

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24740292

研究課題名(和文) 物理から細胞形態に迫る：多細胞モデルの構築と細胞間相互作用の制御

研究課題名(英文) Modeling of cell tissue morphology: Cell adhesion force and cellular arrangement

研究代表者

柳澤 実穂 (Yanagisawa, Miho)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：50555802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：生物を形作る細胞は、機能に適した形態と内部構造を備えている。我々は、この細胞形状と構造の制御機構を明らかにするために、細胞組織における細胞の空間配置と細胞間接着力に着目し、それらの相関関係を、複数の細胞サイズ液滴からなる細胞組織モデルを用いて調べた。細胞の空間配置が関与しない二細胞モデルでは、細胞間接着力が細胞表面の界面張力と、細胞膜と細胞内の高分子との相互作用によって決定されることが示された。一方、多細胞モデルでは、細胞の空間配置と接着力が、細胞内に含まれる高分子の構造形成を介して互いに影響し合うことが分かった。この結果は、細胞組織の形と構造の制御原理が、共依存関係にあることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Living cells regulate their shapes and cytoplasmic structures to be appropriate for their functions. To reveal the mechanism to regulate their shapes and structures, we used adhering droplets entrapping a polymer blend as a model of cellular tissue, and investigated relation between adhesion force between the cells and cellular arrangement. Consequently, it is found that the adhesive force and the cellular arrangement have a codependent relationship via structural formation of the polymer blend in cells.

研究分野：ソフトマター物理

キーワード：細胞モデル 界面張力 細胞接着

1. 研究開始当初の背景

細胞の形態制御における基本原理を明らかにするため、細胞モデルとして、リン脂質膜小胞(リポソーム)やリン脂質単分子膜で覆われた油中水滴(マイクロ液滴)を用いた研究がなされてきた。リポソームが高浸透圧下で示す膜形状には、赤血球など孤立した細胞の形に酷似したものが多く含まれている。それゆえ、リポソームの膜変形を記述する膜の弾性理論が2000年頃に確立したことで、一細胞の形態制御に対する物理的理解は飛躍的に高まったといえるだろう。

一方、複数の細胞が互いに膜接着して形作る細胞組織に対しては、複雑な形を記述する統一した理論が存在しない。その理由として、実際の細胞組織と比較し得る細胞組織モデルが欠如していることが挙げられる。そこで本研究では、細胞モデルを互いに膜接着させた細胞組織モデルを構築した上で、細胞間相互作用の一つである細胞間接着力を決定する物理的要因を解明する。

2. 研究の目的

細胞組織を形作る細胞の形態制御機構を物理的に解明するため、細胞組織モデルを用いて、細胞間接着力を決定する細胞膜および細胞質のもつ物理的要因を明らかにする。

3. 研究の方法

細胞組織モデルの構築と細胞間接着力の定量化のために、以下の流れで研究を進めた。

- (1)マイクロ液滴やリポソームを細胞モデルとして用い、それらを互いに膜接着させることで、細胞組織モデルを構築する
- (2)二細胞モデルを用いて、細胞間接着力を決定する細胞膜の物理的要因を明らかにする
- (3)空間配置制御された細胞組織モデルを用いて、細胞質の構造形成に応じて変化する細胞間接着力を解析し、細胞形態と内部構造、接着力との相関関係を導く

以上から、細胞組織の形の制御機構を、細胞間接着力と内部構造形成との関係性から説明する。

4. 研究成果

(1)細胞間接着力に対する細胞膜の影響

細胞膜に含まれるリン脂質は、親水基と疎水基の構造の違いによって、数千に及ぶ種類が存在する。こうしたリン脂質の構造の違いが細胞間接着力へ及ぼす影響を調べた。その結果、リン脂質の親水基の構造は接着力に対してほぼ影響しないが、疎水基となるアルキル鎖に含まれる炭素数が16以下になると接着力は急激に減少することが示された。実際に、細胞膜に含まれる多くのリン脂質は、炭素数が16より大きな、長いアルキル鎖を持っており、上記の結果は、生物学的にも興味

