

## A03 細胞スケール閉鎖空間内における反応拡散波の物理

慶應義塾大学理工学部 藤原 慶

バクテリアの細胞分裂の起点は、Min タンパク質と呼ばれる 2 種のタンパク質(MinD と MinE)が、細胞内を波状運動することにより決定される(図 1A、B)。Min の波が生じる分子メカニズムは、MinD が ATP と結合することで膜と結合し、MinD-ATP 同士の膜でのリクルート作用(positive feedback)と、MinE による MinD 結合 ATP の加水分解を介した MinD の離脱(negative feedback)である(図 1C)。

Max Plank 研究所の Petra Schwiller らは精製した MinD、MinE、ATP の混合物が平面膜上で波状運動をすることを発見し、その物理特性が反応拡散モデルで説明できることを示してきた(文献 1)。この解析は、大腸菌形状の PDMS チャンバー中や、脂質ベシクルの外部表面にまで拡張されてきたが、脂質ベシクルのように細胞サイズの閉じた系内部では再現されていなかった。そのため、Min 反応拡散波が細胞サイズ閉鎖空間でどのような振る舞いを見せるかは、生化学を含め、物理学的にも未解明なままである。しかし、平面膜上で波状運動を見せる MinD、MinE、ATP の混合物を、大腸菌の極性脂質成分によって覆われた油中水滴内に閉じ込めたところ、膜上に均一に分布し、伝播する波は観察されず、細胞サイズ空間効果の解析は容易ではなかった。

我々は生物学の立場から、要素を抽象化せず細胞の構成要素をそのまま用いた人工細胞の物性を解析してきた(文献 2-4)。この過程にて、油中液滴中において Min の波状運動を再現可能とする条件を見出した(投稿中、図 1D)。そこで本研究では、この条件でなぜ Min タンパク質が波状運動を示すのか、理解することを第一の目的とした。本年度は、細胞サイズ空間に内包した条件において反応拡散波を発生させるための条件を解明すべく研究を展開した。そのために①イオン環境や分子濃度が波の発生に与える影響の解析、②波発生の初期状態の解析と理論解析との比較を行った。

Min 波の伝播においてイオン環境はその性質を大きく変えることが知られている(文献 5)。例として、平面膜においてはカリウム濃度が高いほど波の伝播速度が速くなること、脂質の電荷に応じて波の発生条件が変化することなどが知られている。そこで波発生因子をカリウム濃度に置き換え、Min 波が発生するかを解析した。結果、いずれの濃度でも波は生じなかった。しかし波発生因子を同時に添加した状態でカリウム濃度を変化させた場合、Min 波は

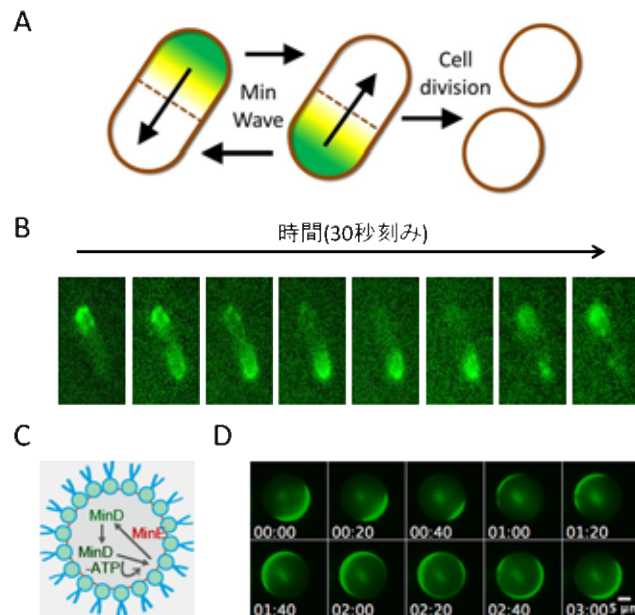


図 1. Min システムの概要

A: Min システムの波が細胞分裂面の決定に関与する。B:大腸菌細胞(4  $\mu\text{m}$ )中の MinD の動き(緑色部分)、C: 分子メカニズム、D: 油中水滴中に再構成された Min システムの波状運動

確かに発生するが、その性質は平面膜と比較してカリウム濃度による影響を受けにくいことが明らかになった。この結果は、細胞空間が反応拡散により生じる波に対してイオン環境に対する頑健性を与えるという新規な現象の存在を示唆した。

脂質の電荷に関しては、本年度7月に Schwille らのグループから報告された論文によると、極性脂質の一種であるカルジオリピンが多く添加させた条件において我々が発見した波発生因子が存在しない場合にも伝播する Min 波が観察されることを報告している(文献 6)。それゆえ細胞サイズにおいて顕著になる脂質の由来の空間効果も Min 波の伝播において重要であることは間違いない。

次に波発生の初期状態を解析するため、MinD、MinE、ATP を波発生因子と混合し、油中水滴に内包した。その直後から MinD に融合させたタンパク質の蛍光を指標に Min 波を解析した。2 つ以上の波が存在するような大きさの油中水滴においては、ある時点で複数の点で節ができると同時に波として伝播する現象が観察された。この結果は、領域内の共同研究者である義永氏(東北大)の線形安定性解析から示唆された、**wave instability** が Min 波の発生原理であることを裏付ける結果となった。

一方、1 つの波のみが生じるサイズの液滴においては興味深い現象が観察された。まず膜上と細胞質部分の間を Min タンパク質が一様振動し、その後に極間を往復する **standing wave** が発生、最後に **traveling wave** と変化することが明らかになった。このような波の種類の遷移は因子の混合後 20 分程度で完結した。この現象は、1 時間後の観察においては 90% 程度の油中水滴において **traveling wave** が観察された理由を説明した。この変化も義永氏の数値シミュレーションから、ノイズによるものでなく球形空間に Min 因子群を閉じ込めた場合に決定論的に生じる転移であることが示されている。

最後に、我々が用いている波発生因子の効果を解析していく段階で、ネガティブフィードバック因子として働く MinE の局在に関して興味深いデータが得られた。MinE は平面膜に置いてはバルク中と膜近傍における濃度の差はわずかであるが、細胞サイズ空間に閉じ込められた場合、そのほとんどが膜にのみ存在していた。この効果を数値シミュレーションに取り入れると、波の発生は確かに消失することが予言された。一方、我々が用いている波発生因子を添加した場合、MinE の自発的な膜への局在は観察されず、ほぼすべてがバルクに存在した。他のグループによって現在までに行われてきた Min 波の挙動を解析する数値シミュレーションにおいて、MinE は自発的には膜に局在しない、と仮定されてきた。我々の結果は、細胞サイズ空間内において伝播する Min 波の発生を抑えるには、MinE の自発的膜局在を抑えることが重要であることを示す。

## 参考文献

- (1) M. Loose, *et al.*, *Science*, **320**, 789–792 (2008).
- (2) K. Fujiwara & S.M. Nomura. *PLoS ONE*, **8** (1), e54155 (2013).
- (3) K. Fujiwara & M. Yanagisawa. *ACS Synth. Biol.* **3** (12), 870-874 (2014).
- (4) K. Fujiwara, M. Yanagisawa, S.M. Nomura. *BIOPHYSICS* **10**, 43-48 (2014).
- (5) A.G. Vecchiarelli, M. Li, M. Mizuuchi, K. Mizuuchi. *Mol. Microbiol.*, **93**, 453-463 (2014).
- (6) K. Zieske, G. Chwastek, P. Schwille. *Angew. Chemie*, **128**, 13653–13657 (2016).