

2021年12月8日

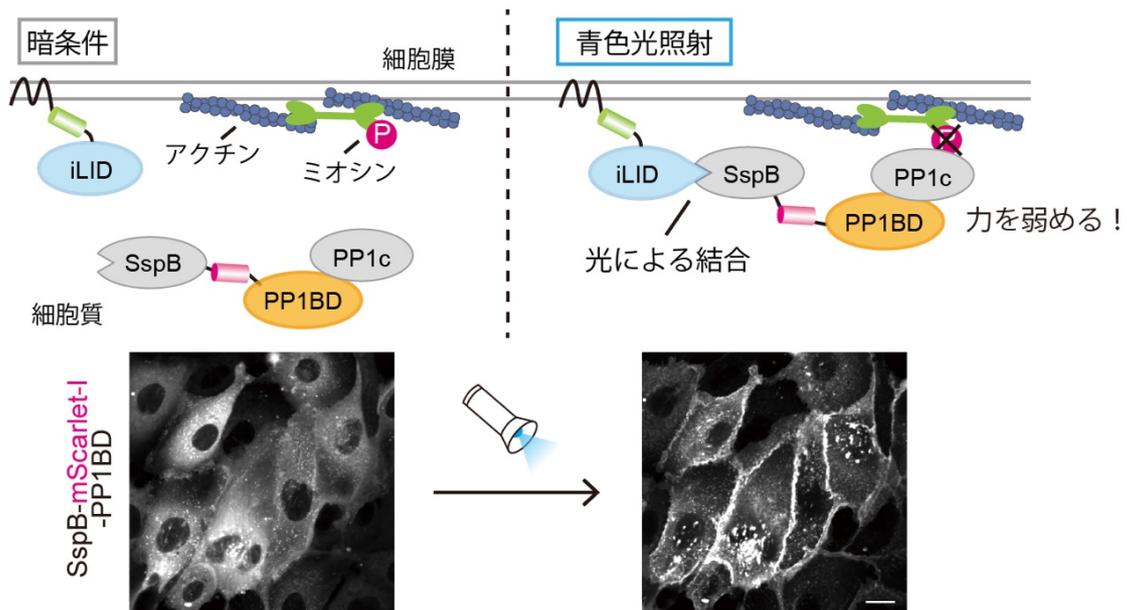
自然科学研究機構 基礎生物学研究所
自然科学研究機構 生命創成探究センター

光で狙いを定めて細胞の生み出す力を弱める技術を開発

私たちの身体の中では、アクチンやミオシンと呼ばれる細胞骨格タンパク質が力を出すことで、細胞や組織の柔軟な変形を可能にしています。細胞が生み出す力の役割を調べるために、これまでは関連する遺伝子を破壊したり薬剤処理により細胞や組織全体の力を弱めて、その効果を調べていました。しかし、こうした手法は細胞や組織全体に作用してしまうことから、細胞内の特定の部分のみで力を操作することは困難でした。

今回、基礎生物学研究所／生命創成探究センターの山本啓大学院生（総合研究大学院大学）、近藤洋平助教、青木一洋教授らは、同所属の高田慎治教授、基礎生物学研究所の上野直人教授、東京大学の澤井哲教授のグループとの共同研究により、近年発展が著しい光遺伝学の技術を応用することで、光照射により細胞の出す力を弱める新たなツール（OptoMYPT）を開発しました。さらに、OptoMYPTを用いてカエル胚の細胞間ではたらく力や、培養細胞における細胞質分裂中の力を操作できることを示しました。本研究のような光を用いた力の操作技術を駆使することで、将来的にはアクチン細胞骨格の関与する様々な発生的・細胞生物学的現象の理解や、人工臓器の自在なデザインなど、基礎研究から臨床応用まで多面的に貢献することが期待されます。

本成果は、国際学術誌「Nature Communications」に2021年12月8日付けでオンライン掲載されます。



図：OptoMYPTの概要

【研究の背景】

受精卵から私たちの身体ができあがるまでの過程では、個々の細胞が柔軟に変形していきます。細胞が自ら変形するためには、細胞自身が「力」を出すことが重要です。私たちが筋肉を使って力を出すのと同じように、個々の細胞内でも力を生み出すタンパク質が存在します。中でも、アクチンとミオシンは、細胞遊走や細胞分裂、上皮組織の折れ曲がりなど、様々な運動の原動力を担う細胞骨格タンパク質として知られています。力と変形の間関係を調べるため、これまでの研究ではアクチンやミオシンに関連する遺伝子を破壊したり、阻害剤を添加して力を弱めるという方法が取られてきました。しかし、これらの方法は細胞や組織全体に作用してしまうことから、細胞内の特定の部分のみで力を操作することは未だに困難です。こうした時間的・空間的分解能の低さは、細胞内のスケールで生命現象を理解する上での大きな障壁となっていました。

