

論文の内容の要旨

論文題目 Homeostasis, Plasticity, and Memory :

A Consequence of Enzyme-Limited Competition

(恒常性、可塑性、記憶：酵素競合律速から生まれる生命の普遍性)

氏名

畠山 哲央

本博士論文では、生物において普遍的に観察される恒常性や可塑性、記憶といった様々な性質が生化学反応でどのように実現されるのかという問題について、シミュレーションと理論的解析を用いて研究を行った。生命現象は、分子のレベルから生態系のレベルまで、多くの階層から構成されているが、本研究で主な対象としたのは主に分子から細胞のレベルである。

恒常性とは、外部の環境変化にたいして内部の環境をできるだけ変化させないようにする性質である。注意すべきは、恒常性とは無応答とは異なり、動的な過程として実現されるということである。しかし、そのメカニズムは十分に明らかになっていない。一方の可塑性というのは、環境変化に対して内部の環境を応答的に変化させる性質である。生物においては、細胞レベルから個体レベルまで、様々なレベルで環境変化に対して可塑的な応答を示すことが知られている。

さて、恒常性とは「変わりにくさ」であり、可塑性とは「変わりやすさ」であることから、一見この二つの性質は、両立させることが難しいように思える。しかし、生命現象ではこの恒常性と可塑性が多くの場合で共存していることが知られている。しかし、いかにして共存させているか、また恒常性と可塑性の間にどのような関係があるかは、未だに明らかになっていない。

記憶がどのように実現されるのか、というのも重要な問題である。特に、細胞のレベルでい

かに記憶が実現されるのか、は未だに十分に明らかになっていない。通常、生化学反応はサブ秒オーダーの時間スケールを持っていることが知られている。一方、細胞レベルでの記憶は、例えば神経細胞では分から時間、あるいはそれ以上の時間スケールに渡り維持されるし、エピジェネティックな遺伝子発現制御では世代をまたいでその記憶が維持されることが知られている。このような長い時間スケールを作り出すことは、周期的な環境変動や、あるいは継続的な環境変動に適応するために、重要であると考えられる。しかし、どのように性化学反応で遅い時間スケールを持つ記憶を実現するのか、ということは十分に明らかになっていない。

これらの性質を生化学反応として実現するために、本博士論文では酵素競合律速 (enzyme-limited competition) というメカニズムを新規に導入した。生体内の化学反応は、非常に高い活性化エネルギーを必要とする場合が多く、触媒が無い環境下では殆ど反応が進まない。そのため一般に酵素を反応の進行に必要とする。酵素競合律速とは、この反応に必要な酵素を、多数の基質が取り合う構造である。本研究では特に、異なる修飾状態を持った同一の基質が、同一の酵素により触媒されるような場合に注目した。

本博士論文では、酵素競合律速により、恒常性と可塑性の両立や、遅い時間スケールを持った記憶が、生化学反応として実現されることを示した。まず、論文の前半では、酵素競合律速により概日時計の周期の外部環境に対する恒常性が現れることを示した。さらに、概日時計システムにおいて、周期の外部環境に対する恒常性と、位相の外部環境に対する可塑性の間に、互恵的な関係 (reciprocity relationship) があることを解明した。つまり、周期の恒常性を向上することにより、同時に位相の可塑性が向上するようなメカニズムが存在することを明らかにできた。

論文の後半では、多数の修飾部位を持つ分子の修飾反応において、酵素競合律速により非常に遅い化学反応が実現されることを明らかにした。化学反応は通常指数的に緩和するが、酵素競合律速状況では、修飾反応が対数的に緩和することが明らかになった。私はこの対数的な緩和を、細胞レベルでの記憶の基礎となると考えられることから、動的記憶 (kinetic memory) と名付けた。この動的緩和現象は、酵素の量が基質の量よりも少ない時に見られた。一方、酵素の量が基質の量よりも少しでも多い場合は、修飾反応は通常指数的な緩和を示した。これは酵素量を少し変化させるだけで、記憶の保持と消去を簡単にコントロールできる可能性を示唆する。実際に、論文の最後では、シナプス可塑性に関わる既知のシグナル系で動的記憶を実際にコントロールできることを示す。

概日時計とは、単細胞の細菌から多細胞の脊椎動物まで様々な生物で存在が知られている、約 24 時間周期の生化学振動子である。概日時計は以下の 3 つの特徴を示すことが知られている。まず、約 24 時間周期の振動が一定の環境でもある程度の期間継続する。次に、外部の温度や栄

