

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		新規発光センサーを用いた細胞間コミュニケーション数理モデルの構築			
研究テーマ (欧文) AZ		Mathematical models for understanding cell to cell communication based with novel bioluminescence sensor			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) ハットリ	名) ミツル	研究期間 B	2014 ~ 2016 年
	漢字 CB	服部	満	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	HATTORI	MITSURU	研究機関名	福井大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		福井大学学術研究院医学系部門・助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>個々の細胞の遺伝子発現や環境応答などの活性は、組織及び個体として捉えた場合に細胞間で協調して変動する可能性がある。本研究では、細胞活性の細胞間におけるコミュニケーションを視覚化するための、生物発光ルシフェラーゼを基盤とした発光センサー（プローブ）を開発する。さらに開発したルシフェラーゼプローブを用いた新規イメージングシステムを構築する事で、細胞間コミュニケーションを視覚化し計算処理により理解できる研究基盤を確立する。</p> <p>ルシフェラーゼプローブでは、研究用に確立されたルシフェラーゼ種のうち NanoLuc と呼ばれる最高輝度を誇るものを使用した。NanoLuc を発光センサーとして使用する際にタンパク質再構成法を用いることで、発光の ON/OFF により対象となる細胞活動の有無を検出することに成功した。また、ルシフェラーゼ発光は自発的な反応であるため顕微鏡観察などのイメージングにおいては、深さ方向への解像度が低い。そこでルシフェラーゼの基質をケージド化することで、光制御による発光のスイッチングを実行した。同原理を利用して、倒立型顕微鏡を基盤とした光刺激-発光観察システムを新規に開発した。同システムでは光刺激によりルシフェラーゼ発光を一時的に生じさせそれを検出することによって、深さ方向への情報を有した共焦点発光観察像を取得する事ができる。実際にヒト表皮初代細胞を用いて、表皮が分化し成長する過程を発光イメージングにより観察することに成功した。今回開発した発光プローブ及び観察システムを利用することで、3 次元的な細胞間のコミュニケーションを定量する事が可能となった。</p>					
キーワード FA	ルシフェラーゼ	発光	イメージング		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Confocal Bioluminescence Imaging for Living Tissues with a Caged Substrate of Luciferin							
	著者名 ^{GA}	Hattori et al.	雑誌名 ^{GC}	Analytical Chemistry					
	ページ ^{GF}	6231~6238	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	88 (12)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Activation of cells derived from physiological events such as gene expression and some environmental reactions has a possibility to be coordinated among cells spatiotemporally. In this study, we developed new cell activation sensor based luciferase bioluminescence for monitoring cell-to-cell communications. We mainly used NanoLuc as a luciferase with bright luminescence. Split luciferase complementation technique was induced in the sensor to detect the timing of activation by bioluminescence. We also developed a confocal bioluminescence imaging system to visualize the localization of luminescent cells. To control the bioluminescence reaction spatiotemporally, caged furimazine was newly synthesized as a substrate of the luciferase. Combining the substrate and the imaging system, we conducted bioluminescence imaging with improved spatial resolution in the depth direction, which was sufficient for the discrimination of a luminescent cell in a cell population and the details of cell morphology. It is expected to increase the reliability of quantitative analyses as well as the spatial resolution. This technique will be useful to analyze a correlation of cellular activities among cells in specific living tissues.