

March 16, 2007

最終講義 化学本館 5 階講堂

「見えないものを見えるようにする」

梅澤 喜夫

東京大学大学院理学系研究科化学専攻

umezawa@chem.s.u-tokyo.ac.jp

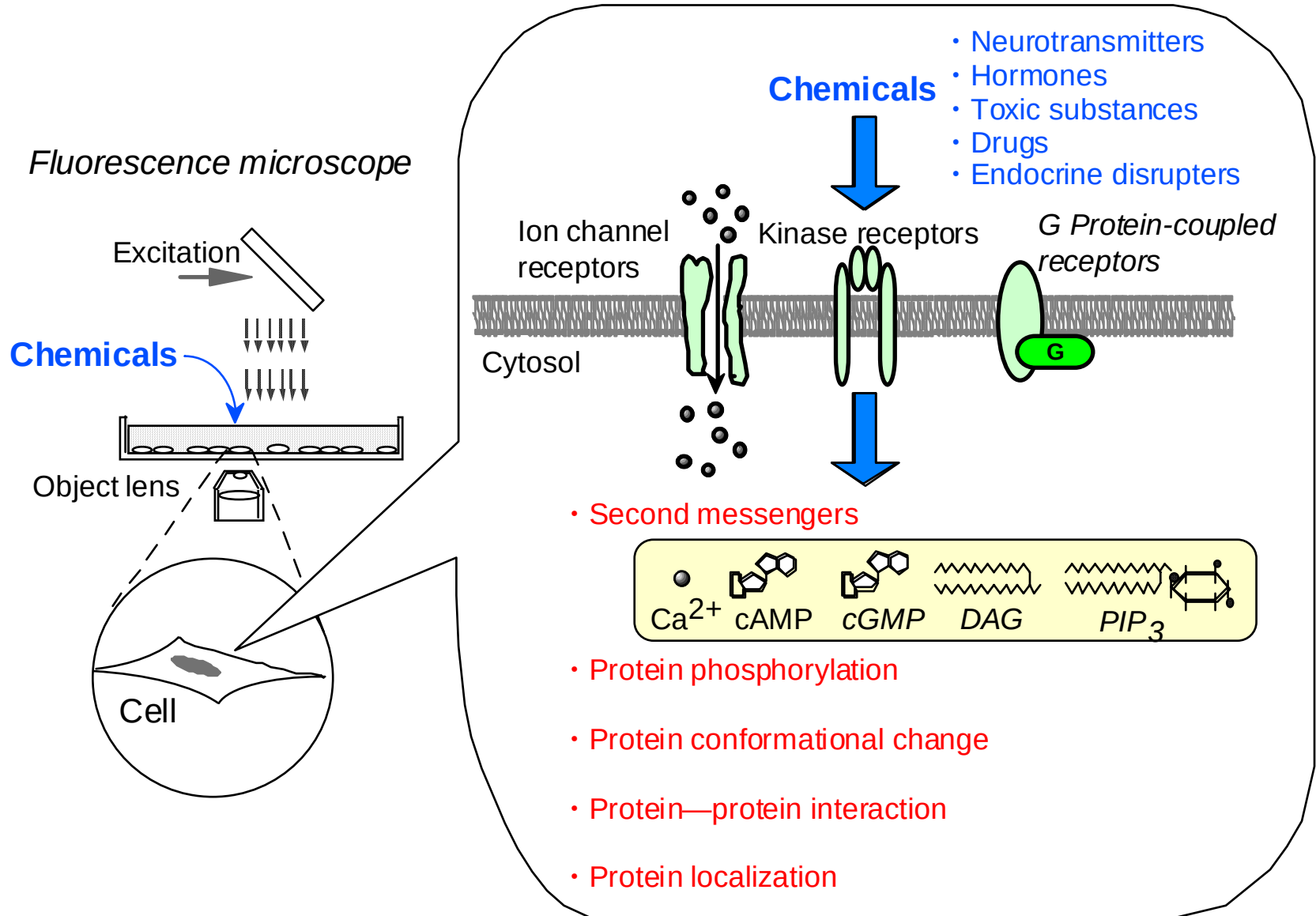
⚠: このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。

序

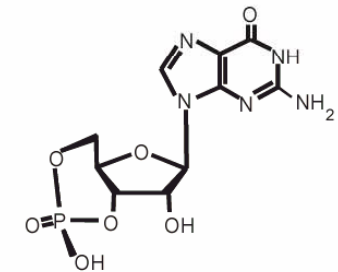
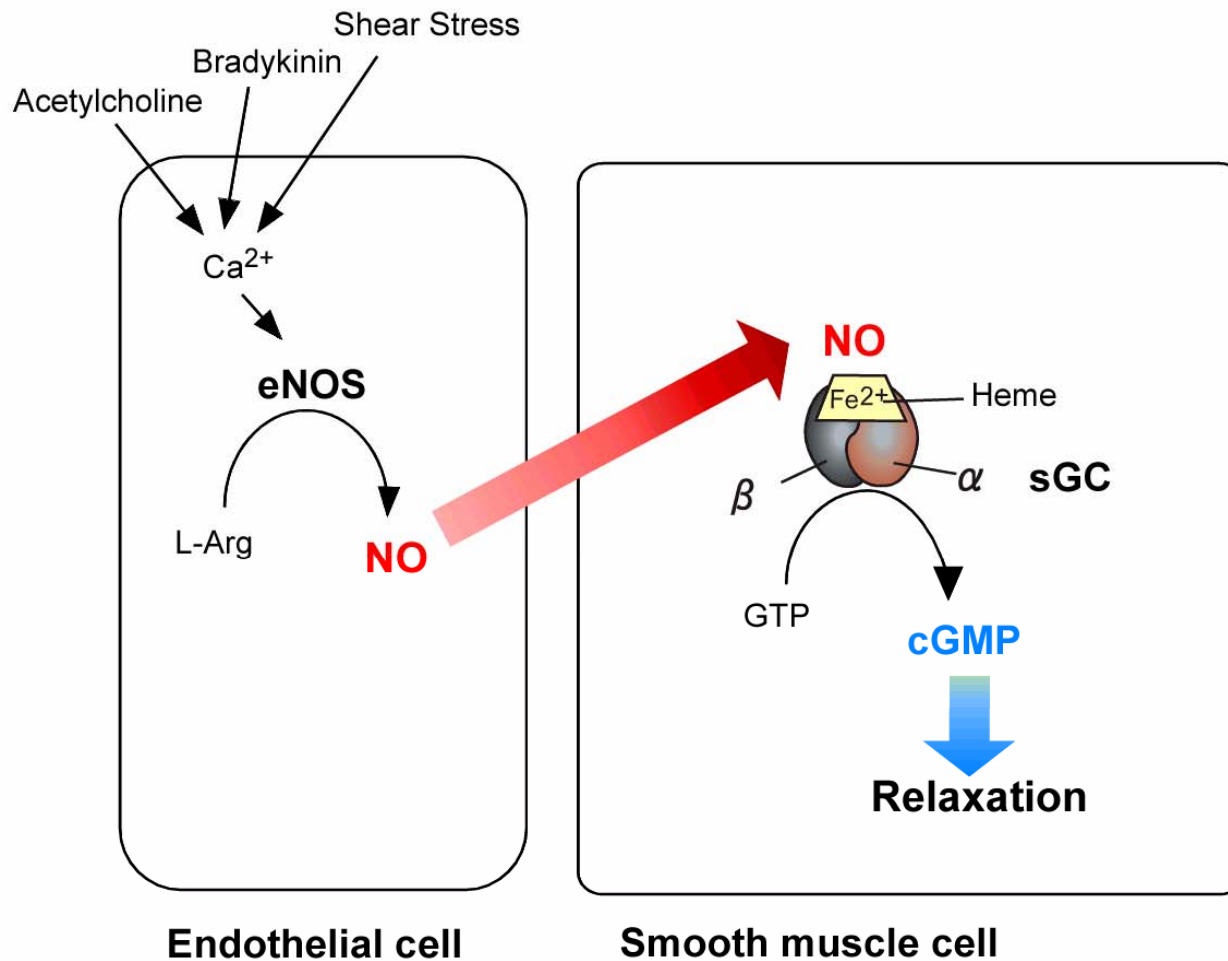
— Seeing what was unseen —

- ・ 生きた細胞内の分子過程を可視化する光プローブの研究
→ 細胞内プロセスの直接解析を可能にする.
- ・ STM分子探針と分子間電子トンネル効果顕微鏡の開発

— Imaging Molecular Events in Single Living Cells —



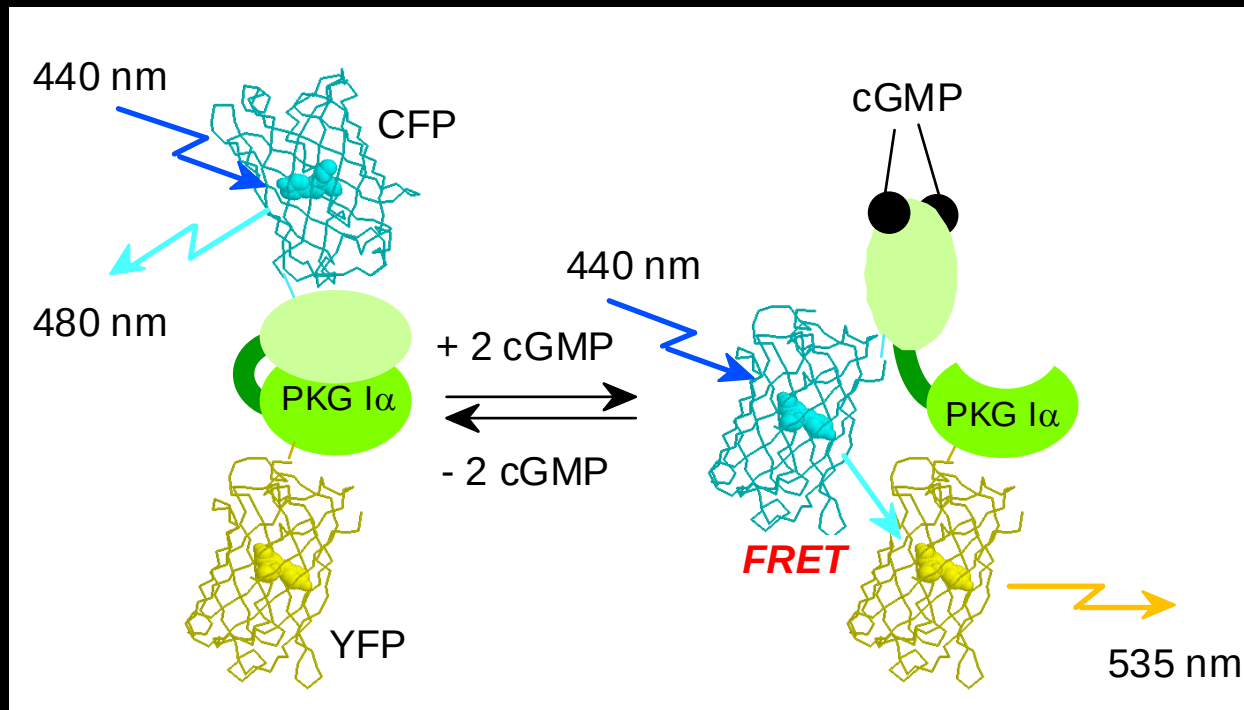
NO activates sGC that generates cGMP for the regulation of blood vessels



