

補助資料

上田 昌宏「1分子自動イメージング法の開発と細胞への適用」

カラー図画

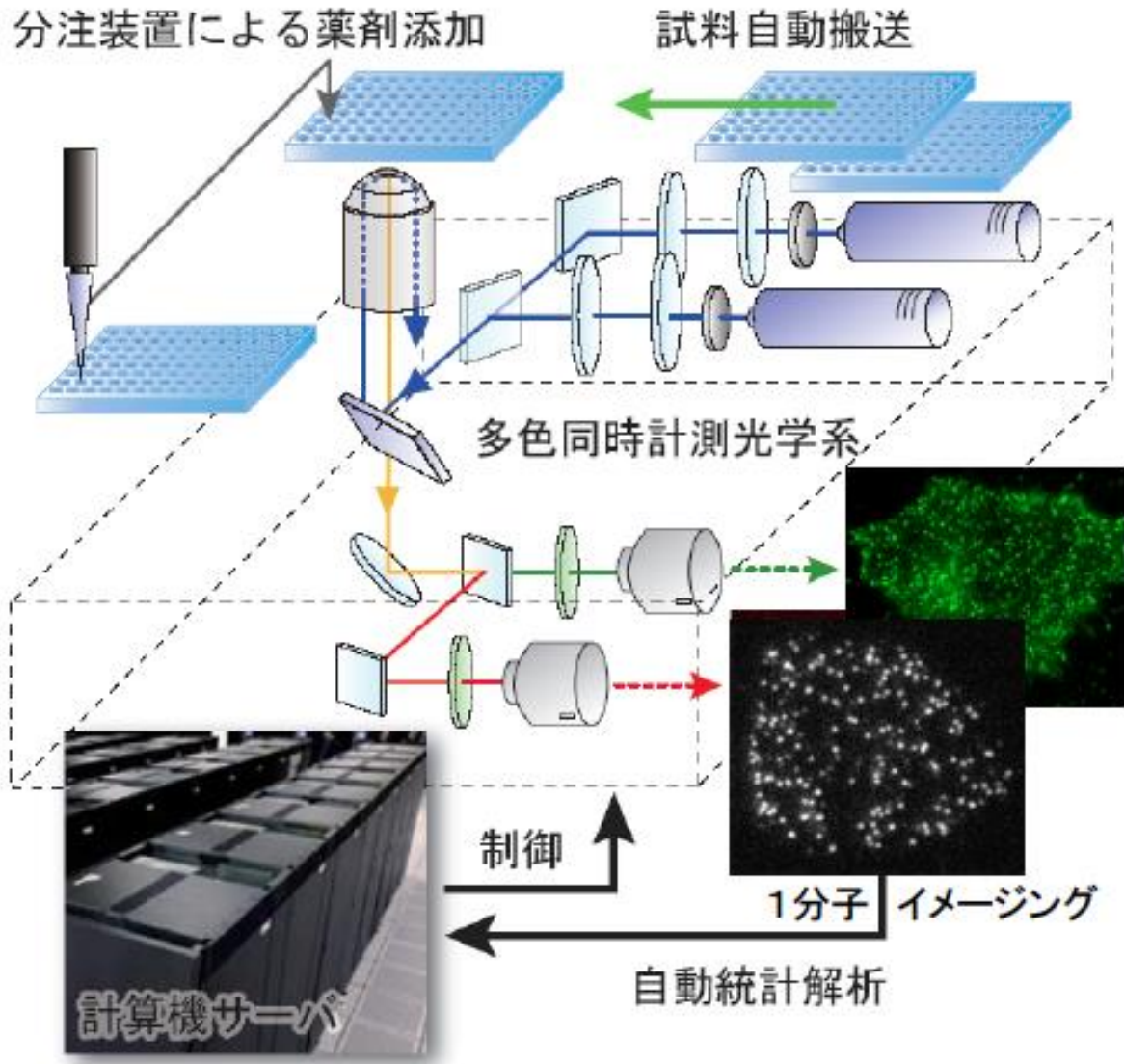
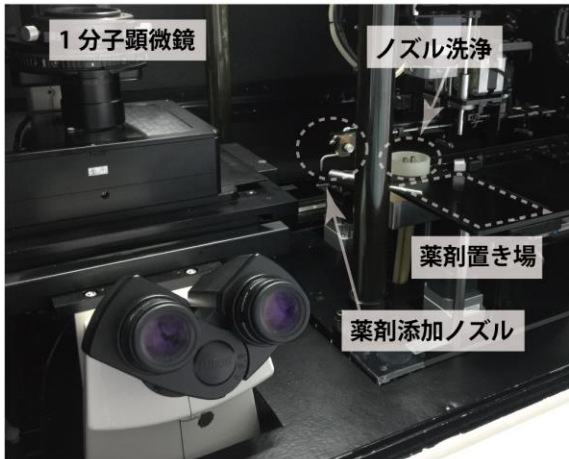


