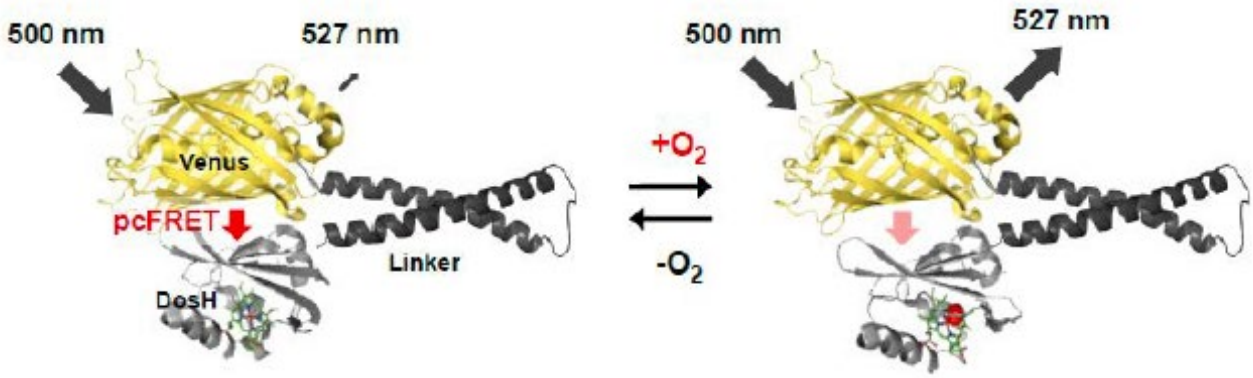
細胞内酸素濃度をモニター可能な蛍光蛋白質

Tokyo Tech

【発明の概要】

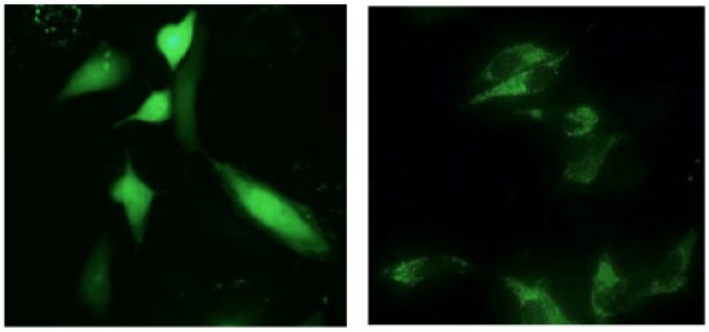
・細胞内の酸素濃度をモニター可能な蛍光蛋白質　ANA（Anaerobic/Aerobic monitor）
・FRET現象＊を利用しており（下図）、低酸素条件下で測定可能であり、細胞内小器官を含めてリアルタイムで酸素の有無をモニターすることができる。



＜本技術の利点＞
　蛍光蛋白Venusと、大腸菌由来の酸素結合蛋白DosHを組合わせて、酸素の有無により蛍光強度が増減する組合せ蛋白質　ANAを開発した。

　ANAは、蛍光性のドナー分子Venusが得た励起エネルギーがアクセプター分子DosHに吸収され、ドナー分子からの蛍光が減光されるFRET現象＊を利用している。

　酸素存在下では、DosHが酸素を結合するため、VenusとのFRET現象が起こりにくくなる。そのため、FRET効率が大幅に低下しANA蛍光が大きくなる。



ANA　　mtp-ANA

＜細胞内酸素レベル測定例＞
　ANAを用いてHeLa細胞での酸素の有無を可視化したところ、酸素濃度の高い細胞内局在部位を示すことができた（上左）。また、当該細胞内のミトコンドリアにおける酸素の有無も、mtp-ANA（ANAにmtp指標を付与）で可視化することができた（上右）。

本技術のアピールポイント

バイオイメージング領域として、生体細胞内での酸素の有無をリアルタイムに観察できる手法です。遺伝子組換え技術をおもちの企業様との共同研究を希望しております。

（使用ベクター系は構築済みですので、最低限の組換え操作が可能であれば問題ありません）

用途分野

バイオ研究における細胞内酸素レベルのモニター用

特許情報

発明の名称	酸素濃度をモニター可能な蛍光蛋白質
発明者	久堀　徹

出願：2017-040778（2017/3/3）
公開：2018-143158（2018/2/15）
本学整理番号：16T136

Tokyo Tech

お問い合わせ先：
東京工業大学　研究・産学連携本部
E-mail: : yasumatsu@sangaku.titech.ac.jp
TEL： 03-5734-7634　URA 安松　浩

