



A lattice polymerization model and an effective kinetic model for the dynamics of cytoskeletal filaments

古田, 忠臣

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2003-09-30

(Date of Publication)

2008-10-16

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2917

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002917>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 260 】

氏 名・（本 籍） 古田 忠臣 （ 岡山県 ）

博士の専攻分野の名称 博士（理学）

学 位 記 番 号 博い第230号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成15年9月30日

【 学位論文題目 】

A lattice polymerization model and an effective kinetic
model for the dynamics of cytoskeletal filaments
(細胞骨格フィラメント・ダイナミクスの格子重合モデル)

審 査 委 員

主 査	教 授	蛭 名	邦 禎
	教 授	中 川	和 道
	教 授	和 田	修
	教 授	郡 司	幸 夫
	教 授	尼 川	大 作
	助教授	高 田	彰 二

生命現象を成り立たせている物質機能を解明するには、様々な階層において、生物の諸過程について、実験事実を積み重ねていくと同時に、その物理的・化学的なメカニズムに関する理論的な研究が必要である。特に、細胞内の諸過程については、近年、新たな実験技術の進展とともに諸事実が明らかになってきている。個々の事実を説明するために種々のモデルが提示され理解が進んできている。それを統一的に理解するためには、細胞内諸現象を統合する数学的なモデルを作り、生物学的な事実と物理的・化学的な基本原理との間をつなぐ必要がある。

全ての生物は細胞から出来ている。生物細胞をひとつのシステムと捉えたと、それは、(i) 情報蓄積システム (DNA, RNA 等からなる), (ii) 境界システム (生体膜や膜タンパク等からなる), (iii) 燃料製造システム (ミトコンドリア等からなる), (iv) 物質製造システム (リボソーム等からなる), (v) ネットワークシステム、の5つのサブシステムからなる。このうち、ネットワーク・サブシステム (v) は、細胞骨格や中心体からなり、細胞を構造的に支えるとともに、物質移動の仲立ちとなるなど、細胞が機能を果たすためのインフラストラクチャーとして重要な役割を果たしている。その中で、細胞骨格は、微小管、アクチンフィラメント、中間径フィラメントからなり、タンパク質であるサブユニットが、必要に応じて線状に重合して形成され、状況に応じて再びタンパク質のサブユニット単位に解離する。近年の細胞内および試験管中での観察技術の進展により、一方の端で重合が進みながら他方の端で解離が進むトレッドミル現象や、自発的かつ特異的に伸縮を繰り返す動的不安定性と呼ばれる現象の存在が明らかになってきた。

この論文の目的は、細胞骨格を扱うために、最小限の要素からなるできるだけ簡単なモデルを構築し、それによって細胞骨格について明らかになってきた諸現象を統一的に理解する基礎を築くことである。従来このような現象は、質量作用の法則に基づく反応速度論による説明がなされてきたが、現象ごとに導入されたパラメータ間に矛盾が生じる場合も起こっている。通常の反応速度論は一種の平均場近似であり、細胞内物質分布の空間的な揺らぎなどの効果を取り扱うことができないという問題点もある。一方、重合によって1 μm にも達する構築物を、原子のハミルトニアンから第一原理から取り扱うことは現状では不可能である。この論文では、折り畳まれて球状になったタンパク質を1つの粒子とみなし、それが空間内を運動したり重合したりすると考え、そこに最小限どのような要素を導入すれば、現在実験的に得られている諸現象を統一的に理解できるかを検討し、そのために道具として使える重合と離脱の格子モデルを提案している。そのモデルに基づいたシミュレーションの結果の分析と、その解析に用いるために導入された有効反応速度論モデルを用いて、その範囲で、現実の生物細胞内の現象がどこまで理解できるかを議論している。

論文は6章からなっており、第1章では、これまで実験的に集積された細胞骨格についての諸事実を、著者の観点から整理し、分析している。また、細胞骨格の集積・解離に関するこれまでの反応速度論的な理論のレビューを行い、分析している。とくに、1960年代に行われた F. Oosawa らの反応速度論に基づく先駆的な仕事の重要性を議論している。

第2章では、第1章での分析を通じて、著者が考案した格子モデルを構築し、提示している。ここでは、運動の最小単位の「粒子」として、単量体もしくは2量体の球状タンパク質をとりあげる。著者は、この粒子に対して (a) 熱運動による空間内でのランダムな運動、(b) 粒子間の着脱を支配する短距離相互作用、(c) 内部状態の変化、の3要素が、細胞骨格の重合・離脱によ

