

A02-003 小さな反応拡散系における秩序形成から生物の機能へ

千葉大学大学院理学研究科 櫻井建成
千葉大学大学院理学研究科 北畑裕之
東京大学大学院総合文化研究科 澤井哲
明治大学理工学部 石原秀至

真核細胞の形質膜の変形は、多くの場合、ホスファチジルイノシトールとアクチンの協調したダイナミクスによって誘起され、非平衡系のパターン現象とアクティブマター（もしくは自己駆動粒子）としての性質を兼ね備えた系としての特徴づけが待たれている。そこで本研究では、ゆらぎによって対称性が破れることで生まれるアメーバ細胞運動の非自明動態（新規な時空間秩序）の理解と自己組織化を用いた再構成系の実現を行い、アクティブマター（もしくは自己駆動粒子）の相互依存性から生み出される動的秩序形成とそれに由来する生物の普遍的性質の解明を目的とする。本年度は、（１）リン酸化-脱リン酸化反応の自律的進行とその時間発展の測定系の実現、（２）細胞集団中での力と個々の細胞の変形と細胞集団の変形の依存性、（３）自己駆動粒子の一般的力学系モデルの提案、などを行い、運動する系の普遍的性質を明らかにすることを目指した。

（１）リン酸化-脱リン酸化反応の自律的進行とその時間発展の測定の実現

人工脂質リポソーム上においてホスファチジルイノシトールの主要な調節機構であるリン酸化-脱リン酸化反応を操作、または自律的に進行させ、その時間発展を測定できる実験系の開発を進めた。多環芳香族炭化水素の一種である蛍光物質ペリレンを用いてリポソームを可視化し、ビオチン-ストレプトアビジン結合によって、リポソームをガラス表面に捕捉し、顕微鏡測定の焦点面に維持した。反応基質および生成物であるPI(4,5)P₂、PI(3,4,5)P₃それぞれに選択的に結合するラット Phospholipase Cタンパク質PHドメイン (PHplc)、粘菌CRACタンパク質PHドメイン (PHcrac)のGFPないしRFPタグを精製し、これらがガラス基板上に捕捉されたPI(4,5)P₂またはPI(3,4,5)P₃を含むリポソームに対し選択的に結合することを確認し、測定プローブとしての性能を評価した(図1)。同時に、この系に、リン酸化を付加するため、リン酸化酵素の精製を進めた。

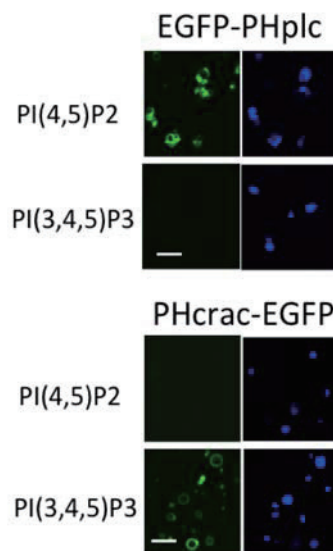


図1. 測定用プローブの選択性の評価。ガラス基板上に捕捉したリポソームと、EGFP-PHplc(上図)またはPHcrac-EGFP(下図)タンパク質(ともに0.5 mM)との結合(共焦点顕微鏡)。上段は4%PI(4,5)P₂、下段は4%PI(3,4,5)P₃を含むリポソーム。緑色はGFP蛍光像、青色はペリレン(脂質膜)の蛍光像。Bar: 5mm

（２）細胞集団中での力と個々の細胞の変形と細胞集団の変形の依存性

①細胞集団中ではどのような力が働くだろうか？培養細胞が基質を引っ張る力(Traction force, T)は、ゲル基質にビーズを入れてその変位をみるなど、Traction Force

