細胞内の張力を測定する

Sensing tension

ANDREW D. DOYLE AND KENNETH M. YAMADA

2010年7月8日号 Vol. 466 (192-193)

生きている細胞で、特定の部位にかかっている張力を測定するのは、技術的にたいへん難しい。

今回、蛍光の変化で張力を測定できるバイオセンサーを細胞内タンパク質で実現し、移動している細胞で生じる張力の、局所的特徴が調べられた。

細胞は、常に分子間力を利用している¹⁻³。例えば、構造の一部の突出と収縮をうまく連動させて、移動や浸潤を行っているし、収縮張力を利用して、ほかの細胞や細胞外マトリックスに安定的に接着することもできる⁴。また、分裂するためには、細胞内の複数の力を調整しなければならない。しかし、1個の細胞の内部で生じるこのような複雑な張力を、測定したりマッピングしたりするのは技術的に難しい。理想的なツールの1つは、機械的な力の計測器として機能する小型の生物学的装置を、細胞内の局所的な引っ張りや動きの生じる部位に埋め込んだものだろう。Carsten Grashoff たち⁵は、個々の細胞内に生じる力をマッピングするのに威力を発揮するツールを開発し、*Nature* 2010年7月8日号263ページで報告した。具体的にいうと、彼らが開発したのは、動的な細胞接着構造で生じている張力を正確に測定するための「第二世代」バイオセンサーだ。彼らはそのセンサーを使って、局所的な力が、細胞の移動に伴って実際にどのように変化するかを明らかにした。

Grashoff たちはまず、バネ様のタンパク質部分を含む張力センサーモジュールを設計することから始めた。このバネ様部分は、クモ糸のタンパク質に由来するアミノ酸配列を土台にしたもので、張力に応じて伸びる性質をもっている。次に彼らは、このバネ様タンパク質部分の両

端に蛍光タンパク質を付けた (図 1a)。張力がかかると、このセンサーモジュールが伸長し、両端の蛍光タンパク質の距離が離れるので、蛍光の減少という形でそれを容易に検出できる (図 1b)。こうして、Grashoff たちはキメラ分子をたった1種類用いるだけで、局所張力の高感度測定 (ピコニュートンの単位) を可能にしたのである。

研究チームは、この蛍光張力センサーモジュールを、ビンキュリンという細胞内タンパク質に組み込んだ。このタンパク質は、細胞の接着や移動時に生じる「力」に関連する機能をもつ。これはよい選択だった。なぜなら、ビンキュリンの頭部ドメインはテーリン (細胞外マトリックスと相互作用する細胞表面接着受容体に結合するタンパク質) に結合し、尾部ドメインはアクチン細胞骨格に結合するからだ (図 1b)。つまり、ビンキュリンは細胞の内外間の張力変化を検出するのに適役なのだ。ビンキュリンがアクチン細胞骨格と細胞表面接着受容体の間で伸長すると、そこに組み込まれた張力センサーモジュールによって、移動している細胞の内部で張力が変化している位置を特定でき、変化の程度を測定できるのである。

このバイオセンサーのおかげで Grashoff たちは、培養組織内を移動する細胞が形成した接着斑とよばれる細胞接着構造での張力を、初めて直接測定す

ることができたのだ。研究チーム⁵は、細胞が移動するときに、細胞の前端で新たに形成された接着では、ビンキュリンにかかる張力が大きく、接着面から解離する細胞の後端では、張力が小さくなることを見つけた。この観察結果は、これまで考えられていた、移動の際に生じる細胞内の張力の非対称性を、エレガントかつ直接的に定量化したものだ。また、細胞内で、分子モーターのミオシンに駆動されるアクチンフィラメントの収縮を阻害すると、予想どおり、ビンキュリンにかかる張力は消失した。

このバイオセンサーを使って、もう1つの洞察が得られた。それは、接着部位にビンキュリンが誘導される機能は、ビンキュリンの「細胞内の力を伝達する能力」とは無関係だということだ。さらに、ビンキュリンがない条件下では、強い力によって細胞接着の解離が起こることから、ビンキュリンは、細胞接着の安定性維持に役立っているものと考えられる。

Grashoff たちが今回開発したプローブ分子は、初めての張力バイオセンサーというより、生物学的な力を検出する技術として最先端を行くものだと表現したほうがいいだろう。概念的にこれと似た方法は既に存在し、フィブロネクチンという細胞外タンパク質で、張力による伸長を測定するために使われている⁶。ほかにも張力バイオセンサーが設計されている。アクチン結合タンパク質である α -

アクチニンにかかる力が、移動中の細胞の前端と後端部分で異なることが報告されたり⁷、生きている細胞でアクチン-ミオシン結合の張力の大きさが決定されたり⁸しているのはその成果だ。さらにもう1つ、線虫 (*C. elegans*) で発現させることに成功した張力バイオセンサーがあり⁷、これらの測定技術が *in vivo* で適用可能だろうと示唆されていたのだ。

