

細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創
出

2019年度採択研究代表者

2022年度
年次報告書

小椋 俊彦

産業技術総合研究所 健康医工学研究部門
上級主任研究員

革新的液中ナノ顕微鏡開発と細胞外微粒子の包括的解明

主たる共同研究者:

佐藤 和秀 (名古屋大学 大学院医学系研究科 特任講師)

村上 伸也 (大阪大学 大学院歯学研究科 教授)

研究成果の概要

本研究提案は、革新的な液中ナノ観察技術の開発を行い、これを用いた細胞外微粒子の細胞機能への影響や細胞との相互作用の解明を目標とする。これまで我々は、非染色・非固定の生きた細胞を水溶液中で直接観察可能な、世界で唯一の走査電子誘電率顕微鏡を開発してきた。本提案では、これをより高機能化し、細胞外微粒子と細胞との相互作用を高コントラストかつ高分解能で観察を行い、その構造変化の解析を進める。新たに開発した液中ナノ観察技術を用いて、細胞外微粒子である環境中のナノ微粒子や、癌治療に役立つ抗体複合体微粒子及びメラノソームやエクソソーム等の細胞機能への影響の解明を目指す。

本年度は、大阪大学村上グループと共同でメラニン色素を生成するヒト色素細胞やヒト黒色腫細胞(MNT-1)に対して、非染色・非固定の状態で行った走査電子誘電率顕微鏡による観察を行い、細胞内のメラニン色素小胞(メラノソーム)の直接観察が可能であることを確認した¹⁾。さらに、細胞内のメラノソームの形状や分布状態を自動的に認識し分析するために、畳み込みニューラルネットワークを多層化した Deep Neural Network による画像解析方法を開発した¹⁾。走査電子誘電率顕微鏡の高機能化では、試料ホルダの窒化シリコン膜に 10 nm 厚の極めて薄い薄膜を使用する事で、空間分解能を従来の 8 nm から 4.5 nm まで向上させる事が出来た²⁾。こうした高分解能化をしたシステムを用いて、特殊な藻の内部に形成される金属微粒子の直接観察を行い、その部分布状態を解析した。さらに、カーボンで形成された特殊なチューブの内部にタンパク質を導入し、誘電率顕微鏡で観察する事で、4 nm 径の微小なタンパク質粒子を溶液中で直接観察する事が可能であることを示した³⁾。以上のように、新たに開発した高機能走査電子誘電率顕微鏡と画像処理システムは、細胞外微粒子とその細胞機能への影響の解析に大きく貢献する事が期待される。

【代表的な原著論文情報】

- 1) T. Okada, T. Iwayama, T. Ogura, S. Murakami, T. Ogura, “Structural analysis of melanosomes in living mammalian cells using scanning electron-assisted dielectric microscopy with deep neural network”, Computational and Structural Biotechnology Journal, 21, 506-518 (2023)
- 2) T. Ogura, T. Okada, M. Hatano, M. Nakamura, T. Agemura, “Development of general-purpose dielectric constant imaging unit for SEM and direct observation of samples in aqueous solution”, Microscopy and Microanalysis, ozad030 (2023)
- 3) T. T. Chuong, T. Ogura, N. Hiyoshi, K. Takahashi, S. Lee, K. Hiraga, H. Iwase, A. Yamaguchi, K. Kamagata, E. Mano, S. Hamakawa, H. Nishihara, T. Kyotani, G. D. Stucky, T. Itoh, “Giant carbon nano-test tubes as versatile imaging vessels for high-resolution and in situ observation of proteins”, ACS Applied Materials & Interfaces, vol. 14 (23), 26507-26516 (2022)