

モノマー型細胞内温度センサータンパク質の開発

(名大工¹・名大院工²・名大量子イノベ研³)○淤見 昂生¹・築場 彩瑛²・八塚 研治^{1,2}・清中 茂樹^{1,2,3}

Development of a monomeric thermosensor protein in cells

(¹*School of Engineering, Nagoya University*, ²*Graduate School of Engineering, Nagoya University*, ³*Research Institute for Quantum and Chemical Innovation, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University*) ○Koki Omi,¹ Sae Yanaba,² Kenji Yatsuzuka,^{1,2} Shigeki Kiyonaka^{1,2,3}

Thermosensor proteins consisting of a temperature-sensitive domain and a fluorescent protein can measure intracellular temperature and visualize heat production by cellular activities. We previously developed tsGFP, a green fluorescent dimeric protein dissociating by elevated temperature, and observed temperature-dependent fluorescence intensity changes in cells. However, tsGFP had some disadvantages as a temperature sensor, such as its large molecular weight due to dimerization.

In this study, we attempted to develop a monomeric thermosensor protein. To induce a temperature-dependent conformational change in the molecule, we fused a green fluorescent protein with the anti-parallel coiled-coil domain, which responds to thermal changes. When the thermosensor protein was transfected into living cells, a change in fluorescence intensity response to temperature change was observed, promising the potential as a practical thermosensor to indicate heat generation at any location within living cells.

Keywords : Thermosensor; Fluorescent protein; coiled-coil; Genetically encoded sensor

温度感受性領域と蛍光タンパク質で構成されるタンパク質温度センサーは細胞内温度を計測可能で、細胞活動による熱産生を可視化できるツールである。我々は以前、昇温に応じて解離する二量体タンパク質を持つ緑色蛍光タンパク質である tsGFP を開発した。tsGFP は細胞内で温度依存的な蛍光強度変化を示したが、ダイマーの形成が必要で、分子量が大きいなど、温度センサーとして欠点が存在した。

そこで、当研究ではモノマー型の温度センサータンパク質の作製を試みた。分子内で温度依存的に構造変化を誘起する必要があるため、逆並行型コイルド-コイルドメインを緑色蛍光タンパク質に融合し、モノマー型温度センサータンパク質を作製した。作製した温度センサータンパク質を生細胞に導入したところ、温度変化に応答した蛍光強度の変化が認められた。今回開発したモノマー型温度センサーは生細胞内のあらゆる場所の熱産生をリアルタイムに可視化できるツールとして期待できる。