こうした障壁を克服するため、研究グループは「光遺伝学」と呼ばれる手法に着目しました。光遺伝学とは、光によって活性化されるタンパク質を利用して細胞の機能进行操作する技術のことを指します。光を用いることで、「任意の時間・場所で」遺伝子発現やタンパク質の活性を操作することができるという利点があります。そこで本研究では、光により細胞骨格の出す力を弱めるような新たなツールの開発を目指しました。

【研究の成果】

研究グループは、光により細胞の出す力を弱めるため、力を出すモータータンパク質であるミオシンに着目しました。特に着目したのは、ミオシンの不活性化に必要な MYPT1 というタンパク質です。MYPT1 は PP1c という酵素をミオシンの近くに引き寄せることでミオシンを不活性化します。そこで研究グループは、MYPT1 の PP1c 結合ドメイン (PP1BD) を利用して、元々細胞内にある PP1c の局在を光で操作しようと考えました。光による局在操作を行うために導入したのが、iLID と呼ばれるツールです。このツールは、青色光を照射すると iLID と SspB と呼ばれるタンパク質が結合するというものです。そこで、iLID を予め細胞膜に局在させておき、青色光照射により SspB に連結された PP1BD と元々細胞内にある PP1c を膜移行させることで、細胞膜近くのみオシンを不活性化できると考えました。研究グループはこのツールを OptoMYPT と名付けました (図 1)。

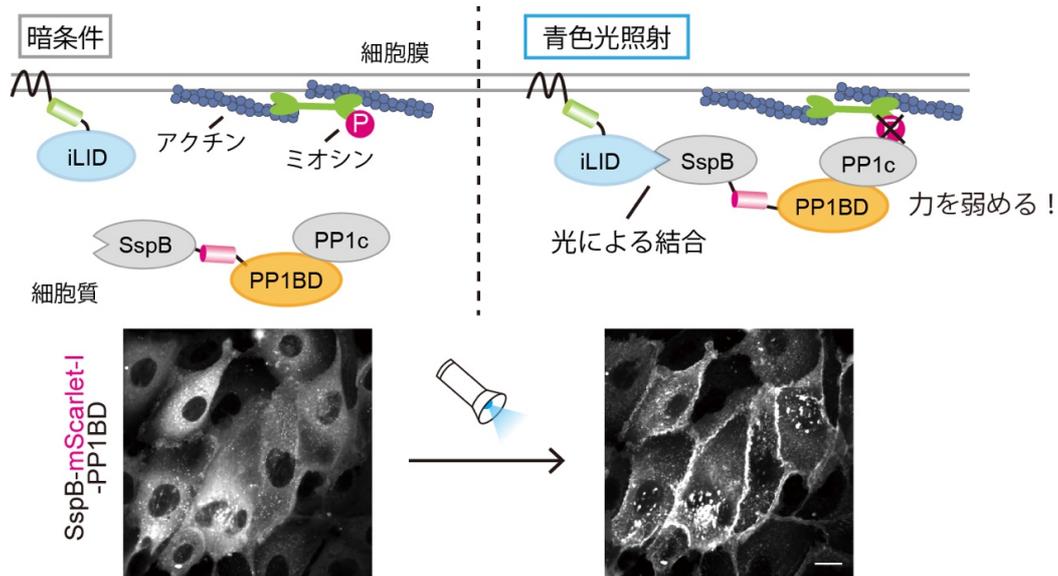


図1：OptoMYPTの概要

OptoMYPTの概念図（図上）と、MDCK細胞における光照射前後でのPP1BDの膜移行の様子（図下）。青色光照射により、PP1BDと内在性のPP1cが細胞膜移行し、細胞膜上のミオシンの活性を抑制することで、細胞の力を弱める。

次に研究グループは、発生過程のカエル胚にOptoMYPTを導入し、青色光照射により上皮細胞が出す力を弱められることを示しました。一般に上皮細胞では、隣り合う細胞同士が力を出すことで、真っ直ぐな細胞辺を保っています。一方、力の弱まった細胞では、辺がたるんだり伸びることが知られています。OptoMYPTをカエル胚の上皮細胞へ導入したところ、期待通り、光照射後に細胞辺がたるんでいくことが分かりました（図2）。カエル胚を用いた一連の実験や培養細胞の一部に青色光を照射する実験により、OptoMYPTは設計通り細胞の生み出す力を弱められることを確認することができました。

