

氏名	國田 樹
学位名	博士（システム情報科学）
学位記番号	第18号
学位授与年月日	平成23年3月18日
学位論文題目	再構成運動系において滑り運動するアクチン繊維の運動調節
論文審査委員	主査 上野 嘉夫
	副査 小西 修
	副査 中垣 俊之
	副査 中島 秀之
	副査 三木 信弘

## 論文要旨

本研究は、生物の持つ階層構造の階層間の関係とその関係の自己組織性について、骨格筋タンパク質の分子レベルの運動機構から考察することを目的とした。

生物の階層構造の特徴は、生物と機械との階層構造の相違を考えることで明確となる。生物と機械の構造の階層性は、物質の種類は異なるものの原子、分子、およびそれらの化合物が主要素となり低分子化合物から高分子化合物、高分子複合体から形成される点で類似している。しかしながら、生物と機械とはそれらの物質の合成過程、および構造の形成・維持過程を異にする。生物の構成物質は、外部から物質とエネルギーを得て内部で合成と分解が行われる。そして、同一種の物質であろうとも絶えず変化し続けている。高次の構造物は、それらの物質間の弱い相互作用を中心として自己組織的に形成される。そのため、生物の構造は、構造自体が柔らかいばかりでなく、時々刻々と変化可能な特性を持つ。他方、機械の構造物質は、人工的に合成された物質から成り、機械が初期の機能を維持している限り物質が変化することはほとんどない。また、高次の構造物は、共有結合による強い相互作用や架橋剤を使用した化学接着を中心として成型される。そのため、機械の構造は、時間が経過しても形状の変化が起こりにくく安定な特性を持つ。

また、これらの構造の特性の相違に伴い、生物と機械とでは機能の階層構造も異にする。生物の機能は、時々刻々と変化する中で、物質間もしくは構造間の相互作用によって出現する。したがって、生物の機能の階層構造もまた時々刻々と変化する。他方、機械の機能は、人工的に成型された構造に与えられた固有のものであり、時間的に安定である。また、それらの機能は他の物質もしくは構造との作用により生じるが、その作用の仕方は予め規

定されている。したがって、機械の機能の階層構造は、その機械に固有のものとなる。換言すると、生物の階層構造は、それぞれの構造および機能という階層がダイナミックに自己組織化される点、およびそれらの階層間の作用がダイナミックである点で機械の階層構造と特徴を異にする。そのため、生物の持つ自己組織的な階層構造の形成過程を明らかにすることは、生物に見られる秩序形成や情報処理の仕組みを応用した情報処理システムの構築の示唆になることが期待される。そのために、本研究では、生物の持つ自己組織的な秩序形成について、筋収縮系におけるアクチン繊維の運動調節の仕組みを明らかにした。

生物において、タンパク質のメカノケミカルシステムを持つ系では周期リズムだけでなく多様かつ複雑な現象が生じる。そのため、タンパク質レベルで生じる様々な秩序やその形成メカニズムを知ることが、生物の秩序形成の仕組みを理解するために重要であると考えられる。そこで、本研究では、メカノケミカルシステムの代表例であるアクトミオシン系におけるアクチン繊維の滑り運動に見られる秩序とその形成のメカニズムを調べた。

アクトミオシン系におけるアクチン繊維の滑り運動は、ATP分解活性を持つミオシンと呼ばれるモータータンパク質とアクチンと呼ばれるレールタンパク質で構成される。その運動メカニズムは、一般に、ミオシンがATP加水分解エネルギーを使用してアクチン繊維を移動させることによって生じると説明される。しかしながら、アクチン繊維には多数のミオシンが作用しているため、アクチン繊維の内部にそれらの作用を協調する仕組みが必要となる。そこで、ミオシン上を滑り運動しているアクチン繊維の運動を詳細に検証した。

再構成運動系でミオシン上を滑り運動するアクチン繊維について、運動に伴って生じる繊維の微小な変形をビデオ顕微鏡法と画像解析を組み合わせた手法によって調べた。その結果、滑り運動しているアクチン繊維では、繊維の局所に生じた屈曲が滑り運動速度の2倍程度の速度でアクチン繊維に沿って伝搬する現象が観察された。ゆっくりと滑り運動しているアクチン繊維では、その屈曲は、繊維の先端から後端に向かって伝播していた。また、速く滑り運動しているアクチン繊維では、その屈曲には複雑なパターンやソリトン様のパターンが観察された。それらのパターンには、繊維に沿って規則正しく屈曲が伝播するパターン、屈曲波が繊維の端点で消失や反射されるパターン、いくつかの屈曲が融合されるパターンがあった。他方、滑り運動していないアクチン繊維では、そのような屈曲伝播や屈曲パターンは生じなかった。

