

サイクリックGMP (cGMP) は血管の弛緩・脳神経機能などに重要な細胞内情報伝達をなす分子である。「バイアグラ」のように細胞内のcGMP濃度を変化させる医薬品をスクリーニングするには、十万個以上の細胞をすりつぶして細胞内のcGMPを分析する必要があった。本研究では、cGMPに選択的に結合して蛍光を発する分子を開発し、たった一つの細胞の中のcGMP濃度が生きたままで分析できるようになった。細胞内のcGMP濃度を調節する医薬品の高速スクリーニングのみならず、cGMPの生体での役割の解明に貢献するであろう。

【1B33】 サイクリックGMPの蛍光プローブ分子の開発

(¹東大院理、²科技団・CREST) 佐藤 守俊^{1,2}・比田 直輝¹・小澤 岳昌^{1,2}・梅澤 喜夫^{1,2}

ホルモンや神経伝達物質などの生理活性物質の多くは、細胞膜上あるいは細胞内に存在する特異的な受容体を介して、細胞内の幾種類のイオンや小分子の局所濃度を劇的に変化させることにより、細胞内に情報伝達することが明かとなっている。この細胞内情報伝達に使われるイオンや小分子はセカンドメッセンジャーと呼ばれている。サイクリックGMP (cGMP) は、循環器系・脳神経系などあらゆる生体組織での細胞内情報伝達を担う生体分子であり、カルシウムやcAMPなどと共に主要なセカンドメッセンジャーとして位置づけられている。本研究では、生きた細胞のなかのcGMPの挙動を可視化検出するために、cGMPを選択的に認識して光る蛍光プローブ分子を開発した。

cGMPの選択的分子認識のために、細胞内でのcGMP結合蛋白質であるcGMP依存性プロテインキナーゼI (PKG I) を用いた。cGMPの結合によるPKG I の構造変化を蛍光シグナルとして検出するために、オワンクラゲ由来の緑色蛍光蛋白質 (GFP) の変異体であり蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) のドナー・アクセプター蛍光団として機能するCFP (シアン色) およびYFP (黄色) を、PKG I のそれぞれN- およびC-末端に連結した。この融合蛋白質CFP - PKG I - YFP (CGY) をコードするcDNAを哺乳類細胞に導入し、cGMPの結合によりCGY分子内のFRETが増加することを確認した。このCGYを用いることにより、生理的アゴニストのNO刺激による細胞内でのcGMP濃度変化を蛍光顕微鏡下でイメージングできることを明らかにした。cGMPの蛍光プローブ分子CGYは、有機合成した分子でなく蛋白質から構成されている点が特徴の一つであり、CGYを体中あるいはニューロンなど特定の細胞に生まれながらに有するマウスを用いて、cGMPの役割を解析できるのも近い将来のことであろう。またCGYは、「バイアグラ」のような細胞内のcGMP濃度を増強・抑制する医薬品の高速スクリーニングに貢献すると期待される。

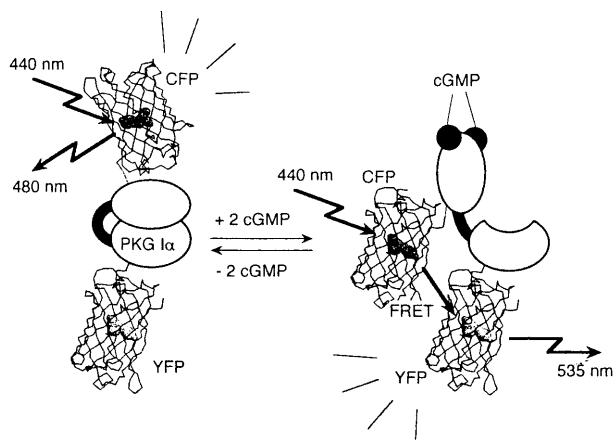


図 細胞内のcGMPを認識する蛍光プローブ分子CGY