

※課題番号 : F-12-HK-0054
※支援課題名 (日本語) : 擬似植物細胞モデルにおける微小管の力学応答特性
※Program Title (in English) : Mechanical response of cortical microtubules in a pseudo-plant cell.
※利用者名 (日本語) : 井上 大介
※Username (in English) : Inoue Daisuke
※所属名 (日本語) : 北海道大学大学院総合科学院物質化学研究室
※Affiliation (in English) : Material Chemistry Laboratory, Graduate School of Chemical Science and Engineering, Hokkaido University

※概要 (Summary) :

植物の細胞膜直下には細胞骨格である微小管の配向構造が存在し、この配向方向に従い細胞壁が形成される。この微小管の配向方向を決定する機構は未解明であるが、近年では、細胞にかかる伸縮刺激が微小管の配向方向の決定に関わっていることが示唆されている (Hamant et al. *Science* 2008)。しかし、配向方向が決定されるまでの分子レベルにおけるプロセスは明らかとされていない。本研究では、リソグラフィー技術により細胞様の微小なチャンバーを作成し、チャンバー内の動的な微小管ネットワークに対して伸縮刺激を印加する。伸縮刺激に対する微小管ネットワークの構造変化について解析することで、伸縮刺激に対する微小管の応答挙動を明らかにする。

※実験 (Experimental) :

植物細胞内における微小管は細胞膜表面で常に並進運動しており、微小管同士は架橋タンパクにより束化され、動的なネットワーク構造を形成している。まず、この動的なネットワーク構造を再現するため、生体分子モーター「キネシン」をエラストマーである PDMS 基板に固定した。微小管をキネシン基板に結合させ、ATP を添加することで微小管の並進運動を発現させた。さらに、我々は、架橋タンパクである MAP4 を導入し、動的な微小管ネットワークを構築した。当研究室で開発した顕微鏡上伸展装置によりエラストマー基板を 1 軸方向に伸縮することで、微小管ネットワークに対し 1 軸伸縮刺激を印加した。一方、植物細胞のサイズはおよそ数十 μ ~ 数ミリ程度であり、我々は細胞様の微小空間を作製するため、以下の手法で微細加工基板を作製した。Si 基板上にフォトリソグラフィを塗布し、レーザー描画装置によって約 500 ミクロンの直径を描画した。現像後、Cr をスパッタしてマスク

とし、ICP ドライエッチング装置によって約 70 ミクロン程度のエッチングを行った。最終的に Cr エッチングを行い、Si の円柱構造を得た。(図 1)

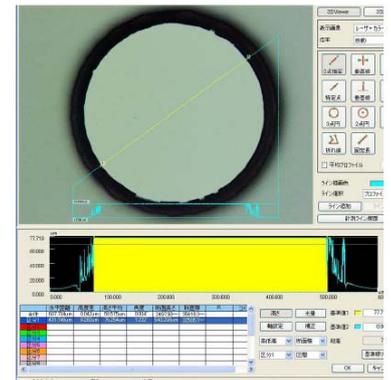


図 1 Si 金型のレーザー顕微鏡像

この基板の微細構造を PDMS 基板に転写した。この基板上で微小管を運動させる際、表面の粗さが大きいと、微小管の運動方向に影響する可能性が考えられた。そこで、作製した基板の粗さ評価も行った。

※結果と考察 (Results and Discussion) :

作製した基板の表面の平均粗さは 10 nm 程度であり、転写した基板についても同様であった。さらに、この基板上で微小管の運動発現を行ったところ、この粗さは微小管の運動に影響を与えないことも確かめられた。

※その他・特記事項 (Others) :

今後は作製した細胞様の微小チャンバー内で動的な微小管ネットワークを構築し、伸縮刺激を印加した際の微小管ネットワークの時空間的な構造変化について評価していく予定である。

共同研究者等 (Coauthor) :

北海道大学総合化学院 角五彰

論文・学会発表

(Publication/Presentation) : なし

関連特許 (Patent) : なし