

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18605

研究課題名（和文）アクティブゲルで切り拓く細胞の対称性と運動原理の非平衡力学

研究課題名（英文）Non-equilibrium mechanics of cellular symmetry and migratory principle by active gel physics

研究代表者

前多 裕介（Maeda, Yusuke）

九州大学・理学研究院・准教授

研究者番号：30557210

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000 円

研究成果の概要（和文）：細胞はエネルギーを消費し、秩序だった構造を維持しながら、動き、変形する複雑な分子システムである。このようなダイナミクスの根幹となる概念が細胞における対称性であり、その制御は細胞運動や細胞分裂の軸を決定する役割を持つ。本研究は細胞内の対称性がどのように制御され、動きや変形が誘起されるのかを明らかにすることを目標にアクチンとミオシンを細胞サイズの微小液滴に封入した人工細胞技術の開発を行った。その結果、細胞のように自律的に動き、変形する人工細胞を構築することに成功した。さらに、人工細胞内で発生するアクチン波をアクティブゲル理論で解明し、細胞内対称性の力学的理解につながる技術基盤を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞運動は発生過程からガン細胞の転移に至る多くの生命現象に関わっている。本研究で構築した「運動する人工細胞」はそのシンプルさゆえに詳細な理解を可能としている。そのため、人工細胞のモデル系を実験物理学の対象として確立することは、従来は隔たりがあったソフトマター物理学・細胞生物学・合成生物学を融合し、細胞内対称性の力学的理解と自在な制御の基礎となるものである。将来的には生体内を動く細胞や培養細胞の解析に応用することで、ガン細胞の浸潤を予測する医療シミュレーターなどの解析手法の創出につながると期待できる。

研究成果の概要（英文）：Cells are complex molecular systems that can move and deform spontaneously, converting chemical energy into mechanical action. To do this, intracellular symmetry plays a key role in determining the axes of cell motility and division. In this study, we developed an artificial cell model that encapsulates a cell extract system containing the cytoskeletal protein actin and myosin molecular motor in cell-sized microdroplets to elucidate how intracellular symmetry is determined and how spontaneous cell migration and deformation arise.

We found an artificial cell that moves and deforms autonomously under mechanical constraints, just like a living cell. The periodic actin waves generated in the artificial cells can drive this migration, and the active gel theory developed in this study can explain the onset of such actin wave formation in a cell-sized space. This finding paves the way for understanding the mechanics of cell migration underlying dynamic intracellular symmetry.

研究分野：ソフトマター物理学

キーワード：アクティブマター 細胞骨格 人工細胞 アクトミオシン マイクロ流体デバイス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細胞はエネルギーを消費し、秩序だった構造を維持しながら、動き、変形する複雑な分子システムである。このようなダイナミクスの根幹となる概念が細胞における配置や極性の対称性であり、その制御は細胞運動や細胞分裂の軸を決定する役割を持つ。しかし、細胞内でこのような対称性がどのように制御され、自発的な動きや変形が誘起されるのか、その基本原理は十分な理解が得られていない。

とりわけ細胞の自発運動は形態形成や創傷治癒、腫瘍転移に関わり、その運動原理の理解は物理学から生命科学に広がる重要な課題である。近年、生体組織や微小流路などの狭い空間に拘束された細胞の新しい運動様態として、接着を介さずに自発運動する「非接着型運動」が見出され、ガン細胞から免疫細胞にいたるまで、生体組織内では様々な細胞がこの運動様式を採用していることが明らかになりつつある。

この非接着型運動で最も重要な役割を担うのは、細胞内に網目状に張り巡らされたアクチン線維と、そこに結合して収縮力を発揮するミオシン分子モーターの複合体から成る“アクチン細胞骨格”である。特に、非接着型運動を行う細胞の特徴的な能力は、細胞内で生み出されたアクチン細胞骨格の収縮力を細胞外へと伝える力伝達にあり、細胞内で生成された収縮力は生体組織などの周囲環境に伝達され、その反作用によって細胞を前進させることとなる。しかし、その詳細なメカニズムは十分に明らかにされてこなかった。その理由として、生きた細胞内でのアクチンと細胞膜の相互作用の複雑さや、アクチンの収縮力活性を制御するシグナル伝達(生化学反応)などの副次的要因のために、力伝達に関わるアクチン細胞骨格の力学的な寄与のみを独立に調べることが困難であった。

### 2. 研究の目的

この問題を解決する鍵は、細胞がもつ対称性の制御の本質を失わず、細胞内環境の複雑性を軽減した人工細胞モデルを確立することにある。研究代表者はこれまでに細胞サイズの油中液滴(以下では単に液滴とする)の内部にアクチン細胞骨格とミオシン分子モーターという収縮力を発揮する蛋白質複合体(アクトミオシン)を封入することで、シグナル伝達系の複雑な反応系の影響を受けずに物理的な解析を可能とする実験系の解析を進めてきた。

本研究では、細胞のように自律的に動き・変形する人工細胞を構築し、細胞内の対称性制御を起点とする運動原理を解明することを目的とした。さらに、得られる知見をもとに人工細胞内で発生するダイナミクスをアクティブゲル理論から解析し、細胞運動の普遍法則に向けた技術基盤を確立することを目標とした。

### 3. 研究の方法

アクチン細胞骨格を含む細胞質抽出液を油中液滴(直径 50-400  $\mu\text{m}$ )に閉じ込め、油水界面にリン脂質膜を配列した人工細胞を構築した(図 1 a)。人工細胞における力伝達に重要と考えられるアクチン細胞骨格と細胞膜の相互作用に着目し、アクチン細胞骨格と細胞膜の結合を促すリン脂質(PIP<sub>2</sub>)を加えることでアクチン細胞骨格を膜界面に局在させることに成功した。

構築した人工細胞は高さ 30-100  $\mu\text{m}$ の微小流路に挟み込み、空間的な拘束下におけるダイナミクスを蛍光顕微鏡で計測した。

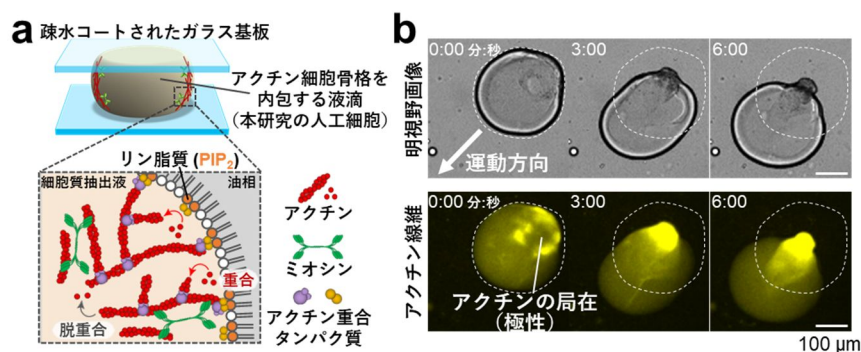


図 1 . (a) 構築した人工細胞. (b) 自発運動する人工細胞の顕微鏡写真の時間経過。点線は初期位置における人工細胞の輪郭を示す。

### 4. 研究成果

#### (1) ミオシン収縮力で自発運動する人工細胞の再構成

実験の結果、脂質膜とアクチン細胞骨格の相互作用が強くなりアクチンが局在するコルテックス構造が形成され、その一部が膜から乖離し一旦にアクチン細胞骨格が集積することで、生きた

運動性細胞に特徴的な極性が形成されることがわかった。そして、その極性方向にアクチンの流れが生じ、人工細胞が自発的に運動することを見出した(図1b)。この人工細胞は、アクチンと膜の相互作用、膜の組成、外部基板との相互作用などを定量的に制御できるため、アクチン細胞骨格のみに由来する力伝達の力学的メカニズムを明らかにすることができる。そこで、基板の高さと人工細胞の大きさを系統的に変化させ、運動速度を調べることとした。解析の結果、基板に挟まれた人工細胞では接着面積の増加に伴い運動速度が増し、界面摩擦力が接着面積に比例して大きくなることを見出した。

