

倉永 英里奈

東北大学大学院生命科学研究所  
教授

オールオプティカルメカノバイオロジーの創出に向けた技術開発と  
発生生物学への応用

## § 1. 研究成果の概要

本研究では、生命現象における力学過程の「計測」「操作」および応答の「観察」を全て『光』で行う「オールオプティカルメカノバイオロジー」の創出を目指している。2018 年度は以下の研究開発項目について、それぞれのグループで計画通り研究を実施した。

### 研究開発項目 1) オプティカルな手法による力学【操作】(倉永グループ、岡田グループ)

本研究開発項目では、細胞の力学過程を光で活性化・不活性化する技術の開発を目的とした。上皮細胞では、互いの接着結合を形成するカドヘリンの細胞内ドメインに支持されているアクチン束に活性型ミオシンが作用して(アクトミオシン)収縮し、頂端部収縮や細胞陥入など、細胞の物理的変形に寄与する。そこで CRY2/CIB など、光刺激により会合状態が変化する光応答ドメインを利用して、力学発生装置であるアクトミオシンの制御に関連する RhoGEF などを、光刺激により局在変化するプローブを作製した。プローブの検証は、力学応答モデルとして汎用的な MDCK 細胞に導入して行った。その結果、MDCK 細胞に発現させたプローブは光刺激により細胞膜に移行し、MDCK 細胞の接着辺は収縮して隣接細胞へ張力を発生する様子が確認できた。この哺乳類 RhoGEF を用いたプローブを導入した MDCK 細胞は、今後も光応答性力学反応モデルとして有効活用していく。

また、CALI 法を利用して、光刺激によりミオシン制御軽鎖を不活性化させるという、光力学不活性化プローブについても、作製・検証を行った。内在性のショウジョウバエミオシン制御軽鎖(MRLC)の C 末端側に、CALI に最適な蛍光タンパク質である SuperNova を CRISPR/Cas9 法を用いてノックインした。作製した MRLC::SuperNova ノックインショウジョウバエ系統を用いて、集組織形成過程におけるアクトミオシンの細胞局所での光不活性化を行うことに成功し、論文投稿中である。

## 研究開発項目 2) オプティカルな手法による力学【計測】(渡部グループ、柴田グループ)

本研究開発項目では、渡邊 G によって既に確立している VIPA(Virtually Imaged Phase Arrays) を用いたブリルアン散乱光計測システムを生命現象の観察に利用し、細胞内の粘性を推定する計測原理の開発と検証を行う。上記手法による非侵襲条件での細胞内力学計測システム開発に加えて、微小管一本から発生する光第二高調波 (SHG) を用いた細胞間に働く張力を計測する技術開発を行っている。両技術共に、まず、細胞の力発生(または力印可)により変化する粘性とブリルアン散乱スペクトルまたは張力と SHG 偏光特性との相関を定量的に調査する必要がある。2018 年度は、①コラーゲン繊維に張力を加えながらブリルアン散乱または SHG 偏光を計測できる装置、②倉永グループが開発した RhoGEF を用いたプローブを導入した MDCK 細胞を用いるための光照射システムを顕微鏡に実装した。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 倉永グループ

- ① 研究代表者: 倉永 英里奈 (東北大学大学院生命科学研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・光力学操作プローブの開発
  - ・光力学操作プローブの細胞・組織での検証

### (2) 岡田グループ

- ① 主たる共同研究者: 岡田 康志 (東京大学大学院理学系研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・生体組織内での光操作技術および超解像解析技術の開発

### (3) 渡邊グループ

- ① 主たる共同研究者: 渡邊 朋信 (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)
- ② 研究項目
  - ・顕微鏡システムの総合開発および光力学計測手法の開発

### (4) 柴田グループ

- ① 主たる共同研究者: 柴田 達夫 (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)
- ② 研究項目
  - ・力場を計算する数学手法の開発および力学シミュレーション