

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：32663

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01051

研究課題名（和文）バイオプローブによる細胞核内動的秩序構造の基本原理解探

研究課題名（英文）Exploring the principles of dynamics in the cell nucleus using bioprobes

研究代表者

藤井 修治 (Fujii, Shuji)

東洋大学・食環境科学部・教授

研究者番号：40401781

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,700,000円

研究成果の概要（和文）：圧縮変形下にさらされた細胞核内部において、物質は通常時（無圧縮時）とは異なる拡散挙動を示し、短時間領域において拡散が抑制されることが示唆された。張力が発生するような力学的条件下では、物質の拡散が抑制されることにより細胞核内の秩序構造を一時的に維持しているものと推測される。一定圧縮応力下において、抑制された拡散挙動は時間経過とともに徐々に通常の拡散挙動へとシフトしていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞核内におけるクロマチン高次構造の時空間秩序を維持するダイナミクスは、転写・複製・修復等のゲノム機能のみならず、遺伝子疾患・癌化・細胞死にも深く関係する。このため、細胞核内部の構造秩序ゆらぎを調べることは物理学的・医学的に重要な課題である。本研究において調べた運動下における細胞核内部のダイナミクスはこれまで明らかにされていない課題である。圧縮により細胞内に発生した張力が核内ダイナミクスに影響を与えることは、運動下では安静時と異なる秩序構造維持メカニズムが存在する可能性を示唆する。

研究成果の概要（英文）：Inside the cell nucleus under compressive stress, molecules show different diffusion behavior than without compression, suggesting that the diffusion is suppressed in the short-time region. Under mechanical conditions of tension, it is assumed that the dynamic ordered structure in the cell nucleus is temporarily maintained by the suppression of molecular diffusion. Under constant compressive stress, the suppressed diffusion behavior gradually shifts to normal diffusion behavior over time.

研究分野：ソフトマターのレオロジー

キーワード：細胞核 レオロジー 動的秩序構造

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細胞核内部は、染色体や細胞小器官の空間配置と階層構造が時々刻々と変動する動的な秩序系である。個々の染色体はからみ合うことなく、染色体テリトリーとよばれる高度に区画化された固有の領域を保持している。この染色体の時空間的な分子間配置は遺伝活性と相関があり、高活性の染色体は核の内側に、低活性の染色体は周辺に局在する。さらに染色体の分子内構造も遺伝活性に依存しており、高活性のクロマチンはゆるく辺縁部に広がるのに対し、不活性なものは染色体中央に密に閉じ込められる。このように細胞核内は、ナノからマイクロメートル、マイクロ秒から  $10^3$  秒という非常に広範な時空間スケールにわたりクロマチンの階層構造から分子間構造までが精密に組織化された動的な秩序系である。

細胞核内におけるクロマチン高次構造の時空間秩序を維持するダイナミクスは、生理的な運動により大きく変形する細胞核内においても常に維持されると考えられるが、なぜ構造秩序を乱すような大変形下においてクロマチンの動的構造秩序が維持されるのか、そのメカニズムは明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、申請者らが開発したバイオブローブを用い、せん断応力場下にある細胞に対し、核膜・核小体の形態ゆらぎと核内細胞小器官のダイナミクス、バイオブローブの自己会合体を用いたクロマチンのメソスケールダイナミクス、に取り組んだ。これにより細胞核内に存在する各種構造体のダイナミクスを包括的に計測し、細胞核内部の階層的なゲノムの構造秩序を維持する基本原理を明らかにすることを当初の目的とした。

### 3. 研究の方法

実験には細胞生物学研究において代表的な細胞である HeLa 細胞と U2OS 細胞を用いる。これらの細胞にバイオブローブを発現する DNA をリポフェクタミンにより投与し、その後 24 時間培養することによりバイオブローブの発現を待つ。バイオブローブの発現を確認した後、培養液にコラーゲン水溶液を流し固め、細胞を培養液ゲル中に封入する。ゲルのせん断変形を介して細胞にせん断応力を与えることができる。また、バイオブローブを投与せず、細胞核内の小器官の拡散挙動の観察も行う。細胞を封入したゲルに圧縮応力を加えて変形させることにより、外力場が細胞核内のダイナミクスに与える影響を調べる。

### 4. 研究成果

コラーゲンゲルに封入した細胞にせん断ではなく圧縮変形を与え、細胞核内部のダイナミクス解析を行った。本来の研究計画ではせん断変形下において調べる予定であった。しかし、弱いせん断変形では核内ダイナミクスに大きな違いが観察されない。一方で大きなせん断変形を与えると細胞を封入したゲルとせん断治具との間の滑りや、ゲルの応力緩和により観察している細胞核の顕微鏡観察視野からの逸脱、あるいはゲルの局所的な破壊が生じ実験が困難であった。そこで、せん断ではなく圧縮変形を与え、さらに停留点近傍において観察を行った。圧縮変形は二軸の伸長変形であるとも言えるが、停留点近傍を観察視野とすることにより、比較的大きな圧縮変形を与えてもゲルの応力緩和による細胞の移動が生じにくく、そのために観察時間にわたり比較的安定に細胞核内部の観察が可能になる。

比較のために圧縮変形を与えずに核内のダイナミクス観察をおこなった。圧縮を与えない場合、核内小器官の平均自乗変位(MSD)は短時間側では  $MSD \sim t^{0.5}$  であり、細胞核内部において頻繁に観察される典型的な Sub-diffusion 挙動が観察された。徐々に通常拡散的な挙動へとシフトしていった。Sub-diffusion から通常拡散挙動へのシフトもこれまでに報告されている結果と一致する。一方、細胞を封入したゲルを圧縮することにより細胞に圧縮応力を与えて核内ダイナミクスを計測したところ、MSD には広い時間にわたり拡散的挙動が観察されなかった( $MSD \sim t^0$ )。張力が作用しているような条件下では、物質拡散が抑制されることを示唆する結果を得た。時間経過とともに徐々に Sub-diffusion 挙動( $MSD \sim t^{0.5}$ )へとシフトしていく様子が見られた。圧縮変形下では小器官の運動がトラップされることから、核内に張力が作用する条件では、分子運動の拘束が強くなる結果を得た。細胞内に作用する圧縮応力が核内ダイナミクスに影響を与えることは、細胞核内には、運動下では安静時と異なる秩序構造維持メカニズムが存在する可能性を示唆する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井修治
2. 発表標題 微小プローブ粒子を用いた細胞核内ダイナミクス
3. 学会等名 Future Trend in Polymer Science2022(FTiPS2022) (招待講演)
4. 発表年 2023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
---------	---------