

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15812

研究課題名(和文) 生体高分子を標的としたテラヘルツ波照射による細胞機能制御

研究課題名(英文) Manipulation of cellular functions by THz wave

研究代表者

山崎 祥他 (Yamazaki, Shota)

国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：50798345

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高強度テラヘルツ(THz)光の照射により生体高分子であるアクチン繊維の構造操作に成功した。THz光はその周波数が高分子の分子間結合に相当するため、高強度照射により高分子の高次構造変換を誘起できると考えられているが、これまで生体内に存在する高分子への影響は明らかになっていない。本研究はTHz光によるアクチン繊維の構造操作を介した細胞機能制御の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、様々な研究分野でTHz周波数帯の光が利用され始めている。しかし、THz光照射による細胞影響や機能制御を目的とした研究は行われていない。本研究で明らかにしたTHz光による生体高分子の操作は、将来的な光による細胞機能制御に繋がるのが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this project, we showed that intense terahertz (THz) irradiation changes structure of actin filament. THz frequency is close to the intramolecular bonds of macromolecule. So, it is considered that intense THz exposure induces morphological change of polymers. We focused on actin filament which is one of the bio-polymer, and identified that THz irradiation can change it's structure. Our results show a possibility that THz irradiation is useful for artificial regulation of cellular function via actin filament.

研究分野：分子生物学

キーワード：テラヘルツ アクチン 光制御 細胞機能制御 生体高分子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、可視光の性質を活かした生命現象の操作技術、オプトジェネティクスが生物分野で注目されている。周波数が光と電波の中間領域に位置する THz 波は、可視光と比較して光子エネルギーが 1000 倍低く、高強度でも照射対象の破壊や変性を誘起しない特徴がある。また、THz 波の周波数は分子間振動や格子振動に相当するため、高強度の THz 波による励起によりタンパク質の高次構造を制御できると考えられている(図1)。これまで THz 波による物性操作に成功した報告はなかったが、本研究グループでは最近、生体内高分子であるアクチン繊維の形成を高強度 THz 波の照射により誘起可能で

あることを発見した(Yamazaki *et al.*, *Sci Rep*, 2018)。アクチンは単量体と重合した繊維の二つの形態を持つ。細胞から精製したアクチンを用いて繊維の形成過程を観察したところ、高強度 THz 波(周波数 0.5THz)を照射することで繊維形成率が 3.5 倍に増加することを明

らかにした。THz 波を照射したアクチン繊維の構造は非照射と同様に直線状の形状を示し、高強度 THz 波の照射がタンパク質の変性や凝集を誘起しない事も確認した。また、先行研究として、アクチンの繊維化は THz 波照射を行っている間のみ誘導される可逆的な現象であることも確認できている。そこで本研究では、前述のアクチン繊維操作を応用した、THz 波による細胞機能の制御を目指した。

### 2. 研究の目的

本研究では、高強度テラヘルツ(THz)波の照射による生体内高分子への影響を解明し、THz 波の周波数帯特性を活かした細胞の機能制御技術の確立を目指す。細胞内のアクチン繊維を対象とした蛍光顕微鏡によるリアルタイム観察から、高強度 THz 波が生体内の高分子構造を操作できるか明らかにする。また、アクチンが関与する細胞運動や分裂、増殖への影響を解明し、THz 波照射により制御可能な細胞機能を解明する。次に、THz 波照射により細胞核内へアクチン繊維を人為的に形成させ、核構造や核内タンパク質の挙動を観察する。また、遺伝子発現変化を解析することで、THz 波誘起したアクチン繊維により制御可能な細胞機能を解明する。前述の成果をもとに、オプトジェネティクスと並ぶ新たな遺伝子操作手法としてテラジェネティクス(THz 遺伝学)の確立を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) THz 波で誘起されるアクチン構造変化の解明