深いと言える(論文6)。

(2)細胞質をもつ細胞モデルの構築

細胞内には、DNAやタンパク質など、多量かつ高濃度の生体高分子が閉じ込められている。こうした多成分の高分子溶液が細胞間接着力へ及ぼす影響を定量評価するために、細胞モデルに内包した高分子溶液の濃度を自在に制御する新規手法を確立した。この手法では、半透膜として機能するリポソーム膜の内部に比較的低濃度の高分子溶液を内包し、それを高浸透圧条件にさらすことで、脱水により濃縮する。初期の細胞膜内外の浸透圧比を変化させることで、最終的な細胞内の高分子濃度を制御することができる。この手法により、細胞内濃度に匹敵する生体高分子溶液を内包したリポソームを初めて構築することに成功した。さらに、内部粘性に応じてリポソームの膜変形機構が転移することも分かってきた(論文4,5)。この成果は、従来の細胞モデルをより実際の細胞に近づけると共に、細胞膜に代わって細胞質が支配的となる形態制御の機構を導く点で重要だといえる。

(3)細胞間接着力に対する細胞質の影響

一般に、高分子混合溶液を細胞モデルへ閉じ込めると、高分子と脂質膜との相互作用および空間閉じ込めの効果によって、高分子溶液の相挙動は変化する(業績3)。細胞間接着力も、細胞膜と高分子との相互作用により変化することを確認している(未発表)。

また細胞内には、細胞質に代表される液体相だけでなく、アクチンゲルに代表されるゲル(固体)相も細胞膜直下に存在している。そこで、細胞モデル内に閉じ込めた高分子溶液のゾル・ゲル共存相における構造形成を解析した。その結果、内部構造は、細胞膜と高分子との相互作用や細胞サイズに強く依存することが分かってきた(業績1,2)。

さらに、細胞組織モデルを用いて同様の実験を行った結果、細胞形態と接着力が、内部に含まれる高分子溶液の構造形成を介して互いに影響し合うことも分かった。この結果は、細胞組織の形と構造の制御原理が、共存関係にあることを強く示唆する。

上記(1)~(3)の研究成果は、細胞組織の形態制御機構を説明する上で重要となる、細胞間接着力と細胞の空間配置、そして内部構造形成の相関関係を解明する上での大きな一歩となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

1. M. Yanagisawa, S. Nigorikawa, T. Sakaue, K. Fujiwara, and M. Tokita. "Multiple patterns of

polymer gels in microspheres due to the interplay among phase separation, wetting, and gelation”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 査読有, Vol. 111, 2014, pp. 15894-15899. DOI: 10.1073/pnas.1416592111.

2. M. Yanagisawa, Y. Yamashita, S. Mukai, M. Annaka, and M. Tokita. “Phase separation in binary polymer solution: Gelatin/Poly (ethylene glycol) system”, J. Mol. Liq., 査読有, Vol. 200, 2014, pp. 2-6. DOI: 10.1016/j.molliq.2013.12.035.

3. M. Yanagisawa, T. Sakaue, and K. Yoshikawa. “Characteristic behavior of crowding macromolecules confined in cell-sized droplets”, Int. Rev. Cell Mol. Biol. 査読有. Vol. 307, 2014, pp. 175-204. DOI: 10.1016/B978-0-12-800046-5.00007-2.

4. K. Fujiwara, M. Yanagisawa, and S. M. Nomura. “Reconstitution of intracellular environments in vitro and in artificial cells”, Biophysics, 査読有, Vol. 10, 2014, pp. 43-48. DOI: 10.2142/biophysics.10.43.

5. K. Fujiwara and M. Yanagisawa. “Generation of giant unilamellar liposomes containing biomacromolecules at physiological intracellular concentrations using hypertonic conditions”, 査読有, Vol. 3, 2014, pp. 870-874. DOI: 10.1021/sb4001917.

6. M. Yanagisawa, T. Yoshida, M. Furuta, S. Nakata, and M. Tokita. “Adhesive force between paired microdroplets coated with lipid monolayers”, Soft Matter, 査読有, Vol. 9, 2013, pp. 5891-5897. DOI: 10.1039/C3SM50938A.

