

可逆的蛋白質蛍光ラベルによる、急速な核-細胞質シャトリングの観察  
—新規蛍光蛋白質“Dronpa”の開発—

河合香代子

現在、細胞生物学の研究において細胞内の蛋白質を標識するのに GFP : Green Fluorescent Protein など、オワンクラゲやサンゴ、イソギンチャク等の刺胞動物由来の蛍光蛋白質が用いられている。しかし、一般的には蛍光ラベルした蛋白質の定常状態における分布の観察しかできず、その動態についての知見を得ることは難しい。これまでも、蛍光の褪色を用いた FRAP : Fluorescence recovery after photobleaching (蛍光消光回復法) や光活性化を用いた PA-GFP、photoconversion を用いた kaede 等が開発されてきた。しかし、これらの光ラベルはいずれも不可逆的なものであった。細胞内の蛋白質の動態は、様々な因子によって制御されており、細胞の状態変化により、その動きも変化すると考えられている。たとえば MAPK のような細胞内情報伝達分子は、外界からの刺激によって細胞質から核へ移行し、遺伝子発現制御に携わり、その後再び細胞質に戻ることが研究により明らかにされてきた。このような細胞内の蛋白質動態の測定は、その変化を同一の細胞で観察し得られたデータを使用して評価することが理想である。それ故、同一の細胞で何回も繰り返して生体分子の動きを観察するために、可逆的に蛍光標識できる蛍光蛋白質の開発が求められてきた。

今回、理研・脳科学総合研究チームの宮脇らは、異なる2つの波長の光の照射によって、蛍光の明滅を繰り返し観察することができる、フォトクロミック蛍光蛋白質“Dronpa”を開発した、という報告がなされたので紹介する。

### 紹介論文

Regulated fast nucleocytoplasmic shuttling observed by reversible protein highlighting.  
Ando R, Mizuno H, Miyawaki A. (Laboratory for Cell Function and Dynamics, Advanced Technology Development Group, Brain Science Institute, RIKEN, Japan.)  
Science. 2004 Nov 19;306(5700):1370-3.

### 要旨

細胞内における蛋白質の急速な動きを観察するために、信頼できる技術の進歩が求められてきた。今回、新たなサンゴ由来の蛋白質より作製された、単量体蛍光蛋白質“Dronpa”は、明状態と暗状態を可逆的に繰り返すことができる。そのフォトクロミックな性質により、細胞内蛋白質は非破壊的な手法によって、蛍光ラベル、消光、再び蛍光ラベルされることができる。これを用いることで、重要なシグナル分子の、急速な核細胞間シャトリング制御の直接的な観察を可能とした。今回は、MAPK の刺激依存的に加速すると考えられる核膜を横切る二方向性の動きを、MAPK : ERK を可逆的蛍光ラベルすることで視覚化した。ERK-Dronpa を発現した細胞に上皮増殖因子 EGF : Epidermal Growth Factor による刺激を与えると、ERK-Dronpa の核内への流入及び核からの流出ともに、無刺激の場合よりも亢進することを観察した。