

令和元年5月29日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2018

課題番号：16KT0065

研究課題名(和文) 構成的操作による微小管メカノネットワークシステムの原理解明

研究課題名(英文) A study of a mechano-network system based on microtubules by a constructive approach

研究代表者

矢島 潤一郎 (Yajima, Junichiro)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：00453499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：細胞機能を統合する伝達システムの実態を明らかにするため、細胞骨格を主体とした「力学伝達システム」の可能性に着目した。細胞骨格間の張力を定量できるFRET張力センサーの開発を行い、細胞骨格である微小管やアクチンフィラメント間にはたらく力学特性やその結合タンパク質の力学特性を検討した。細胞骨格からなるネットワークの形態は、細胞骨格タンパク質、細胞骨格を架橋するタンパク質、細胞骨格に作用するモータータンパク質の濃度、及び、ATP濃度に依存した。以上のことより、細胞骨格である微小管やアクチンフィラメントは力学的なネットワークを形成し、そのネットワークが力学的に制御される可能性を示唆する結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞機能を統合する伝達システムとして、従来から多く調査されている化学信号伝達システムを補完する、もしくは統合して新たな伝達システムとなり得る細胞骨格を主体とした「力学伝達システム」の可能性を提示でき、学術的意義がある。これらの知見は、人工細胞の創製や再生医療における分子基盤に繋がること期待でき、社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：To uncover the transduction system for regulating the cell functions, we focused on a “mechanical transduction system” based on cytoskeletons. Mechanical properties working on cytoskeleton such as microtubule and actin filament and microtubule- or actin-binding proteins were examined by FRET (Forster resonance energy transfer)-based tension sensors, which were developed in this project. We found that the networks composed of cytoskeletons depends on concentrations of cytoskeletal proteins, cross-linking proteins, cytoskeleton-based motor proteins and ATP. Our results suggest that cytoskeletons such as microtubule and actin filament form the mechanical network and the network may be regulated by molecular motor-driven mechanical forces.

研究分野：生物物理

キーワード：微小管 アクチンフィラメント キネシン ミオシン FRET張力センサー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現存の生物は38億年もの長い年月をかけ改良されてきた結果、非常に込み入った歴史的産物となり、生命の基本的な構成単位である細胞ですら、その機能を維持し、一つのシステムにまとめあげる統合機構が何であるのかを見極めるのが困難になっている。現在の生物学では、細胞機能の統合を行う信号伝達システムが細胞内に存在するという考えが主流であり、化学的な伝達システムを明らかにすることが、分子生物学の中心的課題となっている。しかしながら、細胞は環境の変化に適応できる適度な動的不安定性(自律性・可塑性)を持ちつつも、細胞機能を維持してゆく頑健性をもつため、従来の化学信号伝達研究に見られる局所論だけでは理解しえない。

2. 研究の目的

細胞機能を統合する伝達システムの実態を明らかにするため、従来の化学信号伝達システムを補完する、もしくは統合して新たな伝達システムとなり得る細胞骨格を主体とした「力学伝達システム」の可能性に着目した。この細胞骨格が形成する力学的な枠組みを「細胞骨格メカノネットワークシステム」として捉え、このネットワーク内で局所的に加わった力学的刺激が、どのように受容・伝播・応答し、生化学反応の制御を通じて、細胞全体の機能を如何に制御するかを、構成的アプローチによって定量し、細胞骨格による力学伝達システム特性を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) spider silk タンパク質をばね成分として利用した FRET 張力センサー、及び、偏光蛍光法と FRET を利用した pFRET カセンサーの開発を行う。
- (2) 3次元位置検出装置と AOD 型光ピンセットシステムとを融合し、3次元光ピンセットシステムの開発を行う。
- (3) 細胞骨格タンパク質(微小管、アクチンフィラメント)、細胞骨格依存性モータータンパク質や細胞骨格結合タンパク質により、高次構造体を再構成し、その形態形成原理を明らかにする。
- (4) 開発した力センサーと開発した光学顕微システムにより、再構成した高次構造体内、及び、細胞内で細胞骨格間にかかる力の分布を定量し、解析する。

4. 研究成果

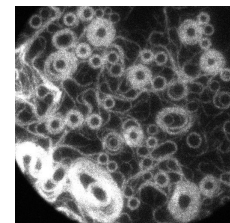
(1) モータータンパク質や細胞骨格タンパク質などの特定部位の角度変化を検出できる光学系を開発し、モータータンパク質の力発生時における角度変化を検出することに成功した。微小管依存性モータータンパク質であるキネシンの微小管への結合状態と解離状態を明らかにした(右図)。その成果を投稿論文として報告した。



(2) AOD 制御による光ピンセット顕微鏡の開発を進め、3次元力学測定系を可能とする光学系を作成した。その成果を国際シンポジウムで発表した。

(3) 細胞骨格間にかかる架橋タンパク質や微小管と微小管結合タンパク質の間の破弾力の定量を行った。微小管の長軸方向への破断力に加え、微小管長軸に対して垂直方向への破断力の検出が可能となった。