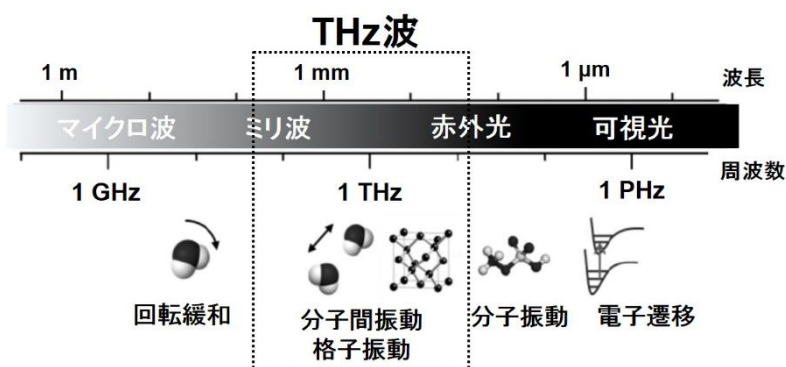


図1. THz 波の周波数と吸収

精製アクチンを対象に、高分子構造変換を誘起可能な THz 波の周波数・強度の閾値情報を明らかにする。高強度光源としてこれまで使用しているジャイロトロン(0.5THz, 福井大学)に加え、3-5THz とブロードな THz 波照射を行うことができる自由電子レーザー(大阪大学)、1-10THz とより広範囲の THz 波を照射できる非線形光学光源(理研)を利用した。この精製アクチンによる解析結果を基に、生細胞内アクチンの THz 波照射による操作を試みた。THz 波を細胞に照射しながら、生きたまま細胞運動・分裂や増殖への影響を調べるためには、照射環境において細胞の生命機能を維持することが必要である。そこで、光学系と細胞培養装置、蛍光顕微鏡を組み合わせた可搬型の照射・観察プラットフォームを、FEL やジャイロトロン、および非線形光学光源に設置し、様々な波長帯・強度の THz 波照射条件下で細胞内アクチン繊維を観察する。同時に、細胞やゲノムの機能変化を解析することで、THz 波の照射によりどのような細胞機能が制御できるか解析した(図2)。THz 波照射下の細胞質内および細胞核内のアクチン繊維化をリアルタイムイメージングする目的で、最近開発されたアクチン繊維プローブである silicon-rhodamine actin (SiR-actin) および核移行性 actin chromobody (nAC)をそれぞれ利用した(Lukinavičius et al., Nature Methods, 2014; Plessner et al., J Biol Chem, 2015)。

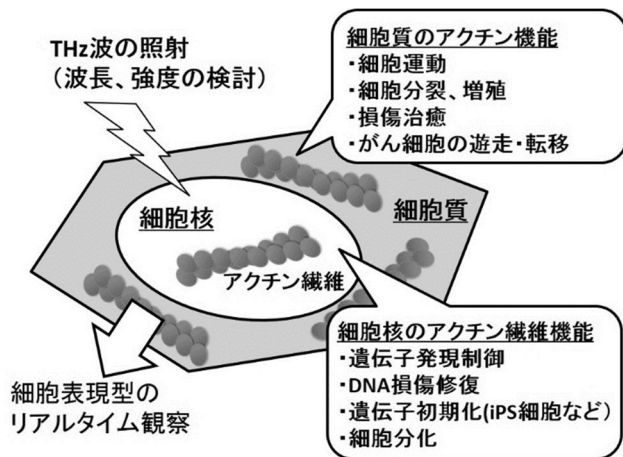


図2. THz 波照射による細胞表現型の解析

## (2) THz 波による細胞核機能の制御

### THz 波照射による遺伝子発現の制御

THz 波の照射により核内にアクチン繊維を形成できるか、また、遺伝子発現への影響を解析した。この情報を基に、アクチン繊維を形成させることで遺伝子発現を制御可能であるか検証した。先行研究として、細胞質アクチンの繊維化によりヒトケラチノサイトの分化が促進される結果を得ているため、THz 波照射による細胞分化への影響を解析した。さらに、細胞核内のアクチン繊維は万能細胞形成過程の遺伝子初期化に関与することから(Miyamoto et al., Genes Dev, 2011)、クローン細胞や iPS 細胞の作成過程に THz 波照射を行い、その効果を解析することで、再生医療への THz 波応用についても検討した。

## 4. 研究成果

### (1) THz 光照射によるアクチン繊維形成の促進

本年度は、生きた細胞内のアクチン繊維形成を THz 光照射により操作する可能性について研究を実施した。具体的な研究内容としては、アクチン繊維へ選択的に結合することで構造変化し、蛍光を発する分子プローブを使用し、経時的な観察から THz 光照射の影響を定量化した。その結果、周波数 0.4 THz の光照射により生きた細胞の内部でアクチン繊維の形成が促進することを発見した(図3)。さらに、THz 光照射の効果は市販されているアクチン繊維の形成促進薬と同程度であった。これまで細胞の機能制御には、遺伝子導入という「生物学的制御」や、薬剤投与という「化学的制御」が使われるが、「物理的制御」はレーザー照射などによる分子構造の破壊に限られている。THz 光は光子のエネルギーが低く、水素結合

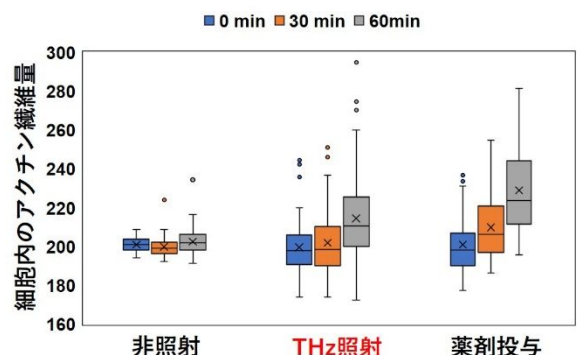


図3. THz 光照射によるアクチン繊維の増加

のような細胞内の相互作用と同程度であるため、分子構造を変えることなく高次構造を直接コントロールできる。また光の性質から制御時間の調節も容易である。このような生体内の「高次構造体」を選択的に操作する物理的な制御手法は未だ開発されていない。そのため本研究成果は、従来法では困難であった安全で可逆的な生命現象操作技術として THz 光を利用できる可能性を示した。

