



広島大学

広島大学大学院理学研究科  
生物科学専攻

## 第5回 細胞生物学研究室セミナー

「細胞のかたちと機能」プロジェクト研究センター共催

2017年1月17日（火）16:30～17:30

理学部E棟002号室

### 関根 清薫 博士

理化学研究所 多細胞システム形成研究センター（CDB）  
形態形成シグナル研究チーム

## 内在性タンパク質を効率的に標識する新規戦略 ～スプリット蛍光蛋白質とゲノム編集技術の邂逅～

一つの細胞は1万種類以上のタンパク質から構成されており、その小さな世界を理解するためには、全ての内在性タンパク質の挙動を生きたまま、高い解像度で観察することが重要な一歩である。近年のゲノム編集技術の進展により、以前よりも遥かにノックイン効率は向上したが、それでも GFP など比較的サイズの大きい遺伝子を挿入するのはドナーDNAのクローニングを要するため時間のかかる行程だった。そこで我々は GFP を GFP1-10 (215 残基) と GFP11 (16 残基) に分けたスプリット GFP (Nat Biotech, 2004) を利用しノックインする配列を極力短くすることで、高効率のノックインを実現できるのではないかと考えた。実際、Cas9 RNP を用いたゲノム編集技術を組み合わせることで、ヒト培養細胞において 30 の異なるターゲットに対する GFP11 のノックイン細胞の樹立を2週間で行うことができた。また、短い GFP11 をタンデムにつないで蛍光輝度を増幅し、長時間のライブ観察や、発現量の低いタンパク質の可視化を可能とした。更に、sfCherry など他色の蛍光タンパク質でもスプリット可能であることを発見したことから、更に幅広い利用が期待される。本セミナーでは、以上の研究成果とともに3年間にわたる留學生活についても交えてお話ししたい。

追記：本セミナーでは2016年に発表された効率的な内在性タンパク質標識法 (Nat Commun, 2016; PNAS, 2016) の話、そして10分程度で研究留學体験についても紹介して頂きます。研究・留學に興味のある学部学生・大学院生は気軽に聞きに来てください。教員の皆さまのご来場もお待ちしております。

連絡先：理学研究科生物科学専攻・細胞生物学研究室  
千原崇裕（内線：7443）[tchihara@hiroshima-u.ac.jp](mailto:tchihara@hiroshima-u.ac.jp)