cGMP: Guanosine 3':5'-cyclic monophosphate

sGC: soluble guanylyl cyclase

A fluorescent indicator for cGMP, CGY



0 s 60 s 180 s 360 s 600 s



8 - B r - c G M P

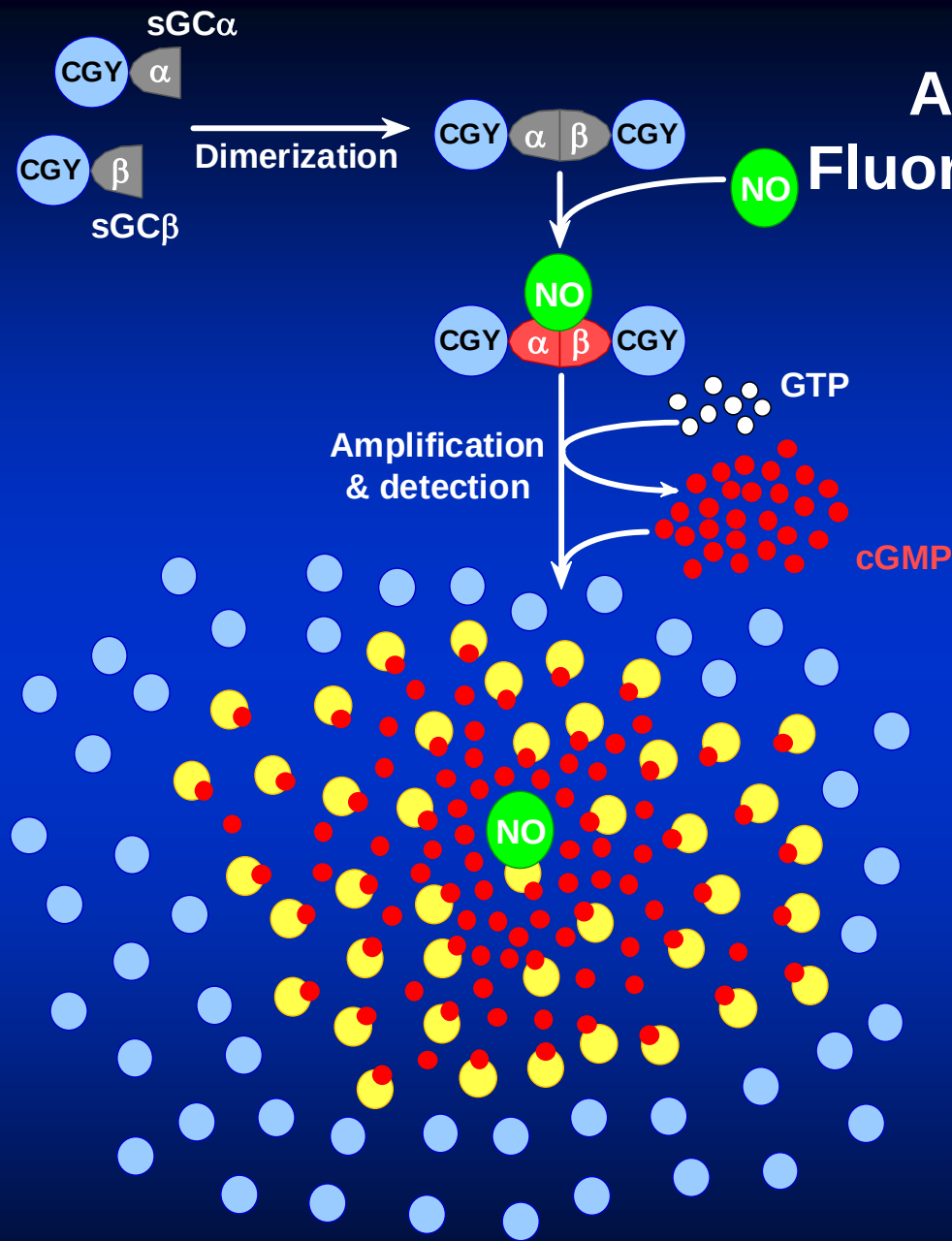
Emission ratio CFP / YFP

1.1  0.3

Nitric Oxide (NO)

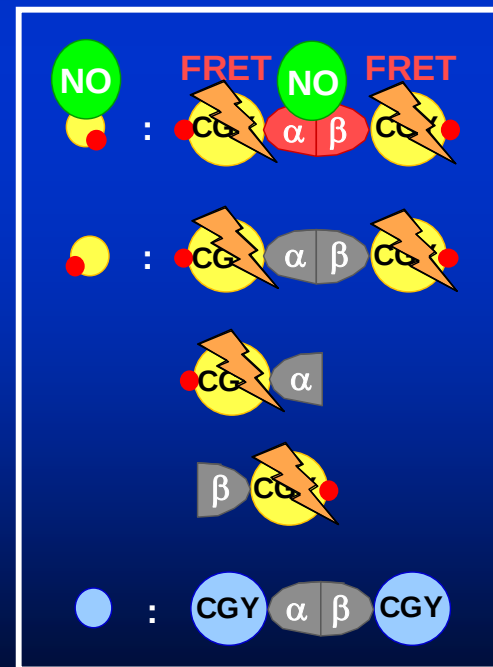


1. Cardiovascular system
2. Immune system
3. Nervous system



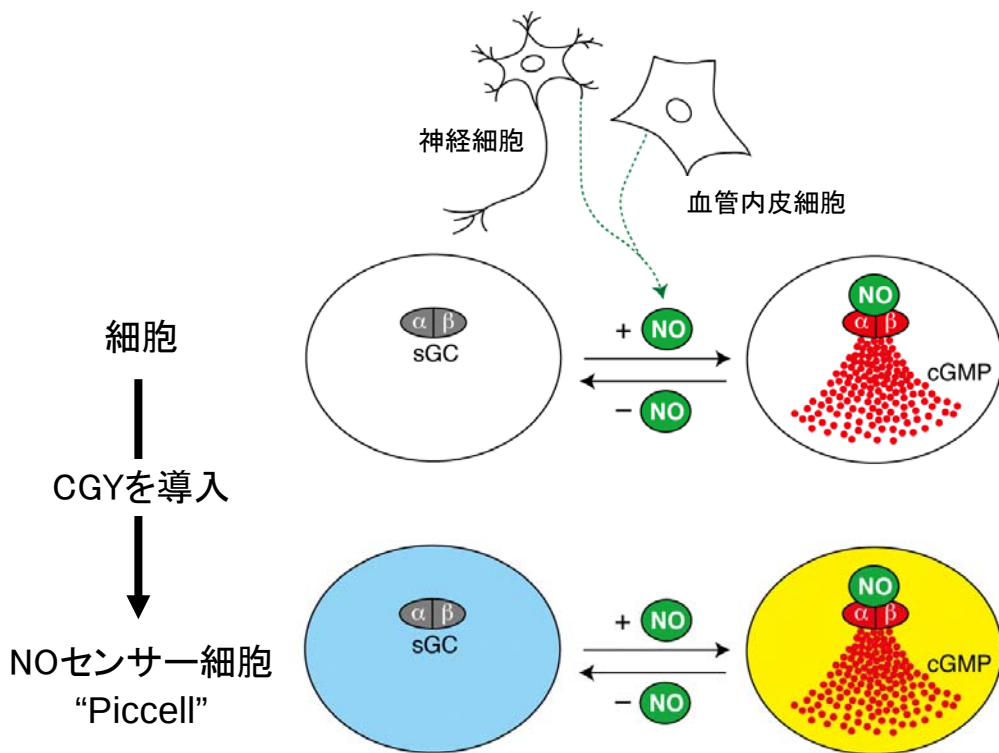
An Amplifier-Coupled Fluorescent Indicator for NO (NOA-1)

Definitions



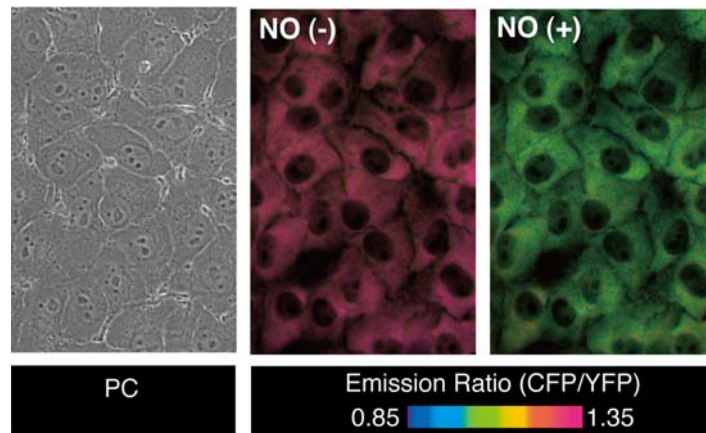
ピコモル濃度領域の一酸化窒素(NO)を検出するセンサー

～ NOセンサー細胞 “Piccell” ～

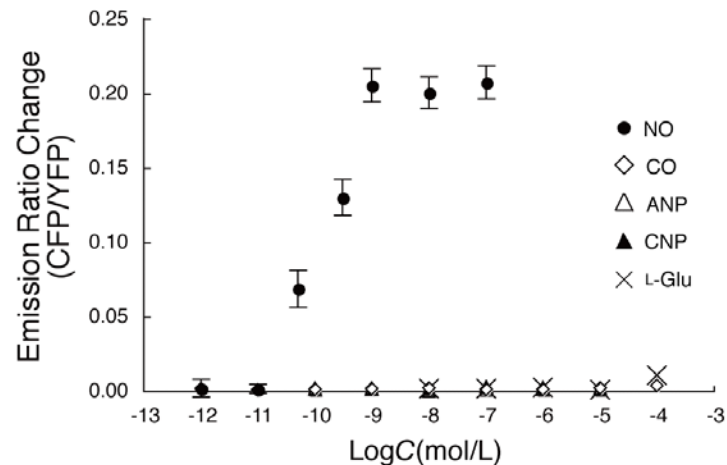


可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)は、NOと結合すると酵素活性が増大し、細胞内に大量のcGMPを生成する。

sGCを持つ細胞に、cGMP蛍光プローブ分子(CGY)を導入することで、NOを認識し、cGMPの増幅を介し、CGYにより蛍光シグナルを発するNOセンサーを構築した。

