

令和 6 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		アクチン束化タンパク質の非侵襲操作による浸潤性がん細胞の運動機能の解明		
新規・継続の別		新規・継続		
研究代表者	所属	国立大学法人 長岡技術科学大学 物質生物系	40 歳 以下○	35 歳 以下○
	職名・氏名	准教授・藤原郁子		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	長岡技術科学大学・生物機能工学課程		
	職名・氏名	学部 4 年・田路卓巳		○
	所属			
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	教授・茂木文夫		
概要 (100～150 字程度)		細胞骨格タンパク質「アクチン線維」の束化因子に光応答ドメインを付与したタンパク質を作製・最適化し、アクチン線維の束化を光で制御する技術を開発、また、細胞運動とがん化との相関の理解を目指した。本年は①光応答性束化因子の生化学的特性を定量、②束化因子の細胞内局在と仮足形成への関与を共焦点顕微鏡によって確認し、束化の解析基盤の構築を試みた。光応答性タンパク質の細胞導入には課題が残ったが、束化因子の重要性が再確認でき、今後の細胞内光操作に向けた足掛かりを得た。		
研究目的 (300 字程度)		細胞の前進面となる膜には束化されたアクチン線維が存在する。束化の発現量増加はがん化と強く相関し、がんマーカーとしても注目される一方、細胞運動中におけるアクチン線維束の形成と力学応答との関係は未解明である。本研究は、非侵襲的な操作が可能な光応答性束化因子を開発し、細胞内でアクチン線維の束化を人為的かつ繰り返し誘導することで細胞運動に与える影響を明らかにすることを目的とした。		
研究内容・成果 (1000 字程度・Web 会議の回数も記載)		<p>① 光応答性束化因子の生化学的評価と最適化を行い、アクチン線維束化能を青色光の有無で定量した。</p> <p>光応答性束化因子を作製し、束化能を遠心沈殿法と SDS-PAGE 解析により評価した。アクチン線維は束化すると質量が増加して低速遠心で沈殿する性質を利用し、上清と沈殿に分離後、CBB 染色により束化能を濃度依存적かつ光依存的に定量した。また、光応答性向上を期待して因子の構造を変えてみたものの、束化能が低下した。今後は変化させる部位を調整し、さらなる最適化を進</p>		

	<p>める。</p> <p>② 細胞内束化因子機能の予備検討として、因子の siRNA 導入および蛍光タンパク質を融合させた因子を導入した細胞の観察を行った。</p> <p>因子を導入した細胞については、茂木氏(北大)の共焦点顕微鏡を用いた経時観察により、細胞全体に蛍光が広がるとともに、太く明るい束が形成される様子を確認できた。この束は、GFP-アクチンや Lifeact のみを導入した細胞では見られない特徴であり、束化因子の機能を裏付ける結果が得られた。さらに、束化の形成と崩壊を捉えたタイムラプス像も取得し、アクチン線維束の動態解析に資する有用なデータが得られた。</p> <p>一方、束化因子の siRNA を導入した実験では、束状構造の減少など明瞭な形態変化は観察されなかった。今後は、ウェスタンブロット等によって束化因子発現量の定量を行い、siRNA 導入効率の向上を図る予定である。</p> <p>なお、今回使用した細胞株では走化性が低かった。西村氏(北大)の助言を受け、今後は細胞外基質を変更して接着・移動性を高める条件を探索する。これにより、光応答性因子の細胞導入と光操作によるアクチン線維束化制御を試み、細胞運動における束化の役割と細胞骨格変化の力学的メカニズム解明を目指す。</p> <p>Web 会議回数：6 回 メール相談回数：85 通</p>
成果	<p>【学会発表】</p> <p>参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 特になし</p> <p>【論文発表】</p> <p>著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ、IF 入力のこと 特になし</p> <p>【新聞報道】</p> <p>特になし</p> <p>【学位取得者】</p> <p>学部名・学年または職名・氏名入力のこと 生物機能工学課程 B4・田路卓巳（工学士）</p>