

細胞内現象の時空間ダイナミクス  
2022 年度採択研究代表者

2022 年度  
年次報告書

北川 大樹

東京大学 大学院薬学系研究科  
教授

革新的計測技術による相転移ダイナミクスの解明

主たる共同研究者:

徳永 裕二 (東京大学 大学院薬学系研究科 助教)

花岡 健二郎 (慶應義塾大学 薬学部 / 大学院薬学研究科 教授)

柳澤 実穂 (東京大学 大学院総合文化研究科 准教授)

## 研究成果の概要

本研究では、広範囲の物性変化を示す中心体の形成機構をモデルとし、細胞内における相転移を駆動する制御機構を解明することを目的としている。そこで、細胞内構造体の構造、物性、配向性や流動性などを細胞内外で計測し、体系的に相転移プロセスを解析する次世代型の革新的計測手法の確立を試みている。

今年度は、細胞内相分離・相転移を計測するための蛍光プローブの開発を行い、溶液中の粘性変化を蛍光寿命の変化として検出可能なプローブを複数創出した。さらに、最適化した蛍光プローブを用いて、中心体や分裂期紡錘体の形成に関与する細胞内構造体の粘性測定を行ったところ、構造体の形状を反映した粘性の変化が観察された。現在、各構成因子からなる複合体の物性が、中心体や紡錘体の形成過程や機能発現にどのように寄与するかを解析中である。また、物性変化の起因となる構成因子の分子内・間相互作用や構造変化を捉えるために、高分子量のタンパク質を解析可能な NMR 測定を適用した。実際に、細胞内で固相の構造体を形成するタンパク質の NMR 解析結果から、コイルドコイル構造が物性の制御に重要であることを明らかにした。今後は、構造変化が及ぼす物性変化の詳細な制御機構を解析する予定である。

細胞質中に存在する中心体は、常に動いている為、そこに局在する分子の挙動を正確に捉えるのは、非常に困難である。我々は、ヒト培養細胞から核と中心体の複合体を精製し、ガラス面上に固定した条件で、細胞抽出液や精製タンパク質を加える再構成系を確立した。この実験系を利用することにより、中心体の位置が固定され、それを指標として中心体複製初期における制御因子の詳細な動態を超解像ライブイメージングで捉えることに初めて成功した。現在、分子動態の継時的な観察と定量化をすることにより、物性変化の観点を取り入れて中心体複製の理論化を進めている。

### 【代表的な原著論文情報】

1) Komori T, Hata S, Mabuchi A, Genova M, Harada T, Fukuyama M, Chinen T, **Kitagawa D**. A CRISPR-del-based pipeline for complete gene knockout in human diploid cells . *Journal of Cell Science*. 136: jcs260000 (2023). doi: 10.1242/jcs.260000.

2) Nikoubashman A, **Yanagisawa M**. Confinement-induced fractionation and liquid-liquid phase separation of polymer mixtures. *Polymers*, 15(3):511. doi: 10.3390/polym15030511.