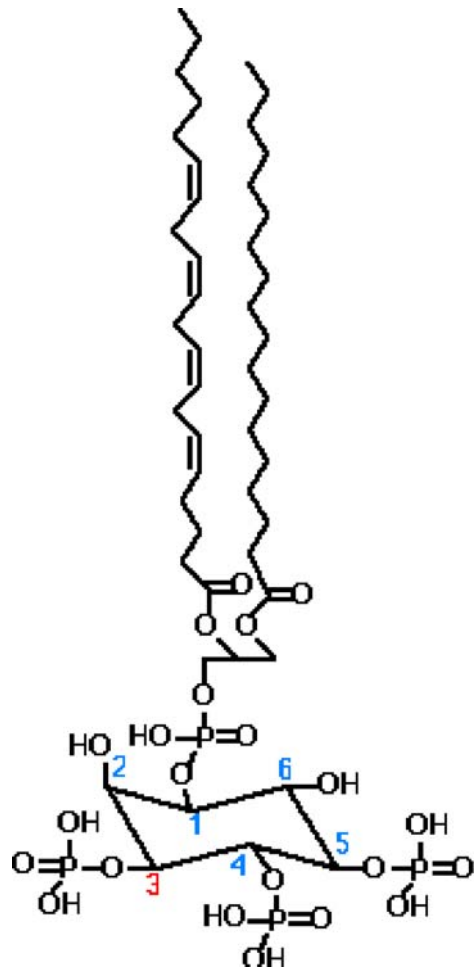


1つ1つの細胞がNOのセンサー(Piccell)となる。

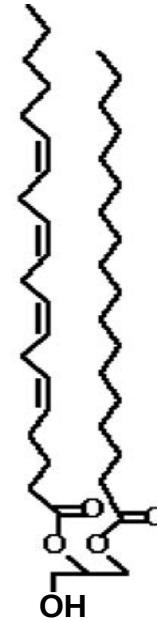


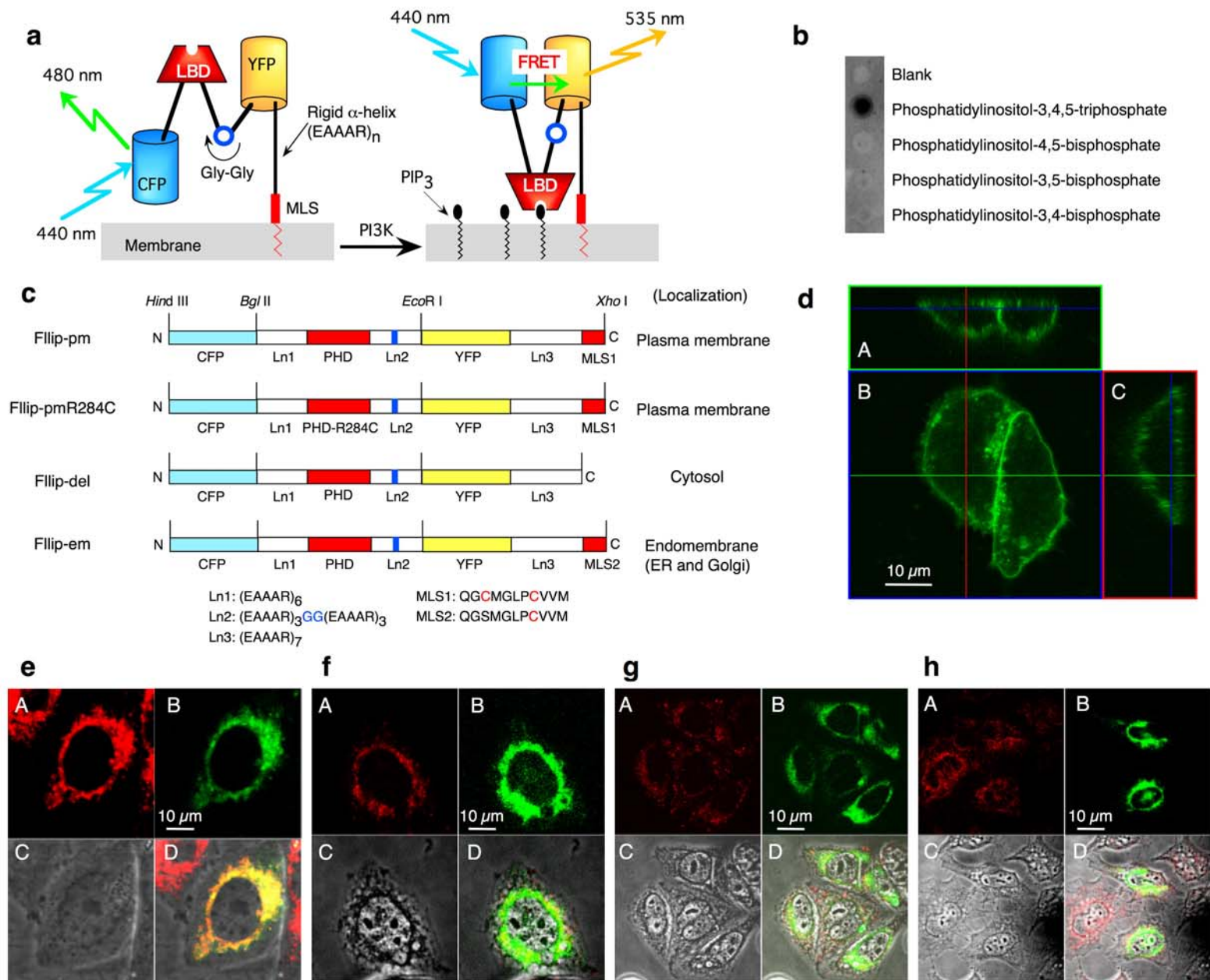
Piccell はピコモル濃度領域のNOを特異的に検出できる。

Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate; PI(3,4,5)P₃

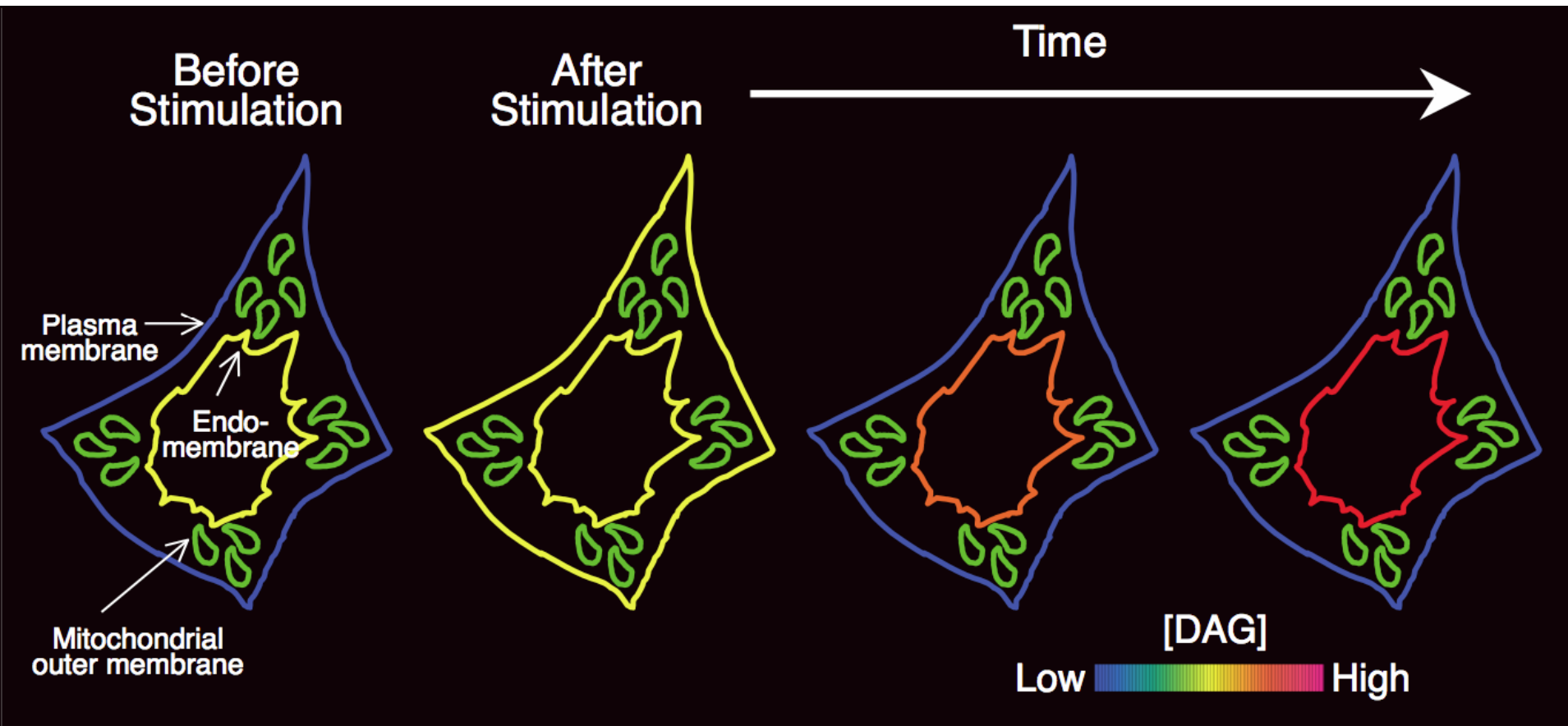


Diacylglycerol; DAG

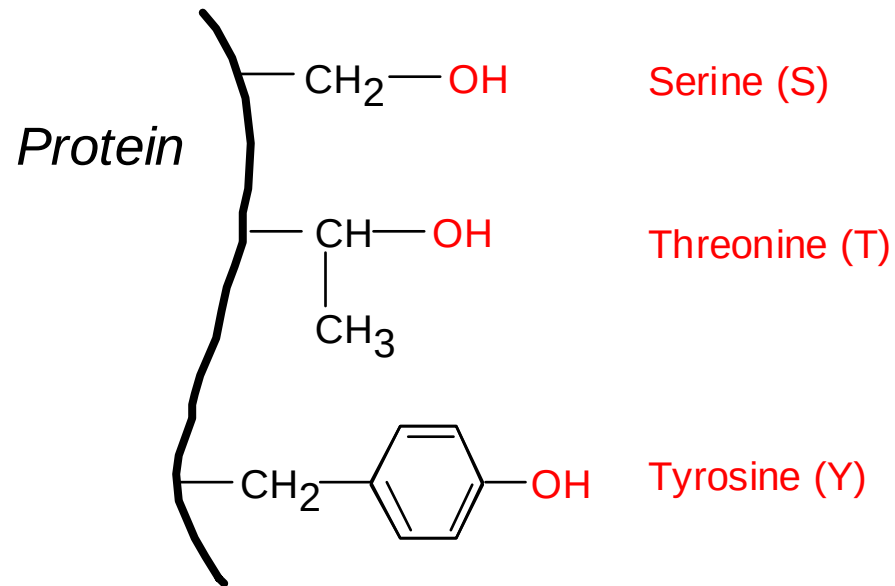
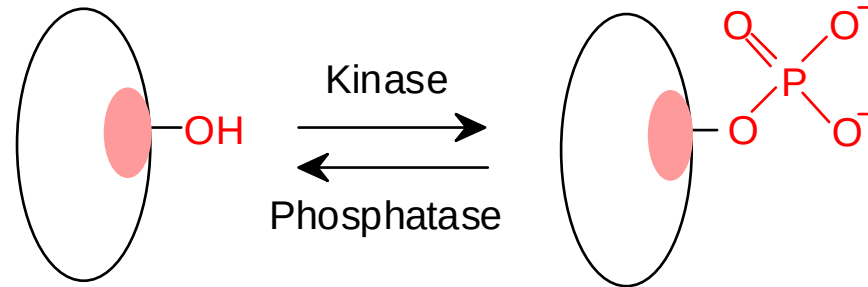


