

課題番号 : F-21-KT-0129
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 遊走ニューロンに関する研究
Program Title (English) : A research on neuronal migration
利用者名(日本語) : 中澤直高
Username (English) : N. Nakazawa
所属名(日本語) : 京都大学高等研究院物質・細胞統合システム拠点
Affiliation (English) : Institute for integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University
キーワード/Keyword : 形状・形態観察, 脳発生, ニューロン遊走

1. 概要(Summary)

脳発生過程において、新生ニューロンは細胞骨格分子による力発生によって脳組織内を遊走する。今回は、脳組織内の狭小な空間を遊走するニューロンの力発生機構を明らかにすることを目指し、京都大学ナノテクノロジーハブ拠点の設備を利用して、細胞骨格分子の観察をおこなった。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

全反射励起蛍光イメージングシステム

【実験方法】

生後 4 日目の仔マウスがもつ小脳から小脳顆粒細胞を単離し、トランスフェクション試薬とアクチン・非筋 II 型ミオシンを可視化するプラスミド (pCAG-lifeact-tdTomato・pCAG-MRLC-2GFP) を用いた遺伝子導入によって、細胞骨格因子を可視化した。さらに、細胞外基質であるラミニンをコートしたガラス基板上に設置したマイクロデバイス流路内で初代培養した後、全反射励起蛍光イメージングシステムによって、遊走中のアクチン・ミオシンの動態を観察した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

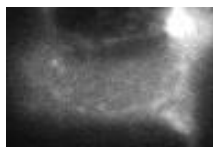


Fig.1 An image of MRLC-2GFP by TIRF microscopy.

今回の利用では、京都大学ナノテクノロジーハブ拠点
が有するイメージングシステムを用いることで、利用者が
外部機関(シンガポール国立大学)で実施した実験と同

様の実験を実施可能かどうか検証した。Fig.1 で示すように、遊走ニューロン内で可視化したミオシンは TIRF microscopy を用いることで、ガラス基板に近い細胞膜近傍で粒子状に観察される(シンガポール国立大学にて取得)。京都大学ナノテクノロジーハブ拠点が有する全反射励起蛍光イメージングシステムを用いた今回の観察においても、外部機関で得られたイメージと同様にマイクロデバイス内を遊走しているニューロン内で粒子状のミオシンが観察された。このことから、本システムを用いた観察条件においてもガラス基板上に設置されたマイクロデバイス流路の影響を受けることなく、遊走ニューロンの細胞骨格因子のイメージングが可能であることが示唆された。

4. その他・特記事項(Others)

- ・関連文献:Nakazawa and Kengaku, 2020
- ・共同研究者: 京都大学 物質・細胞統合システム拠点 見学美根子教授
- ・国際共同研究強化(B)「新規素材とマイクロ加工技術で再現する脳微小空間を用いたニューロン遊走機構の解析」
- ・高橋英樹様(京都大学 ナノテクノロジーハブ拠点)に感謝いたします。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) Naotaka Nakazawa, Gianluca Greci, Mineko Kengaku, “Mechanical stress by extracellular confinement trigger a mode transition of neuronal migration”, July. 23, 2021, MBI 3M symposium (口頭発表)

6. 関連特許(Patent)

なし。