～細胞内で活動するタンパク質を染色し、生きたままの状態で観察することで、放射線の生体影響を調べてみました！～

放射線の生体影響解明のための細胞生物学的研究

東京工業大学　科学技術創成研究院　ゼロカーボンエネルギー研究所　　島田　幹男

本研究の目的

身体的影響

確定的影響

急性障害　晩発障害
皮膚障害　白内障
中枢神経障害
消化管障害
血液・骨髄障害
不妊

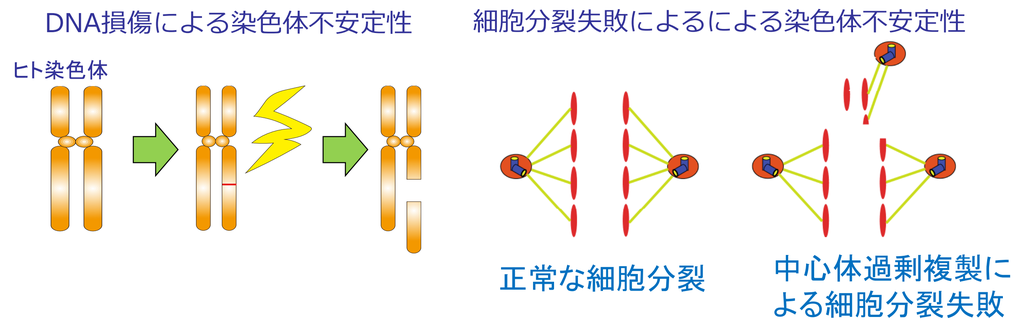
確率的影響

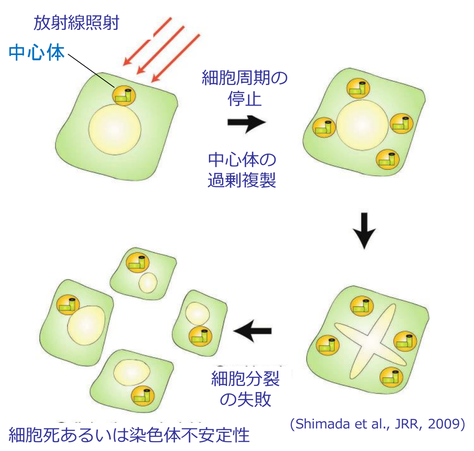
発がん

遺伝的影響
(被曝したヒトの子孫にあらわれる影響)

→ 細胞内のDNAが不安定（染色体不安定性）になり突然変異の発生や細胞死に至ることが原因

本研究の目的はヒト培養細胞を用いて放射線の生体影響を評価することである。
放射線は細胞内DNAに損傷を与える他、細胞分裂に重要な中心体という細胞内小器官の数を増加させるという特性を持つ。





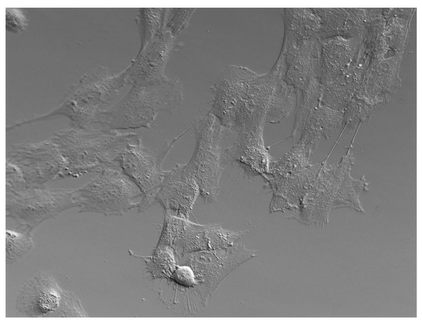
中心体は通常、細胞分裂の際にそれぞれの細胞に染色体を引っ張って配分する役目を持つ。しかし、放射線により過剰に増加した中心体は細胞分裂を正常に行えないために細胞は死んでしまう。

この細胞死のメカニズムはわかっていないことが多いために本研究の目的は分子レベルでこのメカニズムを調べることである。

また、細胞内の活動は主にタンパク質によって行われるため、本研究ではタンパク質の挙動を観察することにより放射線影響を調べる。

研究手法

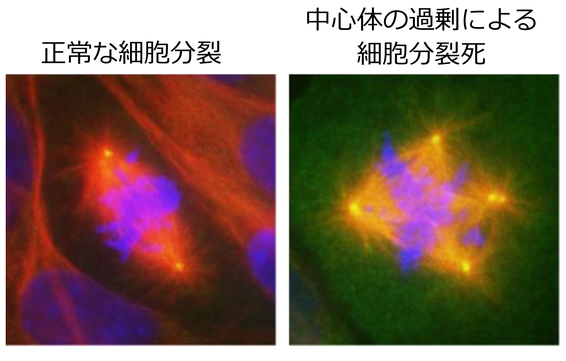
上記の目的のために細胞免疫染色法、および生細胞に遺伝子導入により蛍光タンパク質を付加した放射線応答タンパク質を発現させることにより、タンパク質の挙動を可視化させ、観察する。