〔学会発表〕(計 15 件)

柳澤実穂. 「細胞サイズ空間へ閉じ込められた高分子混合系の相分離とゲル化の競合」, 首都大学東京・ミニ研究環「ソフトマターを基盤とするバイオ系の構築」, 2015年3月9日, 東京・首都大学東京(東京都八王子市), 招待講演.

柳澤実穂. 「連結したマイクロ液滴でのゾルゲルパターン形成」, 第五回 Yet Another Cell 研究会, 2015年2月19日, マホロバマイズ三浦(神奈川県三浦市).

柳澤実穂. 「細胞内環境のモデル化が導く高分子の混み合いと閉じ込めの効果」, 神戸大学先端融合科学シンポジウム, 2015年1月20日, 神戸大学(兵庫県神戸市), 招待講演.

柳澤実穂. “Oriented reconstitution of an ion channel in a cell-sized liposome”, 情報計算化学学生物学会 2014 年大会, 2014 年 10 月 28 日, タワーホール船堀(東京都江戸川区), 招待講演.

柳澤実穂. “Phase separation on cell-sized liposomes in the presence of external force”, 第 52 回日本生物物理学会, 2014 年 9 月 25 日, 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市), 招待講演.

柳澤実穂, 藤原慶. “Effect of viscoelastic cytoplasm in liposomes on the shape deformation”, Open Questions of the Origin of Life 2014, 2014 年 7 月 13 日, 国際高等研究所(京都府木津川市), ポスター発表.

柳澤実穂, 濁川慎平, 鴫田昌之. 「マイクロ液滴内での高分子溶液の相分離と座屈現象」, 第 69 回日本物理学会年次大会, 2014 年 3 月 28 日, 東海大学(神奈川県平塚市), 招待講演.

柳澤実穂. 「生体高分子溶液の粘弾性と相分離挙動」, 第 69 回日本物理学会年次大会, 2014 年 3 月 27 日, 東海大学(神奈川県平塚市), 招待講演.

柳澤実穂. 「細胞サイズ小胞への高分子封入による新機能創成」, 2013 年日本化学会中国四国支部大会, 2013 年 11 月 16 日, 広島大学(広島県東広島市), 招待講演.

柳澤実穂. “Aqueous phase separation and sol-gel phase transition of biopolymer blend in cell-sized droplets”, 第 51 回日本生物物理学会年会, 2013 年 10 月 28 日, 京都国際会議場(京都府京都市), 招待講演.

柳澤実穂, 濁川慎平, 鴫田昌之. “Spontaneous patterning of gels by confining to microdroplets”, International Soft Matter Conference 2013, 2013 年 9 月 15 日, イタリア・ローマ, ポスター発表, 査読有.

柳澤実穂. “Spontaneous patterning of gels by confining polymer mixture to microspheres”, 7th Mini-symposium on Liquids, 2013 年 7 月 6 日, 九州大学西新プラザ(福岡県福岡市), 招待講演.

柳澤実穂. 「モデル細胞における膜上相分離と内包溶液の水性二相分離」, 第二回ソフトマター研究会, 2012 年 9 月 25 日, 九州大学西新プラザ(福岡県福岡市), 招待講演.

柳澤実穂, 加藤絢子, 吉川研一. “Orientation control of the potassium channel KcsA and spatial arrangement of DNA in a cell-sized vesicle”, PhysCell2012, 2012 年 9 月 2 日, フランス・イェール, 査読有.

柳澤実穂, 加藤絢子, 吉川研一. “Spatial arrangement and orientation control of biomacromolecules in a model system: Experimental demonstration with DNA and the potassium ion channel KcsA”, International Association of Colloid and Interface Scientists, 2012 年 4 月 13 日, 仙台国際センター(宮城県仙台市).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳澤 実穂 (YANAGISAWA MIHO)

東京農工大学・大学院工学研究院・特任准
教授

研究者番号：50555802

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし