

## 可逆的リン酸化反応による自律的な空間パターン形成

### 1. 発表者：

須貝 秀平（東京大学大学院医学系研究科 博士課程 1 年生）  
大出 晃士（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 システム薬理学分野 助教）  
上田 泰己（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 システム薬理学分野 教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆リン酸化酵素の自己活性化機構等の複雑なメカニズムや化学反応の空間的制約を必要とせず、可逆的リン酸化反応と分子の自由拡散のみから空間パターンが形成されうることを発見。
- ◆可逆的リン酸化によって空間パターンが形成される際に特徴的な、反応速度や拡散速度の組み合わせや反応ルートの傾向を見出した。
- ◆細胞内に見られる分子の空間パターン形成メカニズムを理解し、さらに人工的に分子の空間パターンを制御するための指針となると期待される。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科の上田泰己教授らの研究グループは、可逆的リン酸化という細胞内で最もよく見られるタンパク質の翻訳後修飾反応を用いて、自律的な空間パターン形成が起こりうることを、コンピュータシミュレーションによって示しました。多くの生命現象において観察される空間パターン形成のしくみを説明するために、反応拡散系と呼ばれるモデルがしばしば用いられます。リン酸化などのタンパク質の翻訳後修飾によって空間パターンが形成されることを説明しようとするこれまでの多くの反応拡散モデルでは、パターン形成を誘導するために空間的な不均一性や自己触媒的な酵素反応メカニズムを前提としていました。今回、研究グループはそうした前提のない、可逆的リン酸化とそれに関わる酵素・基質分子の自由拡散のみからなる系において、均一な初期条件から自律的に不均一な空間パターンが生じることを明らかにしました。さらに、分子的な性質を記述するパラメータが、パターン全体の形を制御する仕組みも明らかにしました。この結果は、自然界のパターン形成のメカニズム解明や、その調節を人工的に行う際に役立つと期待されます。

### 4. 発表内容：

生命においては、細胞内部の分子配置から体表の模様まであらゆるスケールで、元々均一だった空間から自律的に空間パターンが生じる現象が観察されます。一見すると、複雑な自律的パターン形成には様々な遺伝子やタンパク質のネットワークが必要とされるようにも考えられますが、反応拡散系（注1）と呼ばれる化学反応のみに基づいたパターン形成のメカニズムは比較的単純な化学反応から自律的空間パターンを誘導でき、生物の空間パターン形成をよく説明するモデルとして提唱されています。細胞内での不均一なタンパク質の分布は、例えば、特定の方向から届いたシグナルに対して細胞が感度良く応答するなどの特徴的な応答性を生み出し、細胞の示す複雑な振る舞いの源泉となり得ます。こういった細胞内のタンパク質の分布について、多くの例で、遺伝子の転写翻訳を介さない翻訳後修飾（注2）が重要な役割を果たすことが知られています。これまでに、各生物種における個別例を良く近似する様々なモデルが提唱されてきました。しかしながら、自律的な空間パターン形成を説明するための

タンパク質翻訳後修飾に関する反応拡散系モデルでは、しばしば予めパターン形成を助ける空間的不均一性を設定したり、空間的不均一性を増幅する基質や酵素の自己活性化を前提としていました。一方で、いくつかの研究から、タンパク質の複数サイトが可逆的にリン酸化される（注3）際には、定常振動などの複雑な振る舞いが生じることが示されていましたが、同様の反応系から時間的に変化しない安定した空間パターンが自律的に形成しうるかは未解明でした。

今回、本研究グループは、単純なリン酸化系を考えるため、2箇所のリン酸化部位を持った基質が1組のリン酸化酵素と脱リン酸化酵素でリン酸化・脱リン酸化される系を設定し、その挙動をミカエリスメンテン式と空間的な自由拡散系でモデル化しました（図1）。これらのモデル化手法は、タンパク質分子の酵素による翻訳後修飾と、反応に関わる因子の空間的な拡散をシミュレーションする最も一般的な手法であり、多くの実際のタンパク質に適用可能であると期待できます。反応速度定数や拡散係数を表すパラメータセットを2,300万個以上ランダムに生成し、それらの条件下で空間的に均一な初期条件から、分子の空間パターンが自律的に形成されるかをシミュレーションしました。その結果、パラメータセットが「反応が一方向に偏っている」「リン酸化状態によって拡散速度が大きく異なる」「拡散速度の遅いリン酸化状態の基質が酵素と強く結合する」という特徴を有する際に空間パターンを生み出すことを見出しました（図2）。

