

【第89回生涯教育講座】

緑色蛍光タンパク質を用いた細胞内
タンパク質のダイナミクス解析か とう ひろ あき うら の たけし
加 藤 太 陽 浦 野 健

キーワード：緑色蛍光タンパク質 (GFP), 生細胞内の分子動態, FRAP, FLIP

要 旨

1960年代にオワンクラゲから単離された緑色蛍光タンパク質 (GFP: Green Fluorescent Protein) は、現在の生命科学研究の様々な分野で欠かすことのできないツールとなっている。発見者の下村脩博士は GFP を発見した功績により2008年にノーベル化学賞を受賞した。本稿では、まず GFP を始めとした蛍光タンパク質について概説する。さらに、細胞内での生体分子の振る舞いを可視化することにより解析する FRAP 法 (Fluorescence Recovery After Photobleaching) および FLIP 法 (Fluorescence Loss In Photobleaching) について紹介する。

はじめに

我々の細胞は、細胞膜によって区画化された袋の中に数千種類を超える多様な分子が濃縮され、それらの分子が生体反応を営む場である。しかもそれは生体分子が無秩序に自由拡散している均一系ではなく、しかるべき時にしかるべき場でしかるべき生体反応 (生体分子の離合集散や化学反応など) を起こすことで、恒常性を維持し、ストレス応答や細胞分化を行うことができる、極めて高度に組織化された場である。「細胞内には高分子が高密度に存在するため、細胞内での分子の動き

は制限されており、自由に拡散できない」と生物学者たちは考えていた。この漠然とした思い込みを目に見える形で打ち壊したのが FRAP 法である。

500 kDa 程度の大きな分子でさえ核の端から端 (10 μ m 程度) まで1秒程度で移動することができ、比較的分子量のタンパク質にいたっては目にも留まらぬ速さで細胞内を拡散している。Verkman 博士らのグループは FRAP 法を開発し、かなり大きな分子でさえ予想以上に速いスピードで細胞内を移動していることを目に見える形で示した¹⁾。DNA に結合する特定の化学薬品で染色した細胞を光学顕微鏡で観察すると、染色体の中にまわりよりずっと濃く見える領域が観察される。この濃く見える領域はヘテロクロマチン

Takeshi URANO et al.

島根大学医学部病態生化学講座

連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1