

白崎 善隆

東京大学大学院理学系研究科／科学技術振興機構  
特任助教／さきがけ専任研究者

## 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、1細胞からの内因性細胞外微粒子の放出動態を実時間イメージングし、その画像データから内因性細胞外微粒子の産生量を定量的に解析する方法に着手した。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 CD9 または CD63 に蛍光タンパク質を標識し、強制発現させることで微粒子を可視化した。放出された微粒子は暗い蛍光を高い S/N で撮像できる EM-CCD カメラを用いたが、長時間のタイムラプス観察を行う場合、蛍光タンパク質の褪色および光毒性を抑えることが重要であり、励起光強度を下げるのが望ましい。一方で、励起光強度を弱くした場合、検出したい微粒子の蛍光と背景ノイズの区別が難しくなる。そこで、本研究では、深層学習をもちいることで、弱い励起光の画像から強い励起光でかつ、複数枚の時間平均化を行った画像を推定させた。これにより、微粒子の輝点は鮮明となり画像解析によって微粒子の数を効率よく検出できるようになった。一方で、本年度は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計測出来る顕微鏡システムの構築を進めた。特に高速共焦点観察は、対物レンズピエゾドライブや高速 SSD による遅延ない画像保存環境を整えることで、100 フレーム/秒の速さでの撮像を達成し、3D 蛍光細胞像のタイムラプス撮影に成功した。