

学 位 論 文 題 名

Study on Physical Mechanism for Actin Architecture Formation

(アクチン集合体形成の物理的メカニズムに関する研究)

学位論文内容の要旨

アクチンは様々な結合蛋白質との相互作用によってバンドルやネットワーク等多様な構造を形成しながら細胞の運動、形態変形及び維持等重要な役割を働いている。しかし、アクチン集合体の構造や成長がどの原理によって決まるのかに対しては理解が足りないである。それで我々はアクチンフィラメントが負電荷を持つ高分子電解質であることに着目し物理化学的観点からアクチン集合体の形成原理を調べた。

本学位論文は第1章の序論、第2章から第5章の本論、第6章の結論から構成され、アクチン集合体の形成原理に新たな知見を与えている。その要旨は以下のとおりである。

第2章ではポリカチオンの濃度及び重合度、塩濃度、アクチン濃度等の多様な条件によるアクチン集合体の構造と成長の変化を調べ、その構造変化がポリカチオン濃度と塩濃度の二つをパラメーターにした相図で明らかにした。さらに、バンドルの形成過程が二つの過程で構成され、アクチンバンドルの太さと長さが独立的に決められることが明らかになった。

第3章では第2章で得られた結果からアクチンバンドルが核形成及び成長のメカニズムによって形成され、核形成の段階では熱力学的エネルギーバリアーによって太さ成長が主導的であるが成長の段階ではカイネティクスのエネルギーバリアーによって長さ成長が主導的であるという異方的核形成及び成長モデルを提案した。このモデルはアクチンバンドルの最終的太さと長さはそれぞれ臨界核の太さと臨界核の濃度に対するアクチン濃度の比によって決められることを示唆する。このバンドル形成過程の異方性はアクチンが棒型の高分子電解質であることから生まれることであることから異方的核形成及び成長モデルは

アクチン以外の多くの電解高分子である DNA とマイクロチューブ等の生体高分子にも適用できるモデルであると考えられる。

第4章では生細胞の内部が細胞の極性によって非対称的環境であり、アクチン集合体がこの非対称的環境で形成されることに着目し、ポリカチオンの一方向拡散による非対称的環境下でのアクチン自己組織化を調べた。均一なポリカチオン下で形成されるアクチンバンドルと異なり、ポリカチオンの非対称的環境下では全体的にアクチンバンドルが絡み合っている三次元ネットワークが形成されることが観察され、ポリカチオンの非対称性による核形成の局所化がネットワーク形成に重要であることが明らかになった。さらに、ポリカチオンの濃度と塩濃度によるアクチンネットワークの構造変化を調べた結果、ネットワークの網目の大きさはポリカチオン濃度にしたがって減少し、塩濃度の増加によっては増加することに対してネットワークのバンドル太さはポリカチオンには依存しないが塩濃度の増加によっては増加することがわかった。これらの結果から核形成及び成長モデルを基にしてネットワークの網目の大きさとバンドルの太さがそれぞれ核の濃度と核の太さによるというモデルを提案した。

第5章では第4章で述べた三次元アクチンネットワークの力学的物性を様々なポリカチオンの濃度と塩濃度で AFM を用いて測り、その結果からネットワークの構造と物性の関係を調べた。AFM で測定されたアクチンネットワークの弾性率はアクチン濃度の増加にしたがって増加するが塩濃度によっては大きくは依存しないことがわかった。これらの結果からアクチンネットワークの弾性率がネットワーク網目大きさと $E \sim \xi^{-1}$ (E : ネットワークの弾性率, ξ : 網目の直径)の反比例関係であるし、ネットワークのバンドル太さとは比例関係であるが太さの増加によって弾性率の太さ依存性が弱くなることがわかった。これは太さの増加によってバンドルの密度も変化するからであると考えられる。

以上のことから本研究では次のように成果をまとめられる。1) アクチン集合体の多様な構造と成長決めることにおいて静電気相互作用が重要な役割をすることが示された。2) アクチン集合体形成が熱平衡ではなくカイネティクスの核形成及び成長モデルによって決められることが明らかになり、アクチン集合体の成長を決める新たな異方的核形成及び成長メカニズムを提案した。3) アクチンネットワークの直接的観察による構造分析とネットワークの物性測定によって構造と物性の関係を実験的に調べることができた。

