

## 戦略的国際共同研究プログラム (SICORP)

### 日本-シンガポール「細胞の動的計測・操作を可能にするバイオデバイスの技術基盤の開発」領域 事後評価結果

#### 1. 共同研究課題名

「細胞の自己組織化のメカニクスを可視化する新しい光学プラットフォームの開発」

#### 2. 日本－相手国研究代表者名（研究機関名・職名は研究期間終了時点）：

日本側研究代表者

大浪 修一（理化学研究所 生命機能科学研究センター・チームリーダー）

シンガポール側研究代表者

茂木 文夫（テマセク生命科学研究所・主任研究員）

#### 3. 研究実施概要

動物の受精卵（胚）は非対称的でありながら調和のとれた細胞分裂を繰り返して増殖し、生理機能と三次元的な形態を有する器官や組織を自立的に形成している（自己組織化）。この発生過程では個々の細胞の形や大きさが変化することから、細胞表面に物理学的な「力」が作用していると考えられる。

本共同研究は、生きた細胞の内部におけるタンパク質や小胞などの分子の動きと、細胞表面における歪の大きさと分布を同時に計測する顕微鏡システムを両国研究者が協力して開発することを目的として、次のような実施計画をたてた。

実施計画：日本側は、生きた細胞内にある分子や小胞の動きを、高い空間解像度と時間分解能で画像として記録する顕微鏡を開発する。シンガポール側は、細胞表面の形状に現れた歪の大きさと方向・分布を測定する牽引力顕微鏡を提供して、日本側の顕微鏡と融合する。さらに、（両国研究チームがそれぞれ独自に開発した）レーザーを用いて細胞内にある特定の分子や小胞を焼灼破壊する微細手術装置を加える。このように 2 つの顕微鏡とレーザー微細手術装置を融合した顕微鏡システムを開発する。

さらに日本側は、開発した顕微鏡システムを自己組織化現象の計測に利用して、その性能を立証する。また、この顕微鏡システムで得られた画像データを解析して、特定の細胞内分子の動きを追跡し、その運動によって生じる力の方向と大きさを計算するソフトウェアを開発する。

実施状況：日本側は、特別な形状をした開口部を有するディスクを高速回転させるスピニングディスク超解像顕微鏡法（SDSRM: Spinning Disk Super-Resolution Microscopy）に改良を加えて、本研究の測定に必要な三次元空間解像

度と測定間隔（時間分解能）、感度を得ることに成功した。また、本顕微鏡システムによって記録される時間分割画像データを定量的に解析して、細胞内分子の動きに参与している力の大きさとその方向を計算するソフトウェアも開発した（論文公表済み）。一方シンガポール側は、シンガポール国立大学の **Mechanobiology Institute** が有するナノピラーおよびエラストマー基板を利用した牽引力顕微鏡を提供した。レーザー微細手術装置については、Q スイッチ YAG レーザーを基盤としたシステムを日本側・シンガポール側のそれぞれの実績に基づいて導入した。

日本側は、顕微鏡システムの性能を実証する実験として、線虫の胚発生における自己組織化現象、すなわち前後軸の決定や線維芽細胞の対掌性の確立を対象として実験を実施した。また、細胞骨格と細胞膜に働く張力を検出するため、シンガポール側の協力を得てプロトコール情報を交換し、線虫のゲノム編集技術に改良を加えることにより、胚発生に関連するタンパク質に対する緑色蛍光タンパク質（GFP）蛍光標識株を短期間でシステムティックに作出した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 研究の達成状況、得られた研究成果及び共同研究による相乗効果 （論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況を含む）

日本側が開発した **SDSRM** そのものを用いた研究成果は、2 編の本共同研究関連論文として発表している。また両国が保有する関連技術情報を集約して **SDSRM** に牽引力顕微鏡およびレーザー微細手術装置を装着した第 2 世代 **SDSRM** 顕微鏡システムを作製し、従来の光学顕微鏡の約 2 倍の空間解像度（～100nm）と高速解析（時間分解能 10 ms）を実現した。力学計測のためのキャリブレーションと原理実証実験をおこなったところ、当初は十分な感度が得られなかったため、当該システムにマイクロレンズアレイを追加して感度を 5 倍以上改善し、微小な力の測定を可能にする第 2 世代 **SDSRM** 顕微鏡システムを完成した。

