

課題番号 : F-15-HK-0081
利用形態 : 技術補助
利用課題名(日本語) : 微小管の動的自己組織化における空間的制約効果の影響
Program Title (English) : Effect of Confined Spaces on Active Self-Organization of Microtubules
利用者名(日本語) : 井上 大介¹⁾、Md. Sirajul Islam²⁾、Arif MD. Rashedul KABIR¹⁾
Username (English) : Daisuke Inoue¹⁾、Md. Sirajul Islam²⁾、Arif MD. Rashedul KABIR¹⁾
所属名(日本語) : 1)北海道大学大学院理学研究院, 2)北海道大学大学院総合化学学院
Affiliation (English) : 1)Faculty of Science, 2) Graduate School of Chemical Sciences 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。現在、この微小管の配向方向を決定する機構はいくつか仮説が立てられているが、その多くは実験的に実証されていない。その仮説の一つとして、細胞の空間的な制約効果が微小管の配向方向の決定に関わることが示唆されている。例えば、朽名らはコンピューターシミュレーションを用いて、細胞を模倣した長方形の空間内で微小管を自走・束化させ、微小管が空間形状に応じて配向構造を形成することを報告している(朽名夏暦 他 (2012) 遺伝: 生物の科学 66: 34-39)。本研究では微細加工技術を用いて作製した細胞様空間内で動的な微小管ネットワークを構築し、微小管配列への細胞様空間の形状の影響を解明する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

- ・両面マスクアライナ MA-6 (ズース・マイクロテック)
- ・EB 加熱・抵抗加熱蒸着装置 EBX-8C(アルバック)
- ・反応性イオンエッチング装置 RIE-10NRV (サムコ)

【実験方法】

<実施機関で行った作業> 細胞様の微小空間を作製するため、ガラス基板に疎水性被覆剤としてパリレンを抵抗加熱蒸着装置を用いて蒸着し、その後、パリレン上にフォトレジストをコートした。次に、東京大学のナノテックプラットフォームに技術代行を依頼して作製したフォトマスクを用い、基板表面のパターニングを行った。さらに、イオンエッチングによりフォトレジスト(S1818; 本研究経費で購入)およびパリレンを部分的に除去した。本操作によりパリレンとガラス部位が露出したパターニング表面を得た。

<自研究室で行った作業> 作成した基板表面に水溶サンプルを添加し、脂質とオイルの混合液を添加することで

パリレンとガラス基板の親疎水性の違いを利用し、細胞様の微小空間を得た。本研究では、微小な細胞様空間のサイズ・形状が微小管の配列に与える影響を解明することを目的としているため、円形や正方形、三角形などの異なる形状を有するパターンを作成し、この微小空間内で微小管の運動発現を行った。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

予定したデザイン通りに基板表面に微小なパターンを作製できた。その解像度は、正確には測定していないが、本研究を遂行する上で十分なものであった。今回、動的な微小管の配列挙動を観察するため、生体分子モーターであるキネシンを基板表面に固定し、その上で微小管の運動発現を試みたところ、異なる形状の微小空間内において、それぞれの形状を反映して微小管が異なる配列を示すことが見出された。今後は微小管をより高密度にすることで、微小管同士の束化を誘発し、微小管集団の配列が異なる形状、サイズの微小空間内で、どのように時空間的に発展していくのかに着目する。

4. その他・特記事項(Others)

ナノテクノロジー・プラットフォーム東京大学微細加工拠点、三田吉郎准教授(技術代行)、北海道大学大学院情報科学研究科、繁富香織准教授、同大学ナノテクノロジー連携研究推進室、Agus Subagyo 博士(技術補助)に謝辞を申し上げます。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

1. Islam, M. S. *et al.*, Japan-Taiwan Bilateral Polymer Symposium, 2015/09/03, (ポスター発表)
2. Islam, M. S. *et al.*, 第53回日本生物物理学会年会, 2015/09/15 (ポスター発表)
3. Islam, M. S. *et al.*, 第50回高分子学会北海道支部会 2016/01/21, (ポスター発表)

6. 関連特許(Patent)

なし