養状態が変化しても、概日時計の周期は殆ど変化しない。これらの性質は、それぞれ温度補償性と栄養補償性と呼ばれる。最後に、外部の温度や明暗環境が周期的に変化すると、それらの外部振動に対して位相の変化を通して同期する。これらの性質は、生物種間で概日時計を構成する遺伝子が大きく異なり、また振動のメカニズムも異なるにも関わらず、あらゆる生物で共通である。

上記の概日時計の3つの性質のうち、概日時計が一定の環境下でも継続する事と、その周期が外部環境の振動に同期する事に関しては、過去の力学系の研究により、振動子の性質として理解できる事が分かっている。だが、温度補償性がいかにして実現されるのかは、未だに不明であった。

通常の生化学反応は、温度が10°C上昇すると、その速度が約2~3倍程度になることが知られている。一方、概日時計は多数の生化学反応から構成されるにも関わらず、その周期は変化しない。しかし、温度に対して完全に無反応ではなく、外部の温度変化に対して位相や振幅が大きく変化することが知られている。つまり、温度補償性は恒常性機構として理解されるべき性質である。

さて、温度補償性のメカニズムを解析するにあたり、まずシアノバクテリアの概日時計システムである Kai 蛋白質概日時計の数理モデルを、ten Wolde らのモデル (van Zon et al., PNAS, 2007) を元に構成した。Kai 蛋白質概日時計は、KaiA、KaiB、KaiC の3つの蛋白質から構成されるシステムであるが、本博士論文では KaiA と KaiC の2種類の蛋白質からなる数理モデルを使用した。

KaiC は多数のリン酸化部位を持ち、それらの部位のリン酸化は KaiA によって触媒される。したがって、KaiC と KaiA は酵素競合律速を作り出していると考えられる。KaiC と KaiA による概日時計システムは、様々な温度で KaiC リン酸化振動を示したが、驚くべきことにその周期は温度変化によって殆ど変化しなかった。数理的な解析により、酵素競合律速により基質と結合していない遊離酵素 (free enzyme) の量が動的に変化することにより、化学反応速度の増加を打ち消し、周期を恒常的に保つメカニズムを明らかにした。このメカニズムは、温度変化に対する周期の恒常性だけでなく、特定の条件を満たせば様々な刺激に対する周期の恒常性に有効であることも解明した。論文中では、例として栄養補償性が温度補償性と同一のメカニズムで実現されることを示した。

さらに、温度補償性を実現するための遊離酵素量の変化により、位相が外部環境変動に対して大きく変化すること、位相の可塑性が実現されることを見出した。周期の恒常性と位相の可塑性は、一見両立しない性質のように思えるが、実際には両方とも同一のメカニズムにより、互恵的に実現されることを明らかにできた。驚くべきことに、この互恵的關係は概日時計の他のモデルでも観察できた。これより、この関係は概日時計一般に普遍的な性質であることが期

待される。

次に、基質の修飾反応での記憶が酵素競合律速により実現されることを示した。分子のレベルでの記憶を説明するために、今までは主に双安定性モデルが用いられてきた。これは、二つの異なる安定状態として記憶を実現するメカニズムであり、ヒステリシスにより記憶を維持することが知られている。しかし、シナプスレベルでの記憶に関わる分子の一つである Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaMKII) の生化学実験では、ヒステリシスが見えていない。また、記憶素子のレベルでのヒステリシスは、可塑性が低いことから、細胞ネットワーク（例えばニューラルネットワーク）上での情報伝達や連続的な学習を妨げる可能性がある。そこで、双安定性ではない新規の分子記憶のメカニズムが求められていた。

そこで本論文では、新たに酵素競合律速を介した動的記憶という新しい記憶様式を提唱した。双安定性記憶では、二つの安定状態として記憶を静的な性質として保持していたのに対し、動的記憶では遅い緩和という動的な性質として記憶を保持する。そのため、ヒステリシスが存在せず、高い可塑性を有する。論文中では、複数のモデルで動的記憶が実現されることを示した。これは動的記憶フレームワークの高い汎用性を示唆する。

また、CaMKII は従来双安定性により記憶を保つと考えられており、それを制御するシグナル伝達ネットワークが提唱されてきたが、本論文では同一のシグナル伝達ネットワークを適応することにより、高い可塑性を保ったまま、動的記憶をコントロールできることを示した。この高い可塑性は、ネットワークレベルでの恒常性を保つ為に、重要であると期待される。

本博士論文では、酵素競合律速によりいくつもの生命の普遍的な性質が実現されることを明らかにできた。これらの研究の成果は、複雑な生化学反応ネットワークを今後理解していく上で、重要な基礎となるだろう。