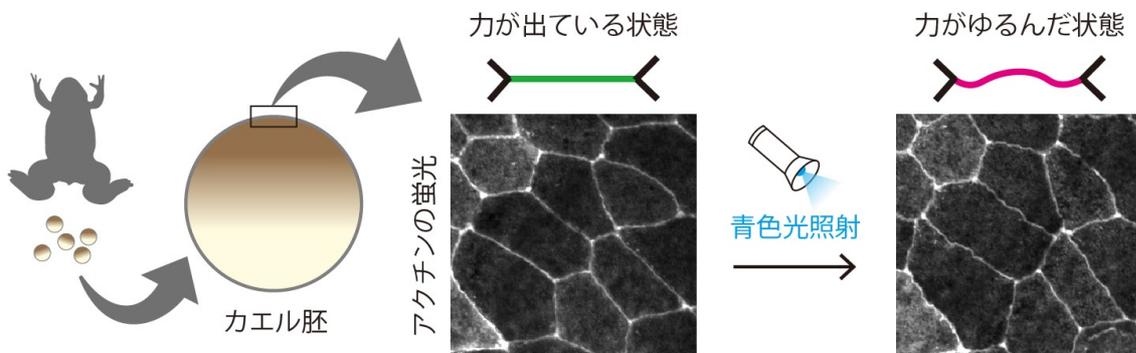


図2：OptoMYPTによるカエル胚の細胞辺のたるみ

原腸胚期の上皮細胞における光照射前後でのアクチンの様子。光照射により次第に細胞辺がたるんでいく様子が観察された。

動画1：<https://www.nibb.ac.jp/pressroom/news/uploads/20211208/movie1.gif>
 カエル胚の上皮細胞における光照射前後でのPP1BDの膜移行の様子（動画左）と、同時に発現させたアクチンプローブの様子（動画右）。青色光照射によりPP1BDが細胞膜移行したのちに、徐々に細胞辺がたるんでいく様子が見てとれる。

最後に研究グループは、OptoMYPTを細胞質分裂中の力の操作に応用しました。細胞質分裂とは、細胞を2つにくびれさせていく、あらゆる細胞にとって不可欠な機能のひとつです。私たちヒトを含む多くの動物細胞では、分裂期になるとあたかもゴム風船のように丸くなり、その後くびれていくことが知られています。均等な分裂を実現するためには、細胞全体の形の維持、および赤道面でのくびれの形成に必要な2種類の力を適切に調節する必要があります。しかし先述したとおり、細胞内の一部のみで力を操作することは未だに困難です。そのため、細胞質分裂中にどこで、どれくらいの力が発生しているのかという基礎的な問題でさえ明らかではありませんでした。

そこで研究グループは、OptoMYPTを用いて分裂中の両極へ光照射し、細胞表層の力のみを弱める実験を行いました（図3・中段）。その結果、赤道面のくびれが加速することが分かりました。これは、細胞表層で生み出される力が赤道面をくびれさせる力に反発していることを意味しています。次に、片方の極へ光照射し、片方の娘細胞の表層で生じる力のみを弱める実験を行いました（図3・下段）。その結果、興味深いことに、2つの娘細胞間で細胞質が交互に流れ込む振動現象が起こりました。このように、OptoMYPTを用いて局所的な力の摂動を与えることで、細胞表層で生じる力の適切な強さや対称性が細胞質分裂の正常な進行を支えていることを示すことができました。

