

6. センサータンパク質の性能評価

Samples

100 x 希釈したセンサータンパク質 (黄色、赤色)

センサーの蛍光波長計測

400-650nm波長におけるタンパク質の発光量計測

グルコース添加

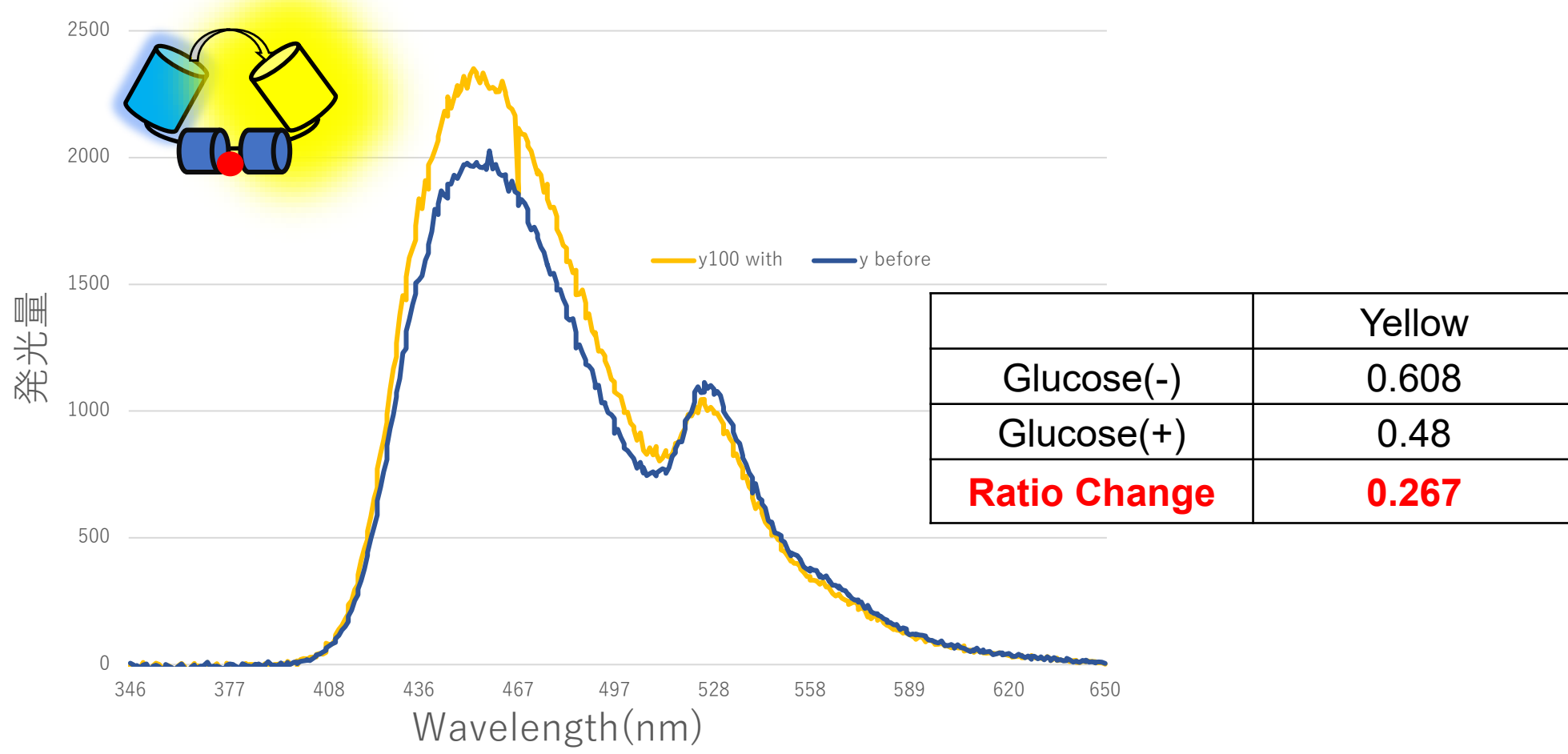
