



Title	RasGEFX triggers spontaneous Ras excitation to drive random cell migration
Author(s)	岩本, 浩司
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101928
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (岩本 浩司)

論文題名

RasGEFX triggers spontaneous Ras excitation to drive random cell migration
(RasGEFXは自発的なRasの興奮性を引き起こし、ランダムな細胞運動を駆動する)

論文内容の要旨

自発的な細胞運動は、細胞外からの化学物質や物理的刺激が存在しない一定で一様な環境において、細胞がランダムに方向を変えながら運動する現象である。このランダムな運動方向の変化が広範囲にわたる探索行為を可能にし、栄養探索などの生存戦略において重要な基盤となる。細胞運動は、細胞前側で仮足を伸ばし、後側で収縮することによって実現される。この運動を支える分子メカニズムは、*Dictyostelium discoideum*からヒト白血球に至るまで、進化的に広く保存されている。近年の研究から、興奮系と呼ばれる分子反応ネットワークが細胞内で様々な分子の非対称的なシグナルを生成し、細胞運動を制御することが明らかになってきた。興奮系の中心として働く分子が低分子量Gタンパク質のRasである。Rasは活性化型RasであるRas-GTPの濃縮ドメインからなる非対称シグナルを細胞膜上に自発的に生成し、細胞の前後極性を決定する。これによって、Ras-GTPが濃縮した領域でアクチン重合が促進され、仮足の伸長が起こり、細胞運動が駆動される。しかしながら、興奮性Rasの自発的な非対称シグナル生成を制御する分子実体は、いまだ解明されていない。本研究ではこの課題に取り組むため、細胞運動のモデル生物である*Dictyostelium discoideum*を用いてRasの自発的な活性化の制御機構の解明を目指した。特に、Rasの活性化因子であるRasGEFに着目し、興奮性Rasの活性化を制御するRasGEFを同定し、そのRasGEFがRasの自発的な活性化と細胞運動をどのように制御するのかを調べた。

*Dictyostelium discoideum*はゲノム上に25種類のRasGEFをコードしている。本研究では、一定一様な環境下での興奮性Rasの自発的な活性化を制御するRasGEFを同定するため、22種類のRasGEF過剰発現株を構築し、Ras-GTPの細胞内局在を観察した。Rasは興奮性の程度に応じて、4つのRas-GTPのドメインパターンを示した。各過剰発現株における各パターンの割合とそれぞれのパターンにおけるRas-GTPの活性化が伝播する時間やドメインサイズといった時空間的特徴量を定量し、これらの特徴量をもとに階層型クラスタリングを行った。その結果、RasGEFは5つのクラスターに分類され、RasGEFB/M/U/Xの4種類が自発的なRasの活性化に関与することが示唆された。次に、これら4つのRasGEFのノックアウト細胞を作製し、Rasの自発的な活性化における各RasGEFの役割を調べた。その結果、RasGEFB/U/Xは細胞膜上に局在し、GEFMは細胞質内に一様に分布することがわかった。また、RasGEFXとRasGEFBはRas-GTPと共局在し、RasGEFXはRasの自発的な活性化に必須であり、Rasの活性化の伝播速度を制御すること、RasGEFBはRasの濃縮ドメインの空間的広がりやを制御することがわかった。さらに、各ノックアウト細胞を用いて、運動性を定量した結果、RasGEFXは他の3種のRasGEFB/M/Uと協調的に働くことで自発的なランダム運動を駆動すること明らかになった。また、RasGEFXは仮足形成の頻度、RasGEFBは仮足の大きさ、RasGEFUは細胞接着、RasGEFMは細胞運動の速度を制御することがわかった。これらの結果は、それぞれのRasGEFがそれぞれの役割を担って、興奮性Rasの活性化ダイナミクスと細胞の自発運動を制御していることを示している。加えて、*Dictyostelium discoideum*は誘引物質であるcAMPに対して走化性を示すことから、4種類のRasGEFそれぞれのノックアウト細胞の走化性を評価した。その結果、すべてのノックアウト細胞が走化性を示すことが確認された。このことは、4種類のRasGEFがcAMP依存性の走化性には必須ではないことを示唆すると同時に、他のRasGEFが走化性のシグナル伝達に関与している可能性を示している。