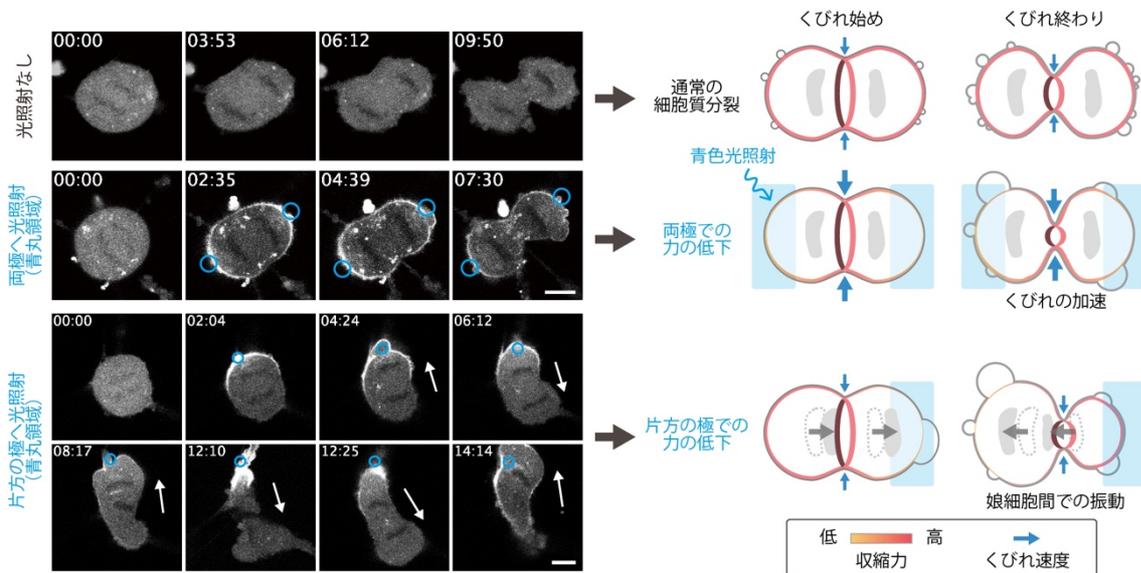


図3：細胞質分裂へのOptoMYPTの応用

細胞質分裂中のMDCK細胞における局所的な光照射実験（図左）と、結果の模式図（図右）。両極への光照射によりくびれが加速した（図中段）。また、片方の極への光照射により娘細胞の間で形の振動が観察された（図下段）。

動画2：<https://www.nibb.ac.jp/pressroom/news/uploads/20211208/movie2.gif>
細胞質分裂中のMDCK細胞における片方の極への光照射実験。青色光照射によりPP1BDが細胞膜移行したのちに、娘細胞の間で形の振動が始まる様子が見てとれる。

【本研究の課題と今後の展望】

本研究では、細胞の出す力を弱める光遺伝学ツール、OptoMYPTを開発しました。さらに、OptoMYPTを用いて細胞質分裂中に生み出される力の分布の一端を明らかにしました。一方で、OptoMYPTを用いても力を弱めることのできない細胞骨格の構造があることも分かっています。そこで今後は、より効果的な力の操作を目指したツールの改善に取り組む予定です。本研究のような光を用いた力の操作技術を駆使することで、将来的にはアクチン細胞骨格の関与する様々な発生学的・細胞生物学的現象の理解や、人工臓器の自在なデザインなど、基礎研究から臨床応用まで多面的に貢献することが期待されます。

【発表雑誌】

雑誌名：Nature Communications

掲載日：2021年12月8日

論文タイトル：Optogenetic relaxation of actomyosin contractility uncovers mechanistic roles of cortical tension during cytokinesis.

（光遺伝学的なアクトミオシン収縮力の弛緩は、細胞質分裂における皮質張力の力学的役割を明らかにする。）

著者：Kei Yamamoto, Haruko Miura, Motohiko Ishida, Yusuke Mii, Noriyuki Kinoshita, Shinji Takada, Naoto Ueno, Satoshi Sawai, Yohei Kondo, and Kazuhiro Aoki

DOI: 10.1038/s41467-021-27458-3

【報道解禁日時】

2021年12月8日 日本時間 午後7時

新聞は9日朝刊から情報をご利用いただけます。

【研究グループ】

本研究は、基礎生物学研究所／生命創成探究センターの山本啓大学院生（総合研究大学院大学）、近藤洋平助教、青木一洋教授らが中心となって、同所属の高田慎治教授ら、基礎生物学研究所の上野直人教授ら、東京大学大学院総合文化研究科の澤井哲教授らとの共同研究として行われました。

【研究サポート】

本研究は、下記の補助金による支援を受けて実施されました。

日本学術振興会科研費・特別研究員奨励費（19J20538：山本啓）

日本学術振興会科研費・若手研究（19K16207：近藤洋平）

日本学術振興会科研費・新学術領域研究「細胞システムの自律周期とその変調が駆動する植

情報解禁日時（テレビ・ラジオ・WEB等）：2021年12月8日午後7時
新聞は9日朝刊から情報をご利用いただけます。
配信先：文部科学記者会・科学記者会・岡崎市政記者会

物の発生」(19H05675：近藤洋平)

日本学術振興会科研費・基盤研究(B)(18H02444：青木一洋)

日本学術振興会科研費・新学術領域研究「情報物理学でひもとく生命の秩序と設計原理」
(19H05798：青木一洋)

科学技術振興機構 CREST (JPMJCR1654：青木一洋)

ExCELLS 課題研究 (18-204, 19-205, 20-204：澤井哲、青木一洋)

【本研究に関するお問い合わせ先】

基礎生物学研究所 定量生物学研究部門

生命創成探究センター 定量生物学研究グループ

教授 青木 一洋 (アオキ カズヒロ)

TEL：0564-59-5235

E-mail：k-aoki@nibb.ac.jp

【報道担当】

基礎生物学研究所 広報室

TEL：0564-55-7628

FAX：0564-55-7597

E-mail：press@nibb.ac.jp

自然科学研究機構 生命創成探究センター 研究連携推進室

TEL：0564-59-5201

FAX：0564-59-5202

E-mail：press@excells.orion.ac.jp