

2023 年度年次報告書

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

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）

田代 陽介（静岡大学 学術院工学領域 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

本年度は、前年度に開発を行った高分解能走査電子誘電率顕微鏡を用いて黒色腫 MNT-1 細胞(メラノーマ)内のメラニン色素小胞(メラノソーム)の直接観察と共焦点レーザーラマン顕微鏡による組成や生成メカニズムの解析を進めた 1)。生きたメラノーマと化学固定を行ったメラノーマのメラノソームのラマンスペクトルや観察画像の解析から、ラマンスペクトルや分散状態の明確な違いが明らかとなり、国際誌に発表した 1)。また、昨年度に見出した窒化シリコン(SiN)薄膜上のポリスチレン(PS)ビーズに生じる特殊な光学現象に関して、本年度はナノレベルの光学シミュレーション解析を行った 2)。SiN 薄膜上の直径 $3\mu\text{m}$ の PS ビーズの構造を 10 nm ステップの精度で3次元モデル化し、有限差分時間領域法により時空間的な電磁方程式のシミュレーション解析を行った。PS ビーズの外周部にレーザーを照射すると、光はビーズの外周部を外側に染み出しながら周回し、一部の光が SiN 膜へと進入した 2)。SiN 膜は 50 nm と極めて薄く、併進する光は薄膜の上面と下面に大きくはみ出して進行した。こうした特性は、極めて高感度な生体ナノ粒子等のセンサーデバイス開発に繋がるものと期待される。

名古屋大学・佐藤チームでは近赤外光線免疫療法のメカニズム解明のため、抗体光吸収複合体と細胞との相互作用を解析し、これまでに顕著な細胞内変化を検出している。今年度は同変化における酸素や ATP の影響を検討した。また、静岡大学・田代チームでは、細菌が放出する細胞外膜小胞の形成機構ならびに生体への侵入メカニズムを解析した。今年度は緑膿菌のバイオフィーム状態で膜小胞形成に関わる遺伝子を同定し、緑膿菌が物質表面に付着する際に膜小胞放出が活性化されることを見出した 3)。大阪大学・村上チームでは誘電率顕微鏡用の人工タグを作製するとともに、組織再生能を持つ間葉系幹細胞由来微粒子の解析を行った。

【代表的な原著論文情報】

- 1) R. Mastrangelo, T. Okada, T. Ogura, T. Ogura, P. Baglioni, “Direct observation of the effects of chemical fixation in MNT-1 cells: A SE-ADM and Raman study”, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 120, e2308088120 (2023)
- 2) T. Ogura, “Surface light propagating in a dielectric thin film generated via micro-spheres”, *Optics Express*, Vol. 31, 23198-23211 (2023)
- 3) M. Kanno, T. Shiota, S. Ueno, M. Takahara, K. Haneda, YO Tahara, M. Shintani, R. Nakao, M. Miyata, K. Kimbara, H. Futamata, Y. Tashiro, “Identification of genes involved in enhanced membrane vesicle formation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: surface sensing facilitates vesiculation”, *Frontiers in Microbiology*, Vol. 14, 1252155 (2023)