



細胞内蛋白質の迅速で高感度な 蛍光レベル化技術

大阪大学大学院工学研究科 先端生命工学専攻 教授 菊地 和也

技術概要

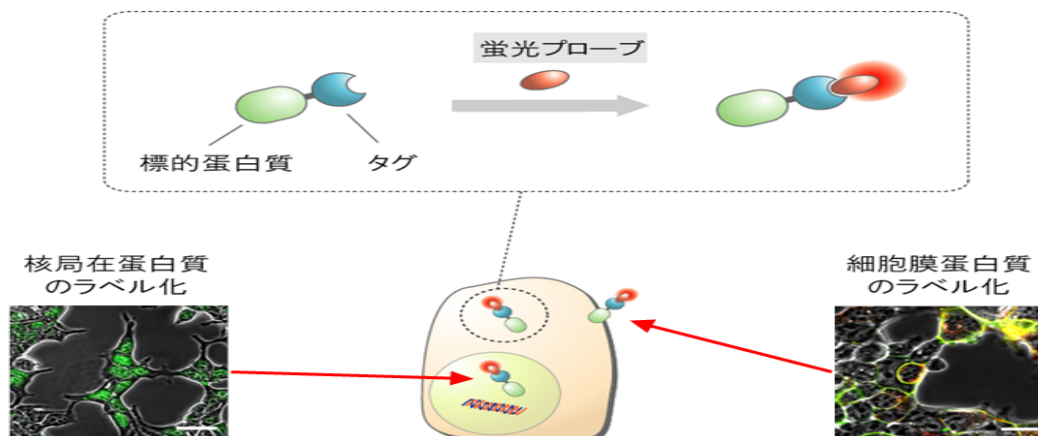
●技術概要

蛍光型(Fluorescent)および発蛍光型(Fluorogenic)の低分子蛍光プローブを用いた、細胞内および細胞膜上の蛋白質のラベル化技術。

●特徴

蛍光ラベル化のために用いるタグ蛋白質として、変異型βラクタマーゼ(BL-tag)を用いるシステムと、Photoactive Yellow Protein(PYP-tag)を用いるシステムとを考案し、それぞれに選択的に適用可能な蛍光プローブを複数種開発している。

本技術で用いる各種蛍光プローブは、非常に低濃度(nMオーダー)でのラベル化が可能。化合物濃度を抑えることにより、バックグラウンドノイズを気にする必要がなくラベル化後の洗浄操作も不要。また、発蛍光型ラベル化プローブは、高濃度条件でも非洗浄ラベル化が可能のため、迅速なラベル化が可能である。さらに、細胞膜を透過する蛍光プローブの設計にも成功しており、細胞内蛋白質のラベル化にも効果的と言える。発蛍光型プローブのラベル化スピードは、非常に速く(数分~数十分程度)、プローブ結合後は速やかに発光が生じるためほぼリアルタイムでの解析が可能であり、上記の類似技術と比べても同等以上の実績を有する。



実用化イメージ

【想定される用途】 <研究用ツール>

- ・生細胞における蛋白質発現の確認(経時変化の確認、局在の確認)
- ・疾患関連タンパク質の機能解析(イオンチャネルや膜タンパク質との結合確認)
- ・iPS細胞やES細胞における内在タンパク質の発現や挙動の確認

知財状況

●公開番号

WO2010/104124, WO2012/105596 他
(学内整理番号: G20090072WO, G20110046)

研究者からの一言

既存技術のうち、PYP-tagは、洗浄操作なしで迅速に共有結合標識できる最も小さなタグであり、蛋白質の高精度な時空間解析に最適である。

研究者情報

部局・専攻: 大学院工学研究科・先端生命工学専攻
役職・氏名: 教授・菊地和也
研究室URL:
<http://www-molpro.mls.eng.osaka-u.ac.jp/>