

細胞の動的高次構造体  
2022 年度採択研究代表者

2022 年度  
年次報告書

草木迫 司

東京大学 大学院理学系研究科  
助教

汎用性の高いクライオ CLEM 戦略の確立と有毛細胞の高次構造体の解明

## 研究成果の概要

細胞の高次構造体の局在や分子構成、構造などの有用な情報を得るための手法の一つに、蛍光観察と電子顕微鏡観察のそれぞれから得られる画像を相関させる CLEM (correlative light and electron microscopy) がある。本研究では、標的とする高次構造体を蛍光でも電子顕微鏡でも検出できる両用プローブの開発を軸に、クライオ CLEM を取り入れた汎用的な高次構造体の観察ストラテジーを確立することを目的とする。さらにこの戦略を用いて、内耳有毛細胞の機能を担う高次構造体を可視化することにより、内耳有毛細胞の機能発現の本質的なメカニズム解明を目指す。聴覚に関わる内耳有毛細胞には不動毛と呼ばれる突起状の領域があり、不動毛では MET チャネル複合体を含む高次構造体の動的なはたらきにより、音によって引き起こされる機械刺激が電気信号へと変換される。有毛細胞の高次構造体をクライオ CLEM および電子線トモグラフィーにより可視化することで、この巧妙なシグナル伝達はどのような分子機構によって実現されているのかという問いにアプローチする。

2022 年度は、クライオ CLEM に有用な蛍光・電子顕微鏡両用プローブの開発を進めた。開発するプローブの有用性や汎用性を実証するために、まずはミトコンドリアを観察の対象とした。種々のミトコンドリア外膜タンパク質を標的として、それぞれにペプチドタグを付加して発現させて、ペプチドタグに結合するバインダーを用いて、その結合を生化学的に確認した。また、有毛細胞の高次構造体の観察に向けて、まず野生型マウスの内耳蝸牛を用いて、観察グリッドへの有毛細胞の接着条件やグリッドの凍結条件を検討した。