The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	cα2正電荷アミノ酸のPTEN膜局在における役割
Author(s)	安井, 真人
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52239
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

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

〔　題　　名　〕

ｃα2正電荷アミノ酸のPTEN膜局在における役割
(The role of ｃα2 in the cell membrane localization of PTEN)

学位申請者　　安井　真人

PTENは癌の抑制や細胞運動にかかわる蛋白質として知られている。PTEN膜局在の低下が細胞の癌化や細胞運動能力の低下へつながる。そのため、PTENと膜との相互作用の研究は重要である。PTENは細胞膜との静電相互作用を膜結合に利用している。そして、PTENのαヘリックスであるcα2の正電荷アミノ酸が膜結合にかかわっているとされている。実際に、癌細胞ではcα2に変異が入ることが多い。上記のようにcα2の膜結合における効果は生理的に重要である。しかし、これまでの研究ではcα2への変異が細胞膜結合へどのような影響を与えるかは調べられてこなかった。そこで、本研究では、cα2の正電荷アミノ酸を徐々に減らした変異体とイメージングによりcα2の細胞膜結合への影響を調べた。その結果、cα2の正電荷アミノ酸を減らすと確かに細胞内の膜結合が低下することがイメージングからわかった。さらに一分子イメージングで細胞膜上の動態を詳しく調べると、細胞膜上をあたかもホップしているような一分子の動きが観測された。このホップという現象を詳しく調べるため、私は分子が膜から外れて戻ってくる確率を計測する手法を新規開発した。そして、この新手法を用いて変異体を解析したところ、cα2の正電荷アミノ酸はホップの状態を抑える働きがあることがわかった。また、細胞膜上のアクチンフィラメントのホップへの影響を調べた結果、アクチンフィラメントがホップに与えるような結果は検出できなかった。膜から外れて戻ってくる現象は１０年以上も前から理論研究が盛んに行われてきたが、実験による証明は困難とされてきた。本研究により理論予測の妥当性の検証ができ、PTENにホップという状態が存在することやcα2がPTENの膜結合安定に寄与していることが明らかになった。

様式7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　安井　真人　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	上田　昌宏
	副 査	教授	石井　優
	副 査	教授	河村　悟
	副 査	教授	木村　真一

論文審査の結果の要旨

安井真人さんは、細胞の自発運動の分子メカニズムに興味を持ち、運動の制御に関与するイノシトールリン脂質代謝系のPTEN分子の細胞内動態を１分子レベルの定量計測と数理モデルを組み合わせた研究により明らかにした。従来の研究により、イノシトールリン脂質代謝系は自己組織化反応によって前後極性を形成することで、細胞の運動装置を制御することが分かっており、PTENはそうした細胞内動態を作り出す主要構成要素の一つとして知られている。PTENは細胞膜に局在して生理活性を現すことから、本論文ではPTENの細胞膜への局在の仕組みについて、特にPTENのcα2領域にある陽電荷クラスターに注目して細胞内１分子イメージングを用いた解析を行った。その結果、cα2領域の電荷量に依存してPTENの細胞膜局在が変調されること、および、PTENが細胞膜上を連続してhoppingするという新しい現象を発見した。Hopping現象は、膜結合性分子のin vitro再構成系において過去に報告があるものの、生きた細胞内ではこれまでに全く報告がなく新規性が高い。また、従来の細胞内１分子動態解析では、膜上での分子の拡散係数と結合時間の解析が主であったが、本論文では分子が膜上に結合する際の時空間情報を使うことにより、分子が細胞膜からはずれた後に細胞膜に再結合する確率を定量できる新しい１分子解析法を開発した。この解析手法は、in vitro再構成系におけるhopping解析の統計手法を細胞内環境に適用できるように拡張された手法となっており、従来よりも一般性の高い解析法となっている点も評価できる。cα2配列は膜蛋白質に広く見いだされることから、本論文で発見されたhopping現象とその解析手法の提案は、学術的価値が高いと言える。こうした１分子解析に加えて、PTENの表面電荷の変調によるイノシトールリン脂質代謝系の時空間動態の変化、さらには、細胞運動動態の変化を実験的に明らかにし、そうした動態変化を説明する数理モデルの構築にも成功している。

博士論文の執筆内容については、上述した新規性にフォーカスして明瞭に書かれている。公聴会での発表は分かりやすく、質疑応答にも的確に答えた。博士論文の内容のほとんどは原著論文としてすでに出版されている。以上のことから、本学の博士論文に十分に値すると判断した。