

生物運動の制御基盤；化学力学フィードバックループ
Regulatory basis for biomotility: Chemo-mechanical
feedback loop

石渡 信一 (ISHIWATA SHIN'ICHI)

早稲田大学・理工学術院・教授



研究の概要

各種 Myosin とアクチン、キネシンと微小管の1分子相互作用様式や、多成分再構成系での細胞骨格動態を顕微解析。心筋自励振動(SPOC)現象の分子機構を理論構築と併せて解明。細胞分裂・染色体分配・紡錘体構造形成における力のバランス作用を検討。細胞機能への熱励起、細胞温度分布計測。生物運動階層構造に固有の CMF loop の分子様式を明らかに。

研究分野：生物物理学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：分子モーター、化学力学フィードバック、筋自励振動(SPOC)、細胞分裂

1. 研究開始当初の背景

我々は長年に亘って、階層性に着目した生物運動機能の研究を進めてきた。その過程で、1分子モーター(キネシン、ミオシンV、VI)の歩行運動における内部応力と酵素活性機能との化学力学カップリング(分子内シンクロ)の存在を明らかにした。一方、筋収縮系の自励振動(SPOC)現象は、相互作用ナノ空間のサイズを自ら制御し、それを機能にフィードバックするという自己組織メカニズムの存在を推測させるものであった。

2. 研究の目的

生物運動の典型例として細胞内物質輸送、筋収縮系自励振動、細胞分裂(染色体分配)に着目し、分子モーターや細胞骨格が生み出す力そのものが、輸送・振動・分裂という要素運動の制御に重要な役割を担っていることを明らかにする。すなわち、モータータンパク質系自身が生み出す力によるタンパク質(集合体)の歪みや、酵素反応ナノ空間の変動を自らの酵素活性にフィードバックして活用するという化学力学フィードバックループ(CMF loop)が、生物運動系の自律的制御機構として各階層ごとに存在すること、そして階層を貫く共通原理として存在することを示し、その多様な動態とメカニズムを解明する。また力に限らず、目に見えない物理的因子(とくに熱と温度)の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 1分子系の顕微操作・解析手法、分子間

結合様式や結合力の pN・nm 計測

- 2) 生物運動系の高次構造を、精製タンパク質や、既存の分子集合体、あるいは自己組織系を用いて自在に再構成する手法
- 3) SPOC などの振動現象の動的解析手法
- 4) 細胞や紡錘体にカンチレバーで力学パルスを加え、ガラス微小針で変形する顕微操作・解析手法
- 5) 現象を理解するための数理モデル化

4. これまでの成果

- 1) 一分子系
 - 1)-1: MCAK の新機能の発見
微小管を両端から脱重合する MCAK が、脱重合に伴って 1pN の力を発生する分子モーターであることを証明 (*Nat. Cell Biol.*発表)。
 - 1)-2: Formin の機能の1分子解析
アクチンフィラメントの B 端に結合して重合を促進する Formin の機能を1分子解析。アクチン分子が1分子ずつ成長する過程を定量的に捉えることに成功(論文準備中)。
- 2) 分子集合体・再構成系
人工細胞系(油中微小液滴、リポソーム)内で細胞骨格形成とダイナミクスを研究するための基盤技術の創出(論文準備中)。
- 3) 筋収縮系
 - 3)-1: SPOC メカニズム
SPOC の基本的振動波形と状態図を再現するユニットモデルを構築し (*Prog. Biophys. Mol. Biol.*発表)、SPOC に関するレビューを

発表(同上)。さらに、筋原線維にみられる各種 SPOC 波パターンを再現できる連結モデルを構築した上で、非線型現象の理論家と協力して、一つの位相方程式にまとめ、SPOC の数理的構造を明確にした(論文投稿中)。

3)-2: 幼若心筋細胞系

電気刺激による振動パターンと、細胞膜の Ca 透過性を上げたモデル細胞の SPOC パターンの類似性を発見(論文投稿直前)。

3)-3: ヒト拡張型心筋症

トロポニン I の変異による病態心筋の SPOC 特性が、正常トロポニンに置換することで、正常型になることを証明(論文準備中)。

4) 紡錘体、細胞分裂系

4)-1: 自己組織紡錘体のマイクロ粘弾性
紡錘体内部の粘弾性特性が Zener 型であることを証明(*Cell* 発表)。紡錘体の全体形状の粘弾性特性も、基本的に Zener 型の組み合わせで理解できた(論文投稿直前)。