10mM グルコース

蛍光波長計測

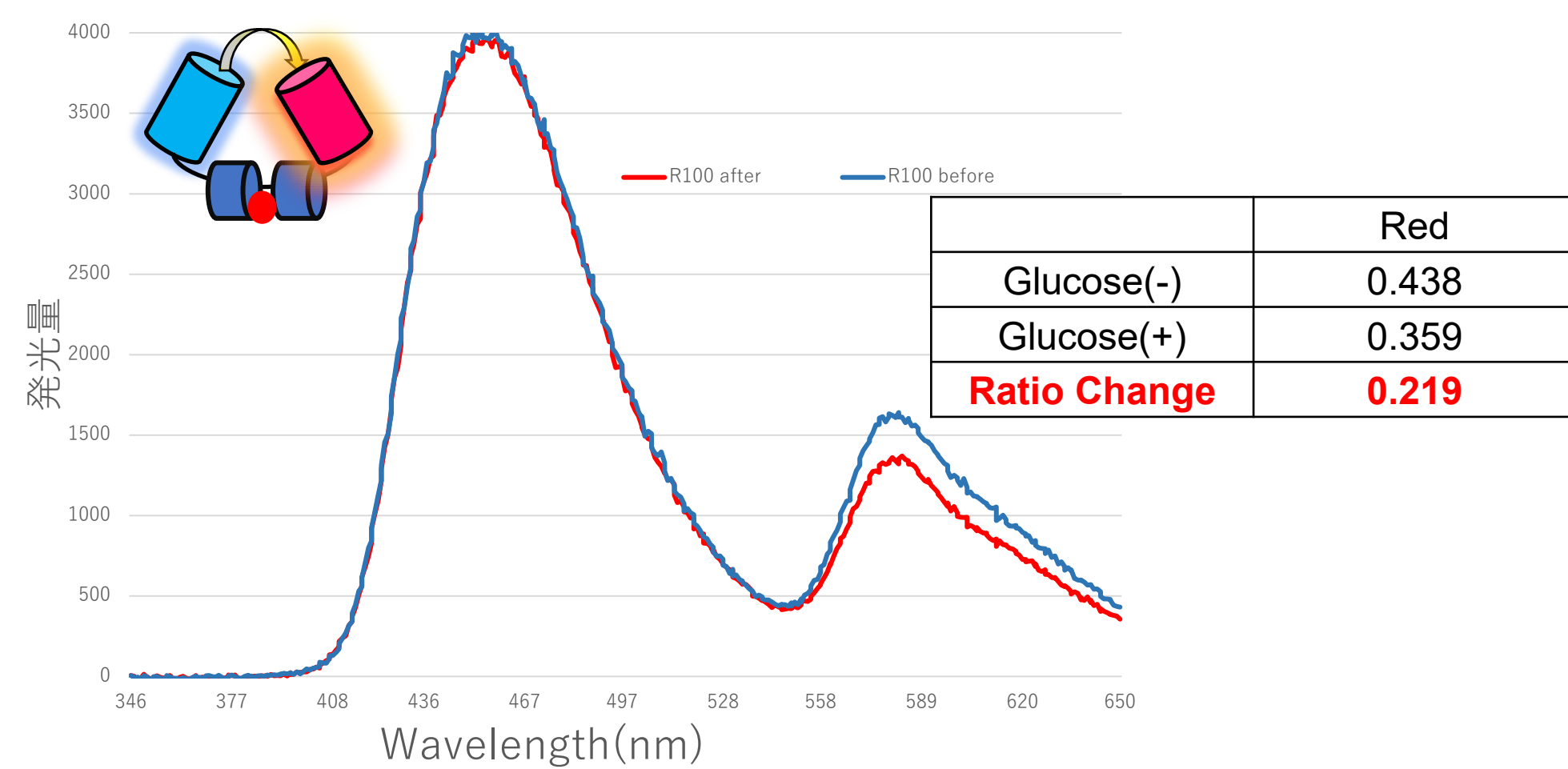
400-650nm波長におけるタンパク質の発光量計測

発光色変化率計算

添加前の発光量/添加後の発光量(発光強度)を算出



黄色センサータンパク質の発光量の変化

