

集光レーザービームによる細胞骨格ネットワーク形成の時空間制御

Spatiotemporal Control of Formation of Microtubule Networks by Focused Laser Beam

埼玉大¹, 交通大応化², 奈良先端大物質³, [○]吉川 洋史¹, 竹重 拓也¹, 桐生 文佳^{1,2}, 高野 慶¹,

沢田 夏海¹, Chi-Shiun Wu^{1,2}, Yang-Hshin Shih², 中林 誠一郎¹, 杉山 輝樹^{2,3}, 川村 隆三¹

Dept. Chem., Saitama Univ.¹, Dept. Appl., NCTU², Div. Mat. Sci., NAIST³, [○]Hiroshi Y. Yoshikawa¹,

Takuya Takeshige¹, Fumika Kiryu^{1,2}, Kei Takano¹, Natsumi Sawada¹, Chi-Shiun Wu^{1,2},

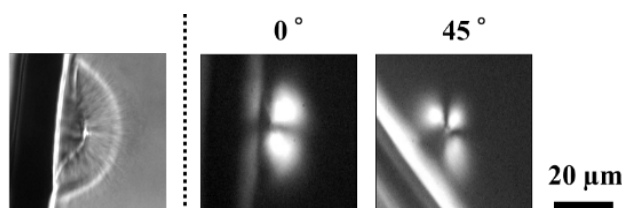
Yang-Hshin Shih², Seichiro Nakabayashi¹, Teruki Sugiyama^{2,3}, Ryuzo Kawamura¹

E-mail: hiroshi@mail.saitama-u.ac.jp

<序論>細胞骨格は、チューブリンなどのタンパク質が細胞内で形成する繊維状構造である。細胞内には多様な骨格構造が存在し、動的な細胞機能（運動・増殖など）発現の源となっており、細胞骨格の構造と細胞機能との相関解明は生命科学における重要課題となっている。近年では、このような動的な細胞骨格ネットワークを生体外で再構成することで、細胞骨格の機能構造相関の解明やマイクロマシンに応用する試みがある[1, 2]。しかし、これまでの再構成手法は、タンパク質の自発的な凝集プロセスに依存しており、高次に配向制御された細胞骨格構造を時空間制御して再構成することは未だ困難である。そこで本研究では、集光レーザービームが誘起する物理的な効果（光圧／熱など）を駆使して、細胞骨格の一種である微小管形成の時空間制御を試みた。

<実験>微小管を構成するタンパク質であるチューブリンを豚脳から精製し、チューブリンを含む PIPES 緩衝溶液を調製した。この溶液を、ガラス基板とシリコンゴムからなるチャンバーに滴下し、上からカバーガラスで蓋をした。光源として近赤外連続発振 Nd³⁺:YAG レーザー（波長：1064 nm）を用いて、60 倍の対物レンズ（NA = 0.9）を通して試料に集光照射した。集光点近傍でのチューブリンの凝集挙動やその特性は、透過像、クロスニコル像、蛍光像により評価した。

<結果>Fig.1 に集光レーザービームを気液界面に照射して形成した凝集体の代表例を示す。本凝集体をクロスニコル条件下で観察したところ、試料角度に応じて明暗が変化し、複屈折性を有することがわかった。これは、形成した凝集体内に、異方的に配向した繊維状構造が存在していることを示唆している。そこで、形成した凝集体が微小管としての構造・機能を有するかを検証するため、モータータンパク質（キネシン）と化学エネルギー（アデノシン三リン酸）を添加した試料溶液で同様の実験を行った。その結果、レーザー照射を止めた後に、繊維状構造が集光点外に向かって運動する様子が観察された。以上の結果により、集光レーザービームにより、動的な細胞骨格の形成を時空間制御できることが示された。



[1] R. Kawamura and H. Y. Yoshikawa, *et al.*, *ACS*

Biomaterials Sci Eng., **2**, 2333 (2016). [2] H. Hess *et al.*,

Chemical Society Reviews **46**, 5570 (2017).

Figure 1. Transmission (left) and crossed Nicols (middle and right) images of tubulin aggregates formed by laser irradiation.