詳細な解析から、この反応速度の組み合わせを有する系では、基質は2つの反応ルートのどちらかを通して、リン酸・脱リン酸化を受けることが解りました（図3）。2つの反応速度は、空間パターンの形成過程で、それぞれ異なる役割を果たします。一つ目の反応ルートは拡散速度の遅いリン酸化状態の基質が殆どの酵素と結合し占有する事で、局所的に拡散速度の遅いリン酸化状態の生産が促進される、近距離のポジティブフィードバックを引き起こします。一方、二つ目の反応ルートは、近距離のポジティブフィードバックが有効な領域の外側で、拡散速度の遅いリン酸化状態の基質生産が抑制されること（遠距離のネガティブフィードバック）に重要であることが解りました。これらのメカニズムは、反応拡散系が空間パターンを生み出すための条件としてこれまでに理解されていることと、よく一致しています。さらに、近距離のポジティブフィードバックと遠距離のネガティブフィードバックがそれぞれ、生成される空間パターンの「高さ」と「幅」を制御することがわかりました（図3）。

本研究グループはさらに個々の分子の動きをより詳細に解析するために、Gillespie法と呼ばれる反応過程を確率的にシミュレーション（注4）する手法を用いて、酵素や基質一つ一つの動きを追跡しました。その結果、近距離のポジティブフィードバックに関わる基質タンパク質分子が、空間パターンの端から内側へ物質を返還すること、遠距離のネガティブフィードバックに関わる基質タンパク質分子がパターンの端から外側へ物質を運び去る事が示されました（図4）。

以上のように、空間的不均一性や複雑な酵素反応メカニズムを用いず、また遺伝子の転写・翻訳のプロセスも要せずに、可逆的複数リン酸化という生命現象にありふれた化学反応のみで空間パターンが自発的に形成される過程がありうる事が示されました。更に、大局的なパターンの形が、分子的性質を記述するパラメータによって制御されるメカニズムが示されました。

この結果は、まだ形成過程が分かっていない細胞内空間パターンの形成機構を解析するために役立つ可能性があります。特に、実際の細胞内でパターン形成に関わると考えられる多くの因子の中から、本研究で見つかった3つの設計原理である「反応速度の偏り」「拡散係数の

偏り」「遅拡散要素が酵素と強く結合する」の組み合わせを発見することで、そのパターンの形成原理に近づき、効率的に制御するための指針が得られると期待できます。

#### 5. 発表雑誌：

雑誌名：「Cell Reports」 2017年4月25日版（アメリカ東部夏時間）

論文タイトル：

A Design Principle for an Autonomous Post-translational Pattern Formation

著者：Shuhei S. Sugai, Koji L. Ode, Hiroki R. Ueda\*

DOI 番号：10.1016/j.celrep.2017.03.081

アブストラクト URL：http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.03.081

#### 6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 システムズ薬理学

教授 上田 泰己（うへだ ひろき）

TEL：03-5841-3415

FAX：03-5841-3418

E-mail：uedah-tky@umin.ac.jp

#### 7. 用語解説：

（注1）反応拡散系

複数の物質の単純拡散とそれらの間の化学反応とを記述する系。1952年にアラン・チューリングにより、反応・拡散定数がある条件を満たす時、均一な初期条件から自発的に不均一な物質の分布（空間パターン）が生じる事が提唱された。1995年に近藤滋らによってタテジマキンチャクダイの体表模様の形成過程にこのメカニズムが応用されている事が強く示唆された研究は有名であり、以降も生物における実例が盛んに研究されている。

（注2）翻訳後修飾

生体内ではタンパク質は遺伝子の転写・翻訳により作られる。この後、リン酸化、メチル化やアセチル化等の化学修飾を受けて機能が調節されることもあり、翻訳後修飾という。

（注3）可逆的複数リン酸化：

リン酸化酵素によりリン酸化が起こり、脱リン酸化酵素によってこの修飾が外れる可逆的リン酸化は真核生物に広く存在するメカニズムである。しばしば、可逆的リン酸化は同じタンパク質の複数箇所で見られており、これを可逆的複数リン酸化と呼んでいる。

