

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H01875

研究課題名（和文）細胞サイズ空間における時空間パターン形成の物理：再構成実験と理論モデルによる解明

研究課題名（英文）Elucidation of physics underlying spatiotemporal pattern formation in cell size spaces

研究代表者

藤原 慶 (Fujiwara, Kei)

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・准教授

研究者番号：20580989

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：細胞内の分子位置は反応拡散波と呼ばれる物理的現象によっても決定される。しかし、細胞内における反応拡散波の解析は物理的にも困難であり、モデル実験による検証が必須であった。本研究では、人工細胞の中で反応拡散波を発生させる系を利用し、細胞内の反応拡散波が示す特徴とその原理について追及した。本研究により、反応拡散波が空間サイズに応じて自身の形状を調節する特徴や、波の動きを制御するメカニズムを導くことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、従来大きな空間での振る舞いのみが解析されてきた反応拡散波が、細胞のような小さな空間でどのような性質を示すか、が導かれた。この成果は生物の細胞において分子の配置がどのように決定するか、という理学的な知見だけでなく、細胞サイズの空間をどのように制御するかという材料科学・工学的に重要な知見ももたらす。将来的にはナノ・マイクロ空間における自在な分子配置につながり、生命から医薬・化学品の創成原理まで広く波及することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Nonlinear waves generated by reaction-diffusion coupling (reaction-diffusion wave) is a mechanism underlying molecular placement within cell. However, analysis of reaction-diffusion waves in cell-size space is challenging due to its complexity, and therefore, verification by model experiments was needed. In this study, we used a system that generates reaction-diffusion waves in artificial cells and investigated the characteristics and principles of reaction-diffusion waves in cell-size space. Through the 3-year research, We elucidated the characteristics of the reaction-diffusion wave adjusting its shape according to the spatial size and the mechanism controlling the motion of the wave.

研究分野：合成生物学

キーワード：生物物理 合成生物学 ソフトマター物理学 人工細胞 反応拡散系

1. 研究開始当初の背景

生物には、反応拡散系が決定するパターンが数多く存在する。例えば、生物の縞模様は細胞間の物質伝達を介したチューリングパターンにより説明できることが知られている。細胞内においても反応拡散系は存在し、中でも細胞内反応拡散波 (intracellular reaction-diffusion, iRD) は、分裂面や運動方向の決定に関わるなど、細胞における時空間情報の決定において重要な役割を担っている。しかし、iRD はその非線形性から通常の生物学的手法では動態の解析が困難であり、物理的観点からの理解が不可欠である。

反応拡散系における iRD の特徴は、閉鎖性と、細胞サイズである 1-100 μm と同じオーダーの波長である。それゆえ、cm スケールの開放系に現れる BZ 波や縞模様形成機構と異なり、iRD では波数の離散化や、波の衝突による消滅などの影響が顕在化し、系の動態がバルクと全く異なった転移を示す。iRD の性質を説明するために多様なモデルを用いた複数の理論が存在するものの、閉鎖系と非平衡定常性を両立した実験系の確立が困難であり、検証が困難という問題があった。さらに実験系がないため、iRD がバルクの反応拡散系と本質的に何が異なるのかも不明瞭であった。

これらの背景に対し、研究開始までにバクテリアの細胞分裂面を決定する Min タンパク質系を用いて、その反応拡散波 (Min 波) を人工細胞内にて安定に発生させる実験系の確立に成功していた。また、この系を用いて人工細胞内における Min 波の性質を解析したところ、(1) 人工細胞の直径と波の形状・速度に相似性が現れること (空間相似性)、(2) 極間振動波でなく移動波が主となること (形状安定性)、(3) 反応パラメータの変動に対して、波の性質が安定であること (パラメータ安定性) を見出していた。これらは全てバルク系では現れず、iRD 特有の現象である。それゆえ、これらの現象のメカニズム解明が達成されれば、生命の細胞において出現する多様な時空間パターン形成原理が理解されるとともに、細胞サイズのようなメソスコピックな空間での反応と拡散の原理が確立されることが期待された。

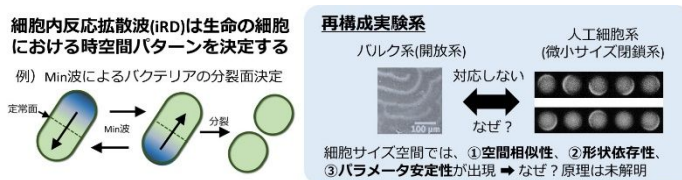


図1. 研究の背景と「問い」

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、空間サイズ相似性や極間振動波と移動波のモードを支配、波の性質の安定性が生じる、細胞内部の時空間パターン形成原理の物理は何か、を学術的な問いとした。実験をもとにバルクと異なる iRD 特有の性質とそのメカニズムを解明し、反応拡散系の理論との対応から原理や物理を導くことを目的とした。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために、これまで申請者らの研究により生まれた問いである、(A) Min 波の空間相似性がなぜ生じるか、この現象は Min 波特有か、iRD において一般性も持つか、(B) Min 波のモードを決定する形状効果は何か、(C) パラメータを安定にする空間的效果は何か、の追求を軸に研究を展開した。具体的には、申請者が確立した人工細胞内における Min 波の安定的な実験系とその理論モデルを利用した。また、縮約方程式を用いた理論解析から一般性を議論した。

