

細胞の動的な高次構造体
2020年度採択研究者

2020年度 年次報告書

宮崎 牧人

京都大学白眉センター／京都大学大学院理学研究科／Institut Curie
特定准教授／連携准教授／Invited Researcher

アクチン細胞骨格動態の構成的理解と制御

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、アクチン細胞骨格の *in vitro* 再構成系と生細胞を用いた実験を組み合わせることで、分子活性の時空間制御が細胞骨格の構造転移、細胞形態転移を引き起こし、細胞機能が発現するまでの連鎖反応を支配する普遍的力学法則を解明することを目的とする。

初年度は、アクチン細胞骨格動態を制御するアクチン調節タンパク質の発現系を構築し、精製プロトコルの確立に注力した。数種類のタンパク質については、精製方法を確立し、生化学実験及び顕微鏡観察により活性確認まで完了することができた。並行して、アクチン重合活性の評価方法を検討した。アクチン重合活性は、ピレン標識したアクチンの蛍光変化で評価するのが一般的であるが、蛍光分光高度計を用いた測定では、1回の測定で大量のサンプルが必要となる上、多数のサンプルを同時並行で測定することも難しい。そこで、サンプルの容量を減らしつつ、複数サンプルの同時計測を可能にする蛍光マイクロプレートリーダーを用いて、効率的に重合活性を評価できるか否かを検討した。最終的に光学フィルタータイプのマイクロプレートリーダーと 384 穴のマイクロプレートを組み合わせることで、サンプル量を 60 マイクロリットルまで減らしつつ、8チャンネル同時計測できる条件を見つけた。さらに、本研究で用いる予定のアクチン細胞骨格を内包した人工細胞の開発に着手した。界面通過法のプロトコルを改良することによって、アクチン細胞骨格を内包したリポソームをつくることに成功した。