る伸長と収縮のダイナミクスにとって重要な要素であるとし、格子モデルの中にこれらの要素を組み込む方法を提案している。(a) については、格子シミュレーションでよく行われる、排除体積効果をもつランダムウォークとして扱うことで実現する。(b) については、粒子同士が最近接位置に来たときのみ重合の確率を導入する。また、離脱に関しては、重合体の長さがある閾値以上になると離脱確率が小さくなると設定することで、Oosawaが論じた閾値の重要性を取り扱うようにする。(c) については、タンパクに付着したGDP(もしくはADP)とGTP(もしくはATP)の変換に対応した内部状態の変化を組み込む方法を提案している。

第3章では、上述の内部状態変化(c)がない場合について、従来の反応速度論モデルをどう改良して扱えばよいかを議論し、新たな有効反応速度論モデルを提案している。そこで、閾値の導入の必要性と、粒子数保存の条件を明示的に扱うことの重要性を議論している。

第4章では、粒子の内部自由度がない場合に限定して、格子重合モデルの振る舞いが、モデルのパラメータにどう依存するかについて、シミュレーションを用いて議論した。種々のパラメータ領域に対して、どのような特徴的な振る舞いが見られるかを解析し、実験事実との比較・分析を行っている。重合体の伸長速度や収縮速度の濃度依存性、重合開始時における重合体の長さの分布関数の時間変化、平均長の時間依存性などについて議論し、実験における特徴的な振る舞いが定性的に理解できることを示している。また、最近のアクチンフィラメントにおける実験で、通常の反応速度論的な解釈では、重合開始フェーズと定常フェーズとで、反応速度定数に矛盾がおこる問題があったが、粒子数保存と閾値の存在を正しく扱った有効反応速度論モデルによって、その矛盾が解消されることを指摘している。この閾値と粒子数保存を正しく扱った場合、重合体の長さの分布関数は、線形重合の通常の反応速度論モデルから予測される単純な指数関数的な減衰とはならず、有限の長さの位置にピークが現れることを見出している。

第5章では、粒子に内部自由度のある場合を扱い、格子重合モデルによるシミュレーションを行うことによって、種々の現象を解析した。まず、細胞骨格で実験的に観測されている「動的不安定性」という現象が、この論文で提案している格子重合モデルによって再現されることが示されている。線状重合体の平均伸長速度が、粒子の濃度にどう依存するかを明らかにし、臨界重合濃度が存在することを議論している。次に、この臨界重合濃度付近で、特定の線状重合体の長さの時系列データをシミュレーションから抽出し、その分析を行い、長さを変数とする単純な1次元の拡散モデルとは異なり、分布に微細構造があることや、その分布の幅が時間間隔の1/2乗ではなく1乗に近い依存性を持つことを示している。

第6章は、全体のまとめと今後の展望である。

最後に、細胞骨格フィラメント・ダイナミクスの格子重合モデルは、現在のところ、まだ多少人工的なモデルではあるが、細胞骨格の重合に関して上に述べたように、細胞骨格フィラメントの重合の様々な特徴を理解するための大変有用なモデルである。また、このモデルは、細胞内過程である細胞骨格ダイナミクスに関する最近の種々の新知見を、これまでの個別の現象の理解を超えて、統合的に理解する為の重要な手段である。そして、長さの閾値をもつ有効反応速度論モデルは、大沢らが述べた、細胞骨格重合における核形成の重要性を再認識する上でも重要なモデルとなっている。さらに、将来期待される細胞のシミュレーションにおいて、この本質的な物理的要素を含んだ格子重合モデルは、細胞内過程で重要な空間的な効果を取り入れている点からも、重要な意味を持つであろう。

氏名	古田 忠臣		
論文 題目	A lattice polymerization model and an effective kinetic model for the dynamics of cytoskeletal filaments (細胞骨格フィラメント・ダイナミクスの格子重合モデルと有効反応速度論モデル)		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教 授	蛸 名 邦 禎
	副 査	教 授	中 川 和 道
	副 査	教 授	和 田 修
	副 査	教 授	郡 司 幸 夫
	副 査	教 授	尼 川 大 作
	副 査	助教授	高 田 彰 二

要 旨

生命現象を成り立たせている物質機能を解明するには、生物の諸過程について、実験事実を積み重ねていくと同時に、その物理的・化学的なメカニズムに関する理論的な研究も必要となる。特に、細胞内の諸過程については、近年、新たな実験技術の進展とともに諸事実が明らかになってきている。個々の事実を説明するために種々のモデルが提示され理解が進んできている。それを統一的に理解するためには、細胞内諸現象を統合する数学的なモデルを作り、生物学的な事実と物理的・化学的な基本原理との間をつなぐ必要がある。生物においては、その構造上の階層構造が知られているが、そこに現れる法則性にどのような階層構造があり、ある階層における法則と他の階層における法則の間にはどのような関連があるかを解明していくことが重要である。学位申請者は、この中でも、生物細胞における高分子(タンパク質)と、細胞の機能との間に着目し、その中でも、タンパク質の特性とその集合体である細胞骨格の振る舞いとの間を結ぶ階層間問題を取り扱っている。

生物細胞をひとつのシステムと捉えたと、それは(申請者の表現に従うと)、(i) 境界サブシステム(生体膜や膜タンパク等からなる)、(ii) 情報蓄積サブシステム (DNA, RNA 等からなる)、(iii) 燃料製造サブシステム(ミトコンドリア等からなる)、(iv) 物質製造サブシステム(リボソーム等からなる)、(v) ネットワークサブシステム、の5つのサブシステムからなる。このうち、ネットワークサブシステム (v) は、細胞骨格や中心体からなり、細胞を構造的に支えるとともに、物質移動の仲立ちとなるなど、細胞が機能を果たすためのインフラストラクチャーとして重要な役割を果たしている。その中で、細胞骨格は、微小管、アクチンフィラメント、中間径フィラメントからなり、タンパク質であるサブユニットが、必要に応じて線状に重合して形成され、状況に応じて再びタンパク質のサブユニット単位に解離する。近年の細胞内および試験管中での観察技術の進展により、一方の端で重合が進みながら他方の端で解離が進むトレッドミル現象や、自発的かつ特異的に伸縮を繰り返す動的不安定性と呼ばれる現象の存在が明らかになってきた。

この論文の目的は、細胞骨格を扱うために、最小限の要素からなるできるだけ簡単なモデルを構築し、それによって細胞骨格について明らかになってきた諸現象を統一的に理解する基礎を築くことである。従来このような現象は、質量作用の法則に基づく反応速度論による説明がなされてきたが、現象ごとに導入されたパラメータ間に矛盾が生じる場合も起こっている。通常の反応速度論は一種の平均場近似であり、細胞内物質分布の空間的な揺らぎなどの効果を取り扱うことができないという問題点もある。一方、重合によって 1 μ m にも達する構築物を、原子のハミルトニアンから第一原理によって取り扱うことは現状では不可能である。この論文では、折り畳まれて球状になったタンパク質を1つの粒子とみなし、それが空間内を運動したり重合したりすると考え、そこに最小限どのような要素を導入すれば、現在実験的に得られている諸現象を統一的に理解できるかを検討し、そのために道具として使える重合と離脱の格子モデルを提案している。そのモデルに基づいたシミュレーションの結果の分析と、その解析に用いるために導入された有効反応速度論モデルを用いて、その範囲で、現実の生物細胞内の現象がどこまで理解できるかを議論している。

論文は6章からなっており、第1章では、まず、物理学的な観点から細胞を概観し、それに続いて、これまで実験的に集積された細胞骨格についての諸事実を、著者の観点から整理し、分析している。また、細胞骨格の集積・解離に関するこれまでの反応速度論的な理論のレビューを行い、分析している。とくに、1960年代に行われた F. Oosawa らの反応速度論に基づく先駆的な仕事の重要性を議論している。

氏名	古田 忠臣
第2章では、第1章での分析の結果を受けて、個々のタンパク質を単位として細胞骨格ダイナミクスを記述するには、どのような要素が必要かについて検討し、それに基づいて新たな格子モデルを構築し、提示している。ここでは、運動の最小単位の「粒子」として、単量体もしくは2量体の球状タンパク質をとりあげる。著者は、この粒子に対して (a) 熱運動による空間内でのランダムな運動、(b) 粒子間の着脱を支配する短距離相互作用、(c) 内部状態の変化、の3要素が、細胞骨格の重合・離脱による伸長と収縮のダイナミクスにとって重要な要素であるとし、格子モデルの中にこれらの要素を組み込む方法を提案している。(a) については、格子シミュレーションでよく行われる、排除体積効果をもつランダムウォークとして扱うことで実現する。(b) については、粒子同士が最近接位置に来たときのみ重合の確率を導入する。また、離脱に関しては、重合体の長さがある閾値以上になると離脱確率が小さくなると設定することで、Oosawa が論じた閾値の重要性が取り扱えるようにモデル化する。(c) については、タンパクに付着した GDP と GTP (もしくは ADP と ATP) の変換に対応した内部状態の変化を組み込む方法を提案している。 第3章では、上述の内部状態変化 (c) がない場合について、従来の反応速度論モデルをどう改良して扱えばよいかを議論し、新たな有効反応速度論モデルを提案している。そこで、閾値の導入の必要性和、粒子数保存の条件を明示的に扱うことの重要性を議論している。ここまでが、モデルの構築と提案である。	

第4章、第5章では、ここで提案された格子重合モデルと有効反応速度論モデルに基づいたシミュレーションの結果を提示し、そこから得られる知見について議論している。

第4章では、粒子の内部自由度がない場合に限定して、格子重合モデルの振る舞いが、モデルのパラメータにどう依存するかについて、シミュレーションを用いて議論した。種々のパラメータ領域に対して、どのような特徴的な振る舞いが見られるかを解析し、実験事実との比較・分析を行っている。重合体の伸長速度や収縮速度の濃度依存性、重合開始時における重合体の長さの分布関数の時間変化、平均長の時間依存性などについて議論し、実験における特徴的な振る舞いが定性的に理解できることを示している。また、最近のアクチンフィラメントにおける実験で、通常の反応速度論的な解釈では、重合開始フェーズと定常フェーズとで、反応速度定数に矛盾がおこる問題があったが、粒子数保存と閾値の存在を正しく扱った有効反応速度論モデルによって、その矛盾が解消されることを指摘している。この閾値と粒子数保存を正しく扱った場合、重合体の長さの分布関数は、線形重合の通常の反応速度論モデルから予測される単純な指数関数的な減衰とはならず、有限の長さの位置にピークが現れることを見出している。

第5章では、粒子に内部自由度のある場合を扱い、格子重合モデルによるシミュレーションを行うことによって、種々の現象を解析した。まず、細胞骨格で実験的に観測されている「動的不安定性」という現象が、この論文で提案している格子重合モデルによって再現されることが示されている。線状重合体の平均伸長速度が、粒子の濃度にどう依存するかを明らかにし、臨界重合濃度が存在することを議論している。次に、この臨界重合濃度付近で、特定の線状重合体の長さの時系列データをシミュレーションから抽出し、その分析を行い、長さを変数とする単純な1次元の拡散モデルとは異なり、分布に微細構造があることや、その分布の幅が時間間隔の1/2乗ではなく1乗に近い依存性を持つことを示している。

第6章は、全体のまとめと今後の展望である。

以上、この論文では、生命現象を成り立たせている基本的な細胞内過程のうち、細胞内ネットワークシステムの要素である細胞骨格について、その物質機能としてのメカニズムを理解するための簡単なモデルを提案し、それに基づいたシミュレーションとその解析を通じて、これまで個別的で矛盾を含んでいた実験結果の解釈を統一的に理解できる可能性を提示した。まだ整合的に十分に諸実験事実が説明できているわけではないが、その方向への一歩を示したと言える。生物の世界では、原子・分子のミクロな物理的な現象の理解と、マクロな生物の生命としての振る舞いとの間に、どのような橋をかけて理解するかが重要な課題となっている。本論文では、この領域での理論的な研究のためのひとつの道具を新たに提供し、この分野の研究の進展に対して貢献していると考えられる。今後、このモデルや、これをさらに改良したモデルを用いて、生命現象のより本質的な理解のための研究へと進んでいくことが期待される。

このように、本研究は、生物細胞内における細胞骨格のダイナミクスについて、物理学的な立場から理論的に研究したものであり、細胞内現象の統計物理的な側面について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、学位申請者古田忠臣は、博士(理学)の学位を得る資格があると認める。