

東京大学 グローバル COE 特別セミナー

東京大学大学院 理学系研究科 生物化学専攻

演者： 上村想太郎 博士

スタンフォード大学 博士研究員

科学技術研究機構 さきがけ専任研究者

演題： Zero- Mode Waveguides 法を用いた次世代 1 分子計測
によるタンパク質翻訳リアルタイム可視化

日時：平成 22 年 7 月 14 日 (水) 15:00~16:00

場所：東京大学理学部 3 号館 3F 327 号室

1 分子蛍光イメージング法は、蛍光色素をタンパク質や核酸などの特定の部位に付けることで分子 1 つ 1 つの動きを直接リアルタイムに計測することができる手法である。しかし、従来の 1 分子蛍光イメージング法は、細胞内の本来の環境に比べると極めて低い濃度 (~ 50nM) で測定することしかできないことから、研究の対象となるタンパク質や核酸が細胞内でどのように働いているか分からないことが問題だった。その原因は、溶液内に浮遊している蛍光因子も蛍光励起されてしまうため、背景光と基板固定された目的分子に結合する蛍光シグナルとの識別が困難であることである。

去年、リボソームの分子構造を突き止めた研究者 3 人がノーベル化学賞を受賞した。リボソームの構造が明らかになったことはタンパク質翻訳機構の理解に大きな貢献をしたが、構造を解明するには分子を結晶化しなければならないため、時々刻々と変化する分子の動的な変化を捉えることは難しい。この問題を解決するために通常用いられる手法は多数の分子を用いる生化学的手法である、これはすべての分子が同様に振る舞うことが前提であり、個々の分子の特性をとらえることは困難である。

我々は、イメージングの手法として、次世代 DNA シーケンサーに用いられている 1 分子イメージング法の「Zero-mode waveguides 法 (ZMW 法)」に目を付けた。ZMW 法は、基板にアルミニウム膜を蒸着させて 100 nm ほどの穴を開けたところに局所励起光を当てるため、蛍光色素が高濃度に存在していても背景光を激減させることができる。そのため、上述の問題をすべて解決し、より細胞内に近い条件で 1 分子レベルにおけるリボソームの翻訳反応を直接可視化することができる。具体的には、リボソーム 1 分子を ZMW 基板の穴の底に固定し、穴に対してそれぞれ異なる蛍光色素で標識した 3 種類の tRNA を高濃度 (従来法による測定限界のおよそ 50 倍濃い濃度) に含む溶液で満たした。

そして、穴の底側から 3 色の蛍光色素を励起する 3 種類の励起光を同時に当てることで蛍光を観測した。

その結果、蛍光 tRNA が、コドン情報に従って底に固定されたリボソームに次々と結合・解離する様子が可視化された (Uemura, S et al *Nature* 2010)。

今回の成果から、翻訳中は tRNA が 2 分子付いた状態と 1 分子付いた状態とを繰り返すことが分かった。さらに、抗生物質薬剤による翻訳阻害反応も可視化することに成功した。このようにタンパク質翻訳を阻害するあらゆる抗生物質の作用の仕組みを調べることによって、より詳しい阻害機構が明らかにされ、その結果、新薬開発への貢献が期待される。

世話人: 理学系研究科 濡木 理 (内線 24392)