

課題番号 : F-13-HK-0001
利用形態 : 機器利用
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

1. 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。

2. 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。一方、植物細胞のサイズはおよそ数十～数百 μm 程度であり、我々は細胞様の微小空間を作成するため、以下の手法で微細パターン基板を作製した。シリコン基板上に電子線描画装置 (ELS-F125) により幅数ミクロンの格子状パターンを描画した。その後、クロムをマスクとして ICP ドライエッチング (SPM-200) を用いて数ミクロン程度の深さのエッチングを行った。

このモールド基板の微細パターンを PDMS 基板に転写した。この基板上で微小管の運動発現を行った。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

キネシンを固定した PDMS 基板上で、微小管ネットワークは細胞内で見られるような協調的な運動を発現することが明らかとなった。また、微細パターン基板内においても、同様に微小管ネットワークは協調運動を発現した。しかし、微細パターン内で運動していた微小管は時間の経過とともにパターン外部へと出て行くが観察された。そこで、今後はパターン内部に微小管をとどめておくため、パターンのシーリング手法を探っていく予定である

4. その他・特記事項 (Others)

参考文献: D. Inoue, K. Sada, A. Kakugo, 第24回高分子ゲル研究討論会, 平成 25 年 1 月 16 日

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

- (1) D. Inoue, K. Sada, A. Kakugo, 第 62 回高分子討論会, 平成 25 年 9 月 12 日 (ポスター/口頭)
- (2) D. Inoue, K. Sada, A. Kakugo, Frontier Chemistry Center The 2nd International Symposium on Advanced Materials Science, 平成 25 年 10 月 18 日

6. 関連特許 (Patent)

なし