

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

2020年度
年次報告書

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

§ 1. 研究成果の概要

細胞外微粒子の細胞への影響や細胞からの分泌状態を解明するためには、培養液中の細胞をそのままの状態、直接高分解能で観察することが重要となります。本研究では、細胞外微粒子に起因する細胞への影響や相互作用の解明と、これを担うための革新的な液中ナノ観察技術の開発を目標としています。これに加えて、新たに開発した観察技術を用いて、①環境中の PM2.5 やナノプラスチックが細胞に及ぼす影響の解析、②近赤外光線免疫療法の作用機序の解明、③新規顕微鏡用のタンパク質標識技術の開発、の3テーマの研究を進めています。

これまで私達は、水溶液中で非染色・非固定の生きた細胞を直接観察できる走査電子誘電率顕微鏡の開発を進めてきました。今年度は、この顕微鏡の高機能化に加え、新たにインピーダンス顕微鏡の観察システムの開発を進め、より安定的に細胞や細胞外微粒子を観察することを可能としました。さらに、こうした装置を用いてPM2.5の細胞への取り込みの解析を行いました。培養細胞にPM2.5を添加した結果、5時間後には細胞内部にPM2.5が多く取り込まれ、その凝集塊周囲に脂質が多く含まれる内膜構造が観察されました。また、PM2.5の取り込み量は、添加後約5時間で最大となり、それ以降は徐々に減少することが判明しました。さらに、PM2.5が細胞膜上ではなく細胞内に存在することを、共焦点レーザーラマン顕微鏡により明らかにしました。

本成果は、PM2.5の取り込みに関して、生きたそのままの細胞構造を示した初の成果となります(T.Okada et al., Sci. Rep., 2021)。以上の成果に示すように新たに開発した高機能走査電子誘電率顕微鏡は、細胞外微粒子を生きた細胞に添加した際の変化を、経時的に直接高分解能で観察でき、今後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と期待されます。

§ 2. 研究実施体制

(1) 小椋グループ

- ① 研究代表者: 小椋 俊彦
(産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門・上級主任研究員)
- ② 研究項目
 - ・高機能誘電率顕微鏡の開発
 - ・スペクトル分析インピーダンス顕微鏡の開発
 - ・5次元インピーダンス顕微鏡の開発
 - ・ナノプラスチック、PM2.5の細胞取り込み機構の解析
 - ・環境中微粒子取り込みによる細胞の遺伝子変化の解析

(2) 佐藤グループ

- ① 主たる共同研究者: 佐藤 和秀
(名古屋大学高等研究院大学院医学系研究科・特任助教)
- ② 研究項目

- ・抗体-IR700 複合体による癌細胞破壊時のタンパク質・遺伝子変化の解析
- ・誘電率顕微鏡による抗体-IR700 複合体の細胞破壊メカニズムの直接観察

(3) 村上グループ

① 主たる共同研究者： 村上 伸也（大阪大学大学院歯学研究科・教授）

② 研究項目

- ・誘電率顕微鏡用タグの作製および遺伝子導入と誘電率顕微鏡観察
- ・ゲノム編集を用いた誘電率顕微鏡用タグノックイン細胞の作製
- ・遺伝子ノックアウト細胞を用いた誘電率顕微鏡による細胞機能解析
- ・オルガネラ迅速単離による細胞外微粒子の解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Nanoscale observation of PM2.5 incorporated into mammalian cells using scanning electron-assisted dielectric microscope”, T. Okada, T. Iwayama, S. Murakami, M. Torimura & T. Ogura, *Scientific Reports*, Vol.11, 228 (2021)