

研究種目：学術創成研究費

研究期間：2007～2011

課題番号：19GS0418

研究課題名（和文） 生体情報伝達連鎖機構の単分子力学解析と計算機モデリング

研究課題名（英文） Single Molecule Mechanics and Computer Modeling of Cascading System of Biological Information Transfer

研究代表者： 猪飼 篤（IKAI ATSUSHI）

東京工業大学・イノベーション推進体・特任教授

研究者番号：50011713

研究代表者の専門分野：生体ナノ力学

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学、ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：原子間力顕微鏡、細胞骨格、ネットワーク力学、分子間相互作用力、ストレスファイバー、アクチン、

1. 研究計画の概要

(1) アクチンを主成分とする細胞骨格ネットワーク構造の力学物性解明のため、原子間力顕微鏡（AFM）を主力とする単分子力学実験と計算機シミュレーション融合する。

(2) 細胞膜からアクチンネットワークに至る連結システムに関与する主なタンパク質間の相互作用力を単分子レベルで測定し、計算機シミュレーションとの融合を図る。

2. 研究の進捗状況

(1) 緑色蛍光タンパク質（GFP）融合により可視化したアクチンストレスファイバーを、繊維芽細胞内に挿入したAFM探針により直接力学操作し、ファイバーの変形と印加力の関係を蛍光顕微鏡下に測定することにより、ストレスファイバー間を連結する柔らかいネットワーク構造についての力学的知見を得た。

(2) AFM探針をFIB法により釣針型に加工した上で、細胞内に挿入して蛍光可視化されたストレスファイバーを針に捕獲したうえで引く、押すなど従来不可能であった一連の操作を可能とした。

(3) 生細胞上においた小ガラス球下に局所的に発生させたアクチンネットワークの繰り返しストレスに対する応答を測定した。

(4) 膜タンパク質から細胞骨格への連結タン

パク質（タリンおよびビンキュリン）の主要部分を遺伝子工学的方法で作製・精製し、まずビンキュリンとアクチン繊維の相互作用力の測定を行った。

3. 現在までの達成度

①おおむね順調に進展している：

FIBを用いたAFM用探針の加工を行うことにより、ストレスファイバーをはじめとする繊維構造への直接的力学操作がより自由度の高い範囲で可能となった。また、ストレスファイバーの変形が周囲のファイバーに伝達される様子を定量化する方法を考案して従来測定されることになかった細胞骨格ネットワークを介しての力学情報伝播にあずかる細胞内構造についての定量的知見が得られている。一部、相互作用力測定用に作製したタンパク質不安定であったため測定に遅れが生じたが、現在は問題を解決して測定を進めている。また、バクテリオロドプシン間の情報伝達機構を細胞膜上のプロトン移動として測定する計画は、担当者から研究遂行が困難になったとの申し出があり、研究計画から外すことにした。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 膜タンパク質と細胞骨格を連結するタンパク質システムの力学的強度測定を単分子レベルで推進する。

(2) 上記と類似の情報伝達システムを持つ繊維芽細胞以外の細胞についての測定を開始

する。

(3) 本研究課題のもっとも意欲的部分である、細胞化学と材料・構造力学の統合を図るため、細胞内ネットワークのモデル化と計算機シミュレーションをさらに発展させ、細胞機能とネットワーク力学の関連を解明する。

5. 代表的な研究成果

(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 25 件)

① Atsushi Ikai, Tensile Mechanics of α -helical coil springs, Adv. Polymer Sci., (2010 印刷中), 査読有

② Afrin R., Zohora US, Uehara H, Watanabe-Nakayama T, Ikai A., Atomic force microscopy for cellular level manipulation: imaging intracellular structures and DNA delivery through a membrane hole., J Mol Recognit. 22、363-372 (2009)、査読有

③ Yan C, Yersin A, Afrin R., Sekiguchi H., Ikai A., Single molecular dynamic interactions between glycophorin A and lectin as probed by atomic force microscopy. Biophys Chem. 144、72-77 (2009)、査読有

④ Afrin R., Takahashi I, Shiga K, Ikai A. Tensile mechanics of alanine-based helical polypeptide: force spectroscopy versus computer simulations., Biophys J. 96、1105-1114、(2009)、査読有

⑤ Yersin A, Osada T., Ikai A., Exploring transferrin-receptor interactions at the single-molecule level. Biophys J. 94、230-240、(2008)、査読有

[学会発表] (計 30 件)

① . Takahiro W. Nakayama, Shin-ichi Machida, Ichiro Harada, Hiroshi Sekiguchi, Rehana Afrin., Atsushi Ikai., “Direct Detection OF Tension Recovery After Local Stretching of Cell Surface”, American Biophysical Society 54th Annual Meeting, February 19-24 (2010), San Francisco, U.S.A.

② Atsushi Ikai., (invited), “Local mechanics of cytoskeletal networks probed by AFM” WBMA'09 Watching Biomolecules in Action, Single Molecule Biology Symposium, December 15-17, (2009), Osaka, Japan.

③ Rehana Afrin and Atsushi Ikai., “Single Molecule Force Spectroscopy between Erythrocyte Glycoproteins and Sugar Specific Lectins”. Watching Biomolecules in Actions (WBMA '09), Single Molecule Biology Symposium, Osaka, December 15-17, 2009.

④ D Lee, K Kishimoto., A Ikai., K Inaba, “Monte Carlo Simulation Study of a Red Blood Cell Cytoskeleton Under AFM Loading”, Asia Pacific Conference on Mechanics of Materials, November 13-16, 2009, Yokohama, JAPAN (2009).

⑤ H. Sekiguchi (invited), Y. Mori and A. Ikai. “Nano-indentation of Single Protein Investigated by Atomic Force Microscopy”, Protein Research International Symposium on “New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories” December 7-9, 2008, Icho-Kaikai, Osaka univ.

⑥ Atsushi Ikai., (invited), “Pulling Proteins From the Cell Surface with AFM”, JPK 7th annual symposium on SPM for the Life Sciences, 2October 28 (2008), Berlin Germany.

⑦ Rehana Afrin and Atsushi Ikai., “Exploring Promising Applications of Atomic Force Microscope as a Bionanotechnological Tool”. International Scanning Probe Microscopy Conference (ISPM), Jeju, SOUTH KOREA. June 10- 14, 2007.

[図書] (計 4 件)

① Atsushi Ikai. Elsevier, The World of Nano-Biomechanics, 2008, 283 pages. (ドイツ語版(訳 Michael Bär) : Einführung in die Nanobiomechanik, Wiley-VCH, 2010, 246 pages.)

② Atsushi Ikai., Rehana Afrin., Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., “Mapping Membrane Proteins on Living Cells using Atomic Force Microscope”, in “Life at the Nanoscale: Atomic Force Microscopy of Live Cells” (Ed. Y. Dufrêne). 2010, (印刷中)。

[その他]

ホームページ :

<http://www.ikai.bio.titech.ac.jp/>

現在大幅に更新中。