

平成20年度 工学部予算重点配分に研究テーマ研究報告書

(1) 研究テーマ：「LED 光源を用いた生育細胞継続観察システムの開発」

(2) 研究代表者：生物応用化学専攻・准教授・沖 昌也

(3) 研究成果の概要

昨年度の本助成に採択され、蛍光物質を用い、子孫への遺伝情報の伝わりを、蛍光顕微鏡を用い可視化する新たな解析方法の開発を目指した。しかし、実際に研究を進めて行くことにより当初は予想していなかった新たな問題が生じて来た。本年度はこの問題点を改善し当初の目的である遺伝のメカニズムを解析するシステムを開発した。このシステムは現段階では全く知られていない「継代」、更には「エピジェネティックな現象」解明に大きく貢献出来ると考えている。

【研究成果】

(I) LED ランプによる細胞寿命の解析

今までは、水銀ランプによる観察を行って来たが、光の照射時間、強度の影響が細胞の死に直結していることが明らかとなった。そこで、照射量が調節出来、短時間に照射出来る LED ランプを用い観察した。照射時間、照射強度等様々な条件検討を行った結果、細胞が死に至らず顕微鏡下で何世代も分裂し続けることが可能な条件を見いだした。

(II) 培養条件の検討

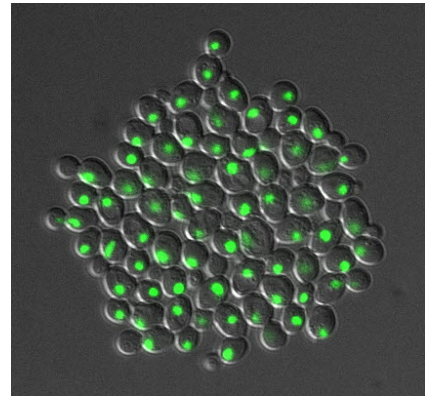
細胞が顕微鏡下においてより好条件で生育出来る培養条件、培養方法を検討した。培地の組成、培養温度等様々な条件検討を行い、定期的に栄養分を供給することにより最適な培養条件を決定した。

(III) 蛍光輝度定量法の開発

細胞が分裂し続けると、X 軸-Y 軸の2次元方向だけではなく、Z 軸方向にも分裂し、分

裂を繰り返すとフォーカスが合わず正確な蛍光輝度の定量が困難であることが明らかとなった。そこで、酵母の直径より少し小さな隙間に、酵母を挟み込み強制的に X 軸-Y

軸の 2 次元方向にのみ分裂させた。右図は 1 つの母細胞から分裂させ、タイムラプス実験により約 10 回分裂した際の個々の酵母における EGFP 融合タンパク質を蛍光顕微鏡で撮影した写真である。分裂を繰り返しても X 軸-Y 軸の 2 次元方向にのみ分裂し、蛍光輝度を正確に定量することが出来た。このシス



図：約 10 回分裂した酵母の写真

テムを用い、我々が既に分離していたエピジェネティック変異株を解析した結果、分裂を繰り返すと発現調節機構が変化することを明らかにした。この解析技術が確立出来たため、今後、様々な新たな解析が期待される。

(4) 配分額及び経費の支出額内訳

【配分額】 円

【支出額内訳】 培地・試薬等： 円 酵素等： 円

その他消耗品費： 円 合計： 円

(5) その他特記事項

【研究成果報告（学会発表）】

○国際学会招待講演：Masaya Oki “International Symposium on Chromosome Dynamics, May 28, 2008

○国内学会招待講演：沖昌也 第 11 回クロマチン研究会（三島）2008 年 10 月

その他：学会口頭発表（7 件）、学会ポスター発表（6 件）

現在、原著論文投稿準備中