その長時間にわたる動態を明らかにすることを目的とした。

まずはイメージング手法の構築にあたり、標的タンパク質を入れ替わり標識可能な蛍光ラベル化法に着目し、蛍光プローブの開発を進めた。この手法では標的タンパク質に比較的サイズの小さいタンパク質を標識用のタグとして融合発現し、タグと可逆的に結合する蛍光プローブによって標識する。蛍光プローブには、標識時に蛍光を増大させる仕組み(発蛍光性)を導入しており、親水性、疎水性環境の変化に応答する蛍光色素を選択し設計、合成した。この結果、バックグラウンド蛍光が低減し、コントラスト良く生細胞内の核、ミトコンドリアといったオルガネラをイメージングすることができた。

今年度は特に、異なるオルガネラの同時に観察するため、マルチカラーイメージングに向けた蛍光プローブ開発に取り組んだ。分子間の静電的相互作用に着目し、適した蛍光波長を持つ蛍光プローブを設計し、選択的に結合するタンパク質タグを見出した。また、ここで見出したプローブとタグの対は、従来の標識システムと直交的にはたらし、併用してイメージングに利用できることが示された。これらの結果を特許出願した。

また、1分子イメージングの系において共同研究を実施し、タグタンパク質へ蛍光プローブが素早く結合と解離を繰り返して標識することが観察された。ここで得られた結合および解離速度のパラメータを用いて、標的タンパク質の長時間にわたる1分子イメージングを達成した。