

Out-of-equilibrium physics of cellular symmetry breaking orchestrated by the active cytoskeletal systems confined in cell-sized spaces

坂本, 遼太

<https://hdl.handle.net/2324/4784401>

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 坂本 遼太

論 文 名 : Out-of-equilibrium physics of cellular symmetry breaking
orchestrated by the active cytoskeletal systems confined
in cell-sized spaces

(細胞サイズ空間に拘束された細胞骨格系が織りなす対称性の破れの非平衡物理学)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

対称性とその破れは、基礎物理学のみならず生命現象においても根幹をなす重要な概念である。特に一細胞レベルでは、球形の細胞は左右対称な分裂で自己複製し、細胞運動の方向は形の対称性が破れることで決まるなど、対称性の破れと細胞機能との密接な関わりが認識されつつある。しかし、生きた細胞を対象とするトップダウン型の分子生物学では、対称性の制御は、収縮力を発生するミオシン分子と網目状のアクチン線維から成る「アクチン細胞骨格」によることが分かるのみであり、その背景にある力学的機構の理解には及ばず、対称性を制御する動力学は未解明である。そのため、仮説の実験検証を可能にする、物理的解析に適した実験系が求められていた。

この課題を克服するため、本研究では細胞を単純化した「人工細胞」をつくるボトムアップ型のアプローチを採用した。この手法では、従来の生きた細胞では困難であった、細胞サイズを二桁にわたり変化することや、細胞内タンパク質濃度の制御、細胞膜分子の種類を選択できるなどの利点があり、仮説の実験検証に適している。本研究では、生命現象に特徴的な対称性である、①細胞核配置の対称性、②細胞形状の対称性の破れから生じる自発運動、③アクチン細胞骨格の波動現象の回転対称性を人工細胞で再現し、これらの対称性の破れの背景にある動力学を探求した。

我々は、アフリカツメガエル卵から抽出した細胞質（アクチン線維とミオシン分子を含む）を、リン脂質を分散したミネラルオイルに注入し、振り混ぜることで 10-300 μm の大きさの油中液滴から成る人工細胞を作成した (図 1 a)。封入から数十秒後、液滴内のアクチン・ネットワークがミオシンの収縮力によって収縮をはじめ、球形のアクチン凝集体（以下、クラスターと呼ぶ）が形成された。このクラスターの配置に注目すると、大きい液滴では中心に配置する一方、小さい液滴では端に配置する「配置対称性の破れ」が見られた。このようなアクチン細胞骨格が関わる配置対称性の破れは、細胞核が球形の細胞の中心または端に配置される哺乳類の卵母細胞（卵子の元になる細胞）でも見られ、細胞核配置のモデル実験系になると着想した。そこで本研究では、このクラスターを細胞核のモデルと見立て、細胞核の配置対称性が力学的に制御されるメカニズムを探求した。

まず、クラスターの動きに関わるアクチン線維の振る舞いを明らかにするために、アクチン線維を蛍光染色し、収縮ダイナミクスの画像解析を行った。すると、液滴の外側から内側へ向けてリング状のアクチンの波が繰り返して発生してクラスターに内向きの力を及ぼす一方で、クラスターと液滴界面にはブリッジ状のアクチン線維が形成され、クラスターに外向きの力を及ぼすことが示唆された (図 1 b)。この結果から、アクチン波とアクチン・ブリッジがクラスターに及ぼす力のバランスによって配置が決まると考える「綱引きモデル」を考案した。

しかしこれだけでは、力のバランスが崩れてクラスターの配置対称性が破れる現象を説明できな

い。そこで我々は、配置対称性が決まる力学的機構を明らかにするため、周期的に発生するアクチン波のアクティブ・ゲルの理論モデルと、確率的なブリッジ形成のパーコレーション理論に基づくモデルを構築した。理論モデルの解析からアクチン波とブリッジ形成が起きる特徴的時間の液滴サイズ依存性を見積もると、アクチン波の発生周期は $T \propto R$ 、ブリッジ形成頻度は $\tau_p \propto e^R$ が得られた。すなわち、小さい液滴では $\tau_p < T$ であり、ブリッジ形成が優位となりクラスターは端に配置されるが、大きい液滴では $\tau_p > T$ となり、アクチン波が優位となりクラスターが中心に配置される。よってこのモデルでは、二つの異なるアクチン構造が形成されるまでにかかる特徴的時間の大小関係が反転するという形で、配置対称性の変化を説明できる (図 1 b)。このモデルから見積もった転移半径 $R_c \sim 73 \mu\text{m}$ は実験結果 $R_c \sim 85 \mu\text{m}$ に近く、また液滴サイズ依存性もよく再現し、二つの異なるアクチン構造の綱引きのようなバランスで配置対称性が決まる力学的機構を明らかにした。