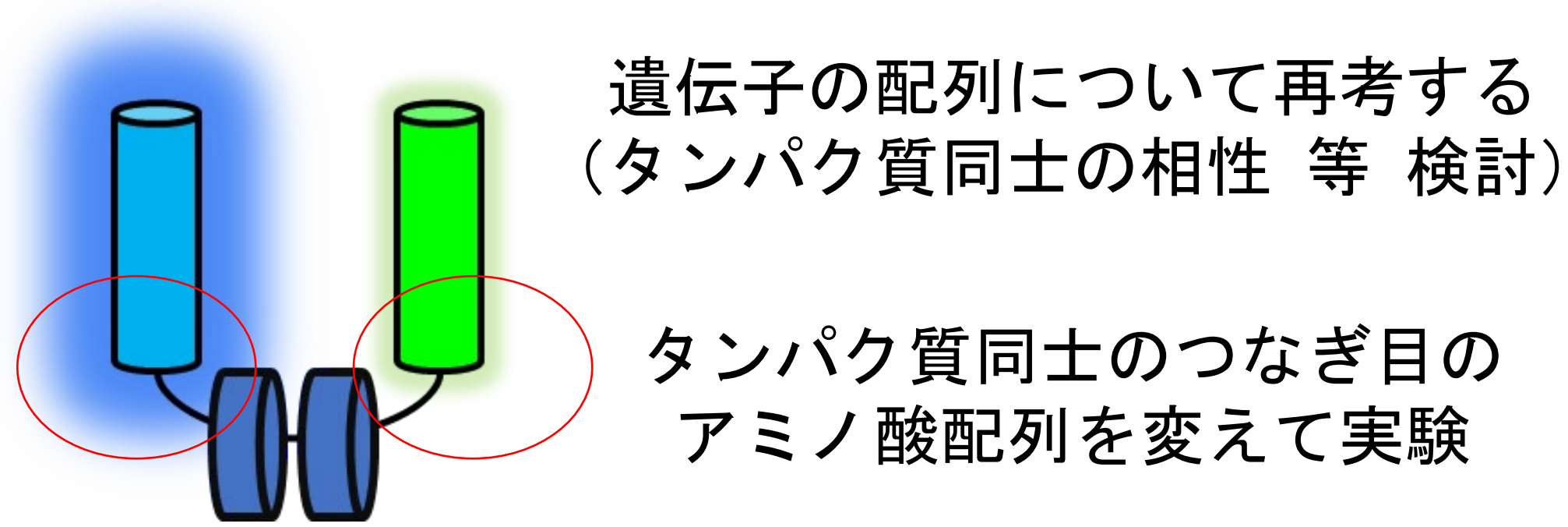


赤色センサータンパク質の発光量の変化

センサータンパク質の作動が確認できた

7. 改善点

どうすればもっと高精度のセンサーが作成できるのか？



8. 研究のまとめ

センサータンパク質の遺伝子設計

