

具有性腺遺傳能力的紅色螢光小鼠

去氧核糖核酸(DNA)的研究，在過去 40 多年來，一直是生命科學界的顯學。隨著分子生物技術、商業量產套組(kit)及自動化儀器的快速發展，任何特定 DNA 序列的選殖，目前已可相當有效率的例行操作。這些 DNA 序列於生命的過程、分時(temporal)及分區(spatial)生理意義的瞭解及作用機制的探討如何進行？基因轉殖技術因此成為探索此問題的一大利器。DNA 轉譯、轉錄並修飾成為功能性蛋白質後，才能對生命發揮作用；如何瞭解這些 DNA 的作用機制及追蹤相關蛋白質的去向，遂成為研究上的重點。

追蹤並分析基因轉殖動物之基因或相對特定細胞系(cell lineage)動向，有許多報導基因(reporter gene)可以選用。例如細菌 β -galactosidase gene (LacZ, 35 kDa, 以 tetramer 作用)、horseradish peroxidase (HRP)等，各有其優點；惟需取樣做特殊顯色處理後才能判讀，且活體(in vivo)無法進行，因此使用上有不便利之缺點。使用活體外源性染劑，濃度隨發育、生長被稀釋，可供觀察時段有限，且無法做 DNA 分析；螢光的應用適時解決了此問題。

不同顏色及亮度的螢光【fluorescence，再生性冷光，移除光源後不再發光；另外為磷光(phosphorescence)，當移除光源後仍發光

一陣子】普遍存在生物界，例如螢火蟲、深海生物、腔腸動物(珊瑚蟲類、水螅類)等；其中以綠色螢光蛋白(green fluorescent protein, GFP)最被普遍使用。

源自太平洋西北冰冷海域水母(*Aequorea victoria*)的突變綠色螢光蛋白—加強型 GFP(enhanced GFP, EGFP)因其熱穩定性高、發散螢光亮度夠強，且具非侵入性(non-invasive)、即時(real time)及原位(in situ)特性，使其應用在過去不到 10 年間急速增加；具性腺遺傳能力並表現綠色螢光小鼠證實為極有效工具。隨後藍色、黃色、青色及紅色等螢光蛋白陸續被發表，增加使用上選擇性。因為不同螢光蛋白主要發散波長(emission wavelength)只有部份重疊或幾乎不重疊，因此可同時使用。其中，紅色最受期待，因為波長較長、能量較低，活細胞忍受情形更好；又紅配綠對比鮮明、視覺上賞心悅目。可惜來自珊瑚(*Discosoma* sp.)及海葵(*Heteractis crispa*)紅色螢光蛋白一直有缺點，無法普遍被應用。

早期發展出來的紅色螢光蛋白以 DsRed 最著名，惟分子成熟慢且不完全，因此亮度低。在哺乳動物細胞會自動形成四合體(tetramer)，進而造成溶解度欠佳、解析力差及分布不均的結果，並累積成具毒性；因此無法有效使用在敏感的胚及胚幹細胞。各式突變型雙合體(dimer)因而陸續發展出來，例如 DsRed2, DsRed.T1 及

DsRed. T3；惟活體使用上仍有分布不均問題。2002年，Campbell 等發表第一個單體紅色螢光蛋白 mRFP1 (monomeric red fluorescent protein)，雖然發光效率(fluorescence quantum yield)及光穩定性(photostability)較差，惟分子發光成熟所須時間快速，因此亮度高；37°C時可用常規儀器設備偵測、分離到我們所需要的螢光(顏色及亮度)特質。2005年，Zhu 等將 pCX-mRFP1 顯微注入 FVB 小鼠原核，成功得到具性腺遺傳能力並表現紅色螢光小鼠。2005年，Long 等將 pCX-mRFP1 轉入胚幹細胞，並以之得到具性腺遺傳能力並表現紅色螢光小鼠。至此，紅色螢光才可有效應用於動物模式。2004年，新的單體紅色螢光蛋白 mRFPmars 及 2005年 DsRed-Monomer 被發展出來，細胞使用上效果良好，惟活體動物使用上仍不清楚，有待確認。

(李坤雄撰 / 杜清富審)