

## [最近のトピックス] 口腔生物学系薬理学分野

新規IP<sub>3</sub>蛍光プローブによって明らかになったIP<sub>3</sub>オシレーション

谷村 明彦

Akihiko TANIMURA

北海道医療大学歯学部口腔生物学系薬理学分野

蛍光タンパク質は、生体内分子の局在や細胞内動態の可視化ツールとして広く使われている。中でも特に、蛍光タンパク質間の相互作用によって生じる蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した分子センサーが大きな注目を集めている。我々はこの原理を利用して、イノシトール1,4,5-三リン酸 (IP<sub>3</sub>) を可視化する蛍光プローブ「LIBRA」を開発した (Tanimura et al. 2004)。この蛍光プローブは、IP<sub>3</sub>受容体のリガンド結合ドメインの両端にGFP変異体であるCFP (青緑色) とYFP (黄色) を結合させたものである。IP<sub>3</sub>の結合によるリガンド結合ドメインの構造変化がCFPとYFPの距離あるいは角度を変化させ、その結果FRET効率が変化して2つの蛍光の比率が変化すると考えられる。

IP<sub>3</sub>は小胞体などのオルガネラからCa<sup>2+</sup>を放出させる細胞内メッセンジャーである。このCa<sup>2+</sup>応答では、Ca<sup>2+</sup>ウェーブやオシレーションなどの時間・空間的パターンによって多彩な細胞機能が調節されると考えられている。特にCa<sup>2+</sup>オシレーションは、刺激の強さというアナログ信号をCa<sup>2+</sup>パルスの頻度というデジタル信号に変換する細胞のA/Dコンバータとしての役割があるとも考えられている (Berridge et al. 2000)。このCa<sup>2+</sup>オシレーションの発生機構は長い間議論され、これまでに多くの実験的アプローチや数理モデルによる説明が試みられてきた。これらの議論の中で最も重要な焦点のひとつは、[IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>の振動の有無である。

図1はCOS-7細胞とヒト耳下腺導管由来のHSY-EA1細胞の [IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>と [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の変化を同時に解析した結果である (Tanimura et al. 2009)。COS-7細胞ではIP<sub>3</sub>振動が認められず、多くの場合 [IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>が100nM程度の時にCa<sup>2+</sup>オシレーションが起こった (図1, 上段)。それに対してHSY-EA1細胞では、明らかなIP<sub>3</sub>振動が観察された (図1, 下段)。しかしCa<sup>2+</sup>オシレーションとIP<sub>3</sub>振動のスパイクピークを比較すると、Ca<sup>2+</sup>が先行することから、IP<sub>3</sub>振動はCa<sup>2+</sup>オシレーションの原因では無いと考えられる (図1, 下段)。COS-7細胞とHSY-EA1細胞を比較すると、IP<sub>3</sub>振動が起こるHSY-EA1細胞では、[IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>が大きく上がってもCa<sup>2+</sup>オシレーションが起り易いことから、IP<sub>3</sub>振動がCa<sup>2+</sup>オシレーションの発生に補助的な役割を果たしていると考えられる。

IP<sub>3</sub>振動の発生に関する実験的解析が蛍光プローブによって可能になったばかりの現時点では、その重要性は明確ではないが、これまでは単なる仮説であったIP<sub>3</sub>振

動が実際に起こることが示されたことによって、その役割に関する議論の重要性が高まったと考えられる。また、IP<sub>3</sub>振動の発生機構についても現時点では不明である。以前から論じられてきた数理モデルでは、IP<sub>3</sub>生成系に対するCa<sup>2+</sup>のフィードバック促進によるIP<sub>3</sub>振動モデルと、Ca<sup>2+</sup>のフィードバック抑制によるIP<sub>3</sub>振動モデルがある (Politi et al. 2006)。今後、蛍光プローブを使った実験的研究によって、それらの問題が明らかになると考えられる。

## 文献

Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. Nat Rev Mol Cell Biol 1: 11–21, 2000.

Politi A, Gaspers LD, Thomas AP, Höfer T. Biophys J 90: 3120–3133, 2006.

Tanimura A, Nezu A, Morita T, Turner RJ, Tojyo Y. J Biol Chem 279: 38095–38098, 2004.

Tanimura A, Morita T, Nezu A, Shitara A, Hashimoto N, Tojyo Y. J Biol Chem 284: 8910–8917, 2009.

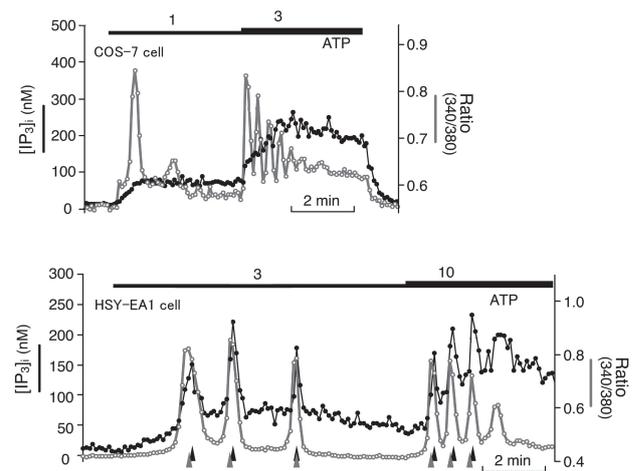


図1 COS-7細胞とHSY-EA1細胞のCa<sup>2+</sup>オシレーションと [IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>動態

IP<sub>3</sub>蛍光プローブ発現細胞にFura-2を負加し、[IP<sub>3</sub>]<sub>i</sub>と[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>を同時測定した。HSY-EA1細胞ではCa<sup>2+</sup>オシレーション (灰色) と同調したIP<sub>3</sub>振動 (黒) が観察されたが、COS-7細胞ではIP<sub>3</sub>振動は認められなかった。HSY-EA1細胞のCa<sup>2+</sup>オシレーションのスパイクピーク (灰色の矢頭) は、IP<sub>3</sub>振動のスパイクピーク (黒の矢頭) に先行する。