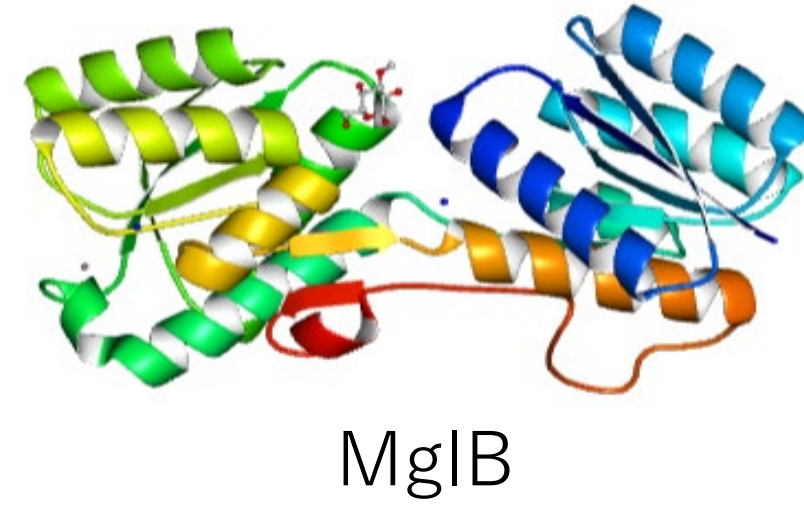
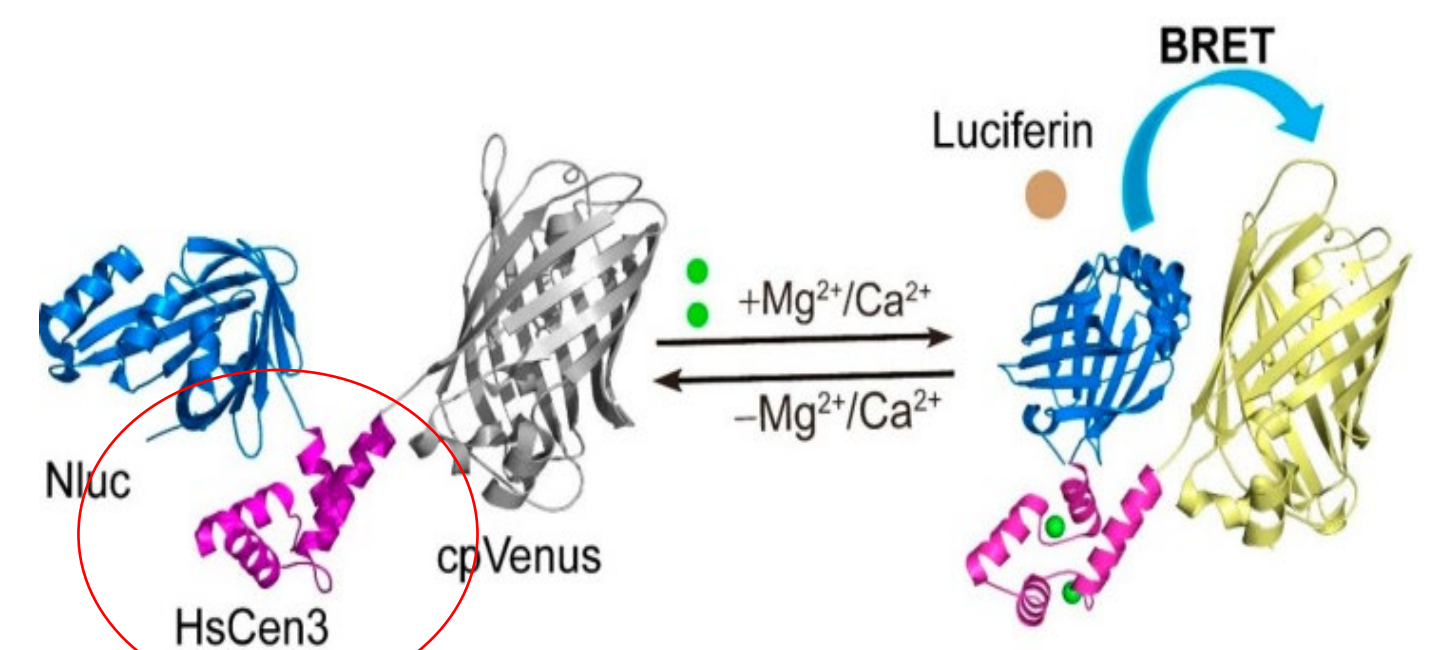
センサータンパク質の大腸菌内での合成 (In vivo)

センサータンパク質の精製

センサータンパク質の反応確認 (In vitro)

