1P133

脂肪細胞への分化と一細胞レベルでの形態・構造変化との関係

○永山 昌史¹、内田 努¹、平 敏夫²、星 卓也²、郷原 一寿¹
(¹北大・院工・量子物理、²セルインスティテュート)

現在までに、肥満が生活習慣病を引き起こすメカニズムについての研究が盛んに行われてきた。一方で、肥満そのもののメカニズム、つまり生体内での脂肪前駆細胞の増殖と脂肪細胞への分化というプロセスについては、未だにあまりよく分かっていない。そこで、我々は脂肪細胞の増殖や分化の機構を明らかにすることを目的とし、細胞のマクロスケールな形態や構造とこれらの変化に注目した研究を進めている。

本研究では、顕微鏡のステージ上での細胞培養が可能であるシステムを導入し、ラットの腸間膜より取り出した初代脂肪前駆細胞が脂肪細胞へと分化する様子の長時間観察を行った。下図は分化誘導 48 時間後における細胞の様子である。高コントラストの球状物体は細胞内に蓄積されている脂肪球を表す。1 週間にわたるデータをもとに動画を作成したところ、まず細胞内に多くの小さな脂肪球が現れ(図中の黒囲み)、その後この脂肪球が巨大化しながら成熟脂肪細胞(図中の白囲み)へと分化が進行していくことが分かった。また、分化初期段階の細胞は運動能や分裂能を失っていないことも分かった。本年会では、腸間膜脂肪細胞(内臓脂肪)に加え、白色脂肪細胞(皮下脂肪)における結果も併せて報告する。

初代腸間膜脂肪前駆細胞の分化過程

M.Nagayama, T.Uchida, T.Taira, T.Hoshi and K.Gohara : Relation between adipocyte differentiation and morphological/structural variation in single cell

1P135

真性体および組換え体 α -ラクトアルブミンのアンプルディング解析：N 末端メチオニン残基の影響

○笠口 友隆¹、池口 満徳²、佐伯 喜美子¹、木寺 詔紀²、桑島 邦博¹ (¹東大院・理学系・物理、²横市大院・総合理・生体超分子)

Ca^{2+} 結合型蛋白質であるヤギの α -ラクトアルブミンの組換え体は、真正体の構造に比べて N 末にメチオニンが付加されているだけで全体的な構造特徴は同じであるにも関わらず、真正体よりも熱力学的に不安定で、その安定性差異は変性速度の差異に現れる。 α -ラクトアルブミンの変性過程を解明するために、実験と明確に比較できるモデルとして、398 K と 498 K の二つの高温で組換え体と真正体の MD による熱変性シミュレーションを複数回行った。398 K における計算では変性過程の遷移状態を超えることはできなかったが、組換え体が真正体と比べ変性速度が速くなるという実験結果を再現することができた。計算において組換え体の N 末構造は真正体よりも不安定で、昇温後にすぐに崩壊した。組換え体の N 末構造の不安定性は、付加されたメチオニンが N 末構造内の相互作用を弱めていたためであることが分かった。また、N 末構造は常温における天然状態の揺らぎの過半を占めるヒンジ運動のヒンジ部位にあり、N 末構造の崩壊はこの運動の大きさを増大させることで、 α -ラクトアルブミンの変性を引き起こしていた。よって、N 末構造の安定性差異は変性速度の差異に現れる。N 末構造の重要性を確認するために、N 末構造を意図的に不安定化する変異を導入した組換え体、真正体の熱転移曲線を測定した。計算結果が示唆するとおり、この変異の導入は真正体をより不安定化した。498 K では遷移状態を超えた変性過程を計算することができた。蛋白質の変性状態における構造多様性を考慮したクラスター解析によって遷移状態を抽出した。抽出した遷移状態の構造的特徴は、実験である ϕ 値解析(佐伯、新井)の結果と一致した。

T.Oroguchi, M.Ikeguchi, K.Saeki, A.Kidera and K.Kuwajima : Experimental and simulation studies of the unfolding of recombinant and authentic lactalbumin: Effect of an N-terminal methionine residue

