

「生体における微粒子の機能と制御」  
平成 29 年度採択研究者

2018 年度  
実績報告書

白崎 善隆

科学技術振興機構  
さきがけ研究者

## 内因性微粒子の放出と細胞間伝播の現場を可視化する技術の開発

### § 1. 研究成果の概要

本研究は、内因性微粒子の生成・放出過程と細胞間伝播の現場を1細胞粒度で実時間可視化する。具体的には、内因性微粒子の多様な生成・放出を細胞内動態と細胞外動態双方の観点から計測できる顕微鏡システムを確立し、さらに放出された微粒子が近隣の細胞に伝播・受容されるまでの細胞間相互作用を定量的に評価するプラットフォームを開発することで、“内因性微粒子の揺りかごから墓場まで”の実測を目指す。

本年度は前年度に引き続き、本研究の根幹である1細胞からの内因性細胞外微粒子の分泌動態を実時間イメージングするシステムの構築を進めた。本研究では、内因性細胞外微粒子の多くに含まれるとされている CD63 を標的とした抗体を用いてガラス面上に捕捉し、同じ抗 CD63 抗体に蛍光標識したもの、もしくは抗 CD9 に蛍光標識したものをを用いてサンドイッチ免疫アッセイを行った。検出には全反射蛍光顕微鏡を用いることで、洗浄工程無く1細胞からの細胞外微粒子の分泌を検出することが出来た。まず、培養上清に含まれる微粒子の検出を検討したところ、細胞株によって CD9 と CD63 が共局在する微粒子を多く産生するもの、共局在を示さない微粒子を多く産生するものなどが見られ、細胞の種類によって産生する微粒子が多様であることが明らかとなった。また、微粒子のリン脂質膜成分の一つであるフォスファチジルセリンをターゲットとした TIM4-Fc キメラ抗体を用いた捕捉も検証し、適切な濃度で固定することで効率よく微粒子を検出することが可能であった。現在、微粒子分泌活性を示す細胞の内部情報(多胞体の状態)を同時に測定することを目指し、全反射蛍光観察と高速共焦点蛍光観察を高速に切り替えて計測出来る顕微鏡システムの構築を進めている。

## § 2. 研究実施体制

①研究者:白崎 善隆 (科学技術振興機構 さきがけ研究者)

②研究項目

- ・微粒子生成過程の可視化
- ・1粒子解析