タンパク質の中には、力を感知し、応答する能力を本来備えているものがあることも、既に明らかになっている。例えば、膜にある一部のイオンチャネルは引き伸ばしによって活性化され、また、テーリンは力によって活性化されてピンキュリン⁹やシグナル伝達タンパク質 p130Cas に結合し、下流のリン酸化やシグナル伝達を促進する¹⁰。しかし、今回のピンキュリン製バイオセンサー⁵が特別なのは、局所の力をマッピングするのに必要な、高感度かつ高精度の定量化ができる点である。この利点によって、力に依存する生物学的プロセスの詳細な研究が可能になるわけだ。

今回のような張力計測分子は、細胞内に生じるさまざまな力を明確にできる可能性を秘めている。例えば、細胞が有糸分裂をするときに染色体を動かしたり導いたりする力や、細胞が移動したりニューロンの軸索突起が伸びたりするときに細胞膜にかかる複雑で局所的な力を測定することができるかもしれない。また、骨再形成や腫瘍細胞の浸潤における力学的な特性などを調べることもできるかもしれない。ところで、こうした張力センサーモジュールをほかのタンパク質の一部に組み込んで、細胞のほかの部位で使ったり、細胞内の別の種類の力を測定するのに使ったりするというのは、どれくらい現実的な話なのだろうか？

その答えは、ピンキュリンと共通するある特定の条件を満たすような、重要な特徴をもつタンパク質候補が見つけれらるかどうかにかかっているだろう。それはまず、この張力センサーモジュールを組み込む先のタンパク質が、測定対象の

図 1. 張力バイオセンサー。 a. Grashoff たち⁵は、細胞で生じる局所的な力を測定するための張力センサーモジュールを設計した。使用したのは、クモの横糸タンパク質由来の、アミノ酸 40 個からなる伸縮性のある部分 (クモ糸タンパク質; SSP) で、その両端に蛍光タンパク質 (青色と緑色) を付けてある。このセンサーモジュールを、ピンキュリンの頭部と尾部の間に組み込んだ。b. このセンサーにかかる細胞張力が増加すると SSP 領域が伸長し、両端にある蛍光タンパク質が引き離されて、蛍光が減少する (蛍光共鳴エネルギー移動: FRET による測定法と似た原理)。こうして蛍光の変化を測定することで、張力を定量化することができる。c. 実際の細胞の観測例。

力によって伸長できるような細胞内の場所に存在していることである。しかも、センサーモジュールを組み込んだ後も機能を保持している必要がある。また逆に、このタンパク質の機能がセンサーの機能に影響を及ぼしてもいけない。もし、このような張力センサーモジュールを組み込むことのできる理想のタンパク質が見つからなくても、2種類のタンパク質間もしくはこれらのタンパク質の結合部位間にモジュールを置くことで、別のタイプのキメラ型力感知バイオセンサーを実現できるかもしれない。また、もう1つの展開の仕方として考えられるのは、力の検出感度を高めることだろう。今回の手法⁵では、単一分子の力を検出するのではなく、特定部位の数百個の分子を解析することで、力を検出している。

将来、張力バイオセンサーを体系的に利用し、組織または動物個体の内部で生じる力をそのまま測定できるようになれば、興味の対象は大きく広がる⁷。例えば、*in vivo* での細胞外マトリックス内部や、

細胞と細胞の間、1個の細胞とその周囲の結合組織の間などの場所で、胚の体制が確立されるときや、発生中の器官で内部構造が形作られている時期に、力を測定するのである。局所の力を視覚化したり定量化したりすることができれば、遺伝子やタンパク質の組織特異的な発現に関する膨大な情報と、機能をもつ1個の生物個体を作り上げている種々の力とを結びつけることができ、生命の仕組みを理解するのに役立つはずである。

(翻訳: 船田晶子)

Andrew D. Doyle および Kenneth M. Yamada, 国立衛生研究所国立歯科・頭蓋顔面研究所(米国)。

1. Mofrad, M. R. K. & Kamm, R. D. *Cellular Mechanotransduction* (Cambridge Univ. Press, 2009).
2. Vogel, V. & Sheetz, M. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 265–275 (2006).
3. Orr, A. W., Helmke, B. P., Blackman, B. R. & Schwartz, M. A. *Dev. Cell* **10**, 11–20 (2006).
4. Ridley, A. J. et al. *Science* **302**, 1704–1709 (2003).
5. Grashoff, C. et al. *Nature* **466**, 263–266 (2010).
6. Klotzsch, E. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 18267–18272 (2009).
7. Meng, F., Suchyna, T. M. & Sachs, F. *FEBS J.* **275**, 3072–3087 (2008).
8. Iwai, S. & Uyeda, T. Q. P. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105**, 16882–16887 (2008).
9. del Rio, A. et al. *Science* **323**, 638–641 (2009).
10. Sawada, Y. et al. *Cell* **127**, 1015–1026 (2006).