これらの研究によって、アクチン集合体形成の物理的な本質がもっと明らか

になり、細胞内のアクチン集合体形成の原理の理解にも新たな知見が提供された。また、これからの研究から提案されたモデルはアクチンだけではなく多くの高分子電解質の自己組織化を理解するにも有用な知見を与えると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 龔 劍 萍
副 査 教 授 川 端 和 重
副 査 教 授 佐々木 直 樹
副 査 助教授 古 川 英 光

学 位 論 文 題 名

Study on Physical Mechanism for Actin Architecture Formation

(アクチン集合体形成の物理的メカニズムに関する研究)

近年、細胞内のアクチン集合体形成のメカニズムに関する研究が盛んに行われている。しかし、その多くは生物学的メカニズムの解明を目的としており、物理的メカニズムの解明は未開拓の分野で、今後の発展が待たれている状況にある。

本論文は、このような現況にあるアクチン集合体形成の物理的メカニズムについて、ポリカチオンとの静電相互作用を用いて、アクチン集合体の構造や成長に関して物理化学的に研究し、アクチン集合体の形成の物理的原理を明らかにした。

本学位論文は第1章の序論、第2章から第5章の本論、第6章の結論から構成され、アクチン集合体の形成原理に新たな知見を与えている。その要旨は以下のとおりである。

第2章では多様な条件によるアクチン集合体の構造を系統的調べ、その構造の相図を作成した。さらに、バンドルの形成過程が二つの過程で構成され、アクチンバンドルの太さと長さが独立的に決められることが明らかになった。

第3章では第2章で得られた結果からアクチンバンドルが核形成及び成長のメカニズムによって形成され、核形成の段階では太さ成長が主導的であるが成長の段階では長さ成長が主導的であるという新たな異方的核形成及び成長モデルを提案した。このモデルからアクチンバンドル太さと長さがそれぞれ臨界核の太さと臨界核の濃度とアクチン濃度の比によって決められることが明らかになった。

第4章ではポリカチオンの一方向拡散による非対称的環境下でのアクチン自己組織化を調べた。その結果、均一なポリカチオン下で形成されるアクチンバンドルとは異なり、ポリ

カチオンの非対称的環境下では巨大な三次元ネットワークが形成されることが観察され、ポリカチオンの非対称性による核形成の局所化がネットワーク形成に重要であることが明らかになった。さらに、ポリカチオンの濃度と塩濃度の変化によるアクチンネットワークの構造変化を調べ、これらの結果からネットワークの網目の大きさとバンドルの太さがそれぞれ核の濃度と核の太さによって決められるということが明らかになった。

第5章では第4章で述べた三次元アクチンネットワークの力学的物性を様々なポリカチオンの濃度と塩濃度でAFMを用いて測り、その結果からネットワークの構造と物性の関係を調べた。その結果、アクチンネットワークの弾性率がネットワークの網目の大きさに $E \sim \xi^{-1}$ (E : ネットワークの弾性率, ξ : 網目の直径)の反比例関係であるのに対して、ネットワークのバンドルの太さとは比例関係であるが太さの増加によって弾性率の太さ依存性が弱くなることが見られた。これは太さの増加によってバンドルの密度も変化するからであると考えられる。

以上のことから本研究では次のように成果をまとめられる。1) アクチン集合体の多様な構造と成長を決めることにおいて静電相互作用が重要な役割をすることが示された。2) アクチン集合体形成が熱平衡ではなく核形成及び成長メカニズムによるカイネティクスによって大きく影響を受けることが明らかになり、アクチン集合体の成長を決める新たな異方的核形成及び成長メカニズムが提案された。3) アクチンネットワークの直接的観察による構造分析とネットワークの物性測定によって構造と物性の関係を実験的に調べることができた。

これらの研究はアクチン集合体形成の物理的な本質を明らかにし、細胞内のアクチン集合体形成の原理の理解にも新たな知見を与えると考えられる。また、これらの研究から提案されたモデルはアクチンだけではなく多くの高分子電解質の自己組織化を理解するにも適用できると期待される。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。