（注4）Gillespie法：

分子の反応や移動といった変化のタイミングが確率的なばらつきをもって起こると仮定し、それらの変化を1回1回シミュレーションする方法。特に、統計的に変化率を記述する偏微分方程式によるシミュレーションが成り立たなくなるような、分子の存在数が少ない場合に有効。

## 8. 添付資料：

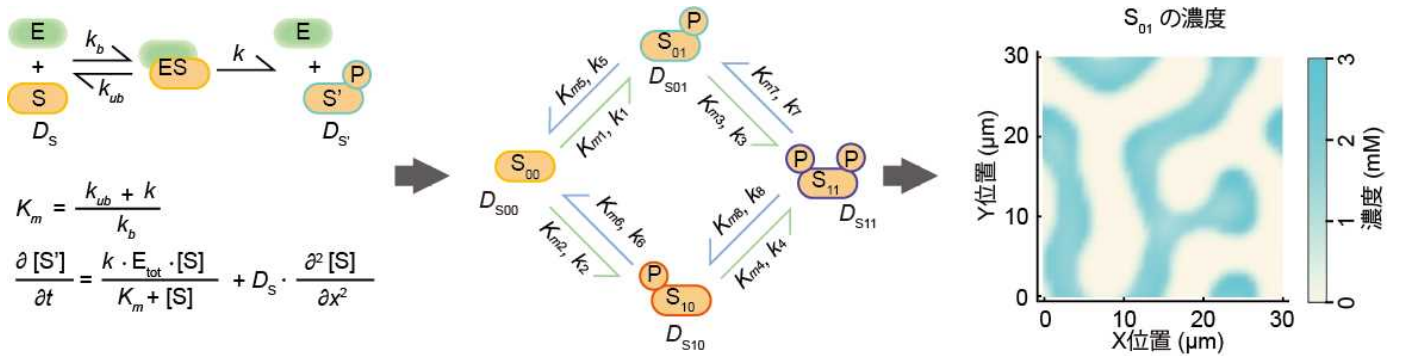


図 1. 数理モデル研究のセッティング

(左側) 酵素 (S)・基質 (E) が反応して産物 (S') が生成する時の反応の代表的な記述方法。E、S が結合して中間体 (ES) となる反応の速度定数 ( $k_b$ )、ES の解離定数 ( $k_{ub}$ )、S' の生成速度の定数 ( $k$ ) からなる。E が S より十分に多いときにはミカエリス・メンテン近似によって、これらの 3 つの定数を 2 つ ( $k, K_m$ ) に縮約できることがよく知られている。反応拡散系では更に各物質が拡散定数 ( $D$ ) に従って空間を拡散する過程を考える。このように記述される素反応を組み合わせ、リン酸化酵素と脱リン酸化酵素によって基質が可逆的にリン酸化される系をモデリングする。

(中央) 本研究では基質の 2 箇所が可逆的なリン酸化修飾を受けると仮定した。2 つのリン酸化部位がリン酸化されたかどうかにより基質には 4 状態を考える事ができる ( $S_{00}, S_{01}, S_{10}, S_{11}$ )。状態遷移を担うリン酸化・脱リン酸化酵素によって触媒される 8 反応経路について上記の変数がそれぞれ対応する。リン酸化反応を緑矢印、脱リン酸化反応を青矢印で示す。

(右側) 全部で 20 個あるパラメータの組み合わせによっては、均一な初期条件から最終的に変化しない不均一な空間パターンが生成する。ここでは、基質  $S_{01}$  の濃度が 2 次元空間で自立的に縞模様パターンを形成した一例を示す。

