

「FRET プローブを用いた単一生細胞内 ATP 濃度のリアルタイム測定」

今村 博臣

(科学技術振興機構さきがけ・大阪大学産業科学研究所)

アデノシン三リン酸(ATP)は1929年にLohmannによって発見された。それから80年経った現在では、ATPは全ての生物において主たるエネルギー通貨として働いている事が示されている。ATPの加水分解エネルギーを利用する事で、生物は通常進行しないような化学反応をいとも容易く達成している。筋収縮などはもとより、細胞運動、細胞内輸送、膜を介した物質輸送、生体高分子の合成、代謝反応等々、さまざまな生命現象はATPのエネルギー無しには進行しない。また時としてATPは細胞の内外で情報伝達分子としても働いており、近年注目を集めている。

ところが、発見から80年経った現在も、単一の生細胞内部のATP濃度をリアルタイムに知る事は困難であった。従来の細胞内ATPの測定法は、多数の細胞や組織を一旦破壊した後にATP量を測定するというものである。しかし、このような手法では細胞間の個体差や生きた細胞の持つ時間的・空間的な情報が失われてしまう。そのため、生体内ATPの濃度やその時間的・空間的な分布・変動については理解が進んでいるとは言いがたい。そこで、我々はATP合成酵素の ϵ サブユニットと蛍光タンパク質を組み合わせ、FRETタイプの蛍光ATPプローブ(ATeam)を開発した。ATeamは ϵ サブユニットがATPの結合によって大きく構造変化する性質を利用している。 ϵ サブユニットに様々な改変を加える事で低濃度から高濃度まで様々なATP濃度をカバーする一連の改変型プローブも作製した。ATeamを発現させた細胞をイメージングすることによって、ひとつひとつの生きた細胞中のATP濃度変化をリアルタイムに測定することが可能となった。また、異なる細胞小器官にATeamを発現させる事で、同じ細胞であっても場所によってATP濃度が異なる事もわかってきた。現在は細胞死と細胞内ATP濃度の関係を調べているが、細胞内のATP濃度は細胞死においてダイナミックに変動する事が明らかとなってきている。