4. 研究成果

< 研究の主な成果 >

(A) Min 波を記述する縮約方程式の確立と空間相似性の原理解明

Min 波のモードの 1 つである移動波の場合、人工細胞のサイズが大きくなるほど波幅と速度が増大し、結果としてサイズに対して相似的な振る舞いを示すことを見出していた。そこで、実験系と理論解析の両方が遂行可能な研究体制を活かし、Min 波の空間相似性を生む原理に縮約方程式から迫った。

Min 波の人工細胞内再構成系を用いた解析の結果、空間相似性は Min タンパク質の変異体や濃度、脂質の変更、塩強度の変更によって反応パラメータが変化させても観察され、パラメータ非依存の現象であることが示唆された。そこで理論解析により本当にパラメータ非依存となるかを解析した。Min 波を記述する微視的モデルを用いたところ、球面調和関数展開した場合の各モードの線形安定性から理解できるという結果を得た。次に、反応拡散原理における自発的な波の発生には最低 3 変数必要であることを踏まえ、3 変縮約モデルにおいて同様の空間相似性が出現するかを検討した。結果、得られた縮約方程式を用いても空間相似性が観察されたことから iRD が示す空間相似性はパラメータやモデルに依存しない普遍的な性質であることが導かれた。

(B) Min 波の運動モードを決定する原理の解明

球状人工細胞内で再構成した Min 波は大部分が移動波であり、大腸菌細胞で見られる極間振動波ではない。偶然にも (1) の研究を進行している中、特定のパラメータでは移動波よりも極間振動波が支配的になることを発見した。そこで極間振動波が支配的になる条件を追求したところ、Min 波の反応拡散共役におけるアクチベーターとインヒビターの反応速度バランスにおいて、インヒビターが波を消失させるほどではないが優勢である場合に極間振動波が支配となることを示すことができた。また、温度によってアクチベーターとインヒビターのバランスを変化させることで移動波と極間振動波を遷移させることに成功した。これらの結果は、実験と理論がよく一致し、アクチベーターとインヒビターの反応速度バランスが決定因子であることを示すことができた。本成果をまとめ、Science Advances 誌に報告した。

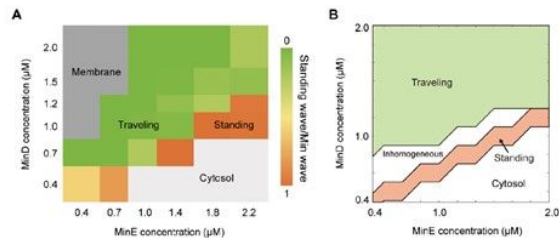


図2. Min波のモードと要素の濃度依存性
(Sci. Adv., 8 (23), eabm8460より引用)

(C) Min 波のパラメータ安定性を生む物理の解析

本研究開始までに、無細胞転写翻訳系を用い、人工細胞内 Min 波を要素の合成依存的に発生・消失させることに成功していた。この結果から細胞サイズ空間の Min 波は濃度に対して可塑性であると結論していたが、同時に、塩濃度による反応パラメータ変化に対しては波の速度や形状が頑強である、という結果を得ていた。バルク系では塩濃度に対し高い感受性を示すことが知られているため、iRD 特有の性質と考えられた。この原因を探る中で、バルク系では形状や速度だけでなく波と波の間隔である波長も変化すること、塩濃度による形状や速度の変化は波長で割ることで iRD 同様に変化が小さくなることを見出された。波数が 1 の iRD は波と波の間隔は空間サイズに相当するため、波長が固定されることで塩濃度に対する形状や速度が小さくなることが導かれた。本成果に関しては現在論文執筆中である。

(D) 上記以外の成果

研究の過程で、Min 波が ATP だけでなく dATP をエネルギー源として利用することでも発生することを発見した。驚くべきことに、ATP と dATP では加水分解速度、すなわち利用するエネルギーは同程度であるにも関わらず、Min 波の速度に倍以上の変化が生じた。両者を混合するとその中間的な速度となること、反応サイクルにおける各反応速度や膜結合の強さに差があることから、エネルギー散逸の様式が異なることで波の性質に変化が生じている可能性が示唆された。本成果をまとめ、ACS Nano 誌に報告した。

< 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト >

iRD は、主に生物の細胞で見られる現象の説明として国内外で研究が進展してきた。しかし、国内外の多くの研究は生物の細胞を用いた現象の解析と数理モデルによる説明がほとんどであり、細胞のブラックボックス性ゆえに iRD の性質を直接的に示す研究はほぼ存在しなかった。本研究では、精製された要素を人工細胞系に入れるという、物理的な理解が明快な定義された要素だけで成り立つ系を用い、空間サイズ依存性、波のモードの決定原理、速度や形状の安定性に関して実験と理論の両面から導いたところに特色がある。この特色の利点は、Science Advances や ACS Nano といった着目度の高いジャーナルに掲載されていることから示されているといえる。

