

Ca²⁺プローブ (Ca²⁺ probes)

大倉 正道

(埼玉大学大学院 理工学研究科)

細胞内の Ca²⁺濃度変化を検出する目的で用いられるプローブである。Ca²⁺プローブを用いた細胞内 Ca²⁺のイメージングは多細胞の時空間活動パターンを同時に解析できる有用な研究手法である。Ca²⁺イメージングには従来から Ca²⁺感受性の有機合成色素である Fura2、Fluo3 等の優れた Ca²⁺プローブが用いられてきた。近年では GFP やその類縁タンパク質を蛍光素子として用いて開発・改良された様々な遺伝子コード型 Ca²⁺プローブ GECI(ゲッキー)の利用が進んでいる。以下では GECI に限定して簡単に説明する。

GECI は化学発光タイプと蛍光タイプに大別される。

化学発光タイプは Ca²⁺および基質に依存して発光するタイプであり、例として Aequorin、Nano-lantern (Ca²⁺) 等が挙げられる。

蛍光タイプはさらに 2 種類に分類される。1つは単一 GFP タイプ(GFP の構造変化に伴って蛍光強度変化を起こすタイプ)であり、例として Camgaroo、G-CaMP(図 1)、Pericam、Case、GECO、CEPIA 等が挙げられる。もう1つは FRET タイプ(2 つの色が異なる蛍光タンパク質を同一分子内にもち、この 2 つの蛍光タンパク質間で起こる FRET(Förster Resonance Energy Transfer)の効率変化に伴って 2 色の蛍光強度比が変化するタイプ)であり、例として FIP、Cameleon、Troponin、F2C、Twitch 等が挙げられる。

最新の GECI では蛍光変化量や感度が改善され、神経細胞の 1 発の活動電位に伴う微弱な Ca²⁺濃度変化を検出することも可能となった。さらに、蛍光の増大・減弱が速く起こる GECI が開発され、神経の高頻度発火に伴う連発の Ca²⁺活動を個々の単発活動に分離して解析することも可能となってきた。また GECI の明るさについても改善が進んでいる。

近年光活性化タンパク質のチャネルロドプシン(ChR)を用いた光遺伝学操作と GECI を用いた Ca²⁺イメージングを同時に行う実験のニーズが高まってきた。ChR は赤色蛍光タンパク質の励起に用いられる光の波長帯でほとんど活性化されないため、このような目的では赤色の GECI が有用である。GECI は研究者のニーズに応じて進化し続けている。

参考文献:

- Nakai J et al. *Nat. Biotechnol.* 19: 137-141 (2001)
- Ohkura M et al. *Optogenetics: light-sensing proteins and their applications* 133-147 (2015)

図1 G-CaMP 型 GECI の動作原理

cpGFP: GFP の円順列変異体;
CaM: calmodulin; M13: myosin light
chain kinase の M13 断片

