

Title	いつ, どこで?: 生きている細胞内の蛋白質活性が見えた!
Author(s)	黒川,量雄
Citation	癌と人. 2003, 30, p. 34-35
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/23756
rights	
Note	

## Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

## いつ、どこで? 一生きている細胞内の蛋白質活性が見えた!

里川量雄\*

我々の体を構成している細胞たったひとつの なかで、数万もの蛋白質をはじめとする分子群 が秩序を保ち、相互に関係しながらそれぞれの 役割を果たしています。癌は、癌遺伝子産物な どの細胞増殖に関わる分子群がその秩序を失う ことによって引き起こされます。過去数十年に わたって細胞内の複雑な分子群の役割. そして それら分子群の相互作用の研究が精力的に行わ れてきました。その牽引車となってきたのがほ かならぬ癌遺伝子産物の研究でありました。癌 遺伝子の研究は、Rous Sarcoma virus発見には じまる癌ウィルスハンターの時代, 1978年の Src遺伝子発見を転機とする癌遺伝子ハンター の時代、そしてSH2ドメイン(多くの蛋白質に 保存されている領域)-リン酸化チロシンの結合 の発見を転機とする癌遺伝子産物間の相互作用 の時代と続き, 現在は個々の癌遺伝子産物とい う点と点が多くの線として結ばれた時代であり ます。そして今もなお新たな相互作用の研究が 精力的に進められています。このようにして細 胞内分子群に関する膨大な量の情報が蓄積され てきましたが、そのほとんどは生化学的な手法 によって細胞をすりつぶした溶液を使って得ら れた情報か、あるいは固定した標本を使ってそ

れらの分子の局在を観察した情報でありました。従って、生きた細胞の中で「いつ、どこで、 癌遺伝子産物が活性化し相互作用しているのか?」という疑問にはほとんど答えることが出 来ませんでした。ひとつのチューブのなかで、 あるいは固定された細胞の中で癌遺伝子産物の 点と線は複雑に絡み合ったままなのです。

私たちの研究室では数年前よりこの重要な問 題に答えるため、そして絡み合った点と線を解 きほぐしていくための細胞内分子の時空間情報 を得る研究を開始いたしました。では、どのよ うな方法によって生きた細胞の中のいつ、どこ で、蛋白質が活性化し、相互作用しているかを 調べられるのでしょうか?その方法のひとつに FRET(蛍光共鳴エネルギー移動)を利用した 蛍光プローブ-FRETモニター分子-が挙げられ ます。FRETはある2つの蛍光物質A、Bが極近 傍に存在したとき, A (エネルギー供与体-ド ナー)を励起するとその物質の蛍光エネルギー がB (エネルギー受容体--アクセプター) に無 放射遷移してBから蛍光が生じる現象です。こ の現象をうまく利用すると蛋白質構造変化、蛋 白質間相互作用を解析することができます。私 たちは緑色蛍光蛋白質(GFP)の2つの変異体 (CFP, YFP)をそれぞれドナー,アクセプターとして用いて細胞内情報伝達の鍵である低分子量G蛋白質活性変化とリン酸化反応をモニターできる分子の作製,改良に取り組んでおります。

RasファミリーG蛋白質は、Ras, R-Ras, Rap, Ral. その他の5サブファミリーに分かれてお り、哺乳動物では10数種類が知られている蛋白 質ファミリーです。Ras遺伝子は1981年にラッ トの肉腫ウィルスの癌遺伝子として発見され、 1982年にはヒトの多くの腫瘍組織より点突然変 異を受けて活性化された形で検出され、 膵臓癌 の約80%, 大腸癌の約50%でRasの活性型変異 がみられます。Rasの機能は多様であり、細胞 の増殖, 分化, 形態調節, アポトーシスなどに 関与していることが知られています。一方, RasファミリーG蛋白質の別のメンバーである Raplは、Rasの機能抑制分子として単離された 遺伝子であり、Ras依存性のc-Rafの活性化を 抑制する作用が知られています。しかしながら、 EGFやPDGFなどの増殖因子は、Ras 1とRap1 をともに活性化させ、今まではRasとRap1の違 いを理解することは困難でありました。そこで RasとRap1のFRETモニター分子Raichu (Ras and interacting protein chimeric unit) -Ras, Raichu-Raplを用いて、EGFによるRas、Rapl の活性化の局在を解析しました。その結果, Rasは細胞辺縁部、特にメンブレンラッフリン グ部位で強く活性化され、一方Rap1はRas とは全く逆で、細胞の中心部で強く活性 化されることがわかりました。Raichu-Ras, Raichu-Rap1を利用することにより、Rasと

Rap1が細胞内の異なる領域で活性化されることが初めて明らかになりました。

これらFRETプローブに続き、アダプター型 癌遺伝子産物Crkのチロシンリン酸化をモニ ターできるFRETプローブを利用して、EGF刺 激による蛋白質リン酸化の広がりを生きた細胞 で可視化することが出来ました。さらにRho ファミリーG蛋白質の活性をモニターできる FRETプローブも作製し、生きた細胞でのRho ファミリーG蛋白質活性変化も可視化出来まし た。RhoファミリーG蛋白質はアクチン細胞骨 格系を制御し、細胞の運動、増殖、分裂などに 働くことから、その詳細な機能解析が癌細胞の 浸潤機構解明もつながると期待し、現在精力的 に研究しております。理化学研究所の宮脇博士 がカルシウム濃度をモニターするFRETプロー ブcameleonを発表した1997年にはFRETをキー ワードに文献検索すると年間10本ほどでした が、その後この分野の論文は爆発的に増え、現 在までに400以上の論文でFRETが利用され、 更なる広がりを見せることが予想されます。私 たちのFRETモニター分子を用いた研究が、生 きた細胞内での癌遺伝子産物に関する新たな知 見をもたらし、癌研究の進展に貢献することを 願っております。

最後に、(財) 大阪癌研究会より平成13年度 一般学術研究助成を頂きましたことを心から感 謝いたします。

<sup>\*</sup>大阪大学微生物病研究所 腫瘍ウイルス分野 平成13年度一般学術研究助成金交付者