Microscopy (TFM) として確立している。一方で、細胞内の応力 (Stress σ) については、釣り合い方程式 $\text{div } \sigma = T$ から、細胞を弾性体と仮定して応力 σ を見積もる Monolayer Stress Microscopy (MSM) が提案されている (Tambe et al., Nat. Mat. 2011)。しかしながら、MSM では細胞を弾性体と置くという妥当性の定かではない仮定が置かれている。この問題の困難さは、問題自体が ill-posed であることにあり、一般に逆問題と呼ばれる。逆問題をベイズ推定の枠組みで定式化し、手法を培養細胞の応力分布 σ の推定問題に適用した。この際、MSM とは異なり細胞の力学的な性質を仮定せず、単純な $L2$ 正則化を入れた。真値のわかる数値データで試した所、MSM では細胞を弾性体と仮定したデータでのみ妥当な結果を出したが、他の場合には精度は悪く、一方、我々の手法ではモデルで仮定した細胞の力学的な性質によらずに高い精度で推定と真値が一致した。また、実験的検証も行い、他の手法で見積もった値と整合性を得ている (Vincent et al., in revision)。

②細胞集団の変形は、個々の細胞の変形と細胞の相対位置の変化(再配置)に加え、細胞分裂や細胞死が関わる。これらのプロセスに関してテンソルを用いて定式化することで、変形に際して各プロセスがどの程度寄与するのかを定量的に表し、実際に翅上皮に適用した (Guirao et al, eLIFE, in press)。

(3) 自己駆動粒子の一般的力学系モデルの提案

非平衡条件下で自由エネルギーを用いて運動を生み出す系は自己駆動粒子と呼ばれ、生物運動のモデル系として盛んに研究されている。このような自己駆動粒子が円形領域に閉じ込められたり、中心力ポテンシャルを受けたりする場合、2次元軸対称な系と捉えることができる。実際にこのような二次元軸対称な実験系が知られており、そこでは、粒子は回転運動や振動運動をすることが報告されている。

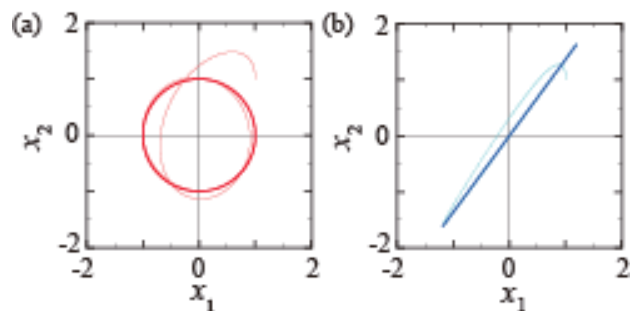


図 2. (1)式の数値計算結果。
(a)回転運動、(b)振動運動が見られる。

本研究では、自己駆動粒子にはたらく駆動力が粒子の位置や速度に依存すると仮定し、変位と速度が小さい極限で 2次元軸対称な空間内の自己駆動粒子の運動を記述する一般的なモデル力学系：

$$\ddot{\vec{x}} = -\vec{x} + b\dot{\vec{x}} + c|\dot{\vec{x}}|^2 \vec{x} + h|\dot{\vec{x}}|^2 \dot{\vec{x}} + j(\vec{x} \cdot \dot{\vec{x}}) \dot{\vec{x}} + n|\dot{\vec{x}}|^2 \dot{\vec{x}} + k|\dot{\vec{x}}|^2 \dot{\vec{x}} + p(\vec{x} \cdot \dot{\vec{x}}) \dot{\vec{x}} \quad (1)$$

を考え、どのような運動が現れるか解析した (図 2)。まず、静止状態が不安定化する分岐点近傍 ($b \sim 0$) において回転解と振動解について、解の存在条件とその線形安定性を調べた。また、分岐点から離れたところで回転解が安定に存在する条件についても解析を行った。本研究は、公募 A03 班 義永那津人氏との共同研究である⁽¹⁾。

参考文献：

(1) Y. Koyano, N. Yoshinaga, and H. Kitahata, *J. Chem. Phys.* **143**, 014117 (2015).