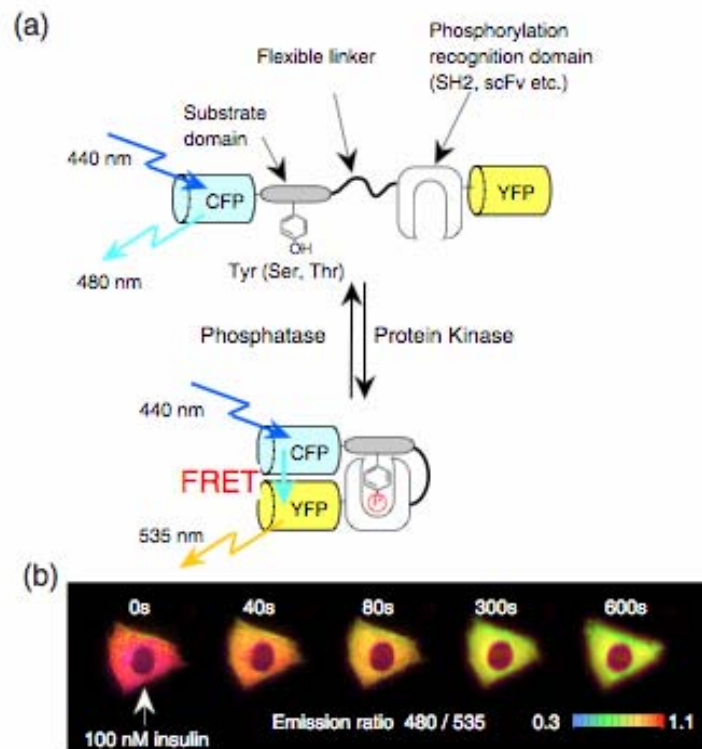


Subcellular dynamics of DAG in living cells



Protein Phosphorylation and Dephosphorylation

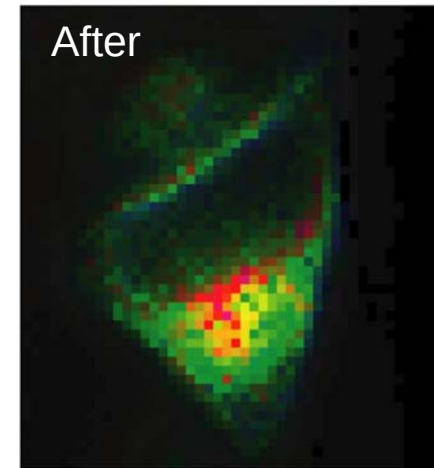
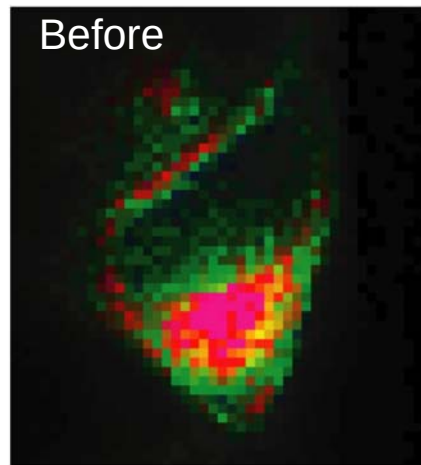




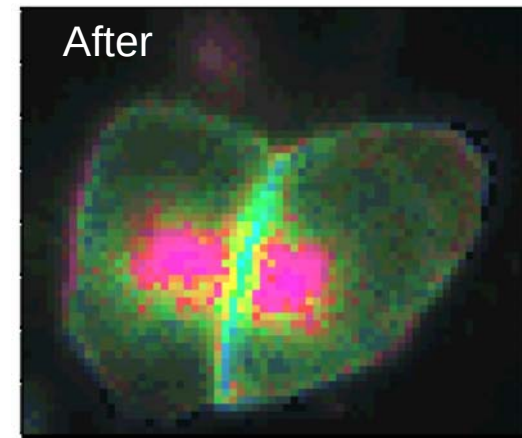
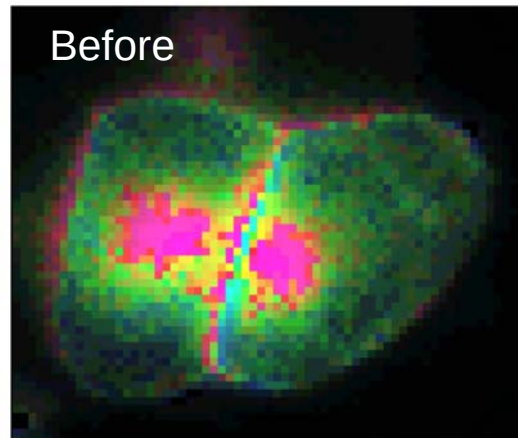
佐藤, 小澤, *Nature Biotechnol.*(2002) †

キナーゼSrcの活性化の様子に男女差があることを発見

女性ホルモン
(1 μ M Estrogen)



男性ホルモン
(1 μ M Androgen)

