

生きた細胞内のATP濃度 —蛍光性タンパク質を利用— 阪大グループ 計測手法開発

大阪大学産業科学研究所の今村博臣・JSTさきがけ研究者、野地博行教授らの研究グループは、生きている細胞内でATP（アデノシン三リン酸）濃度を計測できる蛍光性タンパク質

を使った手法を開発した。PNASオンライン版に掲載された。

生物は外から得たエネルギー物質をそのまま活用できないため、その大半を一度ATPという形で蓄えて利用している。ATPには、筋収縮、細胞運動、膜を介した物質輸送、生体高分子の合成、代謝反応など幅広い役割がある。細胞内のATP濃度は、代謝反応速度や細胞運動に直接影響しているが、従来の測定法では、細胞を壊してから組織抽出液中に含まれるATPを調べていたことから、細胞内のATPの時間的・空間的な分布や変動、細胞の一部のATP濃度変化等は、あまりわかっていなかった。研究グループでは、蛍光タンパク質のGFPを改変して作った水色蛍光タンパク質・CFPと黄色蛍光タンパク質・YFPを用いて、ATPの濃度によって色が変化する蛍光プロローブ『ATeam』を開発した。こ

れは、細菌のATP合成酵素を構築するイプシロンサブユニットとCFP、YFPを連結したものだ。ATPが低濃度の時は、イプシロンサブユニット部分は開いた構造を持ちCFPとYFPの距離は離れている。CFPに光を当てると水色に蛍光する。一方でATPが高濃度の時は、イプシロンサブユニットがATPと結合し閉じた構造を取るため、CFPとYFPの距離は縮まる。光を当てると、CFPからYFPへ蛍光共鳴エネルギー移動が起こり、主に黄色に蛍光するようになる。

ヒトガン由来細胞においてATeamを特定の細胞の場所で発現させたところ、ミトコンドリアのATP濃度が細胞質や核と比較して、低く保たれていることがわかった。これは、ATPを素早く外部にくみ出し、効果的にATP合成反応を進めていると考えられる。さらに、単一の生きた細胞内部のATP濃度を経時的に測定することができた。ATP合成は、主に解糖と酸化的リン酸化の2つの代謝経路で担われている。筋肉細胞では酸素濃度により2つの経路を使い分けているが、ガン細胞では、

酸素濃度に関係なく解糖経路を用いる。そこでヒトガン由来細胞に酸化的リン酸化の阻害剤を加えたところATP濃度で変化がほとんどない一方で、解糖を阻害するとATP濃度が徐々に減少した。さらに、解糖と

酸化的リン酸化の阻害剤を同時に加えるとATP濃度の減少速度が増加した。今回開発した手法を用いることで、情報伝達物質としてのATPの詳細な役割を見いだすことができるかもしれない。