本研究の結果は、今回明らかにした4種のRasGEFが、外部からの走化性シグナルに依存せず、細胞の自発運動を駆動するシグナルの生成と運動調節の役割を担っていることを示している。中でもRasGEFXはRasの興奮性をトリガーする分子であり、Ras-GTPと共局在することからポジティブフィードバックを駆動するキーとなる分子だと考えられる。GEFXは確率的に自発的に活性化したRasのシグナルを増幅することでRas-GTPの濃縮ドメインの生成を可能にしているかもしれない。さらに、今回の発見は、細胞が環境をいかに効率的に探索し、適切な場所へ移動するのかを解明するための重要な手がかりを提供する。特に、複数のRasGEFがそれぞれ異なる役割を果たしながら協調的に働くことで、効率的かつ精緻な運動制御を実現していると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (岩 本 浩 司)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	教授 上田 昌宏
	副 査	教授 岡田 眞里子
	副 査	教授 昆 隆英
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>細胞運動は、単細胞生物の環境探索や多細胞生物における免疫応答、形態形成といった多様な生理的プロセスの基盤を成す重要な細胞機能である。その分子メカニズムは下等真核生物の細胞性粘菌からヒト白血球に至るまで進化的に広く保存されており、共通の生体分子が機能発現を担っている。先行研究により、アメーバ様の移動運動を示す細胞では、低分子量 GTP 結合タンパク質である Ras が細胞の運動方向の決定に中心的に働いていることが明らかとなっている。細胞膜上で活性型 Ras (Ras-GTP) の非対称な局在パターンが形成されることで、仮足形成の制御を通して細胞の運動方向が決定される。こうした Ras-GTP の局在パターンの生成は、細胞における自発的な対称性の破れの一例となっていることから、その分子メカニズムの解明は細胞運動の制御の仕組みの理解に寄与するだけでなく、細胞の非対称性の自発生成の仕組みの解明に繋がる。Ras は細胞増殖や癌の形成に関与するシグナル伝達分子であるため、Ras の活性制御の分子メカニズムは様々な生物で解明されてきたが、細胞運動を制御する Ras の自発的なシグナル生成を担う分子実体は未解明であった。</p> <p>本論文で岩本浩司氏は、Ras の細胞内動態を定量的に計測・解析できるライブイメージング法と、Ras の細胞内動態の特徴量に基づく階層型クラスタリング法を開発し、両者を組み合わせることで Ras の活性制御に関わる因子を同定するための新たなスクリーニング手法を確立した。この手法を細胞運動のモデル生物である細胞性粘菌 <i>Dictyostelium discoideum</i> に適用することで、Ras の自発的なシグナル生成と細胞の自発運動に関与する Ras 活性化因子として複数のグアニヌクレオチド交換因子 RasGEFs (RasGEFB/M/U/X) を同定した。一連の機能解析により、RasGEFX は細胞の運動装置である仮足の時間的な形成頻度、RasGEFB は仮足の空間的なサイズ、RasGEFU は細胞と基質の接着、RasGEFM は細胞の運動速度を制御することを明らかにした。加えて、これらの RasGEFs は、細胞外部からの走化性シグナルの伝達には必須ではないことを示し、細胞運動を制御するシグナルを細胞の内在的・自発的なダイナミクスとして生成することを明らかにした。これら一連の計測・解析手法の開発は、細胞運動の制御に働く細胞内シグナル伝達系・シグナル生成系の分子基盤を明らかにする新たな研究手法を提案しており、この研究手法によって得られた一連の発見は細胞運動における非対称性の自発的生成機構の理解を大きく進めるものである。</p> <p>よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>		