V1E1400

脊髄由来細胞増殖抑制因子存在下でM期に入った細胞が示す奇妙な運動

○前田 梨恵、江本 由美子、今福 泰浩、和田 勝久（九大院・理・生物）

当研究室で発見、精製された豚脊髄由来細胞増殖抑制因子の添加により、MDCK細胞は遊走運動、増殖を止め、その後細胞外基質への接着を弱めて丸くなる¹⁾。ポスターで発表するように²⁾、私達は因子の作用機構を解明することを目的として、細胞周期をG1/S期にそろえたMDCK細胞に、そのG2期のいろいろな時期に因子を添加し、M期通過への影響を解析した。この細胞を、顕微鏡に接続した微速度撮影装置 (Time-Lapse Cinematography) でビデオ録画したところ、通常見られない奇妙な細胞の運動が観察された:M期に入った細胞の複数個所で、細胞が局所的に外へ丸く膨らみ、また元へ戻る、という運動を数時間にわたって繰り返した。その後、細胞は、二つの娘細胞に分裂することなく、丸みを帯び歪んだ形態で静止する。この奇妙な運動は、因子存在下で細胞がM期に入った場合でのみ見られた。また、この運動は周期を同調させていない場合でも見られたことから、double thymidine blockの影響ではない。細胞の有糸分裂は、時系列的に順序だてて進行する複数個の協調的制御反応の結果、生じる。私達の観察したM期細胞の奇妙な運動の解析は、細胞有糸分裂における協調的制御機構の解明に役立つに違いない。

- 1) 江本, 藤井, 和田. 生物物理学会第39回年会 (2001)
- 2) 前田, 江本, 和田. 生物物理学会第39回年会 (2001)

R.Maeta, Y.Emoto, Y.Imafuku and K.Tawada : Intriguing movements of MDCK cells in M-phase in the presence of spinal cord-derived growth inhibitor

V1E1440

化学反応で複製するジャイアントベシクルのリアルタイム観察

○豊田 太郎、高倉 克人、山田 幸司、石丸 真子、安田 賢二、菅原 正（東大院・総合文化）

両親媒性分子が水中で形成するベシクルという分子集合体は、膜中及び内包する水相に、それぞれ疎水的ないしは親水的反応場を有しており、これらの反応場の中で、外から加えられた養分がベシクル分子に変換されるような反応が起これば、ベシクルの肥大・分裂を引き起こすことが期待される。このような意味で、ベシクルは原始細胞モデルと見なすことができよう。本研究では、ジャイアントベシクル (粒径が1 μm 以上のベシクル) の示すダイナミクス - 異種のベシクル間に見られる競合的形態変化、ベシクルの化学反応を伴う複製過程などを、顕微鏡観察システムを用いて、リアルタイムで追跡する手法を確立するとともに、これらのダイナミクスを解析することを目指している。単頭極性型両親媒性分子のジャイアントベシクルに対し、双頭極性型両親媒性分子の分散液を添加すると、入れ子構造のジャイアントベシクルの内側部分が外に飛び出す。今回、それぞれの両親媒性分子を蛍光標識することにより、この現象を蛍光顕微鏡下でリアルタイム観察できた。また、両親媒性分子に脱水縮合反応部位を導入すると、上記と同様の条件下で、ジャイアントベシクルの膜分子が増加し、分裂が生じることを光学顕微鏡下で発見した。

T.Toyota, K.Takakura, K.Yamada, M.Ishimaru, K.Yasuda, T.Sugawara : Microscopic Investigation of the Novel Self-Reproduction of Giant Vesicles

V1E1420

細胞剪断接着剤測定装置による細胞剥離過程の干渉反射顕微鏡観察

○山本 玲子、塙 隆夫（物材機構・材料研）

現在までに我々は、材料上に接着した個々の細胞にカンティレバーにより剪断力を加えて材料表面から剥離させ、その際必要な力を測定する装置を開発し¹⁾、材料表面を細胞外マトリックスで被覆するとマウス線維芽細胞の剪断接着剤及び剥離エネルギーが増加すること²⁾、また細胞種によってガラスに対する接着剤及び剥離エネルギーが異なること³⁾を報告した。本研究では、開発した装置に干渉反射顕微鏡 (IRM) を組み込み、ヒト線維芽細胞のフィブロネクチン被覆ガラス表面からの剥離過程のIRM観察を行い、材料-細胞間接着切断点を調べた。IRM画像の例をFig.に示す。細胞はカンティレバーによって剪断力が付加される中央部では全て剥離しているが、周辺部では接着タンパク質らしき物質がガラス面に残されていることが判明した。しかし、位相差による観察では細胞本体は全てガラス面より剥離し、また細胞膜が破壊された様子はみられなかった。このことから、細胞周辺部では細胞膜からの接着タンパク質の脱離が起きている可能性が示唆された。

Fig. IRM images of a cell before (a) and after (b) the detachment.

- 1) A.Yamamoto, et al. *Biomater.*, **19** (1998), 871-879.
- 2) A.Yamamoto, et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, **50** (2000), 114-124.
- 3) 山本玲子他、生物物理, **38** suppl.2 (1998), S134.

A.Yamamoto and T.Hanawa : IRM images of cell detachment process by applying a shear force using a cantilever

V1E1500

一次元溶液散乱曲線から低分解能三次元たんぱく質形状の計算 - 2 -

○高橋 義和^{1,2)}、西川 幸宏¹⁾、前田 雄一郎¹⁾、藤澤 哲郎¹⁾ (¹⁾ 理研播磨・構造生物化学、²⁾ 東レリサーチセンター)

たんぱく質の一次元溶液散乱曲線から、分子の三次元 envelope を計算する報告が近年相次いでなされ、我々はアルゴリズムの異なる3つの解析ソフト、dammin、saxs3d、dalai_gaについて、解の安定性と収束性を比較検証し、昨年度の本学会において発表した。今回は、stochasticな系に対してどのような収束解を出すかを調べるために、2つのドメインがfluctuationしているtroponin-Cと、非常に構造揺らぎが大きい変性apomyoglobinという二つの系を用いた。測定は、SPRING-8のBL-45XUにて行い、検出器にはX-ray I.I.+CCDを用いた。また、解析には、無補正のデータを用いた。変性apomyoglobinは構造が非常に揺らいでいる系であるが、複数回試行のRf値による解の安定性は、troponin-Cに対して得られた値と同じオーダーであった。また、収束モデルは、アルゴリズム、試行が異なっても非常に類似しており、分岐ペナルティがいずれのアルゴリズムにないにもかかわらず1本鎖として計算されているようである。つまり、変性状態のようなporod則が満たされていないような散乱曲線でも、安定して解が収束することが明らかとなった。また、今回の検討結果から、アルゴリズムによらず、(1)揺らぎの大きい場合、収束アルゴリズムは"にじむ"あるいは"見えなくなる"のではなく中央値に収束しているように見うけられる、(2)モデルの分解能を上げる(構成するピーズ半径が小さくなる)ほどRf値はよくなる傾向にあるが、実効8 Å分解能以下(ピーズ半径4 Å以下)は変わらない、ことが判明した。

Y.Takahashi, Y.Nishikawa, Y.Maeda and T.Fujisawa : The calculation of low resolution three-dimensional protein shape from one-dimensional scattering profile 2