

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員 ・ 超高磁場 NMR ・ クライオ電子顕微鏡 ・ 客員フェロー

(2) 研究代表者

氏名：白崎善隆

所属機関名・部局名・職名：東京大学・大学院薬学系研究科・特任助教

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

一細胞粒度での分泌機能活性動態の解明

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：原田慶恵

(研究室名：蛋白質ナノ科学 研究室 )

(5) 研究成果の概要 (公開)

細胞が小分子からタンパク質や核酸のような高分子、脂質に包まれた小胞に至るまで、多種多様な物質を細胞外へと放出する現象である「分泌」は、真核・原核の垣根を越えて普遍的にみられる現象であり、細胞間でのメッセージを伝達する役割（細胞間相互作用）を担っている。一細胞に端を発する分泌活性が細胞集団としての機能を統制し、多細胞生物においては個体そのものの恒常性や応答性をも制御しうするため、個々の細胞がどのような分泌活性を呈するのかを明らかにすることは、生命の維持機構を知る上では特別な意義を持つ。近年、一細胞分泌定量技術が発展し、同種の細胞間であっても分泌の有無や分泌活性強度が大きく異なることが明らかとなったが、分泌が期待される細胞から分泌が見られない現象が、そもそも分泌活性保持に関して性質の異なる亜群を含んでいるのか、あるいは、分泌しないと観察された細胞でもやがて分泌活性を呈するようになるのかといったタイミングのずれを観察しているのか、判断することができなかった。なぜならば、分泌活性を長時間モニタリングする手法がなかったからである。そこで、本研究では、Live-Cell Imaging of Secretion activity: LCI-S を用いて、様々な可溶性蛋白質の一細胞からの分泌活性の経時変化を顕微鏡上で直接観察するシステムの開発をおこなった。

本年度の研究成果として、まず、既存の電動型倒立蛍光顕微鏡システム Nikon ECLIPSE Ti2-E をベースに LCI-S システムの構築を行なった。顕微鏡システムには、スリット型全反射照明ユニットを介して高輝度 LED 照明を組み込むことで、観察領域における蛍光励起照明の平坦性が高く、かつ、蛍光標識された 1 分子抗体の検出が可能な全反射蛍光照明を実現した。顕微鏡ステージには、長期間の測定における細胞の活性を維持するために、ステージトップ型 CO<sub>2</sub> インキュベータを搭載した。つぎに、構築した LCI-S システムにおいて、LCI-S 専用チップ（株式会社ライブセルダイアグノシス）を用い、マウス免疫細胞からのインターロイキン 1、5、13 などの分泌活性の可視化が確認できた。