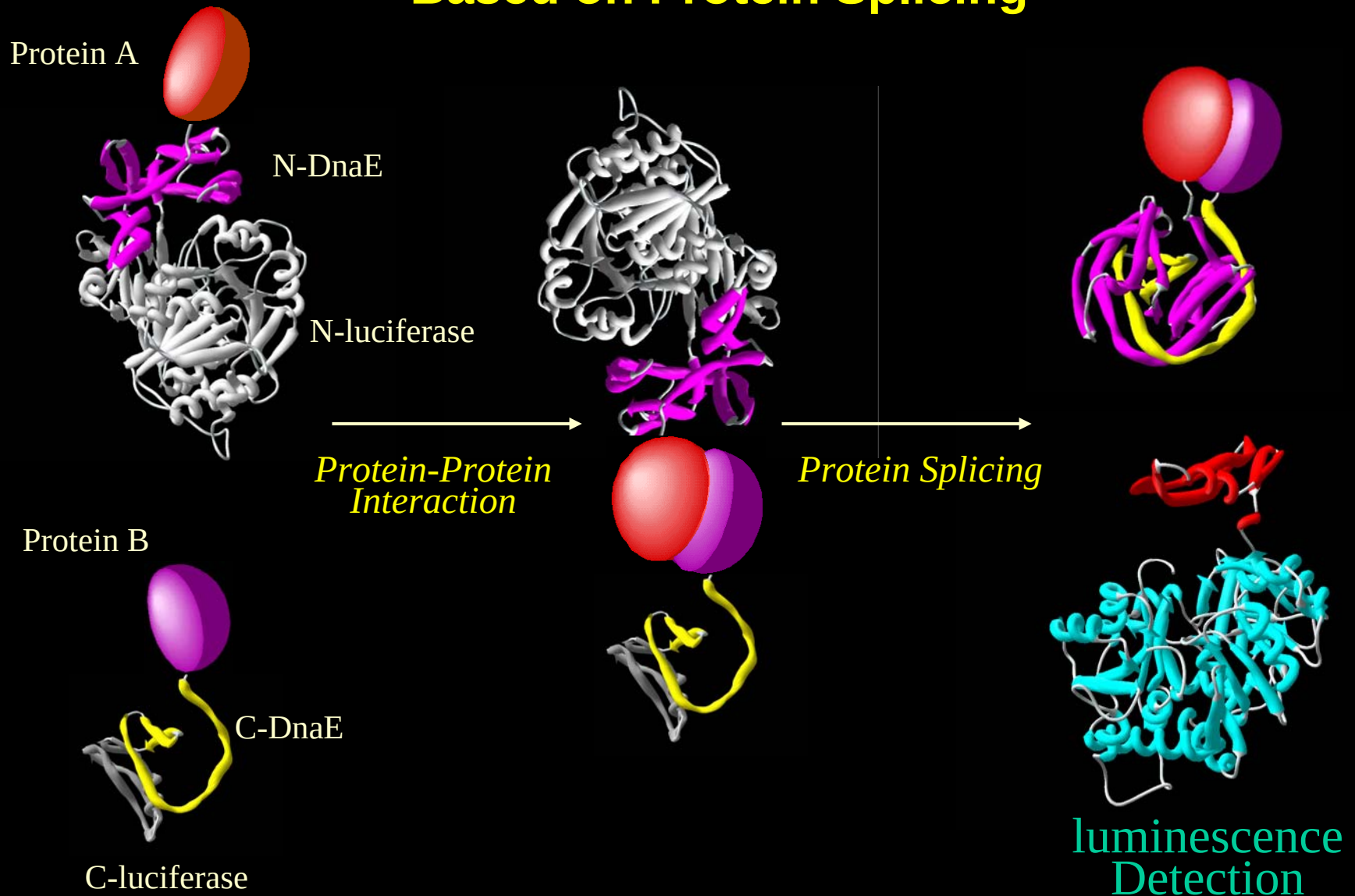


Srcキナーゼ活性
低  高

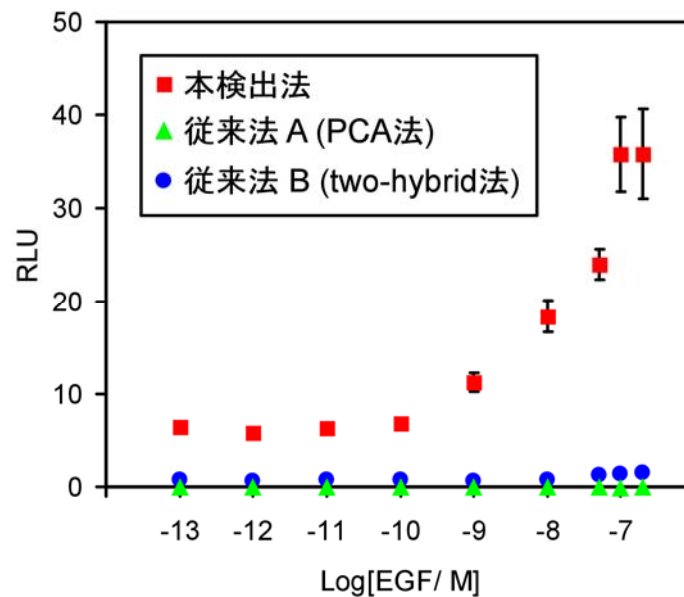
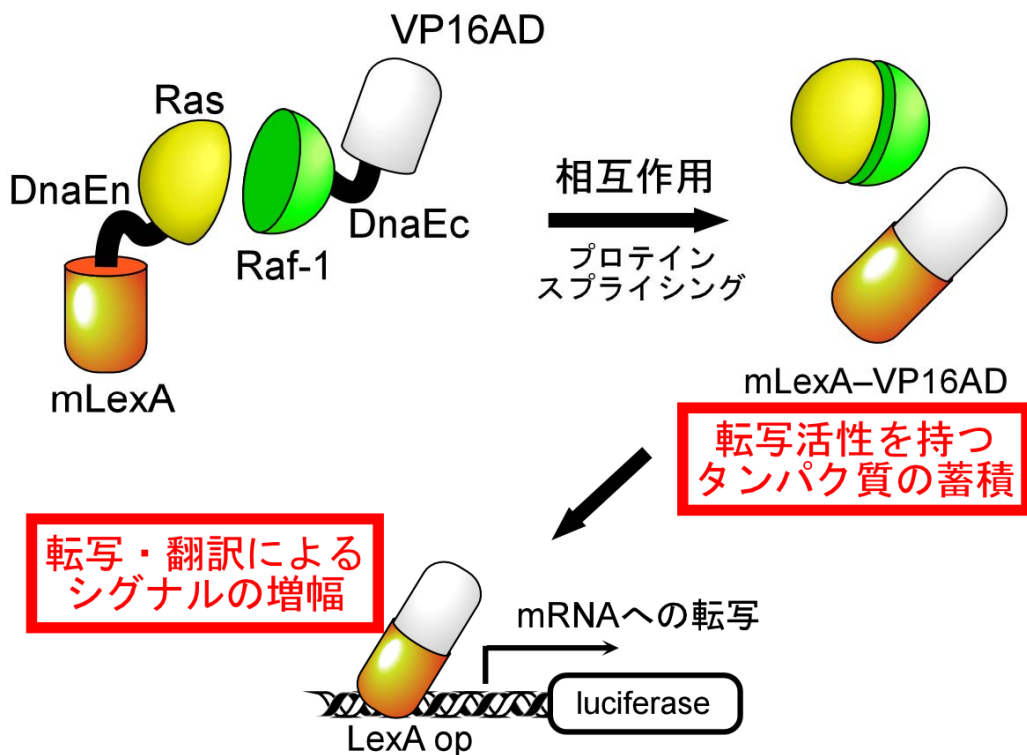
一杉, 佐々木, 佐藤, 鈴木, *J. Biol. Chem.* (2007)



Principle of Detecting Protein-Protein Interactions Based on Protein Splicing

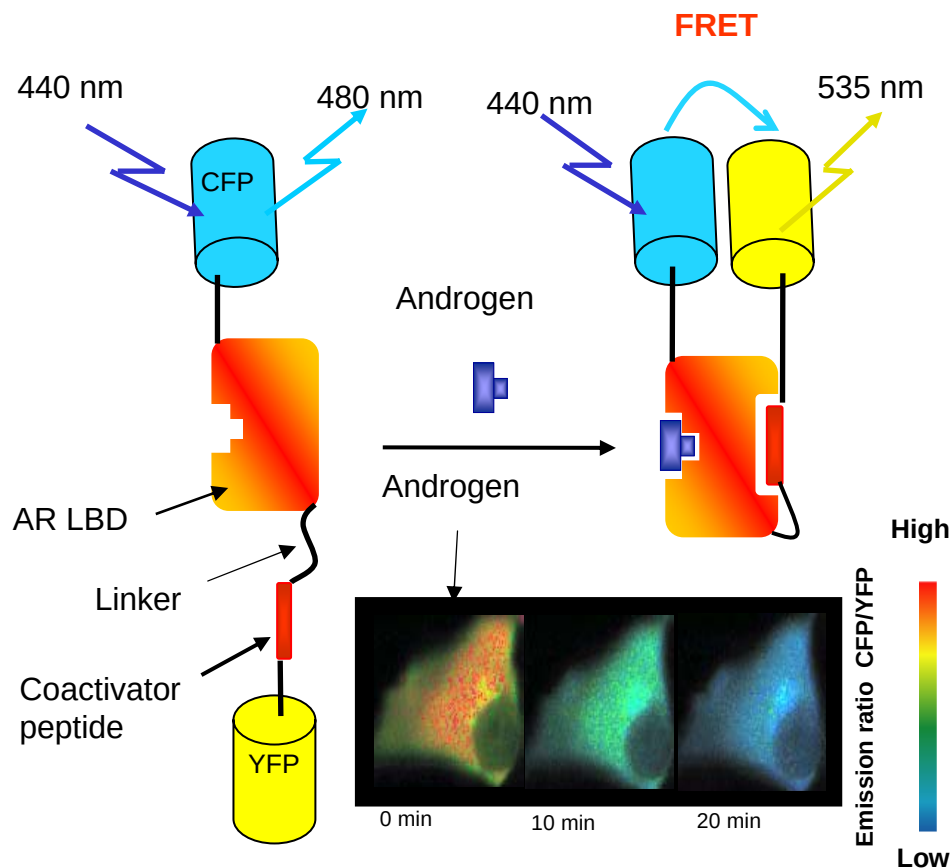


生細胞内でのタンパク質間相互作用の高感度検出



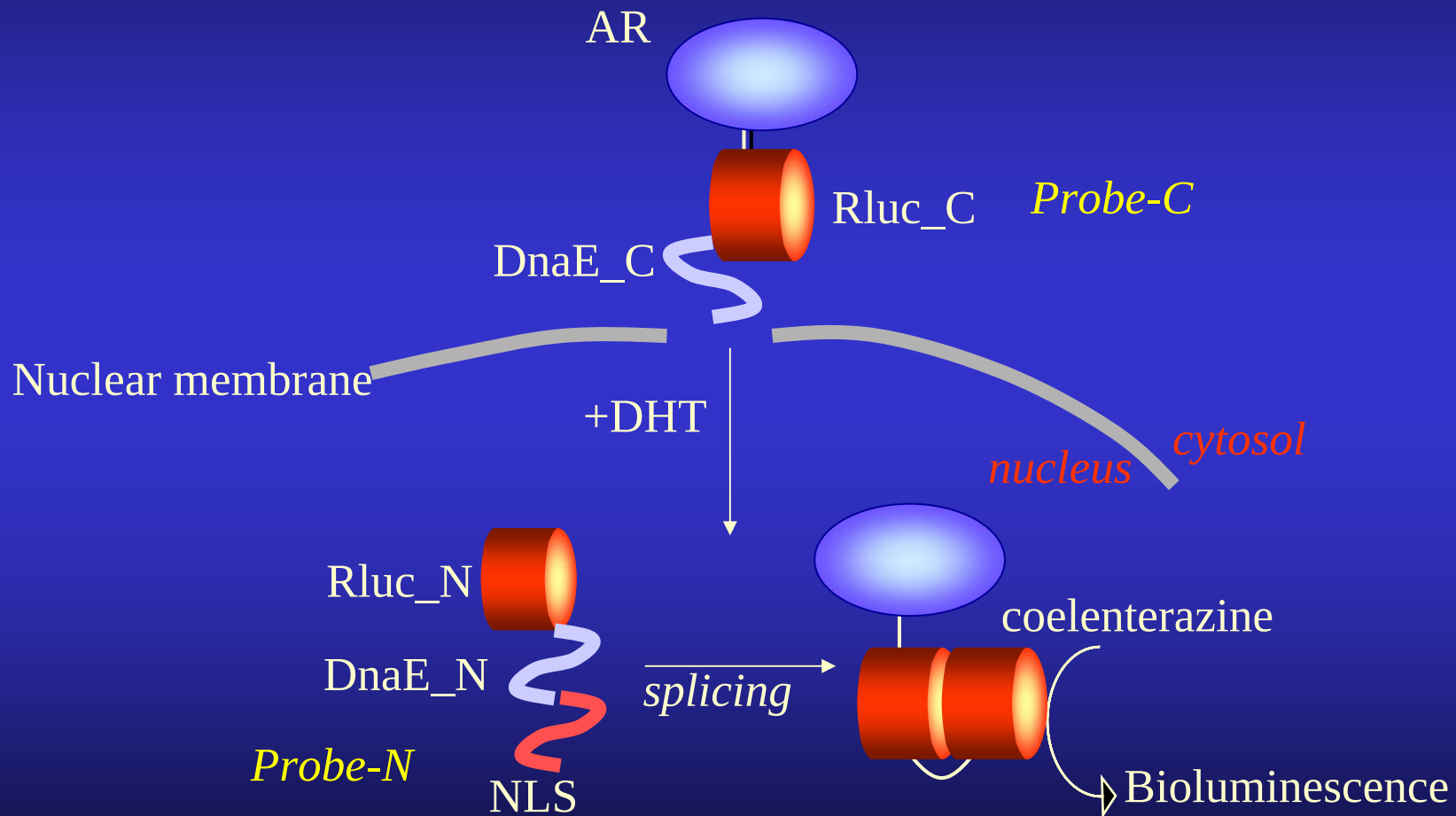
従来法では見えない膜近傍でのRas-Raf-1間相互作用を高感度に検出できる。

An androgen promotes interaction between the androgen receptor ligand binding domain (AR LBD) and coactivator protein



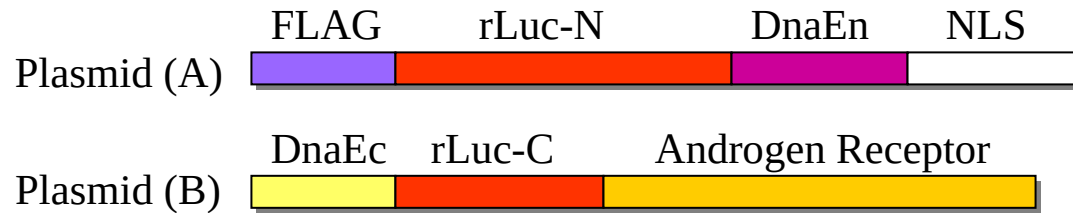
A Bioluminescent Probe for Imaging AR Translocation into the Nucleus