以上の結果を基に、人工細胞の運動速度はアクチン流動による界面摩擦力と周囲環境の流体抵抗のバランスで決まるというモデルを考案し、狭い空間に拘束された人工細胞の自発運動を記述する理論モデルを構築した(図2a)。理論モデルから、3次元的な拘束にさらされた人工細胞の形状(基板の高さ $h$ と人工細胞の直径 $D$ の比率)によって運動速度が決まるという結論が得られた。これらの結果は、単純化した人工細胞モデルを開発することで、力伝達には(i)アクチン-膜結合および(ii)基板との物理的接触の二つの要素が必要であることを示しており、効率的な力の伝達に不可欠な物理的要因を明らかにしたと考えられる。本研究成果は *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 誌に掲載された。

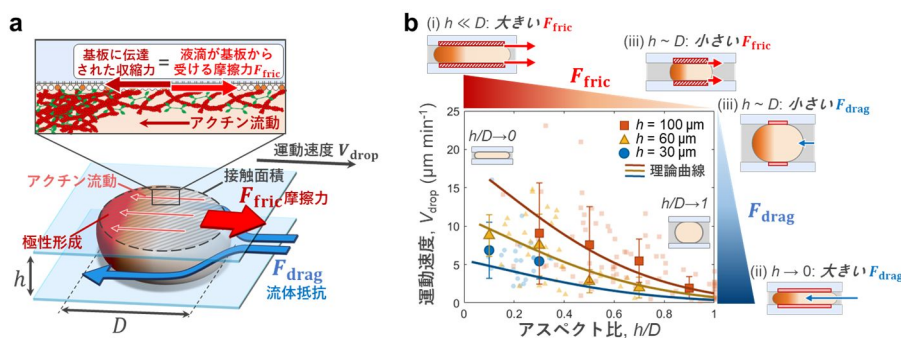


図2. (a) 理論モデルの概要. (b) 基板の高さ  $h$ , 人工細胞の直径  $D$  を変化したときの運動速度の閉じ込め形状への依存性.

## (2) 細胞サイズ空間で起こるアクチン波のアクティブゲル理論

細胞内の対称性の制御 (*Nature Commun.* 2020) と細胞運動 (*Proc Natl Acad Sci USA* 2022) のいずれにも不可欠なパターンが「アクチン波」であり、連続体力学に基づきアクチン波形成の理論モデルの構築を行った。具体的には、細胞区画内のアクチン繊維とミオシン分子モーターからなるアクトミオシンの運動量保存則、構成要素の質量保存則、細胞形状を表す形状方程式の3つの方程式でアクティブゲル理論モデルを構成した(図3a)。フェーズフィールド法を元に細胞区画を設定し、周期的なアクチン波が再現されるかを数値計算で検証したところ、細胞区画の境界から内向きにアクトミオシンの密度波が周期的に出現することがわかった(図3b)。

さらにミオシンの収縮力とアクチン繊維の重合率をパラメータに変化させ、周期的アクチン波が現れるパラメータ空間を調べたところ、ミオシン収縮力により一様な状態から波動伝搬への転移が起こること、境界近傍でのアクチン重合速度がバルク(拘束空間内部)に比べて高いことがアクチン波の発生に重要であることがわかった。以上の結果は、アクチン細胞骨格およびミオシン分子モーターの力が秩序形成に関わる不安定化を誘起する主要な因子であることを示すものである。