(4) 細胞骨格タンパク質(微小管、アクチンフィラメント)、細胞骨格依存性モータータンパク質や細胞骨格結合タンパク質により、様々な形態や機能する構造体の作成ができるようになった。特に細胞骨格として微小管を使用した場合、超束化構造やうねりや回転体構造(右写真)など、特殊な構造体の形成方法を検討した。



(5) 微小管間、アクチンフィラメント間、微小管とアクチンフィラメント間にかかる張力を定量可能な FRET 張力センサーのデザイン、及び、コンストラクトの作成、発現、精製を行った。分光(蛍光)光度計を用いて FRET 効率の測定を行い、その性能を検討した。

(6) 上記の FRET 張力センサーを高次構造体、及び、Hela 細胞内に導入もしくは発現させ、光学顕微鏡により細胞骨格間にかかる力分布の測定を行った。

(7) ツメガエル初期胚の外胚葉細胞にかかる、微小管を介した張力を測定するため、微小管と細胞膜に結合する FRET 張力センサーを作製し、外胚葉細胞における張力測定を行い、アクチン結合タンパク質を用いた結果と比較した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Mitsuhiro Sugawa, Tomoko Masaike, Nagisa Mikami, Shin Yamaguchi, Keitaro Shibata, Kei Saito, Fumihiko Fujii, Yoko Y Toyoshima, Takayuki Nishizaka, Junichiro Yajima. Circular orientation fluorescence emitter imaging (COFEI) of rotational motion of motor proteins. Biochemical and biophysical research communications. 504, p709-p714, 2018. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.178.

〔学会発表〕(計 11 件)

Yohei Maruyama, Mitsuhiro Sugawa, Masanori Mishima, Junichiro Yajima, CYK4 promotes the flexibility in the sideward stepping by MKLP1 kinesin-6, Mitotic Spindle symposium. From living and synthetic systems to theory (招待講演)(国際学会) 2019 年

松田恭平、小林琢也、須河光弘、小磯由里加、豊島陽子、矢島潤一郎、Myosin minifilament-driven fragmentation of actin filaments triggers contraction of a disordered actin network. 第 56 回日本生物物理学会大会、2018 年

道上達男、細胞の張力と形から胚発生を考える、第 18 回東京大学生命科学シンポジウム(招待講演) 2018 年

平野咲雪、山元孝佳、道上達男、FRET 張力センサーを用いたツメガエル神経胚の張力観察、日本動物学会、2018 年

Yohei Maruyama, Mitsuhiro Sugawa, Masanori Mishima, Junichiro Yajima. CYK4 induces the large fluctuations of the left-handed rotational movement of dimeric kinesin-6. Biophysical Society 62ND Annual Meeting (国際学会) 2018 年

Kyohei Matsuda, Takuya Kobayashi, Mitsuhiro Sugawa, Yoko Y Toyoshima, Junichiro Yajima. The Fragmentation of F-actin induces the contraction of the active network. ASCB/EMBO 2017 meeting (国際学会) 2017 年

須河光弘、山口真、高木拓明、岩城光宏、柴田桂太郎、豊島陽子、矢島潤一郎、Yeast cytoplasmic dynein's small group takes a biased random walk toward the left-right. 第 55 回日本生物物理学会、2017 年

山岸雅彦、矢島潤一郎、Plus-end directionality present in kinesin conserved catalytic motor core. 第 55 回日本生物物理学会、2017 年

松田恭平、小林琢也、須河光弘、豊島陽子、矢島潤一郎、The Fragmentation of Actin Filaments Induces the Contraction of the Active Network. 第 55 回日本生物物理学会、2017 年

松田恭平、小林琢也、須河光弘、豊島陽子、矢島潤一郎、Autonomous structure formation and contraction of actomyosin regulated by contractile ring related cross-linking proteins (CRCPs). Biophysical Society 61st Annual Meeting 2017 年

松田恭平、小林琢也、須河光弘、豊島陽子、矢島潤一郎、Actomyosin contraction with a contractile ring related cross-linker in an vitro active gel model system. 第 54 回日本生物物理学会大会、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://bio.c.u-tokyo.ac.jp/lab_yajima.html

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：道上 達男

ローマ字氏名：Michiue Tatsuo

所属研究機関名：東京大学

部局名：総合文化研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：1 0 2 8 2 7 2 4

研究分担者氏名：須河 光弘

ローマ字氏名：Sugawa Mitsuhiro

所属研究機関名：東京大学

部局名：総合文化研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：8 0 6 2 6 3 8 3

研究分担者氏名：小林 琢也

ローマ字氏名：Kobayashi Takuya

所属研究機関名：順天堂大学

部局名：医学部

職名：特任研究員

研究者番号（8桁）：6 0 4 6 8 5 8 5

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。