単一励起波長で酸化還元状態をモニター可能な蛍光タンパク質

Tokyo Tech

新技術の概要

細胞内の酸化還元状態を検出しうる、新規蛍光タンパク質FROG/Bを開発

FROG/B＊は、単一励起波長400nmを用いて、還元状態で青色蛍光、酸化状態で緑色蛍光を発するため、（還元及び酸化状態の比を取ることにより）、細胞内の酸化還元状態を正確に定量できる、唯一のモニター用タンパク質です。（下図参照：図1：本タンパクの蛍光スペクトル、図2：蛍光色の写真）
（＊Fluorescent protein with RedOx-dependent change in color between Green and Blue）

生体内では、さまざまな代謝過程において酸化還元反応が重要な役割を果たしています。その一方で、好気的な代謝反応においては、過剰な電子が酸素を還元してしまうことで、強い酸化力を持つ活性酸素種(ROS)が発生し、生体内のさまざまな障害を引き起こすことが知られています（ガン細胞など）。従って、細胞内の酸化還元バランスを直接モニターすることは、細胞内代謝過程の状態を理解する上で必須です。

本蛍光タンパク質は、本来青色の蛍光を発する非電離状態のGFP発色団が、励起時にプロトンを放出することで緑色の蛍光を発するようになる現象を利用しています。　植物細胞、動物細胞、ヒト細胞を問わず、正確に細胞内の酸化還元状態を測定できます。（下図右写真：HeLa細胞における測定例）

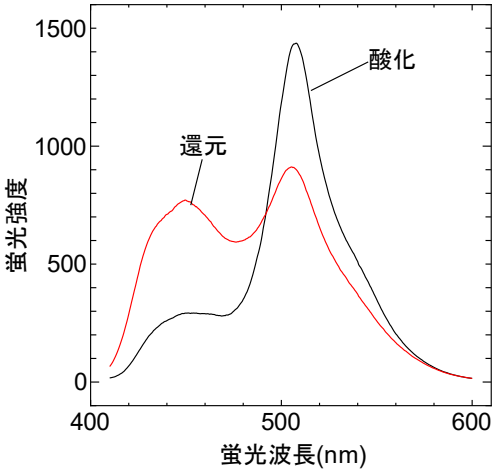


図1　FROG/Bの蛍光スペクトル
励起波長: 400 nm

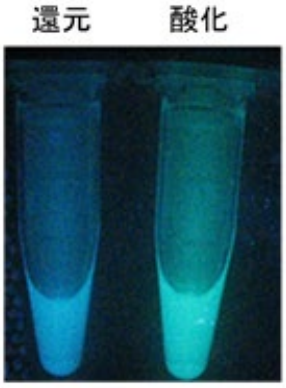
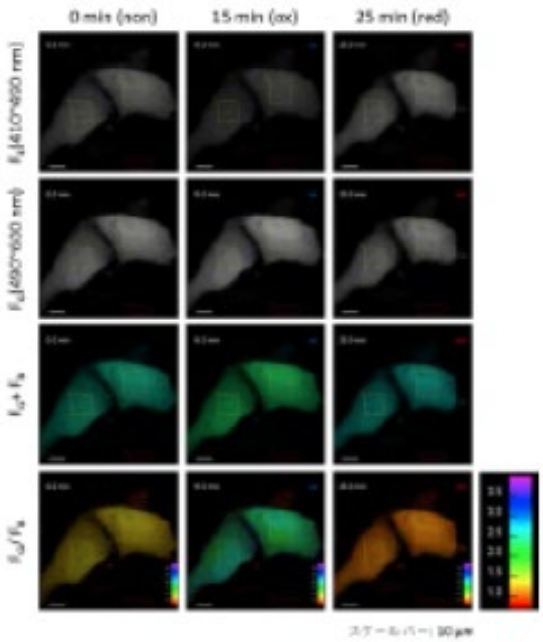


図2　FROG/B蛍光



本技術のアピールポイント

- バイオイメージング領域として、生体細胞内での酸化還元状態をリアルタイムに「正確に」観察できる技術であり、実用性が高い技術です（当該蛋白質発現量には依存しません）。
- 生体がストレスを受けて活性酸素を発生したとき、細胞内の局在を顕微鏡下においてリアルタイムで定量的にモニターできます。
- 当該応用分野にご関心のある企業様（業種は問いません）との共同研究などを希望しております。

用途分野

細胞内酸化還元状態測定用

特許情報

発明の名称　単一励起波長で酸化還元状態をモニター可能な蛍光タンパク質
発明者　久堀　徹　ほか
出願　特願2016-156963（出願日:2016/8/9）
公開　特開2018-23308（出願日:2018/2/15）
本学整理番号　16T041

Tokyo Tech
お問い合わせ先：
東京工業大学　研究・産学連携本部
E-mail: : yasumatsu@sangaku.titech.ac.jp
TEL： 03-5734-7634　URA 安松　浩