2024 年度

創発的研究支援事業　年次報告書【公開版】

研究担当者	高橋康史
研究機関名	名古屋大学工学研究科
所属部署名	電気電子情報専攻
役職名	教授
研究課題名	化学・ナノ構造カップリングの解明に資する対話型分析技術の創成
研究実施期間	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

2024 年度は、2023 年度に引き続き細胞内のシグナル伝達と細胞表面の構造変化の同時計測として、京都大学・松田道行教授らとの共同研究で Rac1 の活性を可視化する FRET Biosensor を恒常発現した COS7 を用いて実験を行った。細胞遊走の際に、細胞の先端部で Rac1 の活性化が生じることがこれまで報告されており、この際の細胞先端部の微細な構造変化や Rac1 の活性化からこの構造変化が生じるまでのタイムラグの評価を試みた。タイムラプス計測を行うと、蛍光イメージングの際、焦点が時間とともにずれてしまう問題が発生したため、オートフォーカス機能を有する倒立顕微鏡を活用することでこの問題を解消した。また、SCMOS カメラの冷却ファンによる振動が SICM の形状測定に悪影響を与えることがわかり、水冷で SCMOS を冷却するシステムを導入した。その結果、FRET と SICM の長時間の計測を安定して行うことが可能となり、Rac1 の活性化後に、急激な細胞の構造変化が生じている様子を SICM で可視化できた。また、上皮成長因子を加える前後での、Rac1 と細胞表面構造の観察を行った結果、上皮成長因子を添加直後に、細胞のへり部分で Rac1 の活性化が確認でき、さらに、微絨毛がかさ高くなる様子を SICM により確認することができた。さらに、がん細胞の浸潤・転移能などの評価で活用されている Wound Healing Assay による評価や、細胞外微粒子の取り込みと Rac1 の関係を調査するために、3 um のアミノ化ビーズが細胞内に取り込まれる際の Rac1 の活性化と細胞表面の形状変化の観察に取り組んでいる。SICM では、細胞表面形状をナノスケールで可視化することができるため、細胞上の粒子が細胞膜の内側に存在するか、外側に存在するかを明瞭に識別できる。