

加齢による生体変容の基盤的な理解
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

松本 翔太

東京大学 定量生命科学研究所
助教

次世代電子顕微鏡による早老症発症の分子基盤の解明

研究成果の概要

本研究を推進するため、2022 年次では次世代顕微鏡によるパイロット実験を行い、実際に細胞の高分解能撮影に挑戦した。

1. 試料用細胞株の樹立

次世代電子顕微鏡を用いて、細胞の紫外線局所照射部位の可視化に挑戦した。まず紫外線部位の特定を行うため、紫外線損傷修復因子に蛍光タンパク質 GFP を融合したものを安定に発現する細胞株を樹立した。このとき内在性修復因子による影響を排除するため、ノックアウト細胞を親株として細胞株を樹立した。この細胞株について GFP の発現を確認したところ、概ね均一な発現量を示したが、細胞によっては発現量に多少の差が認められたため、発現量の均一化を行った。

2. 紫外線局所照射法の確立

細胞に紫外線を局所的に照射するための手法を検討し、最適な手法を確立した。紫外線レーザーによる誘導と、フィルターを通した紫外線照射法の二つを有効な手法として検討した。その結果、短波長紫外線レーザーの実装が極めて困難であることや、実装が容易な長波長紫外線では核膜へのダメージが大きいことがわかった。一方、フィルターを用いた紫外線照射により細胞に効率良く局所損傷を誘導出来ることがわかったため、フィルターを用いた紫外線局所照射法を使用することとした。

3. 次世代電子顕微鏡による細胞の撮影

上記で樹立した細胞株に対して、実際に次世代電子顕微鏡による細胞の撮影を行った。細胞の凍結条件や、細胞の薄切片化の条件、撮影条件などを検討した。これらの条件はまだ確立はしておらず、今後、細胞の種類や観察したい標的部位によって、適宜調整していく必要があると考えられる。一方、今回検討した条件でパイロット実験を行い、実際に細胞の高分解能撮影を行った。その結果、複数の細胞小器官や細胞内構造、核タンパク質などを観察することに成功した。