

小澤 岳 昌（助教授）（2005 年 4 月 1 日着任）

A-1) 専門領域：分析化学、生物物理

A-2) 研究課題：

- a) タンパク質オルガネラ移行の低侵襲的動態解析法の開発
- b) 細胞内小分子の可視化検出法に関する研究
- c) ミトコンドリア mRNA の可視化検出法に関する研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 生きている動植物個体内では、生体分子の濃度あるいは活性がダイナミックに変動し、相互にネットワークを構築して、細胞や個体としての高次機能を発現している。この生体分子の機能を解析するためには、生きた動物個体に低侵襲的な“生体分子イメージング”のための基盤技術が必要である。我々は、タンパク質再構成系というペプチド結合の切断と再連結に基づくレポータータンパク質を開発し、タンパク質間相互作用や細胞内タンパク質の動態を検出するプローブ開発を進めてきた。本年度は、ミトコンドリアから Smac タンパク質が放出される時、発光タンパク質の一つ renilla luciferase (Rluc) が再構成される機能性発光タンパク質プローブを開発した。開発したプローブを用いて、細胞死に伴う Smac タンパク質のミトコンドリアからの放出が、生きたマウス個体で低侵襲的に時空間解析できることを実証した。開発したプローブは、タンパク質の細胞内動態を生きた動物個体内で検出できる一般性を有する。
- b) 生体内で機能する cyclic adenosine monophosphate (cAMP) と cyclic guanosine monophosphate (cGMP) は、細胞内情報伝達過程に重要な細胞内小分子である。cAMP と cGMP の時間的、空間的な情報伝達過程を、生きた生物個体内で可視化することはこれまで困難であった。我々は、生きた動物と植物個体内で機能する cAMP と cGMP の検出を目的として、cAMP および cGMP に選択的な発光タンパク質プローブを開発した。細胞外刺激に伴う生きた細胞内の cAMP および cGMP の濃度上昇を、高感度かつ高選択的に時空間解析できることを実証した。
- c) 塩基配列特異的に mRNA を認識検出する蛍光タンパク質プローブを分子設計し、生きた細胞内 mRNA の動態をイメージングする方法を開発した。標的とする mRNA は、ミトコンドリアゲノムから合成される NADH dehydrogenase subunit 6 (ND6) mRNA とした。RNA 結合タンパク質の核酸認識アミノ酸を置換し、ND6 mRNA を特異的に認識する RNA 結合タンパク質を作製した。このタンパク質を用いて、生きた細胞内におけるミトコンドリア内 ND6 mRNA の局在とその動態を明らかにした。細胞内在性の mRNA を可視化できる新たな原理に基づくプローブであり、細胞内 RNA の機能解析の進展が期待できる。

B-1) 学術論文

- A. KANNO, T. OZAWA and Y. UMEZAWA, “Genetically Encoded Optical Probe for Detecting Release of Proteins from Mitochondria toward Cytosol in Living Cells and Mammals,” *Anal. Chem.* **78**, 8076–8081 (2006).
- S. B. KIM, Y. NATORI, T. OZAWA, Y. UMEZAWA and H. TAO, “A Method for Determining the Activities of Cytokines Based on the Nuclear Transport of Nuclear Factor- κ B,” *Anal. Biochem.* **359**, 147–149 (2006).

A. KANNO, T. OZAWA and Y. UMEZAWA, "Intein-Mediated Reporter Gene Assay for Detecting Protein-Protein Interactions in Living Mammalian Cells," *Anal. Chem.* **78**, 556–560 (2006).

T. OZAWA, "Designing Split Reporter Proteins for Analytical Tools," *Anal. Chim. Acta* **556**, 58–68 (2006).

B-3) 総説、著書

M. TAKEUCHI and T. OZAWA, "Frontiers in Bioimaging," *ACS Chem. Biol.* **1**, 333–334 (2006).

小澤岳昌, 「マウス個体におけるタンパク質動態イメージング」, *細胞工学* **25**, 1019–1022 (2006).

小澤岳昌, 「細胞内情報を視覚化するタンパク質試薬」, *高分子* **55**, 343 (2006).

小澤岳昌、梅澤喜夫, 「新しい蛍光タンパク質とその応用」, *ゲノム医学* **6**, 277–280 (2006).

小澤岳昌, 「タンパク質の局在を知る——プロテインスプライシングを利用したイメージング技術の開発」, *バイオニクス* **3**, 52–57 (2006).

小澤岳昌, 「スプリットルシフェラーゼを用いた細胞内シグナル解析法」, *バイオテクノロジージャーナル* **6**, 225–228 (2006).

小澤岳昌, 「バイオテクノロジーにおける生物発光」, *バイオ・ケミルミネセンスハンドブック*, 今井一洋、近江谷克裕編, 丸善株式会社, 44–58 (2006).