日本側は、シンガポール側の協力を得てゲノム編集技術に改良を加え、線虫の非対称分裂に参与する 6 遺伝子とモーター蛋白質 1 遺伝子を含む、胚発生に必要とされる 91 遺伝子に対する蛍光標識株を短期間で樹立した。また第 2 世代 **SDSRM** 顕微鏡システムを利用して、これら線虫株のライブセルイメージング画像を取得することに成功した。

日本側は、これまでに細胞における非対称性形成に関する研究をおこなって、数多くの形成モデルを提唱している。これらのモデルを検証するために、本共同研究で開発した顕微鏡システムと線虫のバイオセンサー株を利用することになっていたが、研究期間内にモデル検証実験を実施したものの、論文投稿中や準備中の段階で共同研究期間が終了した。これらの研究成果はいずれも本国際共同研究プログラムにおける両国研究者による相乗効果から生まれたものである。近い将来にこれらの研究成果が発表されることを期待したい。

本共同研究期間内に、研究成果として両国研究者の共著論文 1 編、日本側著者単独の学術論文 21 編、国際会議での口頭発表 1 件が公表された。また、本研究課題に関連して両国研究者が主催したワークショップやシンポジウムは計 8 回開催された。

本研究期間中、両国研究チームは頻繁にテレビ会議を利用して実験の打合せをおこなった。研究プロジェクトの最終年度である平成 30 年 9 月には、日本生物物理学会年会の中でシンポジウム「細胞の形態形成を制御する自己組織化メカニクス」を開催した。このシンポジウムには、本研究課題の両国研究代表者、主たる共同研究者の他に、今後の発展に向けての連携が期待される日本・シンガポール各 1 名の研究者を招聘し、今後のプロジェクト発展の可能性について意見交換をおこなった。

また、日本側に設置された顕微鏡システムを利用するために、シンガポール側から計 7 人の研究者が 6 回来日し、日本側の若手研究者と交流した。一方、日本側の若手研究者がシンガポール側を訪問する機会が無かった点は残念である。この交流経験を今後の研究活動に生かしてほしい。

#### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、わが国の科学技術力強化への貢献

本研究課題で日本側が開発した **SDSRM** 顕微鏡は、世界最高の空間解像度および時間分解能を実現した。また、第2世代 **SDSRM** 顕微鏡システムを利用して細胞内分子の動きを追跡・測定・破壊するためには、対象とするタンパク質を蛍光標識したバイオマーカーを必要とする。日本側は、線虫ゲノム編集技術を改良して、多数の線虫胚の蛍光標識株をシステムティックに短期間で作製した。顕微鏡システムと本標識株作製技術を併せて利用することができると、(線虫を用いた) 基礎生物学研究は格段に進歩することが期待される。これまで生物現象において作用している「力」の測定は、関係するタンパク質を取り出して、牽引力顕微鏡下で観察するしか方法がなかった。本研究課題で開発した顕微鏡システムとバイオマーカーを用いることによって、生きた細胞内における分子や小胞の運動および細胞の形に作用している力を測定することが可能になったので、分子生物学の新たな研究技術として発展、寄与することが期待される。

第2世代 **SDSRM** 顕微鏡システムが普及すると、生物学のみならず医学・薬学においても疾病の原因究明・治療法・新薬のスクリーニングなどの分野で、通常の光学顕微鏡とともに必須のツールとなることが期待される。

また、オープンサイエンスへの取り組みとして、バイオイメージングデータのデータベース化に向けたデータフォーマットやメタデータ規格の統一化等について、バイオイメージングの基盤技術と情報共有のための国際ネットワークである **Global BioImaging (GBI)** において、日本側代表研究者を中心に議論される予定である。

以上