4)-2: HeLa 細胞における染色体分配への外力パルスの作用

M 期にある HeLa 細胞の染色体分配のタイミングが、染色体間に加わっている張力を一瞬増強する力学パルスの印加によって早まる一方、緩めると遅くなることを発見。化学的制御過程との関係を説明(*PNAS* 発表)。

5) 細胞の温度分布と熱パルス作用

5)-1: 細胞機能への熱パルスの作用

心筋細胞に熱パルスを与えると、Ca 放出なしで局所的に収縮するという、新しい興奮過程を発見(*BBRC* 発表)。さらに、温度の蛍光強度イメージングが可能なナノビーズを合成し、細胞内に取り込まれた後、方向性運動を確認。これに局所熱パルスを与えると、温度に応じた運動速度の上昇がみられた。「歩くナノ温度計」と命名(*Lab Chip* 発表)。

5)-2: 細胞の温度分布イメージング

1 細胞内の温度分布をイメージングするために合成した、熱だけに応答するナノ温度計を活用し、イオノマイシン刺激に対する細胞内温度変化をイメージング。さらに、ナノ温度計をレシオ型に改良することによって、絶対温度の計測を実現(論文投稿中)。

5. 今後の計画

1) 分子モーターの歩行運動機構、細胞骨格の重合・脱重合と分子構造変化動態。

2) 人工リポソーム内にアクトミオシン系や微小管系、そして紡錘体の自己組織系を封入し、ミクロスぺース内における細胞骨格系の動的構造形成・機能発現や細胞分裂を再現し、1 分子系と高次構造系を CMF loop で繋ぐ。

3) 2 (3) 次元心筋収縮系に見られる自励振動(SPOC)現象のメカニズム(制御基盤)を解明するためのモデル構築と、心筋細胞・幼若細胞、動物内心臓の振動特性の解析から、

SPOC の生理的意義を明らかにする。

4) 紡錘体の形態形成のメカニズムの解明。対称構造の安定性、マイクロ力学・粘弾性特性などの顕微解析。

5) 細胞分裂機構、特に細胞内における染色体分配機構における CMF loop の役割の解明。細胞分裂の力学応答性と多彩な化学過程との連携を定量解析。

6) 細胞熱力学・熱細胞生物学の樹立に向け、高感度レシオ型ナノ温度計を開発し細胞応用。特に、熱励起・温度勾配による心筋細胞の新規拍動現象の誘起や、紡錘体形成の制御、細胞機能と細胞内温度分布のイメージングを実現。細胞生物学に新たなページを拓く。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- 1) Itabashi, T., Terada, Y., Kuwana, K., Kan, T., Shimoyama, I. and Ishiwata, S. "Mechanical impulses can control metaphase progression in a mammalian cell." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 7320-7325. (2012).
- 2) Oyama, K., Takabayashi, M., Takei, Y., Arai, S., Takeoka, S., Ishiwata, S., and Suzuki, M. "Walking nanothermometers: Spatiotemporal temperature measurement of transported acidic organelles in single living cells." *Lab Chip* **12(9)**, 1591-1593. (2012).
- 3) Shimamoto, Y., Maeda, Y., Ishiwata, S., Libchaber, A. J., and Kapoor, T. M. "Insights into the micro-mechanical properties of the metaphase spindle." *Cell* **145**, 1062-1074. (2011).
- 4) Oguchi, Y., Uchimura, S., Ohki, T., Mikhailenko, S. V., and Ishiwata, S. "The bidirectional depolymerizer MCAK generates force by disassembling both microtubule ends." *Nat. Cell Biol.* **13**, 846-852. (2011).
- 5) Sato, K., Ohtaki, M., Shimamoto, Y., and Ishiwata, S. "A theory on auto-oscillation and contraction in striated muscle." *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **105**, 199-207. (2011).
- 6) Ishiwata, S., Shimamoto, Y., and Fukuda, N. "Contractile system of muscle as an auto-oscillator." *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **105**, 187-198. (2011).

[受賞]

文部科学省文部科学大臣表彰(研究部門)
2012年4月

[ホームページ等]

<http://www.ishiwata.phys.waseda.ac.jp/>