—— Reconstitution of *Renilla* luciferase ——

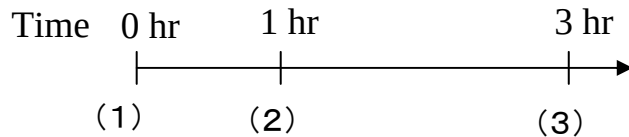


DHT : dihydrotestosterone

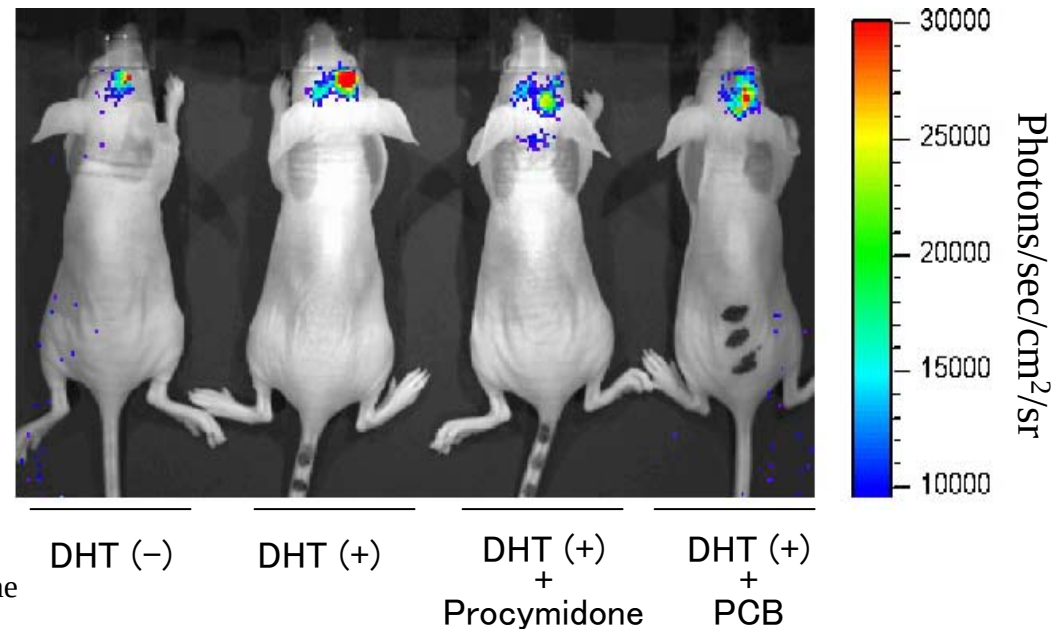
Effects of inhibitors on AR translocation into the nucleus in the mouse brain



Experiments

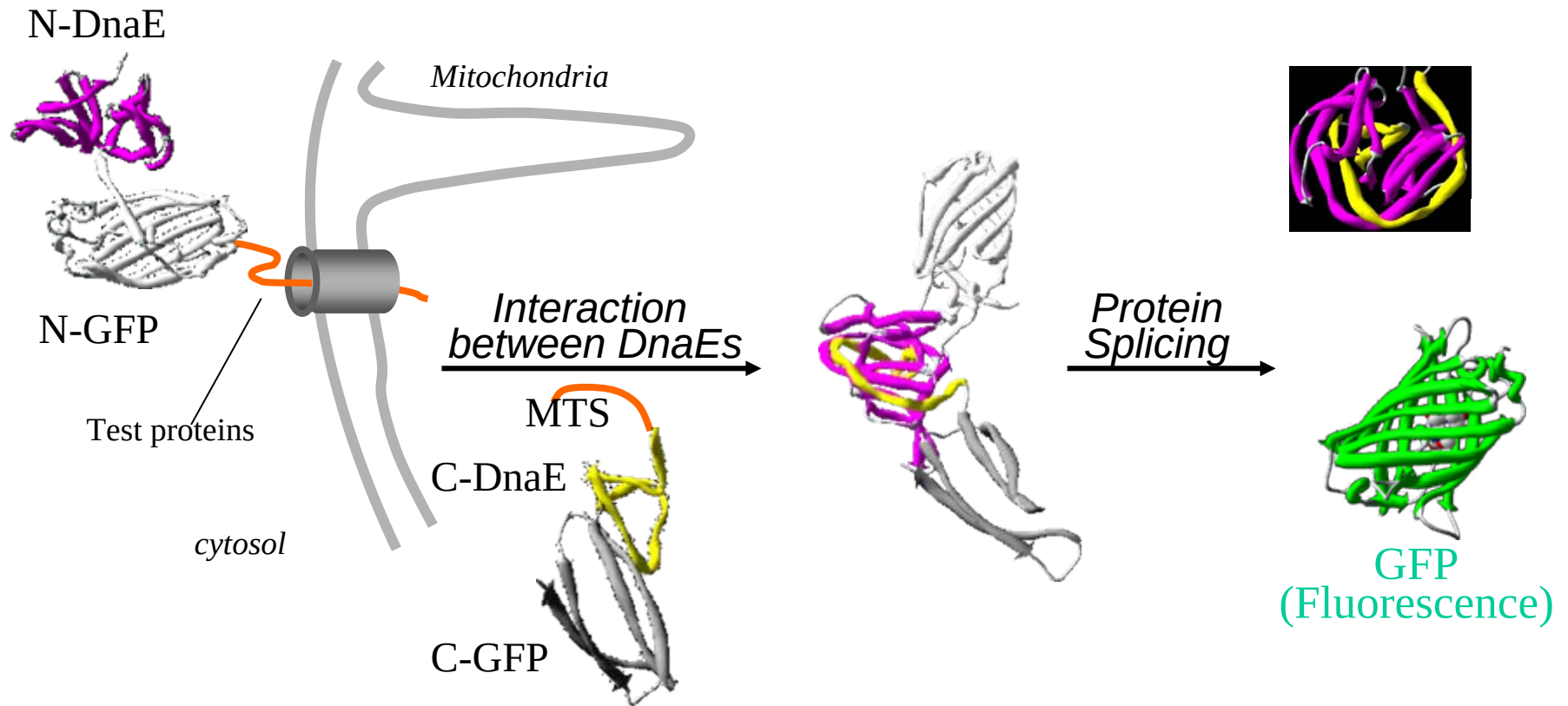


- (1): COS-7 cells transiently co-transfected with pcRDn-NLS and pcDRc-AR were implanted in the brain of mice. Soon after the implantation, 100 μ l of procymidone and PCB were injected intraperitoneally (*i.p.*).
- (2): 100 μ l of DHT was injected *i.p.*
- (3): coelenterazine was injected intracerebrally (*i.c.*) in the mice.

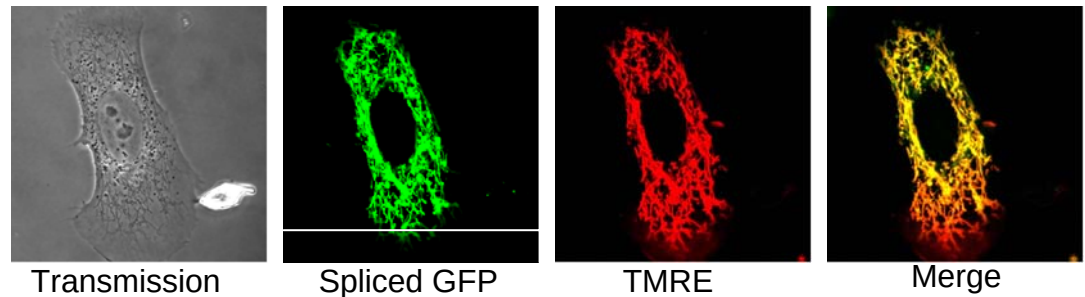


PCB and procymidone have an ability to pass through the blood-brain barrier, to reach the brain and to inhibit the AR signal transduction in the organ.

A genetic approach to identifying mitochondrial proteins



A method that allows rapid identification of novel proteins localized in mitochondria by screening large-scale cDNA libraries



ミトコンドリア膜間腔局在化配列を同定した

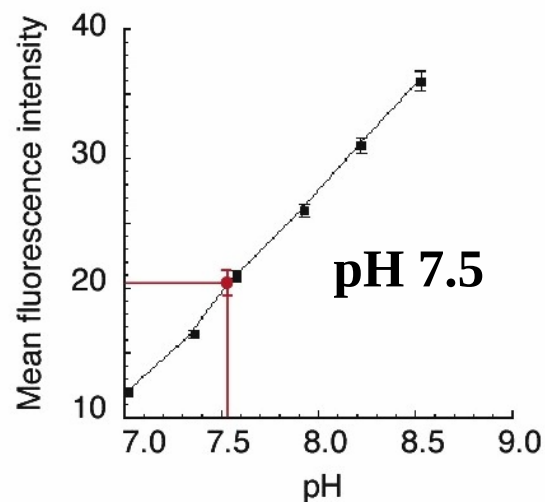
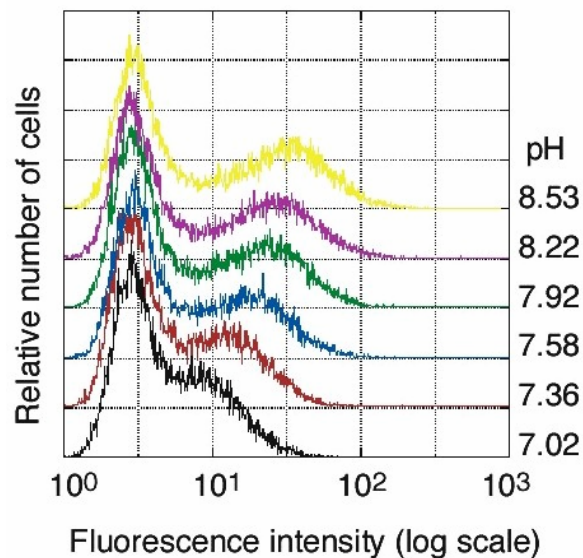
膜間腔のpHを測定することを可能にした

ミトコンドリア膜間腔局在化配列

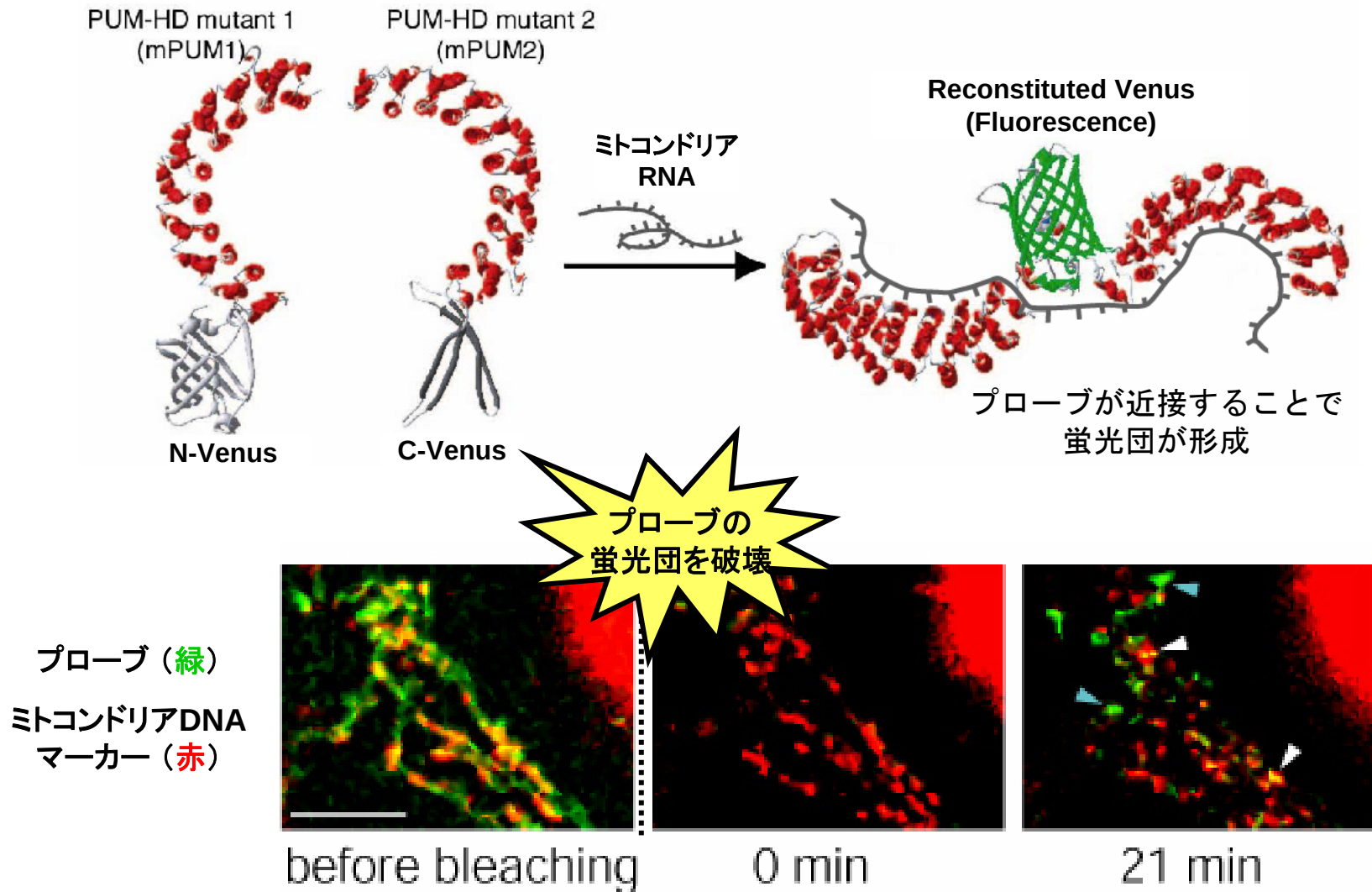
pHセンサータンパク質

RSVCSLFRYRQRFVPLANSKKRCFSELIKPWHTVLTGFGMTLCAVPI

YFP(H148G)



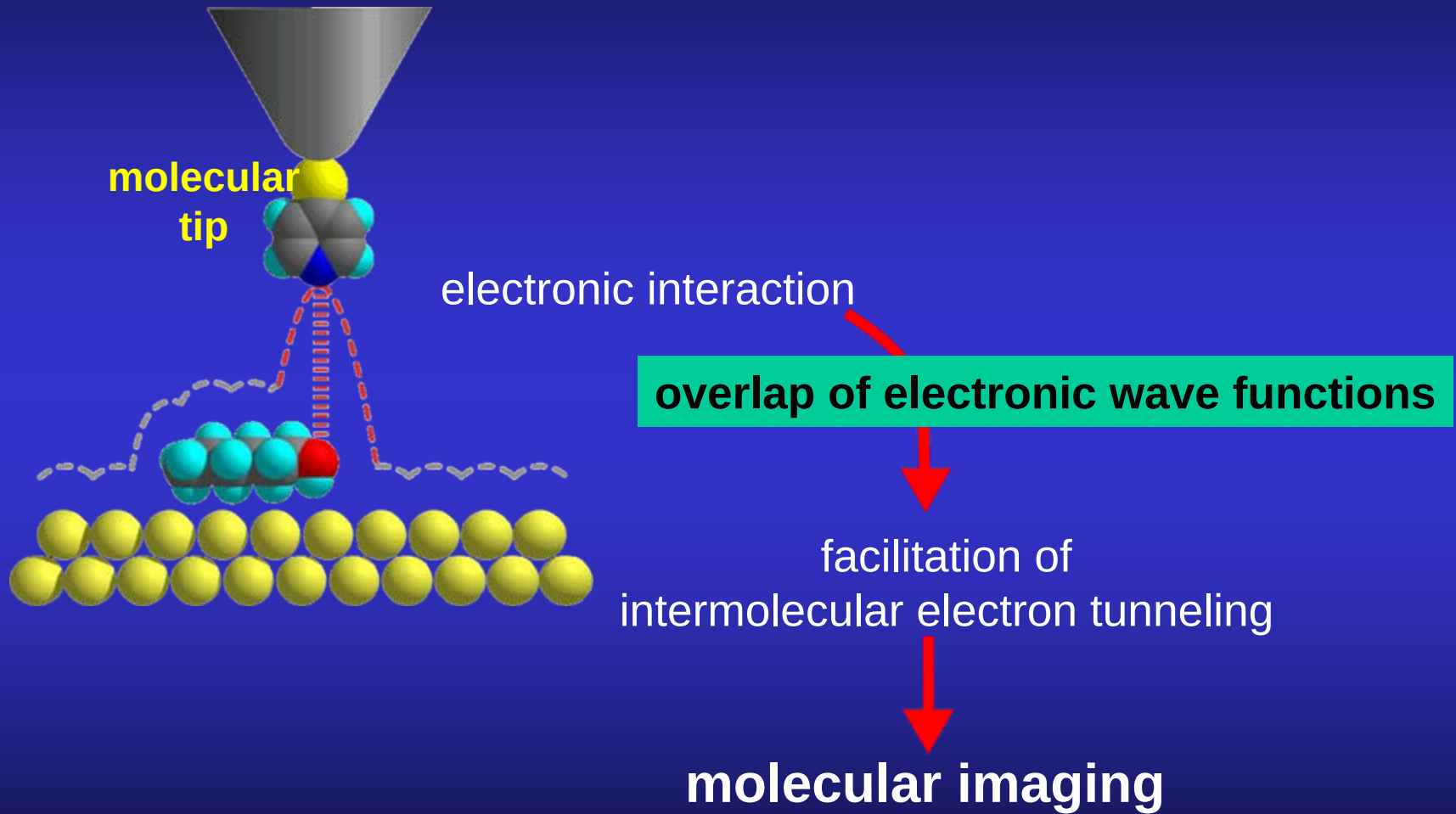
生細胞内におけるミトコンドリアRNAの検出



ミトコンドリアRNA はミトコンドリアDNAを離れ，分散していく

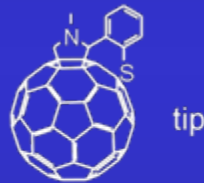
QuickTimeý Ç²
TIFFÀiàlèkC»ÇµÀj êLi£ÉvÉçÉOÉãÉÁ
Ç™Ç±ÇÄÉsÉNÉ`ÉÉÇ¾¼à©ÇÈÇzÇ½Ç...ÇÖİKónÇ-ÇİÄB

Molecular Tips: Intermolecular Tunneling Microscopy

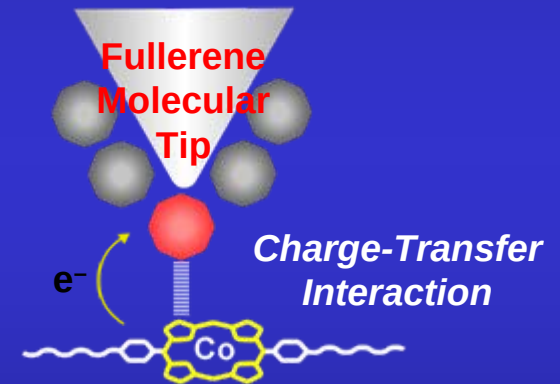
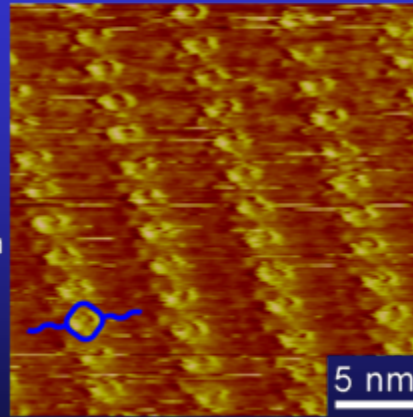
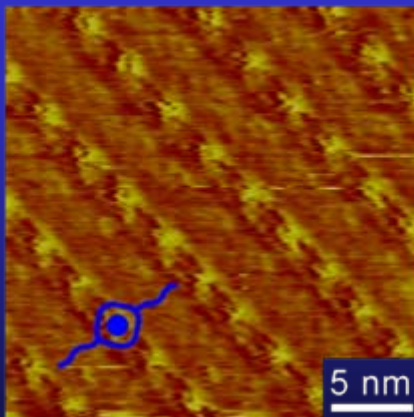


A fullerene molecular tip can detect localized and rectified electron tunneling within a single fullerene-porphyrin pair.

