

ゼブラフィッシュ胚における緑色蛍光タンパク質バリエーションの比較
Comparative assessment of green fluorescent protein variants in
zebrafish embryos

1200187 石田 渡生己
Toi Ishida

1992年に緑色蛍光タンパク質 GFP 遺伝子がオワンクラゲからクローニングされて以来、蛍光タンパク質は幅広い生命科学の研究に利用されている。蛍光タンパク質は、それをコードする DNA や mRNA を細胞内に導入することで、細胞の活動を維持させたまま発現された蛍光タンパク質を顕微鏡により観察できる。しかし、胚においてイメージングを行う場合は、発現レベルが低い蛍光タンパク質を検出する必要があるため、より明るい蛍光を発する様々なバリエーションが作成されてきた。また、発色が早く進行するゼブラフィッシュ胚で蛍光タンパク質を用いる際には、発色団が早く形成される必要がある。しかし、ゼブラフィッシュ胚における蛍光タンパク質バリエーションの比較は十分になされていない。そこで本研究では、オワンクラゲ GFP のバリエーションである EGFP, mNeonGreen, mClover2, mClover3, sfGFP, Venus、ならびにウミサボテン GFP に関して、蛍光強度と成熟時間の比較を行った。まず、PCR 法を用いて、蛍光タンパク質をコードする領域を増幅し pCS2 ベクターへサブクローニングした。これらのプラスミドを鋳型として目的の GFP バリエーションをコードする mRNA を調製したあとゼブラフィッシュに顕微注射した。さまざまな胚のステージにおける GFP の発現を蛍光顕微鏡で観察することで、バリエーション間の比較を行った。