

# せるてQuiz

presented by

大海 忍

東京大学医科学研究所

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/ohmiken/index.htm>



## 問題

大学院生のS君は神経細胞の記憶に関わるリガンドと受容体の研究をしています。S君は最近、受容体の下流にタンパク質リン酸化反応があることを見だし、リン酸化酵素の阻害剤を用いた実験結果を途中経過審査会で発表しようとしています。以下は、審査担当の教員とS君のやりとりです。教員の疑問を解くために、S君はどのようなことをしておくべきだったでしょうか。

教員：「リガンドに依存したアウトプットが阻害剤の添加で抑えられているのはわかりますが、阻害剤の濃度が高すぎないですか？」

S君：「受容体に共役したタンパク質リン酸化は細胞内で起こっていると考えられます。細胞外から加えた阻害剤が浸透する効率を考えると、無細胞系で使用する濃度よりも高くする必要があります。」

教員：「アウトプット減少とタンパク質リン酸化の相関は調べていますか？」

S君：「はい、低濃度の阻害剤ではリガンドの効果を抑えることがないと同時に、リン酸化の阻害も観察されません。」

教員：「受容体機能とリン酸化は関係なくて、高濃度の阻害剤を使ったことによる毒性で細胞がダメージを受けているだけとは考えられないですか？」

S君：「阻害剤をかけた細胞が活着していることは、トリパンブルー染色に陰性であることから間違いありません。」……質疑はさらに続く。

## ヒント

ポイントはトリパンブルー染色。必ずしもセオリー(?)通りには染まらない。

## • 答え •

アクセスはコチラまで!



<http://gakken-mesh.jp/journal/saibo/>

※『細胞工学』各月号ページの「関連リンク」欄から解答のPDFをご覧いただけます。

# せてQuiz<sup>クイズ</sup> 第4回

## • 答え •

審査の教員にあらかじめプレゼンして実験の難しさを理解してもらっておく。

### 解説

問題を考えた当初は『実は正解なし』としていたのですが、上の答えが一番現実的なのです。何だつまらないと言わずに以下の説明も読んでください。まず、トリパンブルーは、死んだ細胞の膜を透過して細胞質のタンパク質を染めることから、細胞の生死を見分ける色素として使われています。しかし、うまく染まらない細胞があったり、死ぬ前後のタイミングについても微妙で判断が難しいことがあります。アポトーシスでは、考えてみれば当然のことですが、膜機能が保たれている間は染まりません。今回のクイズで、細胞の生死に関わる実験を複数やっておくという解答は一応合格点ですが、本質を突いているわけではない。「リン酸化の標的を特定してリン酸化が起こらないような変異タンパク質を細胞に導入して実験する」なんていうのも誰でも考えつく実験ですが、いざ実行はかなり難しい。さらに、リン酸化部位がいくつもあつたりすると (redundancy)、予想以上に複雑な結果になってしまう。変異タンパク質の構造や局在についても心配だし。そもそも、作問者の大海は変異タンパク質導入の実験はあまり好きではない。とはいえ、この解答もまあ合格とします。

最後に、この手の実験でぜひやってほしいこと。リン酸化のような、生理的条件下でも可逆反応が期待できる場合は、1つのサンプルを用いた1回限りの解析で終わることなく、可逆性をかながみて追跡モニターしてほしいです。神経細胞への刺激ではいわゆる脱感作 (desensitization) などという現象が起こるかもしれませんが、少なくとも細胞が死んでいないのではないかという疑問には十分に答えられています。