Localized electron tunneling (ET) to spatially visualize the frontier orbital of the porphyrin involved in ET

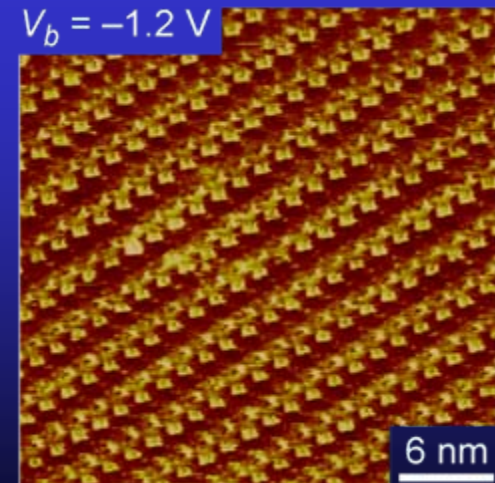
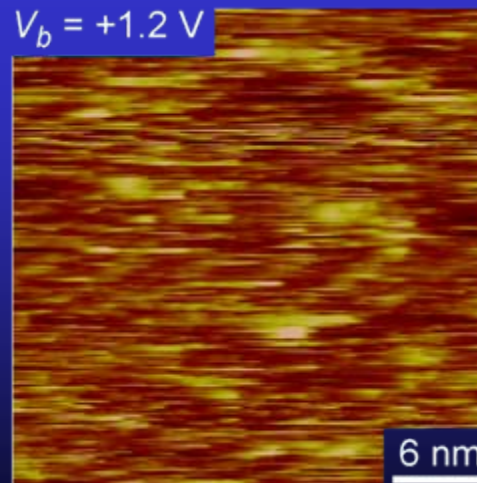
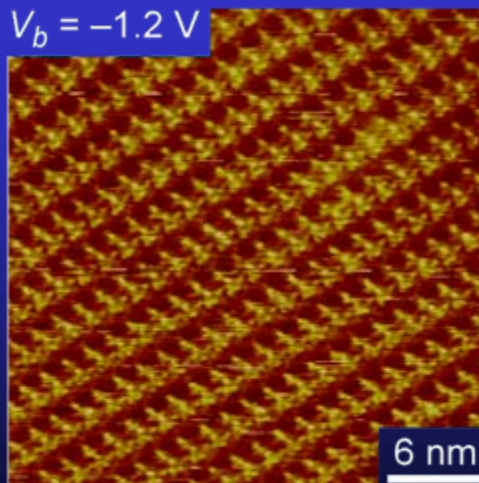
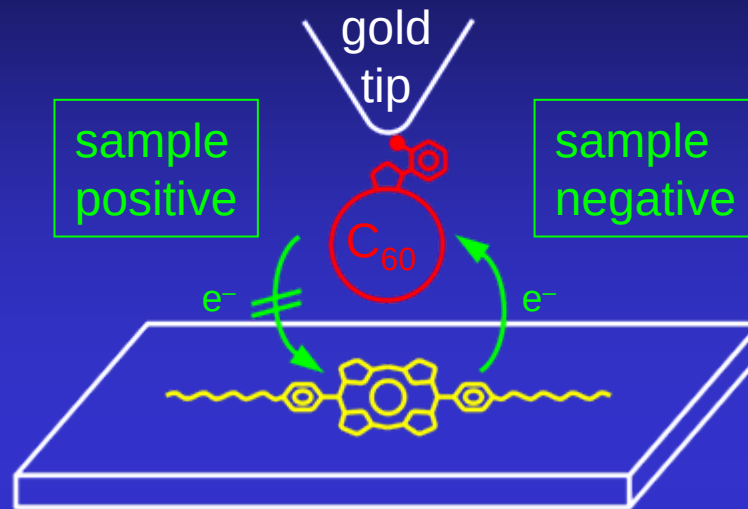


Au tip

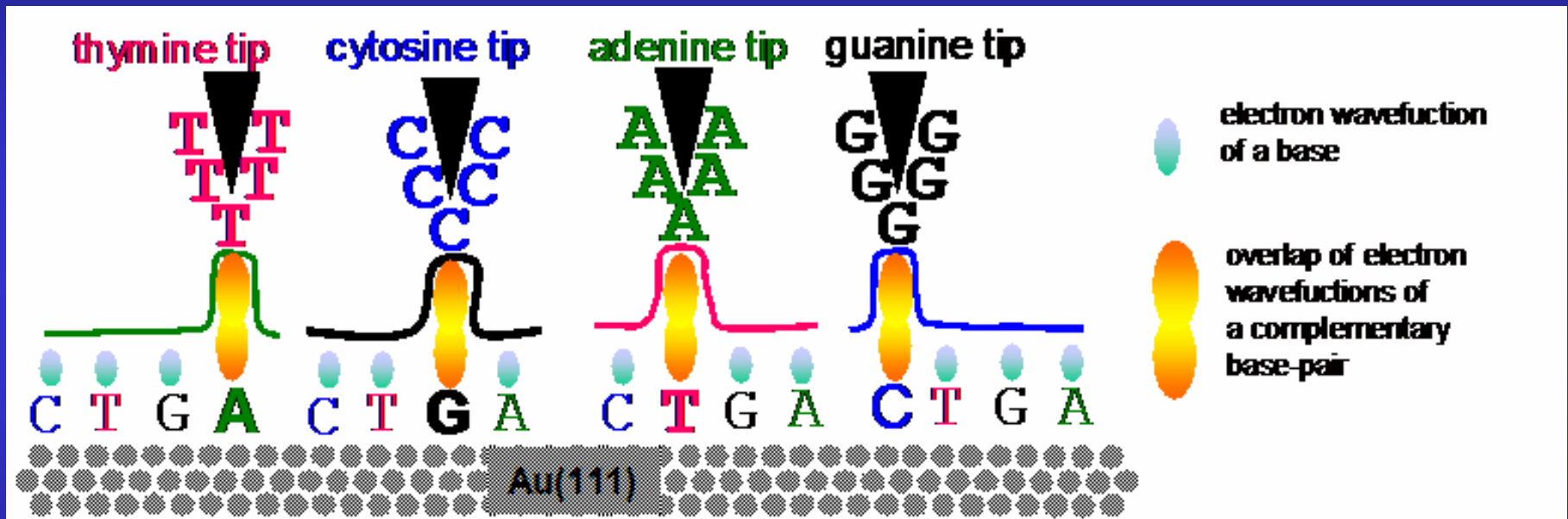


facilitated electron tunneling

Electron tunneling within the single fullerene-porphyrin pair constitutes a molecular rectifier.

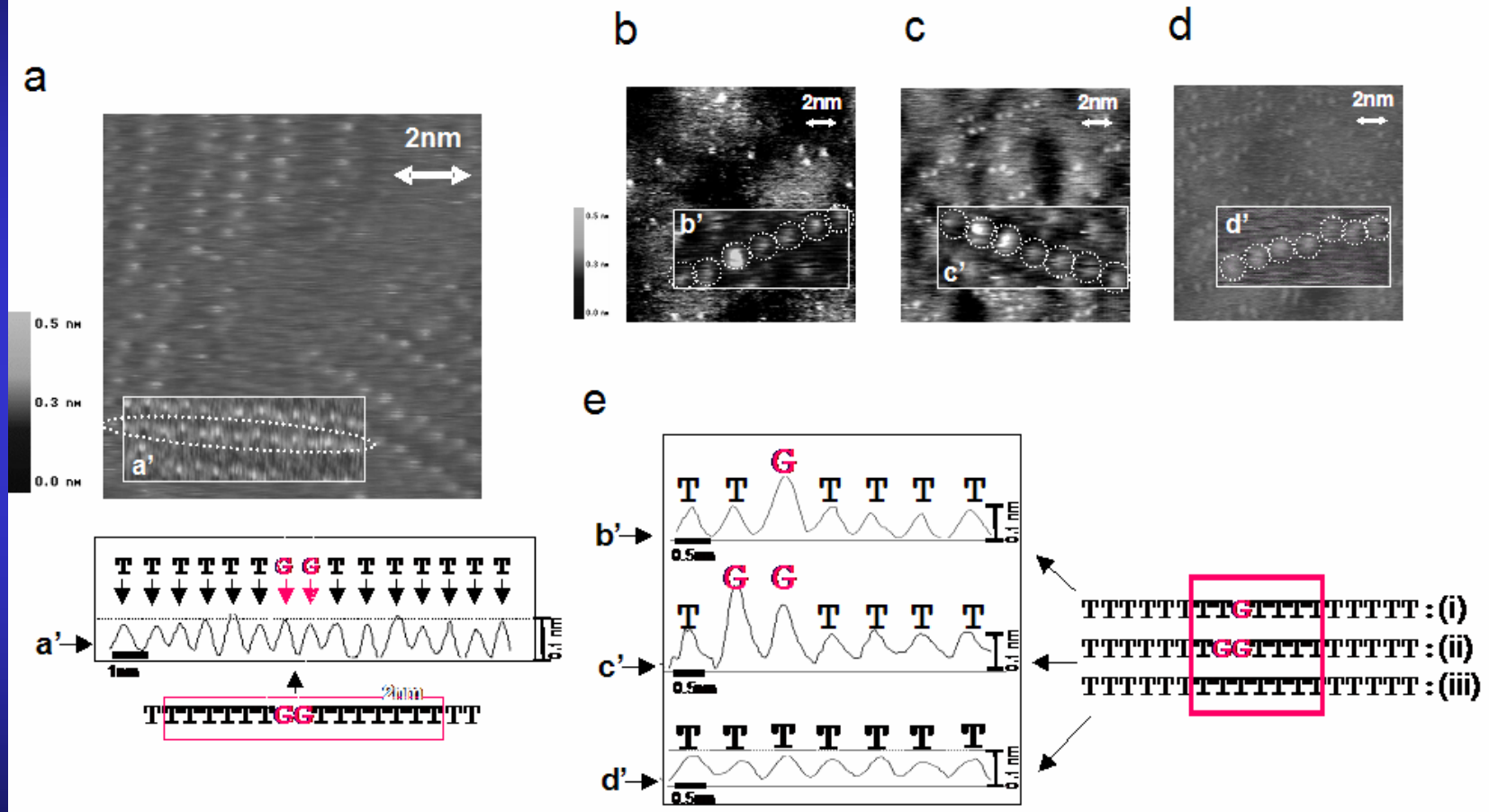


Electrically pinpointing complementary nucleobases



大城, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* (2006)

Pinpointing complementary nucleobases



結び

- ・ 細胞内情報伝達において鍵となる生体情報分子を可視化計測する技術の開発
- ・ STM分子探針と分子間電子トンネル効果顕微鏡の開発

化学および生命科学の基盤技術として
化学と生物分野の発展に大きく寄与するものである。

教育の責任



博士課程修了者（含む北大）：34名

＜進路先は例えば＞

Kansas State U., Assistant Professor

U. Pittsburgh, Assistant Professor

東京大学助教授

東北大学助教授

和歌山大学助教授

分子研助教授（本年10月東京大学教授発令予定）

東京大学助手

東北大学助手

東京医科歯科大学助手

静岡県立大学助手

産総研主任研究員

農業環境技術研究所主任研究員

QuickTimey C'
TIFFAiaikC>CJAi6LiEvEcEOEÁÁ
Ç™ÇzÇÅEsENE EEC%ai@ÇECzÇ%Ç...ÇOikôvÇÇJAB

教官（旧スタッフ，含：北大）

菅原正雄：日本大学教授

片岡正光：小樽商科大学教授

小田嶋和徳：名古屋市立大学教授

遠田浩司：富山大学教授

Philippe Bühlmann：U. Minnesota, Associate Professor

小澤岳昌：分子研助教授（本年10月東京大学教授発令予定）

雨宮 成：U. Pittsburgh, Assistant Professor

佐藤守俊：東京大学助教授

西野智昭：東京大学助手