

Title	表面プラズモン共鳴法と蛍光エネルギー移動法を用いたタンパク質動態の1分子イメージング
Author(s)	横田, 浩章
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3144088
DOI	10.11501/3144088
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	横田 浩章
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 13973 号
学位授与年月日	平成10年 3月 25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	表面プラズモン共鳴法と蛍光エネルギー移動法を用いたタンパク質動態の1分子イメージング
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄 (副査) 教授 佐藤 俊輔 教授 村上富士夫

論文内容の要旨

固体中、溶液中や生物システム内での分子の挙動は、莫大な数の分子から得られたデータをもとに特徴づけられている。このような実験からは、個々の分子で起こっている事象は多数の分子の平均としてしか類推できず、1分子の特性を引き出すのは難しい。これらの問題点を克服するために、物理、化学、生物学の各分野で、1分子を検出したたり、イメージングしたりする技術が開発されてきている。これらの技術は、一般的に不均一で複雑な生物システムには特に有用である。

本研究では、我々のグループが開発した背景光を従来に比べて劇的に減少させることのできる全反射型顕微鏡(TIRFM)を用いた1分子蛍光イメージング法を発展させ、タンパク質動態の1分子イメージングをすることを目的とした。

第1の研究では、表面プラズモン共鳴を用いて、金属表面の上の活性にあるタンパク質1分子に蛍光標識された蛍光分子の1分子をイメージングできる新しい技術を開発した。蛍光色素の励起には、金属薄膜と溶液の境界に発生した表面プラズモンによる表面近傍に局在するエバネッセント場を用いた。金属表面は、チオール基との共有結合によって、タンパク質や脂質の自己集合や自己組織化がおこる独特の性質を持っており、その秩序だった超分子構造は、細胞膜のような2次元システムのさらなる理解に欠かせないものである。

第2の研究では、蛍光1分子イメージング技術をもとに、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)法を利用して、タンパク質1分子内の構造の変化を実時間で直接観察した。エネルギー移動効率は、2つの蛍光色素の相対的な位置に敏感であるので、ドナー、アクセプターの蛍光強度を測定し、エネルギー移動効率を調べることで、2つの蛍光分子の相対的空間配置について知見を与える。アクチン1分子内にドナー、アクセプター色素を導入し、それら1分子の蛍光強度を同時にモニター、あるいは分光してスペクトルをとったところ、エネルギー移動効率が秒オーダーのゆっくりした変化をし、タンパク質1分子内にも構造のゆらぎが存在するらしい結果を得た。

論文審査の結果の要旨

固体中、溶液中や生物システム内での分子の挙動は、莫大な数の分子から得られたデータをもとに特徴づけられて

いる。このような実験からは、個々の分子で起こっている事象は多数の分子の平均としてしか類推できず、1分子の特性を引き出すのは難しい。これらの問題点を克服するために、物理、化学、生物学の各分野で、1分子を検出した、イメージングしたりする技術が開発されてきている。これらの技術は、一般的に不均一で複雑な生物システムには特に有用である。

本研究では、我々のグループが開発した背景光を従来に比べて劇的に減少させることのできる全反射型顕微鏡 (TIRFM) を用いた1分子蛍光イメージング法を進展させ、タンパク質動態の1分子イメージングをすることを目的とした。

第1の研究では、表面プラズモン共鳴を用いて、金属表面の上の活性にあるタンパク質1分子に蛍光標識された蛍光分子の1分子をイメージングできる新しい技術を開発した。蛍光色素の励起には、金属薄膜と溶液の境界に発生した表面プラズモンによる表面近傍に局在するエバネッセント場を用いた。金属表面は、チオール基との共有結合によって、タンパク質や脂質の自己集合や自己組織化がおこる独特の性質を持っており、その秩序だった超分子構造は、細胞膜のような2次元システムのさらなる理解に欠かせないものである。

第2の研究では、蛍光1分子イメージング技術をもとに、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法を利用して、タンパク質1分子内の構造の変化を実時間で直接観察した。エネルギー移動効率は、2つの蛍光色素の相対的な位置に敏感であるので、ドナー、アクセプターの蛍光強度を測定し、エネルギー移動効率を調べることで、2つの蛍光分子の相対的空間配置について知見を与える。アクチン1分子内にドナー、アクセプター色素を導入し、それら1分子の蛍光強度を同時にモニター、あるいは分光してスペクトルをとったところ、エネルギー移動効率が秒オーダーのゆっくりした変化をし、タンパク質1分子内にも構造のゆらぎが存在するらしい結果を得た。

以上のように、本論文では1分子蛍光イメージング法を進展させ、従来の測定系では得られなかったタンパク質分子動態の1分子イメージングに成功した。したがって、本論文は、博士(理学)の学位論文として、価値あるものと認める。