

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。2019 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(アクチン)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チン束の制御に関連する 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。光力学操作プローブを用いて実践する発生生物学的研究モデルは、「ショウジョウバエ上皮組織の人工的変形」、および「ショウジョウバエ外生殖器の回転形成」であることから、前年度に作製して哺乳類培養細胞で確認した光力学操作プローブを発現する遺伝子組換えショウジョウバエ系統を用いて光操作を行った。発生中のショウジョウバエ翅成虫原基に光を照射したところ、細胞レベルでの収縮が確認された。組織全体の折れ曲がりの誘導には条件検討が必要であり、少なくとも Z 軸方向の限定的な光照射が必要であることが想定されたため、次年度より導入予定の多光子レーザーによる光操作を実施する。

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ることによつ

て、組織形成過程における細胞接着リモデリングの新たな仕組みについて解明することに成功した。本成果は 2019 年度に論文報告し、JST と東北大学の共同でプレスリリースを行った。

研究開発項目 2) オプティカルな手法による力学【計測】(渡邊グループ、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、細胞内の粘弾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。2019 年度は、①ブリルアン散乱スペクトル形状と観察対象の物性を評価する実験系の確立、②張力負荷時におけるコラーゲン繊維の SHG 偏光の計測と解析、③SHG 偏光計測を応用したアクチン活性の生細胞計測技術の確立、を行った。特に、③においては、世界で初めての成功例である。また、光感受性低分子を用いてアクチン活性を光で制御することにも成功している。

【代表的な原著論文】

1. Uechi H, Kuranaga E., "The Tricellular Junction Protein Sidekick Regulates Vertex Dynamics to Promote Bicellular Junction Extension.", *Dev Cell*, 50(3):327-338. 2019

§ 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