

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」
平成 25 年度採択研究代表者

H27 年度
実績報告書

濱田 博司

大阪大学大学院生命機能研究科
教授

流れをつくり流れを感じる繊毛の力学動態の解明

§ 1. 研究実施体制

(1)「濱田」グループ

- ① 研究代表者: 濱田 博司 (大阪大学、生命機能研究科、教授)
- ② 研究項目
ノード繊毛の運動とシグナル感知の力学動態

(2)「高松」グループ

- ① 主たる共同研究者: 高松 敦子 (早稲田大学理工学術院、教授)
- ② 研究項目
流れをつくる細胞集団の運動パターン: 繊毛運動の協同性とその役割
・繊毛回転運動データの解析
・繊毛回転運動の同期理論の構築

(3)「石川」グループ

- ① 主たる共同研究者: 石川 拓司 (東北大学大学院工学研究科、教授)
- ② 研究項目
流れと変形の数値シミュレーション
計算バイオメカニクスに基づく繊毛運動解析コードを用い、駆動力の違いによる繊毛運動の変化や、周囲に誘起される流れの強さ、および繊毛の細胞膜に作用する張力を明らかにした。

(4)「篠原」グループ

- ① 主たる共同研究者: 篠原 恭介 (東京農工大学、テニュアトラック特任准教授)
- ② 研究項目
ノード繊毛の運動の力学動態

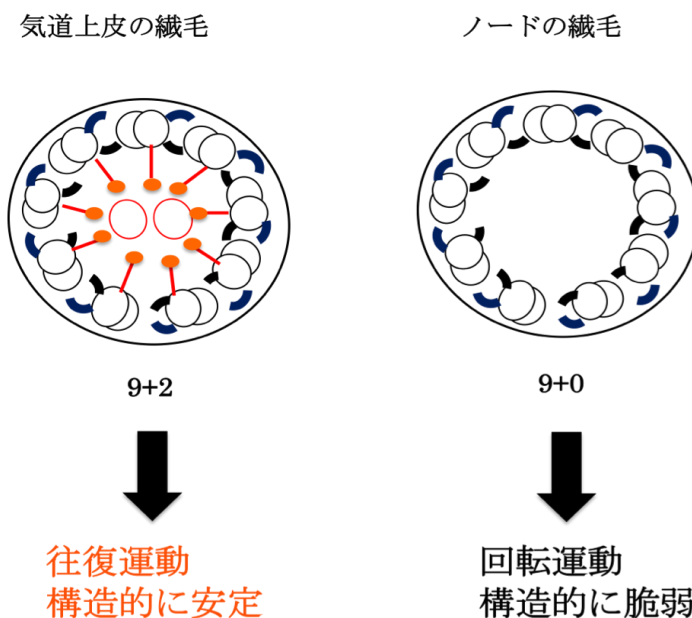
§ 2. 研究実施の概要

(1) 繊毛の運動の力学動態

篠原グループと濱田グループは、繊毛の運動パターンを決める原理の一端を明らかにした。すなわち、気管繊毛平面運動パターンをするが、ノード繊毛は回転運動をする。その違いの原因を調べた。

26年度に作製した運動装置ラジアルスポークの変異マウスでは気管繊毛の運動パターンが回転運動になることを発見した。野生型のマウスの気管繊毛は通常平面打運動を示すことから、ラジアルスポークが回転と平面打のパターンを切り替えている事が示唆された。そこで27年度はラジアルスポークの構造を詳細に明らかにする事で繊毛運動パターンを決める原理にアドレスする事にした。ラジアルスポークの詳細な形と配置を決定するためクラ

イオ電子線トモグラフィ法によって野生型マウスとラジアルスポーク変異マウスの気管繊毛の微細構造の解析を行った。ラジアルスポーク変異マウスの気管繊毛の解析から、今回ノックアウトした *Rsph4a* 遺伝子はラジアルスポークの先端で繊毛中央部にある中心対微小管と物理的に接触していると考えられるラジアルスポークヘッドと呼ばれる部位のタンパク質をコードしており、この遺伝子の欠損はヘッド全体が消失するという異常を引き起こすことが判明した[Shinohara et al *Dev. Cell* 35 236-246 (2015)]。この結果からラジアルスポークと中心対微小管の持つなんらかの異方性が本来回転パターンである繊毛運動の軌道を平面パターンへ歪めていると仮説を持つにいたった。今後は野生型マウスのラジアルスポークの構造解析を、微細構造の解像と形態やサイズの配置に依る異方性の有無の検証、に重点を置き行っていく。



(2) 流れをつくる細胞集団の運動パターン：繊毛運動の協同性とその役割

回転する繊毛が同期するしくみについて理論構築を行うために H27 年度は次の 3 つの項目について高松グループを中心に実施した。(2-1) H26 に導出した 3 繊毛系における機械モデルおよび同期理論を用いて、繊毛の形状と配置の対称性に着目した数値解析をおこなった。(2-2) 多繊毛系へと理論を発展させるため、これまで導出した 2 繊毛系の理論式の簡略化を行い、単純モデルの足し合わせとして 3 繊毛系を再現することに着手した。(2-3) 3 繊毛、多繊毛系実験データの定量データ解析のための手法を考案した。

(3) 流れを感じる繊毛の力：流れの形成と感知機構の解明

石川グループは、昨年度に開発した計算コードを用い、まず始めにダイニンモータによって駆動されるノード繊毛の運動を解析した。ダイニンモータの駆動力が時間と共に隣の微小管へと伝播していくモデルをつくり、繊毛軸糸の回転運動を再現することに成功した。しかし、ダイニン尾部と接続部との距離だけで駆動力のオン・オフが決まる説では、実際の繊毛運動を再現できないことが明らかとなった。次に、繊毛運動が誘起する流れの解析を行った。傾き角によって流れ場は大きく変化し、周期平均した流量は 30° 程度の傾き角で最大となることが分かった。続いて、水流を感知する仕組みを理解するため、複数繊毛が誘起するノード流れ中におけるベシクルの輸送解析を行ったところ、繊毛数が増加するほどベシクルが速く輸送されることが明らかとなった。もう一つの仮説である機械刺激説を検証するため、繊毛を覆う細胞膜に誘起される張力も解析した結果、水流により、センサー繊毛の膜に不均一な張力が現れることが明らかとなった。

濱田グループは、ノードの動かない繊毛が水流を感知する機構を知るために、センサー繊毛で種々のカルシウムレポーターを発現するトランスジェニックマウスを作成した：不動繊毛内の Ca^{2+} と細胞質内の Ca^{2+} を同時計測するため、センサー繊毛で人為的に Ca^{2+} を上昇させるためのモデル動物を準備した。