

提出日:2024 年 5 月 9 日

2023 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

## 研究成果の概要

実験課題名		細胞内石灰化メカニズムを明らかにすることを目的とした、生細胞、死細胞それぞれの細胞表面と内部の網目サイズ解析	
申請者 (実験責任者)	氏名	鈴木道生	
	所属機関名・部局名	東京大学大学院農学生命科学研究科・応用生命化学専攻	
	職名	教授	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/>	原子分解能/3D-AFM
		<input type="checkbox"/>	高速 AFM
		<input type="checkbox"/>	SICM
		<input checked="" type="checkbox"/>	細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名		福間剛士	
<p>酸性高分子を含む石灰化液における細胞内石灰化メカニズム解明を目的として、Bio-SPM 技術により生細胞、死細胞それぞれの細胞表層と内部の網目サイズを計測する。一般的に、リン酸カルシウムなどカルシウム塩の過飽和液 (石灰化液) に対して強く負に帯電した高分子 (酸性高分子) を添加すると、酸性高分子の持つカルシウムイオン結合性のために結晶核形成が阻害される。しかし唯一の例外として、酸性高分子が部位特異的な結晶核形成を促進する例が知られている。それはコラーゲンやキチンなど有機繊維内での結晶核形成であり、有機繊維の網目構造と酸性高分子の相互作用による現象だと考えられている。細菌細胞や動物細胞においても酸性高分子が部位特異的な結晶核形成を促進し、細胞内の石灰化が生じること、更にその石灰化には細胞の死が前提となることを見出した。この結果は細胞表層や内部の網目構造と酸性高分子の相互作用が細胞内石灰化を起こすことを示唆している。細菌細胞壁や動物細胞の細胞骨格が形作る細胞内網目のサイズが結晶核形成を引き起こすのに適切であるという仮説を検証するために、Bio-SPM 技術により細胞表層と内部の網目サイズを計測する。</p> <p>大腸菌、枯草菌などの細菌の表面を観察したところ、の構造が見られたのに対し、エタノールや加熱処理すると、より平滑化しているような様子が観察された。また生細胞で見えていたアクチンの繊維状構造も死細胞では見え難いという違いがあった。歯石形成に関与すると考えられている <i>Corynebacterium matruchotii</i> でも生細胞は比較的、平坦な構造であったのに対し、死細胞では凸凹が増えたような構造と粒子のようなものが多数観察された。大腸菌と <i>Corynebacterium matruchotii</i> を石灰化させた場合は大腸菌では粒子状の石灰化物が表層に見えたが、<i>Corynebacterium matruchotii</i> では繊維状でより突起物が表面に出ている様子が観察された。エタノールもしくは加熱処理した Hela 細胞に関しては、生細胞が平滑な状況とは異なり細胞表面に穴が空き、凹凸が激しくなっている様子が観察された。これらの結果から、生細胞と死細胞では細胞の表層構造が変化する様子が AFM により観察できることが分かった。さらに、石灰化させて細菌では種によって細胞表面での石灰化の状況が異なることが示され、細菌の種によって石灰化産物が異なる可能性が示唆された。</p>			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2024 年 5 月 10 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 山崎 E-mail: [nanolsi\\_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp)