

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、細胞内を波のように移動すること(Min 波)により決定される(図 1A-C)。Min 波が生じる分子メカニズムは反応拡散モデルで説明できることを示されてきた[1]。本研究では、Min 波を人工的な細胞空間(細胞サイズスケールの脂質膜で覆われた油中水滴内)で再現し、その物理特性を解析することで、細胞内における反応拡散波の物理を明らかにすることを目的とした。

本研究の開始までに、バルクである二次元平面膜上と異なり、大腸菌の極性脂質で覆われた油中水滴内(以下、人工細胞空間内)では MinD と MinE の添加だけでは Min 波が生じないこと、高分子混雑剤として入れた BSA によってはじめて Min 波が発生することを示していた(図 1D)。そこで、①人工細胞空間の特性変化が Min 波に与える影響の解析、②人工細胞空間内での Min 波出現に BSA 添加が必要である理由を物理化学的な解析により、反応拡散波における空間作用と細胞スケール閉鎖空間内における Min 波創発条件を解明した。

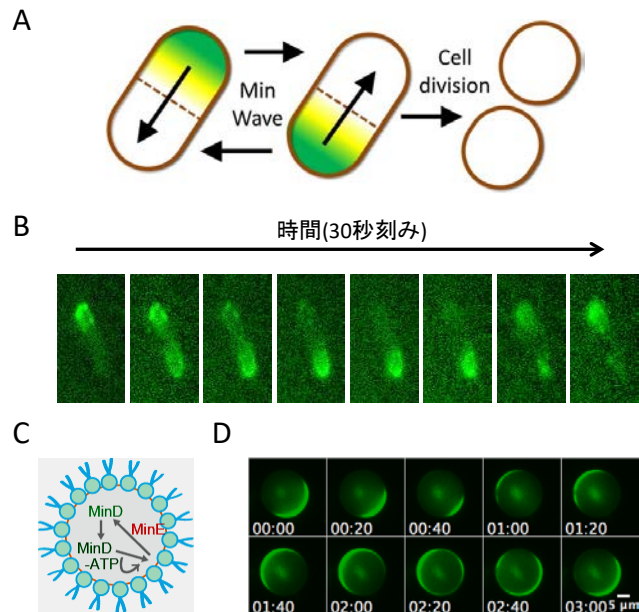


図 1. Min システムの概要

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 μm)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

人工細胞空間の特性が Min 波に与える影響の解析

細胞サイズ閉鎖空間では、①空間サイズそのものが微小である影響と、②体積あたりの膜面比が非常に高く細胞膜の効果が顕著に表れる、という特徴がある。そこで細胞サイズ空間やイオン環境が波の発生に与える影響の解析を行った。

① 空間サイズの影響

Min 波の波長は 80 μm 程度であり、数十 μm 直径の人工細胞空間では波が 1 つしか存在できない。このような単一の波はバルク環境では現れないため、細胞サイズ閉鎖空間の反応拡散波に特有の物理的特徴が顕著に表れるのではないかと仮説をたて、10-1000 μm 直径の人工細胞をランダムに選択し、単一波の形状や速度を解析した。結果、40 μm 直径以下の細胞サイズ空間では単一波が存在し、その形状や速度は空間サイズでスケールすると一定の値となった。この特徴は波が 2 つ以上現れる人工細胞サイズでは消失し、空間サイズにかかわらず一定の形状や速度が観察された。このことから、球面の閉鎖空間内では境界が周

期的条件であるため、波の強め合いや打ち消し合いにより空間サイズで相似化された形状や速度となることが示唆された。共同研究者の義永氏(東北大学、A03 公募班)との共同研究による理論的検討の結果、波の不安定性において、半球状の形状が選択されることが示唆された。また、速度の空間相似性に関しては、モデルの標準形を仮定した場合に定数として現れることが要因である可能性が示唆された。

② 細胞膜の影響

Min 波の性質(形状や速度)はイオン環境により大きく変化する[2]。例として、平面膜においてはカリウム濃度が高いほど Min 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。そこで様々なカリウム濃度における人工細胞内での Min 波の性質を解析したところ、平面膜と異なりカリウム濃度による影響が小さくなることが示された。

脂質の電荷に関しては、ごく最近、脂質組成を調整することで BSA が存在しない場合にも Min 波が観察されることが報告された[3]。しかし同様の実験を行ったところ、波の発生率は脂質組成に対して非常にシビアであることが示された。実際に、MinDE の濃度変化に対する波の創発領域は、バルクと比較して非常に狭い領域であることが明らかになった。

さらに、単一波出現の初期段階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。この変化は、共同研究者の義永氏による理論解析により、ノイズに由来でなく球形空間に Min 因子群を閉じ込めた場合に生じる特異的な現象であることが示唆された。

人工細胞空間内での Min 波出現に BSA が理由の物理化学的な解析

MinDE の反応、拡散に関して検討した結果、平面膜では膜近傍と遠方における MinE の濃度比がわずかであるのに対し、人工細胞内ではこの比が上昇することが明らかになった。この比は細胞サイズと相関した。一方、BSA の添加により、MinE の自発的な膜局在は観察されず、ほぼすべてが細胞質部分に存在することが明らかになった。現在までに行われてきたほぼすべての Min 波の理論解析において、MinE は自発的には膜に局在しない、と仮定されてきたが、モデルに MinE の自発局在を入れると Min 波が発生しづらくなることが示唆された。遺伝学的に知られている MinE の変異体を用いた人工細胞系での解析から、この結論を裏付けることができた。我々の結果から、細胞スケール閉鎖空間内における反応拡散波の発生には、MinE の自発的膜局在の調整のように、膜面積体積比の変化に現れる存在比の調整因子が重要であることが示唆された。

参考文献

- (1) M. Loose, *et al.*, *Science*, **320**, 789–792 (2008)
- (2) A.G. Vecchiarelli, M. Li, M. Mizuuchi, K. Mizuuchi. *Mol. Microbiol.*, **93**, 453-463 (2014)
- (3) K. Zieske, G. Chwastek, P. Schwille. *Angew. Chemie*, **128**, 13653–13657 (2016).