
第 389 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2019 年 5 月 31 日(金) 17 時 30 分~19 時 00 分

場 所: 実習館 2 階研究所セミナー室

演 者: 鈴木 崇弘 氏

(愛知学院大学歯学部生化学講座・教授)

タイトル: ガウシアルルシフェラーゼを用いたタンパク質分泌動態の生物発光
イメージング

生物発光は、ルシフェラーゼ(酵素)とルシフェリン(発光基質)の酵素反応による発光現象である。我々の研究グループは独自の技術として、生細胞における「タンパク質分泌の生物発光イメージング法」を開発してきた。本手法は、分泌型ルシフェラーゼがルシフェリンを含む培養液に分泌された瞬間に起こる微弱発光を、外部光を遮断した高感度カメラ顕微鏡システムで可視化する。哺乳類細胞の分泌経路に発現させた際に高い発光活性を示すガウシアルルシフェラーゼ(Gaussia Luciferase: GLase)は、本手法の最適なレポータータンパク質である。解析目的の分泌タンパク質と GLase の融合タンパク質を発現させた細胞の培養ディッシュに発光基質セレンテラジンを添加し、水冷 EM-CCD カメラを備えた顕微鏡で発光シグナルを検出することにより、タンパク質の分泌動態を 1 時間以上連続的にビデオレート(30-500 ms/frame)でイメージングできる。本手法の特長は、細胞の全表面において開口分泌の可視化が可能であり、画像上の発光強度解析により分泌量変化を相対定量できる点にある。また、開口分泌後に細胞表面に分布しているタンパク質と、拡散動態を示す開口分泌中のタンパク質を同時に可視化して区別することもできる。さらに、ルミノメーターを用いて GLase 融合タンパク質の分泌量を解析することも可能である。我々は本手法により、3D 培養細胞における細胞間で同調したインスリンの周期性分泌をはじめとして、分泌タンパク質と膜タンパク質の可視化を報告しており、手法の応用範囲を広げながら研究を進めている。

(参考文献)

- 1) ビデオレート生物発光イメージング法によるタンパク質分泌動態の可視化. 鈴木 崇弘, 井上 敏. 生化学, 86 (2): 281-285, 2014.
- 2) Quantitative visualization of synchronized insulin secretion from 3D-cultured cells. Takahiro Suzuki, Takao Kanamori, Satoshi Inouye. *Biochem Biophys Res Commun*, 486 (4): 886-892, 2017 (Open Access).

【略 歴】

1987年 3月 岐阜県立恵那高等学校卒業
1988年 4月 東京大学教養学部理科Ⅱ類入学
1992年 3月 東京大学薬学部薬学科卒業
1997年 3月 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了
1997年 3月 博士(薬学)学位取得(東京大学)
1997年 4月 藤田保健衛生大学総合医科学研究所助手
1997年 5月 薬剤師免許取得
2003年 7月 東京工業大学大学院生命理工学研究科助手
2006年 5月 愛知学院大学歯学部生化学講座講師
2010年 4月 愛知学院大学歯学部生化学講座准教授
2018年 8月より現職

【所属学会】

歯科基礎医学会
日本生化学会
日本歯科理工学会
日本バイオイメージング学会
日本神経科学会
日本糖尿病学会
愛知学院大学歯学会

【研究歴】

東大薬学部では宇井理生先生と堅田利明先生に師事し、三量体型 G タンパク質を介した細胞内シグナル伝達研究を行った。その後、藤田保健衛生大学医科学研究所で永津俊治先生に師事し、カテコールアミン合成関連酵素の遺伝子発現研究を

*Matsumoto Dental University
Graduate School of Oral Medicine*

1780 Gobara, Hirooka, Shiojiri,
Nagano 399-0781, Japan

行った。東工大に移籍後、一瀬宏先生のもとでカテコールアミンの研究を継続していた際に、生物発光酵素の専門家である井上敏博士と生物発光イメージングの研究を開始し、愛知学院大学金森孝雄先生のもとに移籍してから現在に至るまで、タンパク質分泌の生物発光イメージング法の開発と応用を中心とした研究を行っている。

担当:硬組織疾患制御再建学講座
小出雅則