

微小空間内での生体分子反応研究に向けた過渡回折格子法の開発

(京都大学¹・豊橋技術科学大学²) ○西野晶翔¹・中曽根祐介¹・西谷公佑¹・永井萌土²・寺嶋正秀¹

Development of Transient Grating Method for Studies on Biomolecular Reactions in Microenvironments (¹Kyoto University, ²Toyohashi University of Technology) ○Akito Nishino,¹ Yusuke Nakasone,¹ Kosuke Nishitani,¹ Moeto Nagai,² Masahide Terazima¹

Most biomolecular reactions occur within microscopic spaces (pL ~ fL), such as cells. In these microenvironments, confinement effects could be observed, such as promotion of phase separation of proteins, and a reduction in diffusion coefficient¹⁾. Although there are several methods for analyzing localization and steady-state diffusion in such microenvironments, there is no established method for observing molecular reaction dynamics in these confined spaces. The transient grating (TG) method offers ability to measure conformational changes and intermolecular reactions of biomolecules with high temporal resolution. In this study, we have enhanced its spatial resolution by using a highly light-collecting lens to apply the TG method to the analysis of reactions in small spaces. Currently, we have achieved a spatial resolution of approximately 10 μm , and we have conducted TG measurements of photosensor proteins using this setup. Additionally, we are currently developing a microchamber designed for confining proteins in microscopic spaces.

Keywords: Transient Grating Method; Microscopic Space; Biomolecular Reactions; Confinement Effect; Microscope

生体分子反応の多くは細胞のような微小空間内 (pL~fL) で起こる。このような微小空間内では、タンパク質の相分離の促進や拡散係数の減少といったいわゆる「閉じ込め効果」が観測されることがある¹⁾。微小空間内での分子の局在化や定常的な拡散を計測する手法はいくつか存在するが、生体分子の反応ダイナミクスを高感度かつ高時間分解能で観察できる手法は確立されていない。そこで本研究では過渡回折格子法 (TG 法) の空間分解能を高めることで、細胞のような微小空間内での反応解析を実現することを目的とした。TG 法はタンパク質の高次構造変化や分子間反応を高い時間分解能で測定することができる分光学的手法であるが、従来法はバルク溶液中での測定に最適化されており、空間分解能は 1 mm 程度であった。そこで我々は集光性の高いレンズを用いた TG 法を開発し、現在までに約 10 μm の空間分解能を達成した。このセットアップで光センサータンパク質の TG 信号を得ることに成功しており、現在はタンパク質を微小空間に閉じ込めるために微細加工セルの開発を進めている。

1) Chiho Watanabe, Yuta Kobori, Johtaro Yamamoto, Masataka Kinjo, and Miho Yanagisawa, *J. Phys. Chem. B* **2020**, *124*, 1090-1098.