1P134

Network motif による遺伝子発現調節

○藤本 仰一¹、石原 秀士¹、柴田 達夫² (¹東大院・総合文化、²広大院・数理分子生命)

どのように多種の分子が相互作用して情報処理機能を組織化するかを理解していくことは、生物学の主要な問題である。我々は、簡単な network motif である feed-forward loop に注目し、これが複雑な応答を示すネットワークの構成単位になりうることを報告する。feed-forward network motif は、遺伝子発現調節ネットワークや細胞内シグナル伝達系で頻繁に見いだされ、ベル型(1山型)応答、則ち、ある濃度領域内でのみ活性化する。さらに、複数の feed-forward loop を相互作用させたネットワークでは、多数の濃度領域でのみ活性化するという複雑な応答を示す。そのようなネットワーク応答は、形態形成で見られる複雑でかつ節数の決まった階層的な分節化で重要な役割を果たしうる。ここで我々は、feed-forward loop の組み合わせによりモルフォゲンの濃度勾配を翻訳して、複雑なストライプパターンの形成ができることを示す。ここで形成されるストライプの波長ではなく数が、feed-forward loop の組み合わせ方によって決定される。また、feed-forward network motif を用いたこれらの機構は、ノイズ、パラメーター、ネットワークの構造に対してある程度ロバストであることもあわせて報告する。

Koichi Fujimoto, Shuji Ishihara and Tatsuo Shibata : Gene expression regulated by network motif

1P136

有紋筋 twitchin は静止状態の actin filament と myosin filament の相互作用を調節する

○筒井 康貴¹、吉雄 麻喜²、大岩 和弘^{1,2}、山田 章² (¹兵庫県立大・院理・生命、²関西先端研・生体物性)

Twitchin は titin/connectin ファミリーに属するタンパク質である。このファミリーに属するタンパク質は脊椎動物や節足動物では、構造タンパク質として機能していると考えられている。キャッチ筋として知られる二枚貝平滑筋にも twitchin が存在し、太いフィラメントに局在している。近年行われた *in vitro* 再構成実験(Yamada *et al.*(2001)PNAS.98 6635-6640) などから、ミオシンの静止状態(低 Ca^{2+} 濃度)において、twitchin がリン酸化されると actin filament と myosin filament は解離し(弛緩状態)、脱リン酸化されると両者は結合する(キャッチ状態)一方、twitchin はキャッチ筋だとは考えられていない二枚貝有紋筋にも存在している。この有紋筋 twitchin にも、平滑筋のものと同様の調節機能がないか、カキ(マガキ)やホタテガイ(ヒオウギガイ)の閉殻筋を用いて *in vitro* 再構成実験を行った。まず、カキ平滑筋とカキ斜紋筋及びホタテガイ平滑筋とホタテガイ横紋筋の各抽出物から、myosin や twitchin を含む太いフィラメントを再構成した。これら全ての太いフィラメントにおいて、キャッチ状態としての actin の結合が確認できた。次に、カキの両筋肉から myosin と twitchin を精製した。両筋肉とも myosin のみの太いフィラメントではキャッチ状態にならなかったが、twitchin を加えることによってキャッチ状態になった。現在、ホタテガイを使って同様の実験を行っている。また、NTCB を用いて Cys 残基の切断を行うと、カキ斜紋筋 twitchin はカキ平滑筋 twitchin とほぼ同一のポリペプチド群に分解された。このことは有紋筋 twitchin と平滑筋 twitchin は一次構造が同じか、あるいは非常に似ていることを示している。以上のことから、有紋筋 twitchin は平滑筋 twitchin と同様、actin filament と myosin filament の相互作用を調節し、キャッチ状態を制御するタンパク質であることが示唆される。

Y.Tsutsui, M.Yoshio, K.Oiwa and A.Yamada : Twitchin of striated adductor muscles regulates interaction between actin and myosin filaments at resting state.