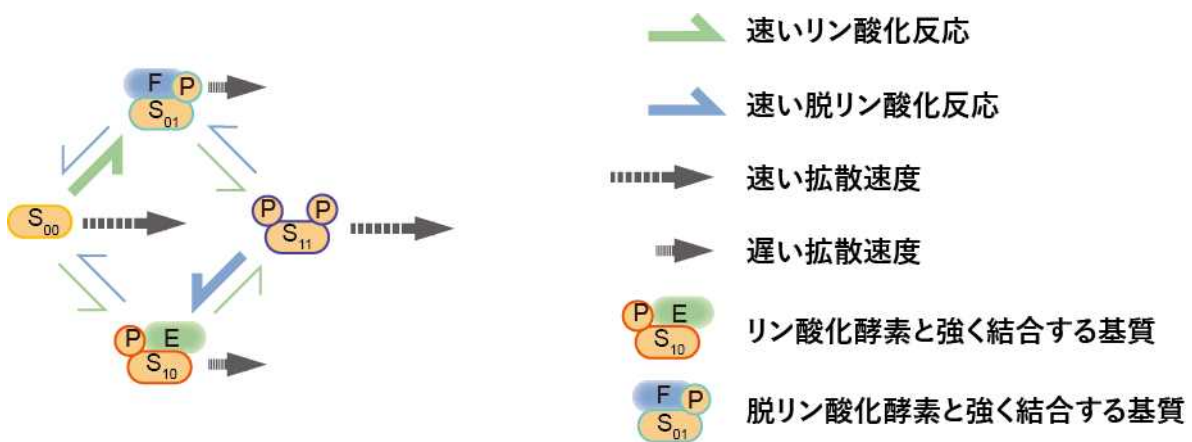


図 2. パラメータサーチの結果得られた、空間パターンを生成するパラメータセットの集合中、最も頻繁に見出された型

太い矢印で示された反応ほど速い事を表す。黒矢印の長短が、各基質の拡散速度を表している。基質を表す S の肩にリン酸化酵素 (E) または脱リン酸化酵素 (F) を付加して描いたものは、その酵素との親和性が他の基質に比べて圧倒的に高い事を示す。

