

課題番号 : F-14-HK-0047
利用形態 : 機器利用
利用課題名(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 (English) : Mechanical response of cortical microtubules in a pseudo-plant cell.
利用者名(日本語) : 井上大介
Username (English) : Daisuke Inoue
所属名(日本語) : 北海道大学大学院総合化学院物質化学研究室
Affiliation (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、微小管の力学的性質が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、様々な形状を有する細胞様の微小なチャンバーを作成し、チャンバー内において動的な微小管ネットワークを構築する。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、空間的な制約効果が微小管の配向に及ぼす影響について評価し、その配向メカニズムを微小管の力学的性質に着目して明らかにする。

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」または「ダイニン」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、微小管架橋タンパクを導入し、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 程度である。我々はリソグラフィ技術により細胞様の微小パターンをシリコン基板上に作成し、これをモールドとして用い、コロジオン膜(ニトロセルロースとエタノール、エーテルの混合溶液)に転写し、この基板上に微小管ネットワークを構築した。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

キネシンまたはダイニンを固定した 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。しかしダイニンを用いた場合にはキネシンに比べ、運動していない微小管の数が数%程度多いことが観察された。今後、ダイニン固定基板上における微小管の運動活性を高めるため、基板へのダイニンの固定方法およびバッファー組成について検討していく。

また、微細パターン基板内においても、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ことが観察された。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、オイルなどを用いることでパターン上部のシーリングを試みる。

4. その他・特記事項 (Others)

なし

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation)

- (1) D. Inoue, K. Sada, A. Kakugo, 第 52 回日本生物物理学会, 平成 26 年 9 月 25 日
- (2) M. S. Islam, D. Inoue, A. M. R. Kabir, K. Sada, A. Kakugo, The 15th Ries-Hokudai International Symposium, 平成 26 年 12 月 16 日

6. 関連特許 (Patent)

なし