先行研究

リンカーの構造変化により両者の距離が変化
発光エネルギー共鳴移動BRETが生じ
発光色変化

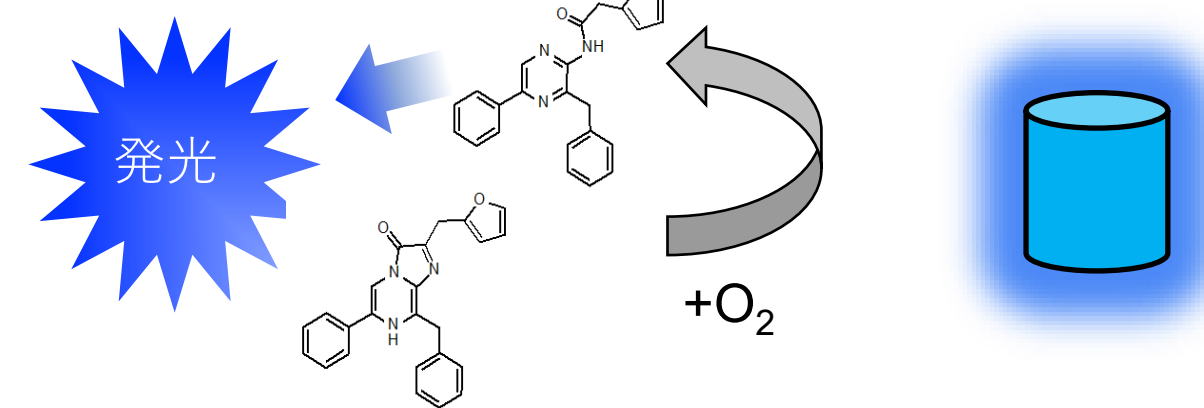


グルコースセンシングドメインとして MGLBタンパク質を、
化学発光タンパク質と蛍光タンパク質を繋げるリンカーとして利用する。
MgIBはグルコースが結合することで構造が変化する

発光タンパク質

化学発光タンパク質

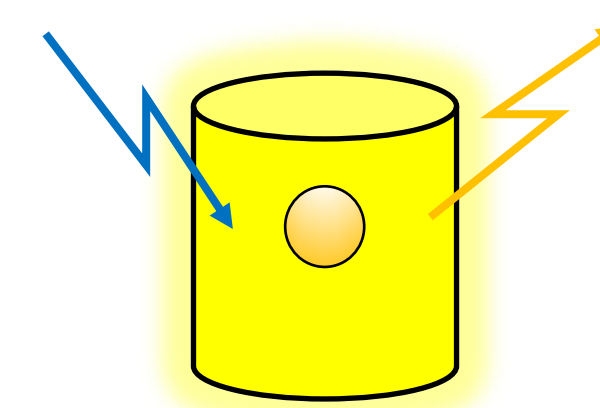
オキシルシフェリン 化学発光タンパク質



化学発光タンパク質ルシフェラーゼが酵素として発光基質ルシフェリンを酸化することで、オキシルシフェリン (励起状態) となり、基底状態へ戻る際にエネルギーが光となって放出される。

蛍光タンパク質

特定の波長(青色光) 黄色光



光発光(蛍光)タンパク質

蛍光タンパク質(蛍光物質)に特定の波長の光を当てることにより内部の発色団が励起され、基底状態に戻る際に放出されるエネルギーの一部が光として放出される。

今後の展望

センサーのグルコース反応精度の向上

濃度による発光色変化率の調査

人の唾液を用いて色の変化を観察

新たな唾液検査



発光プローブと発光基質



唾液とプローブを混合
↓
スマホで発光写真を撮る
↓
写真で濃度測定



1. 簡便な糖尿病診断

2. 血ではなく唾液

3. 専用の機械ではなくスマホ

疾患の進行具合(かゆみの強さ等)の数値化など様々な技術への応用、発展に貢献

(References)

[1] Sempionatto et al., Touch-based Fingertip Blood-Free Reliable Glucose Monitoring: Personalized Data Processing for Predicting Blood Glucose Concentrations, *ACS Sensors*, 6(5), 1875-1883, 2021
 [2] 山口昌樹 他, 血糖値と唾液糖値の相関に関する検討, *糖尿病*, 40巻6号, 1997
 [3] Dzhan et al., Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET) Based Nanostructured Biosensor for Tear Glucose Detection, *TANN'17*, 122, 2017
 [4] Arakawa et al., Mouthguard biosensor with telemetry system for monitoring of saliva glucose, *Biosens. Bioelectron.*, 84(15), 106-111, 2009
 [5] Hattori et al., Method for Detecting Emission Spectral Change of Bioluminescent Ratiometric Indicators by a Smartphone, *Method. in Mol. Biol.*, 2274, 295-304, 2021