## (2) THz 光照射による衝撃波の発生とアクチン繊維の断片化

発見 1 の結果に加えて、本年度は水分子への吸収が高い周波数 4 THz のパルス光を使うことで、衝撃波を発生させることにも成功した。さらに、THz 光照射により発生した衝撃波はヒト皮膚の厚さに相当する水深 3 mm 以上を伝搬すること、試験管および細胞内のアクチン繊維を切断、断片化できることを発見した(図 4)。衝撃波発生は一般的に近赤外～紫外波長領域のレーザー光が使われ、高エネルギー短波長光を媒質に集光し、プラズマ発生に起因する爆発的過程をもとに行われてきた。しかし、レーザー光による衝撃波発生では、プラズマによる表層組織の損傷や、衝撃波の空間的拡がりから標的領域以外への影響が問題となる。一方、THz 光は低エネルギーであるため、その安全性を活かした観測技術への応用はあったが、生体試料操作への応用はこれまで実施されていない。

従来の方法と比較して、THz 光誘起衝撃波は破壊的プロセスがないため、照射表面における損傷を無視でき、さらに細胞を殺すことなく内部のアクチン繊維を切断することが確認できている。そのため、水分子の吸収が高い 4 THz のパルス光照射により発生させた衝撃波を利用することで、細胞内の高分子を「ソフト」に分解できる可能性が示された。

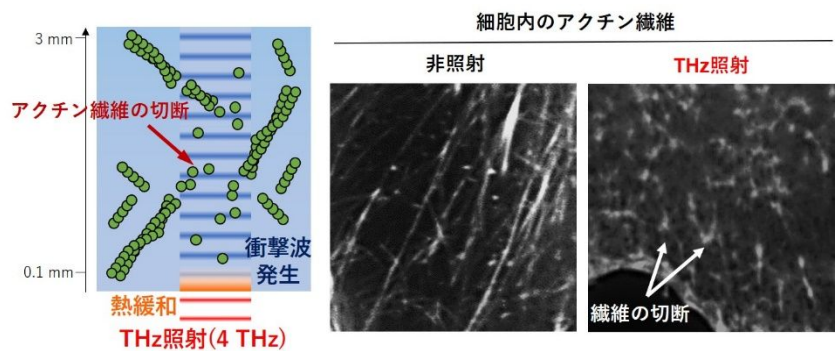


図 4. THz 光誘起衝撃波によるアクチン繊維の切断

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamazaki Shota, Gerhold Christian, Yamamoto Koji, Ueno Yuya, Grosse Robert, Miyamoto Kei, Harata Masahiko	4. 巻 9
2. 論文標題 The Actin-Family Protein Arp4 Is a Novel Suppressor for the Formation and Functions of Nuclear F-Actin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 758 ~ 758
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells9030758	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 該当する

1. 著者名 山崎祥他	4. 巻 48
2. 論文標題 高強度テラヘルツ光による生体内高分子「アクチン繊維」の操作	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 光学	6. 最初と最後の頁 402-406
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 Yamazaki Shota, Harata Masahiko, Ueno Yuya, Tsubouchi Masaaki, Konagaya Keiji, Ogawa Yuichi, Isoyama Goro, Otani Chiko, Hoshina Hiromichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Propagation of THz irradiation energy through aqueous layers: Demolition of actin filaments in living cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9008
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-65955-5	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山崎祥他, 原田昌彦, 坪内雅明, 小川雄一, 磯山悟朗, 大谷知行, 保科宏道
2. 発表標題 テラヘルツ光による衝撃波発生を介した生体高分子の操作
3. 学会等名 2019年度衝撃波シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎祥他
2. 発表標題 THz光の周波数帯特性を利用した細胞機能制御
3. 学会等名 テラヘルツ科学の最先端 VII (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎祥他
2. 発表標題 テラヘルツ光を利用した細胞内タンパク質構造の操作
3. 学会等名 光・量子ビーム科学合同シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Yamazaki
2. 発表標題 Actin filament is one of the key biomolecules affected by THz wave
3. 学会等名 The 8th International Workshop on Far-Infrared Technologies (IW-FIRT 2021) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎祥他
2. 発表標題 テラヘルツパルス光誘起衝撃波によるアクチン繊維の断片化
3. 学会等名 第43回分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎祥他
2. 発表標題 テラヘルツ光による衝撃波の発生を介した生体高分子の構造操作
3. 学会等名 東北大学 & 理化学研究所 連携シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 生体高分子操作装置および生体高分子操作方法	発明者 2020	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、P201492JP	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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