

## A03 ゆらぎを伴う細胞内情報伝達機構の統合的理解

大阪大学 大学院生命機能研究科 石島 秋彦

原核生物の細胞内情報伝達は一般的に拡散によるものと認識されているが、単純な拡散では情報伝達の役割を担うことができず、シグナル伝達分子の発生・効率的な回収など行った統合的な制御が必要となる。さらに、分子数のゆらぎがどのように情報伝達の精度に影響するか、といった本質的な問題に関してはほとんど解明できていない。本研究は、ゆらぎを伴う細胞内情報伝達機構を統合的に明らかにすることを目的として、複数の計測手法(イメージング、物理計測)を統合した手法により、明らかにする。真核生物においてはさらに複雑な反応・拡散による情報伝達が行われていると考えられているが、よりシンプルな原核生物の情報伝達機構を明らかにすることにより、生命科学全体における情報伝達の定量的な理解が深まるものと期待できる。

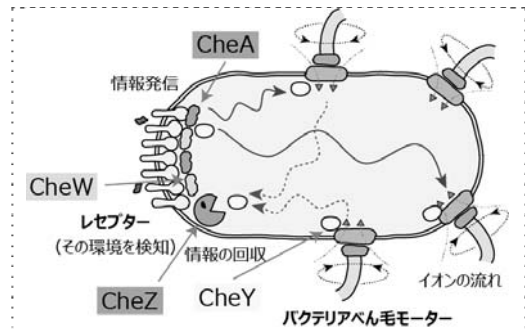


図1. バクテリア内情報伝達機構

我々の研究室では、大腸菌 1 細胞の走化性応答を高時間・空間分解能での計測、走化性タンパク質の細胞内動態の計測を行っており、ミリ秒で起こる細胞応答や細胞内のタンパク質の結合・解離や酵素活性の定量的な解析から、細胞内の情報伝達のメカニズムを生物物理学的観点から理解しようと考えている。走化性システムの最終的な出力はべん毛モーターの回転方向であり、短くしたべん毛繊維に付着させた微小ビーズ(直径 0.5 - 1  $\mu\text{m}$ ) の回転をフォトダイオードや高速度カメラを用いること

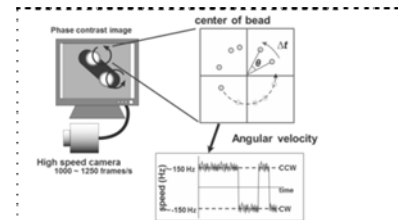


図2. 複数べん毛モーターの同時計測システム

ことで、細胞応答の高時間・空間分解能計測が可能となる (Sowa 2005, Terasawa 2011)。最近の研究で、外部刺激の無い環境において、同一細胞上の複数のべん毛モーターの回転方向転換を同時に計測し、1) 同一細胞上のべん毛モーター同士の回転方向転換が同調すること、2) 2つのモーターの回転方向転換にレセプターの位置を基準とした時間差があることを明らかにした (Terasawa

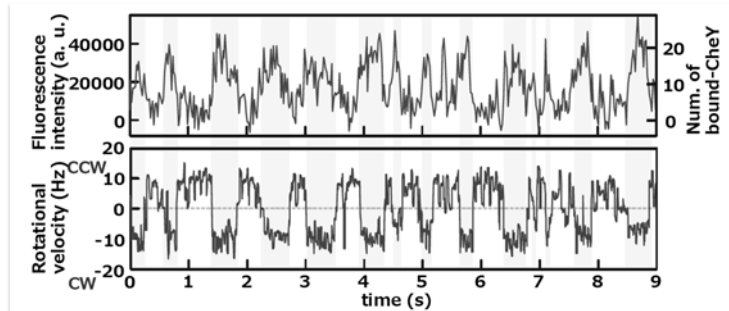


図3. モーター基体へのシグナル分子の結合・解離と回転の同時計測 (上:回転, 下:蛍光強度)

2011)。また、緑色蛍光タンパク質 (GFP) を利用することで情報伝達タンパク質 (CheY) の可視化に成功し、リン酸化 CheY (CheY-P) の結合・解離がモーターの回転方向転換を起すことを『細胞内の機能的な単一モーター』で証明した (Fukuoka 2014)。これらの実験事実から、我々は、細胞内の情報伝達が CheY-P 濃度のゆらぎに起因する確率論的なものではなく、受容体から発せられた CheY-P 濃度のダイナミックな増減が細胞内を伝搬し直接べん毛モーターを制御するという従来とは全く異なるモデルを提言した。即ち、大腸菌は外部刺激が無いからといって走化性システムを休ませている訳ではなく、自発的にレセプターを活性化/不活性化させ、CheY-P 濃度のダイナミックな増減を産み出し、べん毛モーターの回転方向を変えて細胞遊泳を制御していることになる。これは、外界の刺激がない状態においても、常によりよい環境を探索するという観点からも理にかなっている。

