

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03199

研究課題名（和文）微小管星状体の細胞内動態を決める力学要素の包括的解析

研究課題名（英文）Structural mechanics of cytoskeletons

研究代表者

谷本 博一（Tanimoto, Hirokazu）

横浜市立大学・理学部・准教授

研究者番号：60784907

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：生細胞内で細胞骨格構造が示す構造力学的性質を実験的に決定することを目的として研究を行った。磁性液体を用いた新しい細胞内磁気ピンセットを構築して、微小管およびアクチン骨格に直接外力を印加して、引き起こされる構造変化を共焦点顕微鏡観察することに成功した。これらの成果を原著論文として投稿した（Orii and Tanimoto, in revision）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は細胞骨格に直接力を加えることでその構造力学的性質を特徴付けた。これはより広い文脈では、細胞内構造の物性を直接測定した初めての研究の一つであり、細胞生物物理学分野において一定の学術的意義を持つものである。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to experimentally determine the structural and mechanical properties of cytoskeletal structures in living cells. By constructing a new intracellular magnetic tweezers using a magnetic liquid, we succeeded in applying external force directly to microtubules and actin skeletons and observing the remaining structural changes using a confocal microscope.

研究分野：細胞生物物理学

キーワード：生物物理学 細胞生物学

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生体力学は形態学の一分野として 100 年以上の歴史を持ち、分子・細胞・組織の各スケールにおける物理的力の直接測定に基づいて、各々の階層における生体運動の力学的記述を構築してきた。一方で、分子と細胞の間の階層、長さにして 10 万倍にわたる階層における直接力学測定技術はいまだ確立していない(図 2)。この準細胞スケールは、細胞骨格の高次構造形成、細胞内小器官の配置、染色体の分配をはじめとした細胞生物学における主要な研究対象である。準細胞スケールにおける力学測定技術を確立することで、分子からマクロスケールまでの生体運動を連続的に理解することが可能となると考える。

染色体の分配や細胞内小器官の動態をはじめとする種々の細胞生物学的現象は、細胞骨格とタンパク質分子モーターの複合系が細胞内で生み出す機械的な力によって駆動される。これらの現象の生物物理学的な理解には、現象に関わる機械的な力の直接測定が不可欠であるが、測定の困難さゆえにそのような細胞内力学測定はほとんど実現していない。

研究代表者はウニ受精卵における精子微小管星状体の中央化過程をモデル系として、細胞内力学測定技術の開発に取り組んできた。星状体は中心体から放射状に伸びる多数の微小管からなる細胞スケールの構造体で、染色体を含むさまざまな構造の配置を決定する役割がある。そのために星状体は、星状体上を運動するダイニン分子が生成する力によって細胞内空間を動的に探索する。この現象は「細胞骨格構造の力学・物理学的な設計原理」を探るための典型的かつ格好の題材である。

2. 研究の目的

本研究は、微小管星状体の細胞内動態を決める力学因子を包括的に測定することで、星状体運動の正確性を支える力学機構を解明することを目的とする。これまでに構築した細胞内磁気ピンセットをピコニュートン・サブ秒まで精密化して、星状体・ダイニン・細胞質が示す複雑物性を詳細に測定する。測定結果を基に理論モデルを構築して、星状体運動の正確性を支える力学機構を解明する。その成果は、細胞骨格が関わる多彩な細胞生物学的現象の力学的側面を解明するための一般的な枠組みとなり得るものである。

本研究が開発する細胞内磁気ピンセットの特徴は、非侵襲的・遠隔的かつさまざまな対象分子に応用できる高い汎用性にある。近年、機械的力が生体内において情報伝達因子として働き、細胞(脱)分化を始めとした医学的応用に直結する生命現象において重要な役割を果たしていることが解明されつつある(Vining and Mooney, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2017)。細胞内磁気ピンセットは、このような化学-力学シグナル伝達の分子生物学的解析において直接の摂動として用いることができ、さらには力学過程とシグナル伝達系の双方を定量的に操作することで、細胞動態の *in vivo* 制御や機能性組織の再構成研究などにも応用可能である。

以上の理由から本申請研究は、基礎研究としての高いインパクトに加えて、応用研究としての幅広い将来性を併せ持つものである。

3. 研究の方法

微小管およびアクチン骨格が直接的な細胞内摂動外力に対して示す変形応答の可視化解析を遂行した。細胞骨格の構造変形を引き起こすためには、細胞骨格自身が生み出す力と同等の、10 nN オーダーの力学摂動が必要である。そのような大規模な力学摂動は、典型的な磁気プローブであるマイクロメートルスケールの磁気粒子では実現できない。磁性流体をプローブとした新奇な細胞内力学測定手法を構築することで、10 nN を越える大規模な細胞内力学摂動を実現して、微小管およびアクチン骨格の制御された構造変形を引き起こすことに成功した。

4. 研究成果

力に対する構造の変形応答は、構造の物理的振る舞いを規定する最も基本的な性質である。しかし研究者自身の仕事も含めて、細胞内構造の力学計測の大部分は摂動外力に対する構造の一点(多くはプローブの位置)の変位解析に留まっており、細胞内構造の力-形関係は一般に未解明である。

細胞内における高次構造の、試験管内再構成系とは異なる特徴的な性質として、他の構造との相互作用が挙げられる。実際、代表的な細胞内高次構造であるアクチン骨格と微小管骨格の間に力学的な相互作用が存在することが古くから提唱されている。しかし、その証拠は間接的かつ定性的なものに留まっており、たとえば相互作用の強さや時空間分布は全く分かっていない。細胞骨格間の力学的相互作用を検証・評価するためには、骨格構造の力学動態を直接計測することが不可欠である。

微小管およびアクチン骨格が直接的な細胞内摂動外力に対して示す変形応答の可視化解析を遂行した。細胞骨格の構造変形を引き起こすためには、細胞骨格自身が生み出す力と同等の、10 nN オーダーの力学摂動が必要である。そのような大規模な力学摂動は、典型的な磁気プローブであるマイクロメートルスケールの磁気粒子では実現できない。磁性流体をプローブとした新

奇な細胞内力学測定手法を構築することで、10 nNを越える大規模な細胞内力学摂動を実現して、微小管およびアクチン骨格の制御された構造変形を引き起こすことに成功した。

測定した細胞骨格の構造変形を解析することで、微小管およびアクチン骨格が共通して示す構造力学特性が明らかになった。力を及ぼした点を頂点として、細胞骨格の変形は細胞の端までなだらかに減衰する。その減衰は力をかけた点からの距離に反比例する、単純なスケールリング則を示した。このスケールリング則は一様な線形弾性体における変形のグリーン関数の一般的な特徴と一致している。さらに外力に対する微小管一本単位の変形応答の解析なども踏まえて、弾性的なアクチンメッシュワーク構造に微小管が細胞質全域にわたって埋め込まれていることで、微小管高次構造の線形弾性的な振る舞いが説明できることを結論した。

磁気ピンセット技術に基づく独自の細胞内力学測定技術を精密化することで、細胞内高次構造の物理的な振る舞いを理解することを目的として研究を行った。具体的には、典型的な細胞内高次構造体である微小管およびアクチン骨格を対象として、これらの構造が直接的な摂動外力に対して示す構造変形応答を可視化解析することに世界で初めて成功した。その結果に基づいて、細胞内全域において微小管 - アクチン骨格が密接に相互作用している描像を提出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	木村 暁 (Kimura Akatsuki) (10365447)	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授 (63801)	

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