

## 細胞内アクチン繊維及び再構成アクチン繊維の動的構造変化の検出



やす なが たく お  
安 永 卓 生

【研究目的】細胞内及び再構成アクチンフィラメントを対象として、細胞運動に関わるその構造変化を捉える事を目的とする。期間内に、■第一に、神経細胞、繊維芽細胞を試料として、クライオ電子線トモグラフィー法を使って、細胞運動、特に、フィロポディアを対象としたアクチンフィラメントの動態をナノメータ分解能で明らかにし、その束化因子の結合様式を明らかにする。■第二に、走査型電子顕微鏡を使い、毛乳頭細胞の三次元培養状態における細胞動態を同様に明らかにする。■第三に、再構成アクチンフィラメントについて、ミオシンの結合有無、リガンドであるヌクレオチドによるアクチンフィラメントの構造変化に関して、サブナノメータ分解能で捉える事を目指す。以上を通して、細胞運動におけるアクチンフィラメントの構造変化の役割を明らかにする。

### ○研究計画・方法

【平成27年度】■第一に、神経細胞及び繊維芽細胞に関して、クライオ電子線トモグラフィー法を用いて、継続的に研究を進め、特に、神経細胞におけるフィロポディア形成に重要な役割を果たす束化因子 (facin) の構造解析を行い、これに関して、報告する。■第二に、継続して研究している毛乳頭細胞の振る舞いについて、イオン液体を用いた走査型電子顕微鏡の観察方法について問題点を明らかにすると共に、三次元培養により細胞塊となった毛乳頭細胞の表面細胞の動態について、電

子線クライオトモグラフィー法を用いて、構造解析を行い、特に、ラメリポディアにおけるアクチンフィラメントの動態を明らかにする。前述のいずれも、サブトモグラム平均化手法を更に精密化し、2-3 nmの分解能でその構造を明らかにする。特に、アクチンフィラメントに結合したモータータンパク質群の可視化を目指す。■第三に、再構成アクチンフィラメントにモータータンパク質ミオシンが相互作用した場合の構造変化、特に、非対称な構造変化について、単粒子解析法を用いて解析する。

【平成28年度】■第一に、神経芽細胞、繊維芽細胞に関しては、フィロポディアのアクチン繊維に結合した修飾タンパク質を、電子線トモグラムと原子モデル(ミオシン等)を比較することで、抽出し、その結合様式を明らかにするとともに、その際のアクチンフィラメントの構造を分類する。■第二に、毛乳頭細胞に関しては、一次繊毛も含めた細胞表層部における構造をアクチン繊維構造との関係からナノメータで構造解析を進める。■第三に、ミオシンによる非対称性のアクチン構造が第一、第二の実験の細胞内での構造との相関性を調査する。そのために、相互相関法、三次元分類法、サブトモグラム平均化を合わせた画像処理法を試みる。

以上を通して、細胞内・再構成系でのアクチン動態の相関を明らかにする。

研究のキーワード：アクチン繊維，電子顕微鏡，動的構造変化，細胞運動  
研究室HPのURL：<http://www.yasunaga-lab.bio.kyutech.ac.jp/>