

2024 年度年次報告書

細胞操作

2024 年度採択研究代表者

中村 秀樹

京都大学 白眉センター

特定准教授

細胞の「動き」を遊ぶ“「人工」細胞骨格”の創成

研究成果の概要

本研究では、生きた細胞内で内在性の細胞骨格-分子モーターシステムとは独立して働く「人工」細胞骨格を開発する。マイクロメートルスケールのフィラメント状に重合し、細胞内で「人工」分子モーターと協働して長距離輸送を可能にする「人工」微小管と、細胞内の局所で重合・脱重合を時空間的に操作可能で、重合により物理的力を発生する「人工」アクチンの開発を目指す。

「人工」微小管の候補タンパク質として、グラム陽性菌由来のタンパク質 X を選定し、COS-7 細胞を用いてその形態などの予備的検討を行った。EGFP を融合したタンパク質 X(X-EGFP)は、高効率でファイバーを形成し、微小管とは独立だが類似した放射状の形態を示した。

タンパク質 X の N-末端および C-末端から配列の欠損を行い、細胞内でファイバーを形成する最小配列の同定に成功した。また、ファイバー形成に必要な十分な最小配列を試験管内で精製、試験管内でもファイバー状の構造を形成することを確認した。現在、試験管内で形成したファイバーの構造を、クライオ電子顕微鏡で決定する準備を進めている。

細胞内でファイバーを形成する X の C-末端に FRB を融合し、細胞外からのラパマイシン投与による細胞質全体に発現した蛍光タンパク質融合型 FKBP との二量体形成を誘導する実験を行った。ラパマイシン刺激後、細胞質の FKBP は X-EGFP ファイバー上に集積したが、ミトコンドリア表面など細胞質から直接アクセスできる条件に比べその速度は遅いことが分かった。この結果は細胞内のファイバー内のタンパク質 X の配光を考える上で有用な情報と考え、さらに検討を進める。

「人工」アクチンの候補タンパク質については、寄生虫 *Giardia* のアクチンにペプチドタグを融合したプラスミドの作成を完了し、哺乳動物細胞内での検討を開始する準備が整いつつある。