

並進・回転拡散動態計測による 細胞内微環境解析法の確立

国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康医工学研究部門
山本条太郎

1. はじめに

近年、生物学分野で注目されたトピックスの一つとして、細胞内の高分子クラウディング (macromolecular crowding, MMC) がある。細胞内に存在しているタンパク質等の生体高分子や細胞内小器官の体積を勘案すると、細胞内体積の 20~40% がそれら生体高分子等で占められているということが報告されている¹⁾。このような混み合った環境では、細胞内の生体分子は溶液中と同様の拡散を行うことができない。細胞中での生体分子間相互作用や分子構造 (立体構造) と、細胞溶解液や精製タンパク質溶液中でのそれらは多くの場合一致しないが、その原因の一つが MMC にあると考えられている。しかしながら、特に細胞内での MMC 環境を定量的に評価する決定的な手法は未だ確立されていない。

著者はこれまでに、蛍光相関分光法 (fluorescence correlation spectroscopy, FCS) の発展手法の一つである偏光蛍光相関分光法 (polarization-dependent FCS, Pol-FCS) を用いて、蛍光分子の回転拡散と並進拡散の評価から MMC 状態の解析を行っている。本稿では、Pol-FCS の測定原理の解説と、これまでに得られた結果について紹介する。

2. 蛍光相関分光法 (FCS) と偏光蛍光相関分光法 (Pol-FCS)

FCS は蛍光分子の拡散動態 (ブラウン運動) と濃度を測定する計測手法である²⁻⁴⁾。FCS 測定から得られる拡散定数やその変化から、測定対象の流体力学的半径や分子間相互作用を解析可能である。拡散定数や分子・粒子径を測定する手法としては、動的な光散乱法 (dynamic light scattering, DLS) が広く用いられているが⁵⁾、細胞質や細胞溶解液、細胞培養上清のように夾雑物が多量に存在する生物

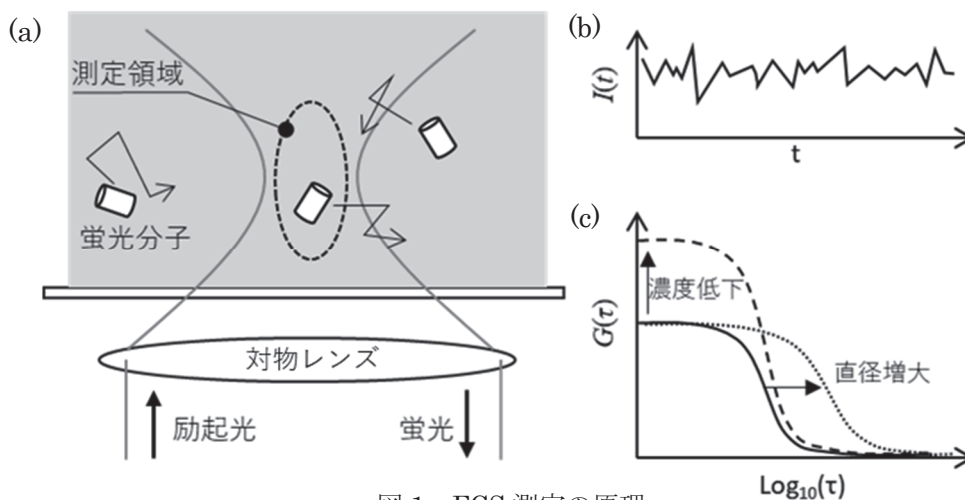


図1 FCS 測定の原理