しかしながら、前述のように、細胞極には 10,000 分子以上レセプターが存在し、それらが全

くランダムかつ確率的に活性化した場合、細胞内の CheY-P 濃度の増減はおこらず、ある値に平均化されてしまうはずですので、上述のような CheY-P 濃度のダイナミックな増減を生み出すためには、10,000 分子以上が集まったレセプターがレセプタークラスター内部の協同性によってあたかも巨大な少数の分子のように振る舞う（1 分子のレセプターの活性化および不活性化が 10,000 分子のレセプター全てに伝搬する）ことが想像される。このことは多数分子のクラスタリングによる新たな機能発現という観点からも非常に興味深い問題である。我々はシミュレーションによる化学物質の振る舞いを明らかにした。基本的には拡散運動によるシミュレーションであるが、細胞内・間においては高い協同性が指摘されている。我々は受容体の高い協同性に着目し、受容体の単純な 4 状態モデルに隣接する受容体の協同性を加えたモデルを構築し、その活性化の動態シミュレーションを行ったところ、パッチ状の活性化状態の出現を実現することができた。さらにこのモデルの最適化を図り、受容体のごく一部の受容体の集合を刺激した場合の応答などを計算し、実際の実験結果との比較を行う。さらに、真核細胞の細胞外微粒子による応答をシミュレーションで実現し細胞上における受容体の協同性などを明らかにする。

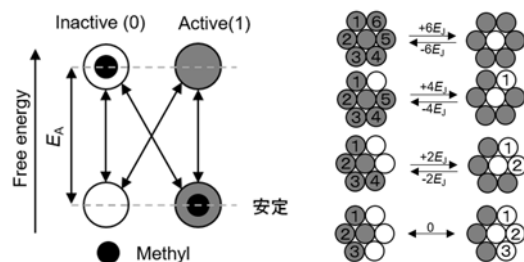


図 4. a) 4 状態モデル. b) 協同性モデル. ○:不活性, ●:活性, ●:メチル化. 各 4 状態にはそれぞれのエネルギー状態, 速度定数が存在する. 周囲の 6 つ (もしくは 3 つ) の状態に応じて速度定数が変化する

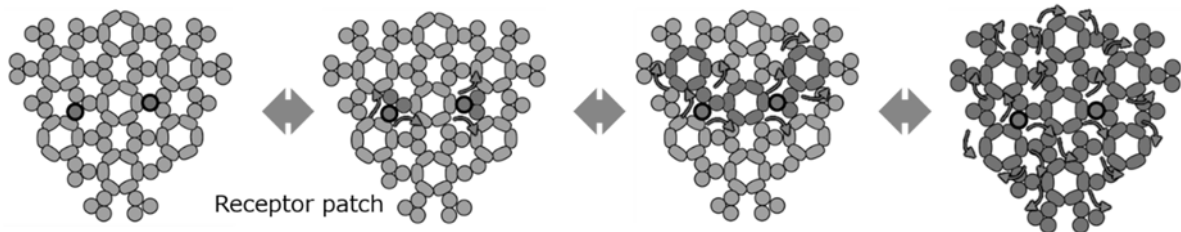


図 5. 受容体クラスターの応答. 約 2 万個存在する受容体においてシグナルが周囲に伝搬し、高い協同性を示す。

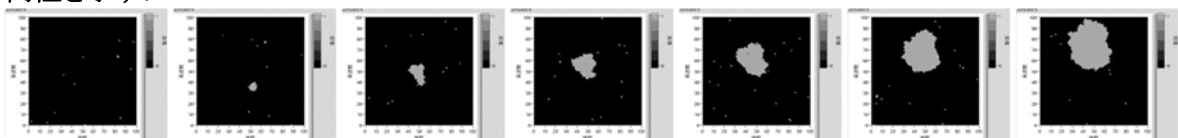


図 6. シミュレーションモデル. 黒が不活性, グレーが活性. 時間とともに中央にグレーのブロックが大きくなっている様子がわかる. このように、活性状態, および不活性状態が高い協同性を持って広がっていくことがわかる。

- (1) Sowa, Y., Rowe, A., Leake, M., Yakushi, T., Homma, M., Ishijima, A., and Berry, R. (2005). Direct observation of steps in rotation of the bacterial flagellar motor. *Nature* 437, 916-919.
- (2) Shun Terasawa, Hajime Fukuoka, Yuichi Inoue, Takashi Sagawa, Hiroto Takahashi and Akihiko Ishijima, (2011). Coordinated Reversal of Flagellar Motors on a Single *Escherichia coli* Cell, *Biophysical Journal*, 100, 2193-2200.
- (3) Hajime Fukuoka, Takashi Sagawa, Yuichi Inoue, Hiroto Takahashi, and Akihiko Ishijima. Direct Imaging of Intracellular Signaling Components That Regulate Bacterial Chemotaxis. *Science Signaling*, 319, ra32, (2014)