

細胞内蛍光性タンパク質温度センサー tsGFP

(Intracellular fluorescent protein-based thermometer, tsGFP)

坂口 怜子

(京都大学 iCeMS)

細胞内において平均的・局所的な温度変化や温度分布は、生理学的な応答や情報伝達を担っていると考えられる。この温度挙動を観察するために、細胞内蛍光性タンパク質温度センサー (thermosensor GFP; tsGFP) は強力なツールである。

tsGFP は、サルモネラ菌由来の温度依存的な転写因子である TlpA タンパク質と、緑色蛍光タンパク質 (GFP) から構成されている。TlpA の構造が変化する融解温度は 37 °C 付近であり、可逆的に単量体と二量体の構造をとる。tsGFP は、この TlpA の温度感知部位を、GFP の N 末端および C 末端に融合させることで作製した (図 1)。TlpA の熱安定性を調節することによって、検出可能な温度帯が異なる変異体が設計されている。そのうち tsGFP1 は 37 °C 付近で大きな蛍光レシオ変化を示し、哺乳類の体温付近の温度変化を鋭敏に評価できる細胞内温度センサーとして機能する。タンパク質ベースのセンサーを用いる利点として、遺伝子上で細胞内局在化シグナルを融合するだけで、細胞内小器官など狙った場所にセンサーを局在させられることが挙げられる。実際に、細胞質だけでなく、ミトコンドリア型 (tsGFP1-mito)、小胞体型 (tsGFP1-ER)、細胞膜型 (tsGFP-F) 温度センサーが開発され、それぞれの温度変化計測が可能である。

HeLa 細胞において、ミトコンドリア型温度センサー tsGFP1-mito を発現させた結果、ATP 産生とミトコンドリア温度に相関があることが見出されている。さらに、細胞内における蛍光レシオ分布を解析すると、ミトコンドリア内において温度の不均一性が存在することが確認された。このように、tsGFP は、生体内における温度シグナルの意義の解明に必須のツールであると考えられる。

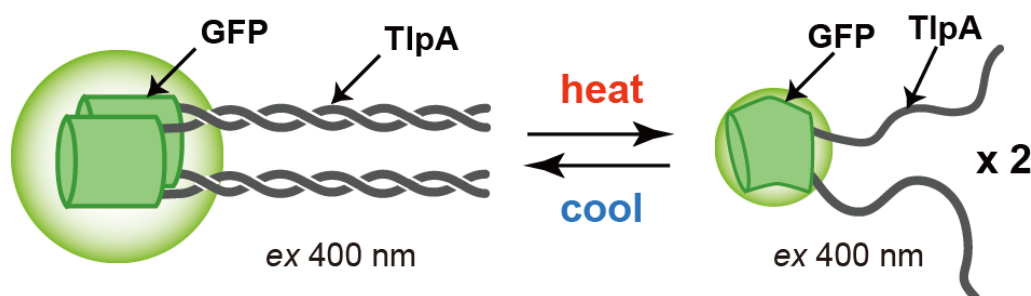


図1 温度センサーtsGFP の温度感知メカニズムの模式図。温度に依存して TlpA の構造が単量体から二量体へと可逆的に変化し、それに伴って GFP の蛍光発色団の環境が変化し、これが蛍光特性の変化として検出される。

参考文献:

- ・Kiyonaka S et al. *Nat. Methods* 10: 1232-1238 (2013)
- ・坂口怜子, 清中茂樹, 森泰生 *医学のあゆみ* 252: 256-257 (2015)