

紫外光を受けて緑から赤に変化する 新しい蛍光タンパク質

光で細胞をマーキングできる強力な研究基盤ツールを開発

(2002年9月24日、文部科学省においてプレスリリース)

当研究所は、紫外光照射によって緑から赤に色が変わる新しい蛍光タンパク質の遺伝子を「ヒュサンゴ」^{※1}からクローニングし、光を使って細胞をマーキングする技術を世界に先駆けて開発した。理研脳科学総合研究センター細胞機能探索技術開発チームの宮脇敦史チームリーダー、安藤亮子テクニカルスタッフ、および(株)医学生物学研究所との共同研究によって得られた成果。研究チームでは、ヒュサンゴから新たにクローニングした蛍光タンパク質が、紫外(UV)光によって色が緑から赤に変換する特性(photoconversion)を有することを発見し、細胞のマーキング技術に使用できると考えた。この新しいタイプの蛍光タンパク質は「カエデ(kaede)」と名付けられ、高密度で存在する神経細胞1個1個を、突起に至るまで簡単にマーキングできることを確認した。これにより、“複雑な神経回路における神経細胞同士の絡み合いがどうなっているか”をひもとくことが可能となる。さらに、多細胞生物の発生における細胞の系譜を解析する上でも、強力なツールとして威力を発揮することが期待される。

● 細胞生物学の研究分野では、生きた細胞を標識するのに、オワンクラゲ由来のGFP(Green Fluorescent Protein)のような蛍光タンパク質が用いられる。しかし、複雑な細胞集団の中で、任意の時期に任意の細胞を標識することはできない。例えば、自己複製および多分化機能を持つ幹細胞に由来する細胞は、分裂を経て、さらに周りの環境の影響を受けながら分化、移動し、さまざまな機能を発揮できるようになる。その過程を詳細に解析するためには、ある特定の時期に、特定の細胞をマークして追跡す

る必要がある。また、神経回路網の仕組みを解析するには、特定の神経細胞の輪郭をトレースすることが不可欠である。

● 研究チームでは、ヒュサンゴの中でも緑、黄、赤の蛍光を発する個体に注目した。このサンゴからクローニングした蛍光タンパク質は、当初は明るい緑色の蛍光(励起極大508nm・蛍光極大518nm)を発していたが、サンプルを窓の近くの実験台に放置したところ、真っ赤に色が変わり(励起極大572nm・蛍光極大582nm)、紫外(UV)光によって波長が変換する特性(photoconversion)を有することを発見した。この蛍光タンパク質は、緑から赤に変わることから、「カエデ(kaede)」と命名された。カエデは、1次構造上、既知の蛍光タンパク質とある程度の相同性を示すが、発色団形成にかかわるアミノ酸Tyr-GlyのN末端側にHis残基^{※2}を持っている。

● カエデをHeLa細胞^{※3}に発現させて、顕微鏡下でUV光を照射して緑と赤の蛍光量を順次計測したところ、赤/緑の強度比が照射前の2000倍まで増大することが分かった。また、カエデを発現するHeLa細胞の細胞質の一部にUVパルスを与えたところ、赤色化したカエデが速やかに細胞全体に拡散する

※1:ヒュサンゴ
刺胞動物、花虫類、六放サンゴ類に属するイシサンゴの一種。色彩は、黄(褐色)、緑、赤やそれが混じる場合が多い。日本近海を含め、インド洋、太平洋に分布する。

※2:His残基
アミノ酸の一種。複素環式アミノ酸で、窒素原子を含む5員環を持ち、これが発色団のphotoconversionに関係があると推測される。

※3:HeLa細胞
子宮頸ガン由来の上皮様細胞株で、ヒト由来細胞株として最初のものである。

● 監修:脳科学総合研究センター
細胞機能探索技術開発チーム
チームリーダー 宮脇敦史

様子が観察された。また、軸索や樹状突起が互いに絡み合う高密度神経培養の系において、全体の神経細胞にカエデを発現させて緑色にラベルした後、ピンポイントのUV光パルスである特定の神経細胞の細胞体を照射したところ、突起先端まで赤くマーキングされるのが観察され、神経細胞間での接着部位を明りょうに可視化できた。

● 今回の光による細胞のマーキング技術は、3次元的に複雑に絡み合ったり変化したりする細胞集団の中で、“個々の細胞がどのように突起を伸ばしたり移動したりするか”を解析する上で威力を発揮する。さらに、カエデを体全体に発現するような形質転換動物の作製と、レーザーをはじめとした最新の光照射技術を組み合わせれば、より生理的な状況で詳細に解析できる。このことは、これまでの蛍光タンパク質を用いたライブイメージングの幅を大きく広げるとともに、発生過程、脳機能の解明や疾病などのメカニズムの解明にも大きな手掛かりを与えることが期待される。本研究成果の詳細は、米国の科学アカデミー紀要『Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America: PNAS』(10月1日号)に掲載された。

「カエデ」を発現する海馬神経細胞の培養(左:すべての細胞が緑色)において、1つの神経細胞の細胞体の一部分に紫外線のパルスを与えたところ、その細胞全体が赤くなった(右:隣同士の神経細胞を色で区別できる)。