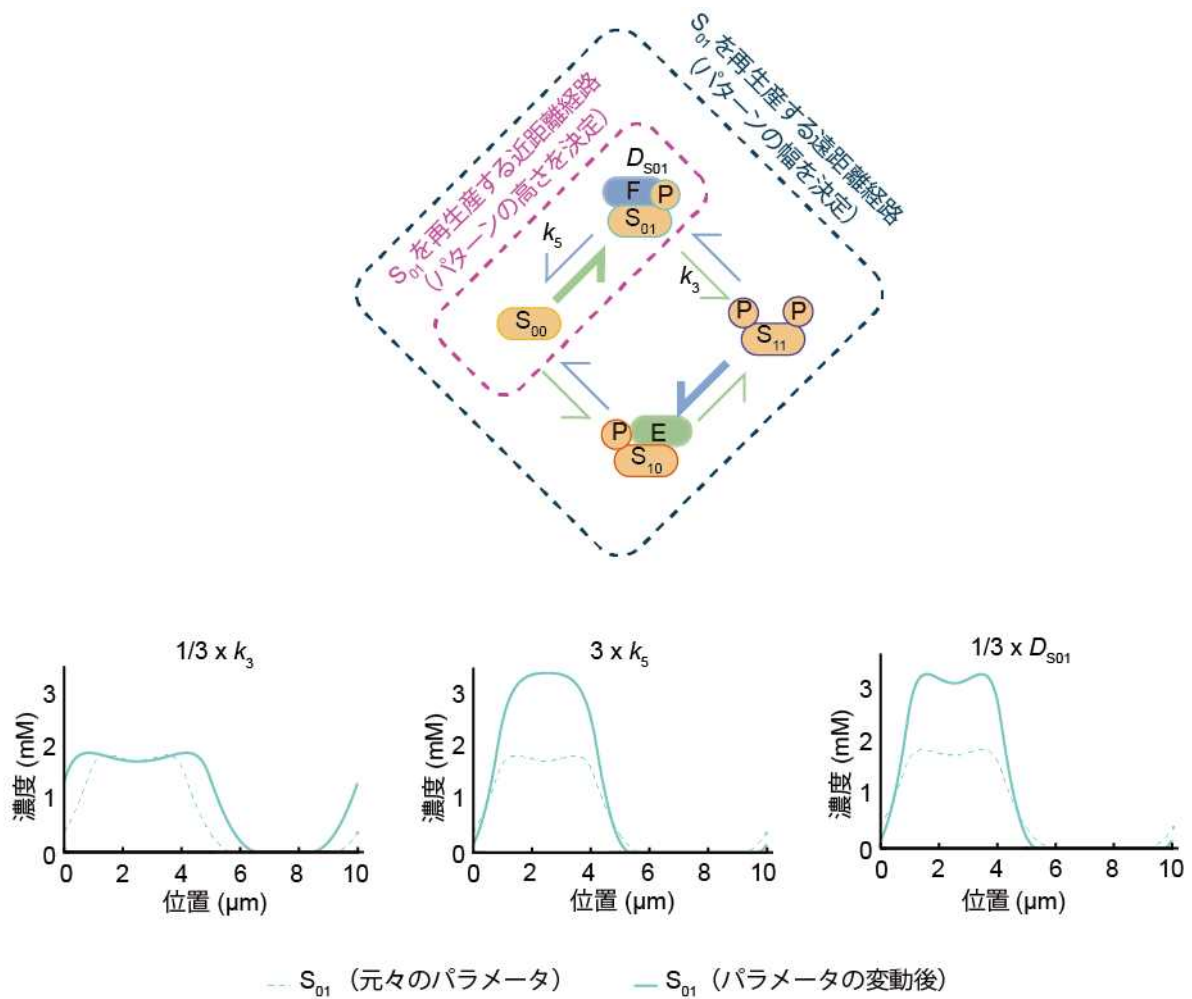


図 3.

(上部)  $S_{01}$  がリン酸化と脱リン酸化を経て再び  $S_{01}$  に至る 2 つの経路を示す。近距離経路では  $S_{01}$  は  $S_{00}$  を経て速やかに  $S_{01}$  へと戻る。遠距離経路では、 $S_{01}$  は図に示す各修飾状態を右回りに遷移し、 $S_{11}$  と  $S_{10}$  を経て  $S_{01}$  へと戻る。

(下部) 一次元空間での  $S_{01}$  の自律的な蓄積パターンを示す。近距離経路の効率に主に関与する  $k_5$  と  $D_{S_{01}}$  を変化させるとパターンの「高さ」に、遠距離経路の効率に主に関わる  $k_3$  を変化させるとパターンの「幅」に影響した。

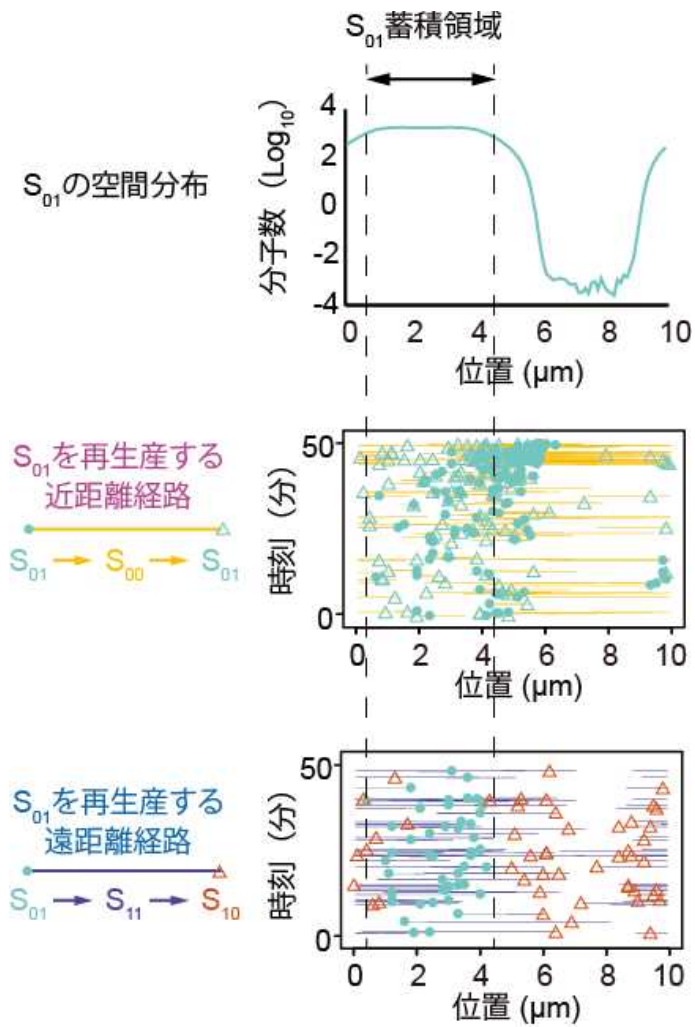


図 4. 確率的シミュレーションの結果

一次元空間上で、 $S_{01}$  が自律的に蓄積した空間パターンを形成する（上段）。この際、近距離経路を介した  $S_{01}$  の再生産は  $S_{01}$  蓄積の近傍で生じているのに対して（中段）、 $S_{01}$  蓄積領域の中心部分から遠距離経路を介して  $S_{01}$  が  $S_{11}$  を経て  $S_{10}$  として蓄積領域外へと運び出される様子（下段）が確認された。