図2 全自動1分子イメージング装置の概要
マルチウェルプレートに細胞を培養している。

全自動 1 分子イメージング装置



④ 1 分子機能の理解

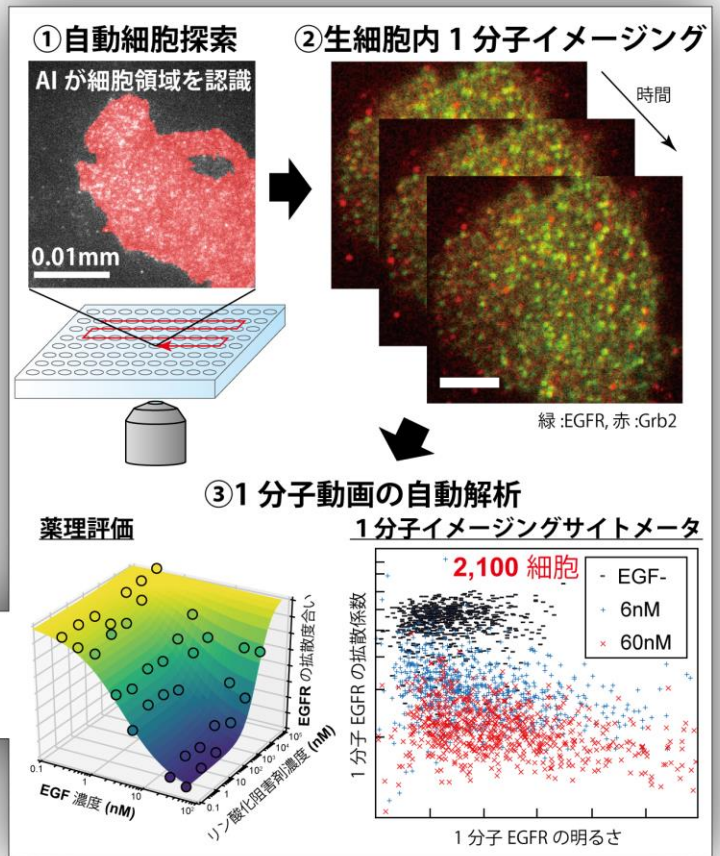
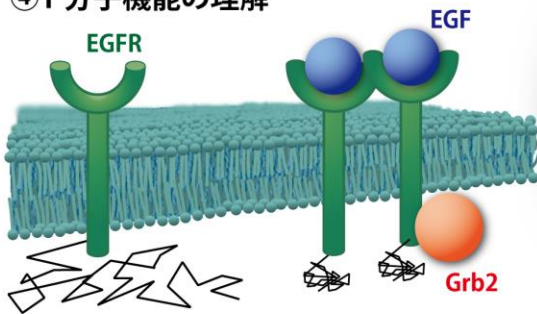


図 3 自動 1 分子イメージング装置による自動計測，自動解析.

(左上) 顕微鏡部の写真. 薬剤を自動添加し, 細胞内のタンパク質分子の動態変化を 1 分子レベルで捉えることが可能となっている. ①観察する細胞を自動で探索し決定することができる. 細胞の自動認識法は機械学習を利用して開発した. ②ターゲットとするタンパク質 2 種類を緑と赤の蛍光で同時に観察することができる. ここでは EGF 受容体 (緑) とそれに結合するシグナル伝達分子 Grb2 (赤) を観察した (表紙カラー挿入図参照). 最も明るく輝いている点 (黄) は, EDF 受容体 (緑) と Grb2 (赤) が重なり合って蛍光を発生していることによる. スケールは 5 μm . ③ 1 分子イメージングによって得られた画像を自動で解析することができる. これにより, タンパク質分子の拡散や多量体形成に対する様々な薬剤の効果を自動で計測, 解析できる (③左). ここでは EGF 受容体を活性化する EGF を加えると同時に EGF 受容体の機能を阻害する薬剤 (リン酸化阻害剤) を加えた際の EGF 受容体の拡散を解析した. この阻害剤は, EGF 受容体を介した癌化を阻害する抗がん剤としてはたらくものであるが, EGF の作用を阻害していることが分かる. ③右には, 自動化により多量の細胞サンプルを計測できることを示した. ここでは, 2100 細胞について EGF 受容体の多量体形成と拡散動態を解析した. 1 点 1 点が 1 細胞である. EGF 刺激により拡散が遅く, 大きな多量体を形成した細胞が増えることが分かる (赤×で表示). ④この装置の開発により, EGF 受容体が活性化に伴って多量体を作り Grb2 と結合することでシグナルを伝達する過程を自動で解析することが可能になり, 様々な条件での薬剤評価を簡便に行えるようになった. こうした手法は創薬対象となっている他の受容体にも適用可能である.