滑り運動しているアクチン繊維に沿った屈曲はミオシンの作用によって生じると考えられる。そこで、滑り運動しているアクチン繊維とミオシンとの作用の関係性を調べた。アクチン繊維とミオシンは同時に観察することができないため、アクチン繊維の高さからアクチン繊維とミオシンの作用を推定した。アクチン繊維の高さを推定するために、エバネッセント照明下で蛍光物質の輝度が全反射面から離れるに従って減衰する特性を利用した新しい測定法を開発した。この方法を用いて、1本のアクチン繊維のうち数箇所を蛍光標識し、ATP非存在下でミオシン上に置かれたアクチン繊維を観察した。その結果、アクチン繊維は、60~300nmの高さで上下に揺らいでいた。アクチン繊維の高さがミオシンヘッド

と同程度の低い位置にある場合、上下方向の揺らぎの大きさはミオシンヘッドの稼働域と同程度であった。これは、アクチン繊維が低い位置にあるとき、アクチン繊維がミオシンと作用していることを示す。そこで、滑り運動しているアクチン繊維の上下方向の変動を計測した。その結果、アクチン繊維は、ミオシンから離れた高い位置で上下方向に揺らぎながら、時々ミオシンヘッド近傍の低い位置へ下降する現象を繰り返しながら滑り運動していた。滑り運動しているアクチン繊維は部位によって異なる軌跡を描いた。しかしながら、アクチン繊維が低い位置にあるときには、その軌跡が重なる傾向にあった。これらの結果は、アクチン繊維がミオシンと間欠的に作用しながら滑り運動していることを示す。したがって、アクチン繊維の局所の屈曲はミオシンとの間欠的な作用によって生じると考えられる。

アクチン繊維の屈曲伝播の仕組みを明らかにするために、アクチン繊維をモデル化してシミュレーション実験を行った。このモデルは、ユニットがバネで結合されたシンプルな一次元弾性体モデルとした。その結果、以下の3つの条件が満たされたときに、滑り運動しているアクチン繊維で観察された屈曲伝播パターンと類似の構造が観察された。1)各ユニットへ外部作用が間欠的であり、外部作用に対する不応期があること。2)ユニット間の結合に非線形性があること。3)ユニット間の結合が弱いこと。これらの結果は、アクチン繊維について次のように対応する。1)アクチン繊維とミオシンの作用が間欠的であること。2)アクチンモノマーもしくはアクチンモノマー間の結合に非線形性があること。3)アクチンモノマー間の結合が弱く、アクチン繊維が柔軟であること。

これらの結果は、アクチン繊維が繊維に沿って屈曲を伝播することによってミオシンの作用をその内部で自己組織的に調節する仕組みを持つ可能性を示す。アクトミオシン系の運動では、一般にATPのエネルギーを抽出するミオシンが重要な役割を果たす。しかしながら、ミオシンからのエネルギーを協調する仕組みもまた運動には重要であり、アクチン繊維がその役割を果たすと考えられる。そして、その協調のためには柔軟な構造と内部調節の仕組みが必要であると考えられる。

#### 審査結果の要旨

本論文は、滑り運動するアクチン繊維の滑り運動を、申請者が新規開発した実験・計測法から得た実験データに基づいて構成論的視点から研究している。論文では、本研究で初めて可能になった、アクチン繊維滑り運動の鉛直変位計測による3次元的描像に基づき、アクチン繊維とミオシンの相互作用が間欠的であるという考察を得ている。さらに、アクチン繊維の屈曲伝播に対しては、局所的不安定化という複雑系科学的な観点からの解釈を試みている。

本論文内容の新規性は全審査員が認めるところであり、実験手法も含めて当該分野に寄

与するものと判断できる。予備審査時点に指摘された実験評価の論理展開は精緻な形に改善されている。

学位論文で示されている研究成果は、学術論文3編（掲載決定含む）、国際会議発表1件の形で公表されている。

本論文は、生物物理を対象とするシステム情報科学的視点からの研究として、システム情報科学の学位論文として十分な内容を備えている。したがって、審査の結果「合」と判定する。