本研究成果は *Physical Review Research* 誌に掲載された。

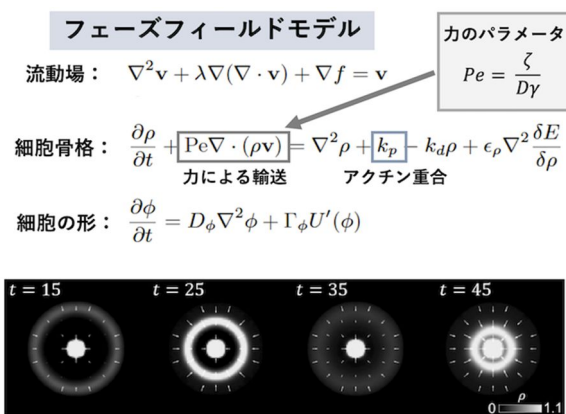


図3. (a) アクチン波のアクティブゲル理論. (b) フェーズフィールドモデルによる数値計算結果.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sakamoto Ryota, Izri Ziane, Shimamoto Yuta, Miyazaki Makito, Maeda Yusuke T.	4. 巻 119
2. 論文標題 Geometric trade-off between contractile force and viscous drag determines the actomyosin-based motility of a cell-sized droplet	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 e2121147119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2121147119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukuyama Tatsuya, Yan Lucan, Tanaka Masahito, Yamaoka Megumi, Saito Kei, Ti Shih-Chieh, Liao Chung-Chi, Hsia Kuo-Chiang, Maeda Yusuke T., Shimamoto Yuta	4. 巻 119
2. 論文標題 Morphological growth dynamics, mechanical stability, and active microtubule mechanics underlying spindle self-organization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 e2209053119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2209053119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakamoto Ryota, Miyazaki Makito, Maeda Yusuke T.	4. 巻 5
2. 論文標題 State transitions of a confined actomyosin system controlled through contractility and polymerization rate	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Review Research	6. 最初と最後の頁 13208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevResearch.5.013208	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shigeta Kazuyuki, Fukuyama Tatsuya, Takahashi Riku, Beppu Kazusa, Tanaka Aya, Maeda Yusuke T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Collective motion of epithelial cells along a wrinkled 3D-buckled hydrogel	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 20174 ~ 20181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2RA01768G	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Shuzo, Garenne David, Noireaux Vincent, Maeda Yusuke T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Phase Separation and Protein Partitioning in Compartmentalized Cell-Free Expression Reactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 3451 ~ 3459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biomac.1c00546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Beppu Kazusa, Izri Ziane, Sato Tasuku, Yamanishi Yoko, Sumino Yutaka, Maeda Yusuke T.	4. 巻 118
2. 論文標題 Edge current and pairing order transition in chiral bacterial vortices	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2107461118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2107461118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Araki Shunya, Beppu Kazusa, Kabir Arif Md. Rashedul, Kakugo Akira, Maeda Yusuke T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Controlling Collective Motion of Kinesin-Driven Microtubules via Patterning of Topographic Landscapes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nano Letters	6. 最初と最後の頁 10478 ~ 10485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.1c03952	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂本遼太, 前多裕介, 宮崎牧人	4. 巻 76
2. 論文標題 細胞核はどこにあるか - アクティブ・ゲルと配置対称性の制御原理	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本物理学会誌	6. 最初と最後の頁 595-600
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 前多裕介, 加藤修三, 福山達也	4. 巻 607
2. 論文標題 ソフトマターで分子を運ぶ, 選り分ける	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 現代化学	6. 最初と最後の頁 46-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Ryota, Maeda Yusuke T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Unveiling the physics underlying symmetry breaking of the actin cytoskeleton: An artificial cell-based approach	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 e200032
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v20.0032	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計5件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 前多 裕介
2. 発表標題 力が制御するアクトミオシンの秩序転移と自律運動・変形
3. 学会等名 第11回分子モーター討論会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前多裕介
2. 発表標題 Understanding the instability of intracellular organization in synthetic cell
3. 学会等名 第59回 日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂本 遼太, Ziane Izri, 島本勇太, 宮崎 牧人, 前多 裕介
2. 発表標題 アクティブな界面摩擦と流体抵抗の幾何学的バランスが決めるアクトミオン液滴の自発運動
3. 学会等名 第59回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前多 裕介
2. 発表標題 アクティブゲルの対称性と動きの非平衡力学
3. 学会等名 日本物理学会2021年度秋季大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前多 裕介
2. 発表標題 アクティブマター：生命システムの理解と制御の新展開
3. 学会等名 東京大学化学生命工学専攻 談話会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------