

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成19年度採択分

平成22年 4月26日現在

研究課題名（和文） **生体情報伝達連鎖機構の単分子力学解析と計算機モデリング**
研究課題名（英文） **Single Molecule Mechanics and Computer Modeling of Cascading System of Biological Information Transfer**
研究代表者
氏名（ふりがなをローマ字で記入） **猪飼 篤 (IKAI Atsushi)**
所属研究機関・部局・職 **東京工業大学・イノベーション推進体・特任教授**



推薦の観点：細胞に力学的強度と運動性を与える細胞骨格について分子ナノ力学手法による測定と材料・構造力学的解析を行い、細胞生物学と細胞力学の融合を図る。推薦母体である、学術創成研究「ナノプローブテクノロジー第167委員会」の設立主旨に沿った内容である。

研究の概要：アクチンストレスファイバーを主成分とする細胞骨格ネットワークに直接的、間接的な外力を印加してナノテクノロジーの変形を可視化・定量化する。また、膜タンパク質から細胞骨格に至るネットワーク系を構成するタンパク質間相互作用力を測定し、理論モデルの構築を行う。

研究分野：生体ナノ力学

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学、ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：原子間力顕微鏡、細胞骨格、ネットワーク、分子間相互作用力、ストレスファイバー、アクチン、

1. 研究開始当初の背景

個々の原子・分子を可視化し、直接的力学操作を行うために開発された方法から、我々は原子間力顕微鏡（AFM）を用いる力学操作方法を中心にタンパク質や細胞の力学特性を測定する方法を開発してきた。その応用課題として、細胞の力学的性質の維持を役割としている細胞骨格への力学的アプローチを提案したところ、「ナノプローブテクノロジー第167委員会」の推薦を受けて本研究課題を申請した。

2. 研究の目的

AFMを中心として発展しつつある分子ナノ力学手法を細胞生物学上の問題に適用し、新しい視点を持つ生体ナノ力学分野の創成に寄与することを目的とする。具体的目的として以下の3点を挙げる。

1) アクチンを主成分とする細胞骨格系の繊維構造を可視化し、選択した1本の繊維に直接的な外力印加した際の変形から繊維の力学

特性を得る。また、細胞内ネットワーク全体へ波及する変形を定量化する。

2) 膜タンパク質からアクチン細胞骨格への連結に関与するタンパク質間の相互作用力を測定する。

3) 以上の実験結果をもとに細胞骨格の力学モデルを構築し、細胞機能への力学効果を解明する。

3. 研究の方法

1. 膜タンパク質から細胞骨格への情報伝達にかかわるタンパク質自身およびタンパク質間相互作用の力学特性をAFMを用いて測定する。

2. 測定対象を引き抜く、すくい取るなど新しい機能を持つAFM用探針を作成し、新規な細胞力学測定を行い、新しい知見を得る。

3. 細胞外から細胞内への情報伝達を行う膜タンパク質とリガンドの相互作用について分子ナノ力学的な測定と解析を行う。

4. 細胞骨格ナノテクノロジーについての力学モデルを構成し、外力に対する応答がどのような機能で測定に現れるかを予測する。

4. これまでの成果

1. 研究対象としているタンパク質のほとんどが α ヘリックス構造を持つことに注目し、従来実験情報の少ない α ヘリックス構造自体の力学特性について実験的、理論的解析を行った(図1)。

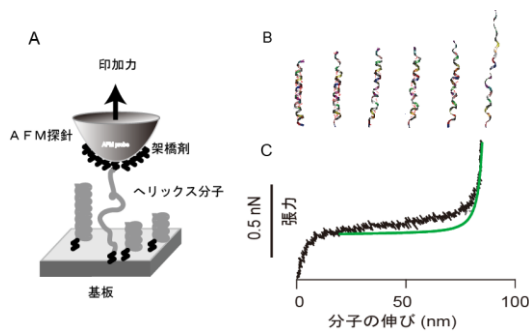


図1. A) α ヘリックス分子の延伸実験概念図。B) 計算機シミュレーションによる分子の延伸。C) 実際に得られた延伸曲線(黒)。緑線はヘリックス構造のないランダムコイル鎖。

2) 膜タンパク質とリガンドの相互作用力の解析を、トランスフェリン受容体、グリコフォリンA、フェロモン受容体について行った。

3) 生細胞内に挿入した加工 AFM 探針を使ってアクチン繊維を直接引き出す実験を行い、繊維の力学特性を測定した。

4) 同じく細胞内に挿入した AFM 探針によってアクチン繊維を横方向に押し、変形に伴って生じる細胞内ネットワーク系への変形波及効果など新知見を得た(図2)。

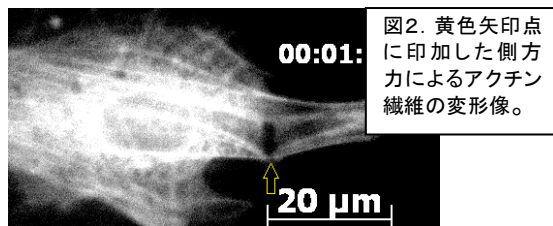


図2. 黄色矢印点
に印加した側方
力によるアクチン
繊維の変形像。

5) 付着生細胞の背側に載せたガラス小球の細胞内側に生成する接着斑に集まる分子の解析および、ガラス球を介して与えられる外力に対する細胞応答から外力への細胞適応などの新しい知見を得た。

6) 膜タンパク質から細胞骨格へのネットワーク連携を形成するインテグリン、タリン、ビンキュリン、アクチン等のタンパク質を作製し、分子間相互作用力測定を開始した。

7) 細胞骨格に関する実験結果をもとに、ネットワークモデルを作成し、その局所に印加した張力によるネットワーク変形に関する

コンピュータ解析を行った。

5. 今後の計画

1. 高度な機能を持つ加工探針を製作し、細胞内構造への外力印加、試料の一部採取、他の構造体と相互作用操作を行うことにより細胞力学のより詳細な解析をおこなう。

2. ネットワーク関連タンパク質間相互作用力のナノ力学的評価を進め、ネットワークの力学的成り立ちをモデル化する。

3. 人工的に作製した接着斑に集まるタンパク質分子の種別解析と外力印加による結合パターンの変化を解析する。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)
(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

(1) Atsushi Ikai, Tensile Mechanics of α -helical coil springs, Adv. Polymer Sci., (印刷中) 2010.

(2) Afrin R., Zohora US, Uehara H, Watanabe Nakayama T, Ikai A., Atomic force microscopy for cellular level manipulation: imaging intracellular structures and DNA delivery through a membrane hole., J Mol Recognit. 22, 363-372 (2009).

(3) Yan C, Yersin A, Afrin R., Sekiguchi H., Ikai A., Single molecular dynamic interactions between glycoprotein A and lectin as probed by atomic force microscopy. Biophys Chem. 144, 72-77 (2009).

(4) Afrin R., Takahashi I, Shiga K, Ikai A., Tensile mechanics of alanine-based helical polypeptide: force spectroscopy versus computer simulations., Biophys J. 96, 1105-1114, (2009).

(5) Kikuo Kishimoto, Kentaro Kozuki, Tadaharu Adachi, Measurement of Interfacial Strength of Thin Polymer Coating by NanoIndentation Method, Micromaterials and NanoMaterials, 9, 26-29, (2009).

(6) Yersin A, Osada T., Ikai A., Exploring transferrin receptor interactions at the single-molecule level. Biophys J. 94, 230-240 (2008).

ホームページ等

<http://www.ikai.bio.titech.ac.jp/>