細胞は透明なため通常は肉眼で見ることが難しい。左図は微分干渉顕微鏡という特別な顕微鏡でヒト培養細胞を観察した写真。

放射線の影響を調べるために
細胞内のタンパク質の挙動を観察したい

そこで！！

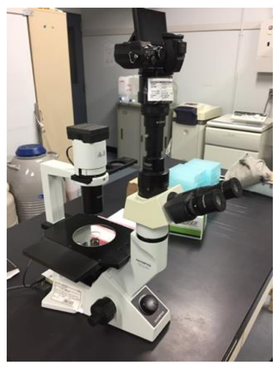


目的のタンパク質だけを蛍光色素で染色して蛍光顕微鏡で観察する！
あるいは蛍光タンパク質を人工的に導入する！

設備・装置写真など

細胞培養装置

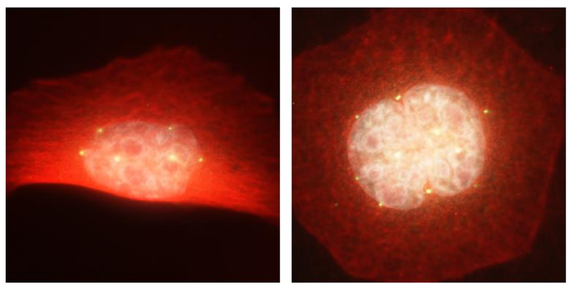
細胞取り扱い用
無菌クリーンベンチ



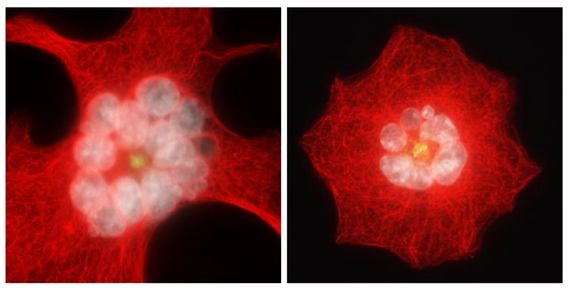
細胞観察用
位相差顕微鏡

細胞観察用
蛍光顕微鏡

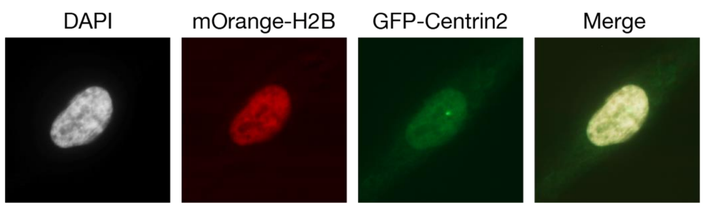
研究結果



ヒト大腸がん細胞HCT116
細胞分裂因子PLK1の機能を
ノックダウンにより抑制
放射線4Gy照射48時間後
細胞核（白）、中心体（緑）、微小管（赤）
放射線照射により中心体数が増え、細胞核が巨大になっている。

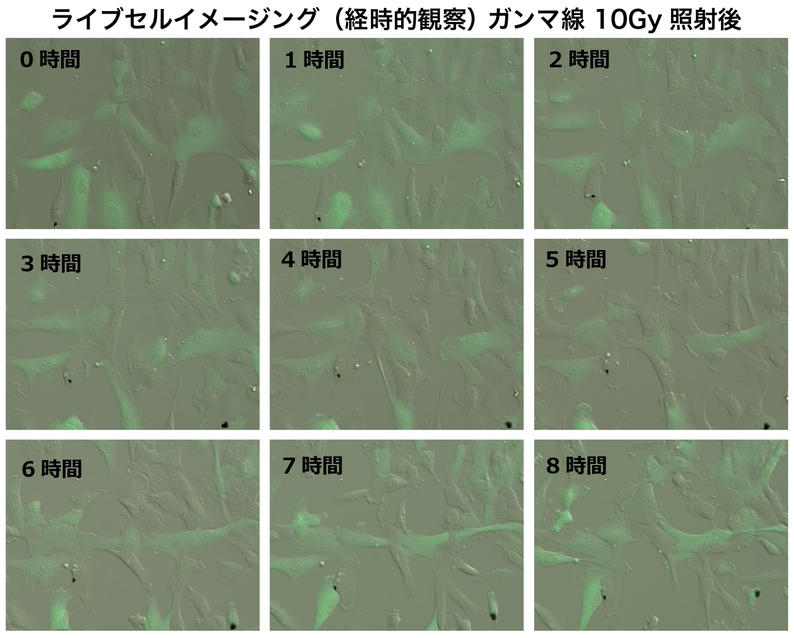


ヒト大腸がん細胞HCT116
Trp53遺伝子ノックアウト細胞
分裂因子PLK1の機能を
ノックダウンにより抑制
放射線4Gy照射48時間後
細胞核（白）、中心体（緑）、微小管（赤）
放射線照射により細胞分裂が失敗し、多核化している。



ヒト網膜色素上皮細胞
RPE1-hTERT
人工的に蛍光タンパク質を付加したタンパク質を導入し発現させている。
細胞核（白）、細胞核（赤）
中心体（緑）、重ね合わせの写真

ヒト正常細胞 GFP（緑色タンパク質）-Centrin2（中心体タンパク質）ライブセルイメージング（経時的観察）ガンマ線 10Gy 照射後



ヒト網膜色素上皮細胞
RPE1-hTERT
上記の細胞に放射線10Gy照射後、時間経過ごとに撮影した写真。
緑は中心体タンパク質であるCentrin-2を示している。
細胞の微分干渉像との重ね合わせ。
放射線照射は細胞に対してDNA損傷を引き起こし、結果として細胞分裂の進行を遅らせる効果があるため、8時間経過しても細胞分裂の進行が進んでいない様子がわかる。

考察と今後の課題

本研究成果により、細胞分裂と細胞核を可視化し、生きたままの細胞においてタンパク質の挙動を顕微鏡で観察する実験系が確立でき、放射線による細胞内ゲノムDNAの損傷する過程の知見を得ることができた。今後は関与する遺伝子の詳細な解析を進めていきたい。