小澤岳昌, 「フローサイトメーター、基本原理と装置開発の方向性について」, *ぶんせき* **384**, 640–641 (2006).

B-4) 招待講演

T. OZAWA, "Methods for identifying organelle-targeting proteins," The second NIBB-EMBL Symposium, Aichi, 2006年3月.

小澤岳昌, 「発光プローブが拓くタンパク質の局在解析法」, 特定領域研究2領域合同公開シンポジウム, 大阪, 2006年6月.

小澤岳昌, 「光タンパク質の新たなデザインと生体機能の可視化」, 生物発光化学発光研究会第24回学術講演会, 東京, 2006年7月.

小澤岳昌, 「生体分子イメージングが拓く新たな化学物質スクリーニング法」, 東京コンファレンス 2006, 千葉, 2006年9月.

小澤岳昌, 「光タンパク質を用いた生体分子の局在解析法」, 第12回生化学会テクニカルセミナー, 大阪, 2006年9月.

T. OZAWA, "Design of split reporter proteins for biomolecular imaging," Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology, Seoul, Korea, 2006年10月.

小澤岳昌, 「光プローブ分子による生体分子機能解析」, 第33回日本低温医学会総会, 東京, 2006年11月.

小澤岳昌, 「光プローブの新たなデザインと生体機能の可視化」, JAXA 第2回学際領域における分子イメージングフォーラム, 東京, 2006年11月.

B-6) 受賞、表彰

小澤岳昌, 日本化学会進歩賞 (2004).

小澤岳昌, 文部科学大臣表彰若手科学者賞 (2005).

B-7) 学会および社会的活動

学会の組織委員

東京コンファレンス 2004実行委員 (2004).

日本化学会年会プログラム編成委員 (2004-2005).

基礎生物学研究所バイオイメージングアドバイザー委員 (2006-).

B-10)外部獲得資金

住友財団基礎科学研究助成,「蛍光共鳴エネルギー移動による細胞内蛋白質間相互作用の可視化と細胞機能発現の解析」, 小澤岳昌 (1998年-2000年).

笹川科学研究助成,「インシュリン情報伝達系に基づく生理活性物質の化学選択性評価法の研究」, 小澤岳昌 (1999年-2000年).

日産科学振興財団奨励研究,「糖輸送蛋白質の蛍光プローブによる可視化に関する研究」, 小澤岳昌 (1999年-2001年).

奨励研究(A),「インシュリン情報伝達系に基づく生理活性物質の化学選択性評価法の創製」, 小澤岳昌 (1999年-2001年).

武田科学振興財団一般研究奨励,「新規蛍光プローブ分子を用いた細胞内タンパク質ネットワークの網羅解析法」, 小澤岳昌 (2002年-2004年).

若手研究(A),「プロテインスプライシング反応を利用した機能性プローブ分子の開発と応用」, 小澤岳昌 (2003年-2006年).

科学技術振興機構さきがけ研究,「タンパク質のオルガネラ移行と遺伝子発現の非侵襲的時空間解析法の確立」, 小澤岳昌 (2003年-2006年).

旭硝子財団奨励研究助成,「動物個体内での遺伝子発現を時空間解析する光プローブの開発」, 小澤岳昌 (2004年-2006年).

基盤研究(B),「生体内情報伝達分子の可視化検出法に関する研究」, 小澤岳昌 (2006年-2008年).

特定領域研究,「タンパク質立体構造情報に基づく生物発光プローブの開発」, 小澤岳昌 (2006-2007年).

新エネルギー・産業技術総合開発機構・産業技術研究助成事業,「低侵襲的生体分子イメージングに向けた生物発光プローブの開発」, 小澤岳昌 (2006年-2008年).

山田科学振興財団,「動物個体内の生体分子を可視化する機能性発光タンパク質の開発」, 小澤岳昌 (2006年-2007年).

上原記念生命科学財団,「ミトコンドリアRNAの可視化解析」, 小澤岳昌 (2006年-2007年).

C) 研究活動の課題と展望

蛍光タンパク質(GFP)や発光タンパク質(luciferase)のペプチド結合の切断と再連結を利用したタンパク質再構成系は、我々が世界に先駆けて創出した方法であり、未知の生命現象を解明するための新たな基盤技術として多くの応用可能性を有している。本年度までに開発した、細胞内小分子検出プローブおよびタンパク質間相互作用検出プローブを用いて、今後は動植物個体で機能する生体分子を低侵襲的にイメージングできることを実証する。また多種多様な生体分子を可視化するためには、新たな独創的原理に基づくプローブ開発が必要不可欠である。これまで可視化することが困難であった動物個体内のRNA動態など、標的分子を可視化するための要素技術を創案し、新たな顕微鏡システム開発を含めた生物個体内の分子イメージングを可能にする基盤技術の展開を目指す。