近年、相分離が生物学で非常な注目を集めているように、生命の根幹となる物理の確立は物理学・生物物理学のみならず生物現象一般の理解にも高く貢献するものである。また、細胞サイズ空間における反応拡散共役の理解は、同じくメソスコピックな空間で行われるマイクロゲル形成や、マイクロチャンバー内反応の理解にもつながり、医薬品・食品の材料創成や、ナノ・マイクロ工学にも広く波及する。

< 今後の展望 >

研究開始当初は (A) と (C) は全く別の現象であると考えられていたが、本研究によりつながった現象であることが導かれたように、iRD の隠された性質が導かれたといえる。この成果は、iRD を利用した生命現象を理解する糸口になるだけでなく、時空間パターンを形成する非平衡物理現象に対して新しい見方を提供するものである。また、(B) に関しては非線形物理でもほぼ手付かずの領域であり、今回定義された要素を用いた実験とそれに対応した理論研究で明示できたことは閉ざされた空間における反応拡散系を理解する上で大きな礎となることが期待される。今後は、本研究で導かれた iRD の性質による生命現象の理解や、材料創成研究が進展することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takada Sakura, Yoshinaga Natsuhiko, Doi Nobuhide, Fujiwara Kei	4. 巻 8
2. 論文標題 Mode selection mechanism in traveling and standing waves revealed by Min wave reconstituted in artificial cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabm8460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abm8460	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takada Sakura, Yoshinaga Natsuhiko, Doi Nobuhide, Fujiwara Kei	4. 巻 16
2. 論文標題 Controlling the Periodicity of a Reaction-Diffusion Wave in Artificial Cells by a Two-Way Energy Supplier	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 16853-16861
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsnano.2c06756	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kohyama Shunshi, Fujiwara Kei, Yoshinaga Natsuhiko, Doi Nobuhide	4. 巻 12
2. 論文標題 Conformational equilibrium of MinE regulates allowable concentration ranges of a protein wave for cell division	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 11960-11970
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D0NR00242A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 3件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Sakura Takada, Natsuhiko Yoshinaga, Nobuhide Doi, Kei Fujiwara
2. 発表標題 Tuning dynamics and period of a reaction-diffusion wave for cell division in artificial cells
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤原慶
2. 発表標題 人工細胞内再構成系で探る生化学システムの細胞サイズ効果
3. 学会等名 HiHA (広島大学健康長寿研究拠点)ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤原慶
2. 発表標題 細胞内反応拡散波の人工細胞再構成系で探る細胞空間の時空間パターン形成原理
3. 学会等名 定量生物学の会 第10回年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高田咲良、佐藤岳、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 再構成研究: Min 波や解糖系はdATP でも 動く
3. 学会等名 第 18 回 21 世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kei Fujiwara
2. 発表標題 Reaction-diffusion wave of Min proteins reconstituted in artificial cells by defined elements
3. 学会等名 Pacifichem2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤原慶、義永那津人、光山隼史、吉田葵、西川早紀、土居信英
2. 発表標題 細胞内の時空間制御とMinシステムが細胞サイズの空間で創発するタンパク質の波とその相の分子メカニズム
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田咲良、義永那津人、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 Min 波の極間振動の人工細胞内再構成
3. 学会等名 第17回大腸菌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田咲良、義永那津人、光山隼史、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 Robustness and plasticity of spatiotemporal patterning by a reaction-diffusion wave entrapped in protocells
3. 学会等名 第59回生物物理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田咲良、義永那津人、光山隼史、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 細胞内時空間パターンを司るMin波が示す空間サイズの制御とその原理
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田咲良、義永那津人、光山隼史、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 細胞サイズ空間において反応拡散波が示す形状安定性の原理
3. 学会等名 第20回関東ソフトマター研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田咲良、義永那津人、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 人工細胞内の時空間パターンを操る：極間振動波と移動波の制御
3. 学会等名 第5回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakura Takada, Natsuhiko Yoshinaga, Nobuhide Doi, Kei Fujiwara
2. 発表標題 Shaping dynamic and static patterns in artificial cells by modulating reaction-diffusion coupling of Min system
3. 学会等名 Active Matter Workshop 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高田咲良、光山隼史、義永那津人、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 反応拡散共役により現れるMin波の示す空間サイズ相似性
3. 学会等名 第19回関東ソフトマター研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高田咲良、光山隼史、義永那津人、土居信英、藤原慶
2. 発表標題 細胞内時空間パターンを制御するMin波が示す空間サイズ相似性
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	義永 那津人 (Yoshinaga Natsuhiko)	東北大学・材料科学高等研究所・准教授	
	(90548835)	(11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------