Pierre Curie が「非対称性は現象を生み出す」と表現したように、対称性の破れはさらに高次の生命現象の引き金となると考えられる。そこで次に我々は、配置対称性の破れに加え、膜変形による形の対称性の破れを人工細胞に実装することで、人工細胞の自発運動を実現した (図 1 c)。このような配置と形状の二つの対称性の破れを伴う自発運動は、生体内の狭い空間を運動するガン細胞の自発運動に見られる特徴であり、そのモデル実験系になると考えられる。運動の画像解析の結果、運動方向と逆向きのアクチン流動が発生し、アクチンと膜との物理的相互作用が生み出すアクティブな界面摩擦が運動の駆動力であることがわかった。さらに、液滴を挟む基板の間隔を狭めると運動速度が減少することを見出し、その幾何学的依存性は界面摩擦と粘性抵抗のバランスで理論的に説明され、拘束された周囲環境を活用した自発運動の背景にある、新しい力学的原理を解明した。

さらに、アクチンと膜界面の結合力を強めることでリング状アクチン波の回転対称性の破れを誘起し、回転波などの多彩な波動現象の実現にも成功した (図 1 d)。細胞内の力発生を記述するアクティブ・ゲル理論における波動現象は理論的な研究段階にあり、本研究は理論仮説の検証に適した初の実験系となる。実験で見られる多彩な波動現象の相図を、収縮力の強さと重合速度から説明する数値シミュレーションを構築し、アクティブ・ゲルの対称性を破る新たな力学的機構を提示した。

結論として、まず人工細胞に配置対称性を再現し、対称性の破れが、異なる二つのアクチン構造である波とブリッジの綱引きによって決まる新たな力学的機構を解明した。さらに、形状対称性の破れも実装することで自発運動を実現し、生体組織などの狭い空間における細胞運動の物理的制約を解明した。最後に、アクチン波の回転対称性を破ることで現れる多彩な波動現象の背景にある力学的機構を明らかにした。以上の研究は、細胞機能の制御に対称性の視座から新しい理解を与えるだけでなく、一見すると異なる生命現象に対して、それらの普遍的特徴である対称性を人工細胞で抽出し、統一理論の構築を可能にすることも期待される。人工細胞を創り、生命現象の対称性とその破れの背後にある物理法則を解明する「生命の非平衡物理学」の新たな地平を開く成果である。

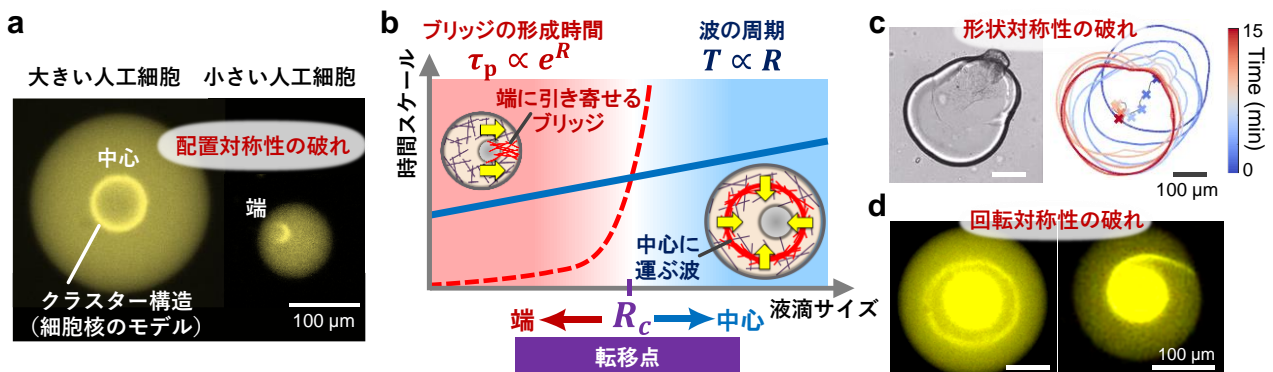


図 1. 本研究の概要. (a) 人工細胞におけるクラスター配置の対称性の破れ. アクチンが蛍光染色しており、黄色い領域が油中液滴を示す. (b) ブリッジ形成と波の周期の時間スケールの液滴サイズ依存性. (c) 配置対称性の破れが誘起する液滴の自発運動. (d) 界面とアクチン結合を強めることで現れるアクチンの回転波 (右).