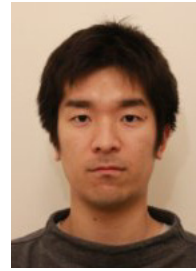


時空間分解能を持つ細胞内力学操作技術の開発

研究代表者

谷本博一 横浜市立大学 准教授



1. 研究の背景と達成目標

生体力学は形態学の一分野として長い歴史をもち、分子、細胞、組織の各スケールにおける機械的力の直接測定に基づいて、各々の階層における生命動態の力学的理解を構築してきた。一方で、分子と細胞の間の階層、1 ナノメートルから 100 マイクロメートルまで長さにして 100000 倍にもわたるメゾスコピックな階層における直接力学測定技術は未だ全く確立されていない。

本研究は、研究代表者がこれまでに構築した細胞内磁気ピンセット技術を発展させることで、生細胞内における機械的力の時空間動態を pN オーダーで精密に測定するための基盤技術を開発する。開発した生体力学操作技術を応用して、典型的な細胞生物学的現象である(1)動物の初期発生パターンを決める微小管星状体の細胞内運動と、(2)細胞の接着応力場を生成するアクチン骨格の力学を解明する。これらの研究は骨格高次構造の動力学を分子スケールの力生成および細胞スケールの生体運動と結びつけて、その分子制御機構を明らかにする。その成果は、細胞骨格が重要な役割を果たす多彩な細胞生物学的現象を物理・力学的に理解するための一般的な枠組みとなり得るものである。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

・ 定量的かつ汎用性の高い細胞内力学操作技術の構築

動物培養細胞の内部構造を大規模に力学操作することが可能な細胞内磁気ピンセットを構築した。本技術は広く基礎メカノバイオロジー分野一般における基盤技術となるものである。

・ 微小管星状体の材料力学

前項目で開発した新規な細胞内磁気ピンセットを用いて、細胞内における微小管高次構造の外力応答を可視化することに成功した。本項目の成果は、細胞内構造の直接力学摂動に対する応答を可視化解析した初めての報告である(投稿準備中)。

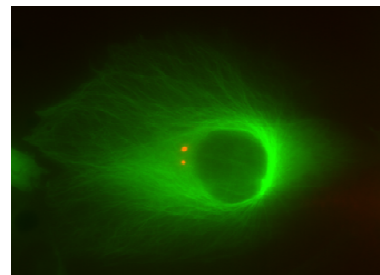
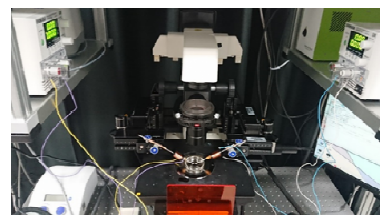
・ アクチン骨格上における機械的力の生成、伝播、統合

牽引力測定と力学的マニピュレーションを同時に実現する実験系を開発し、細胞の表面に与えた摂動外力が細胞内を伝わって細胞接着面で牽引力としてはたらく様子を測定することに成功した。本研究成果は、動物細胞の細胞動態の主要な駆動力である細胞表面応力の細胞内起源を解析するユニークな手法であり高いインパクトが期待される。

3. 研究成果

本研究の第一段階は、定量的かつ汎用性の高い細胞内力学操作技術の構築であった。研究代表者がこ

れまでに構築した細胞内磁気ピンセット技術 (Tanimoto et al., Nature Physics 2018) は比較的特殊な細胞である棘皮動物の卵細胞を対象としたものである。この手法をより一般的な動物培養細胞に応用できれば、細胞内磁気ピンセット技術はメカノバイオロジー分野一般における基盤技術として発展することが期待される。外部磁場形状などを最適化することで汎用的な細胞内磁気ピンセットを構築した (図、上)。この細胞内磁気ピンセットを用いて細胞内に導入した磁気プローブ粒子に制御可能な外力を印加できるものである。



磁気プローブ/tubulin-GFP

次に、構築した新規な細胞内力学操作手法を用いて、代表的な細胞内高次構造である微小管星状体の材料力学的性質の解明に取り組んだ。微小管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。細胞内微小管に制御された外力を直接印加して、微小管構造の変形応答を、細胞内磁気ピンセットを組み込んだ共焦点顕微鏡を用いて実時間可視化した (図、下)。その結果、微小管の短波長モードの座屈や変形速度依存的な粘性/弾性応答の切替など、試験管内再構成系とは異なる、微小管が細胞内で初めて発現する力学的性質を特徴付けることに成功した (投稿準備中)。

本研究の最後の項目は、微小管と共に代表的な細胞内高次構造であるアクチン骨格の動力学的解析である。本研究が開発した力学マニピュレーション技術と、細胞の表面力学状態の可視化手法である牽引力顕微鏡を組み合わせ、アクチン骨格上における機械的力の伝播様式を解明することを目指して研究を行った。これまでに細胞の表面に加えた摂動外力が細胞内を伝わって牽引力として検出できることを実証した。今後はこの実験系と細胞内磁気ピンセットとを組み合わせ、アクチン骨格の特定の場所で生み出された機械的力が細胞内をどのように伝わって機能的な表面力となるのかを解明する。

4. 今後の展開

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 (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。以上の理由から本研究は、基礎研究としての高いインパクトに加えて、幅広い応用可能性が期待されるものである。

5. 発表実績

Systematic mapping of cell wall mechanics in the regulation of cell morphogenesis
Valeria Davi, Louis Chevalier, Haotian Guo, Hirokazu Tanimoto, Katia Barrett, Etienne Couturier, Arezki Boudaoud, Nicolas Minc
Proceedings of the National Academy of Sciences (2019)
他、学会・研究会発表 14 件など