

Title	The analysis of Ras/PIP3 self-organized localization pattern for spontaneous cell migration
Author(s)	福島, 誠也
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/72669
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (福島 誠也)	
論文題名	The analysis of Ras/PIP3 self-organized localization pattern for spontaneous cell migration (自発的な運動を生むRasおよびPIP3の自己組織的な局在パターンの解析)
論文内容の要旨	
<p>細胞における非対称性の形成は、細胞分裂や食作用、細胞運動など生物にとって必須な能力の根底にある現象である。細胞の極性形成の例で特に顕著なものとして、真核性のアメーバ細胞における細胞運動が挙げられる。細胞の運動方向の決定には、細胞の非対称な形状や細胞骨格の配向、シグナル分子の局在などが寄与している。生細胞のイメージング技術が発展し、これらが同時に観察できるようになったことで、細胞膜状におけるシグナル分子の局在が細胞の運動方向の決定に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。特に、単量体G蛋白質RasのGTP型 (Ras-GTP) およびイノシトールリン脂質のP1(3,4,5)P3 (PIP3)は、細胞の形状や細胞骨格の非対称性、外部からの刺激などが無い環境においても、細胞膜上に非対称な局在パターンを示すことが知られている。Ras-GTPおよびPIP3は、外部刺激に対して興奮系様の応答を示すほか、特定の環境下において自己組織的に細胞膜上を伝搬する波状のパターンを形成する (Ras/PIP3 wave)。これらの現象は、非対称な局在パターンを作るシグナル分子の、制御ネットワークの構造を反映していると考えられており、これまで、これらを説明するための数理モデルがいくつか報告されている。しかし、計測手法の限界から、モデルの中で仮定される様々なフィードバック制御の存在を裏付ける実験結果は示されてこなかった。</p> <p>本研究では、定量的な生細胞イメージング解析をおこなうことで、Ras/PIP3 waveの形成に関わる分子群 (Ras, PI3K, PTEN, PIP2, PIP3) の細胞膜上での時間的、空間的な関係を明らかにした。特に、全反射照明蛍光顕微鏡を用いた計測をおこなうことで、これまで観察が困難であった分子の振る舞いについても詳細に解析することに成功した。その結果、RasとPI3Kの相互作用がPIP3およびPIP3代謝に関わる分子の局在変化の引き金となっていることを見出した。また、Ras-GTPの局在パターンが、下流のシグナル分子に依存せずに興奮系としての性質を示すことを発見し、Rasとその制御ネットワークが非対称性を生む興奮系の核を担うことを示した。これらの結果を踏まえ、これまでの数理モデルをもとに新たな数理モデルを構築し、反応拡散モデルのシミュレーションから、このモデルが実験で明らかになった各分子の時空間的な関係を再現できることを確認した。今後の課題は、Rasの興奮系としての性質に必要な制御因子の同定である。本研究で開発した計測手法は、目的分子のスクリーニングにも応用できるものであり、研究のさらなる進展に寄与できると考えている。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (福島誠也)	
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 准教授 藤 本 仰 一

論文審査の結果の要旨

細胞における非対称性の自発的形成は、細胞分裂や食作用、細胞運動など生物の活動にとって必須である。先行研究では、細胞膜上におけるシグナル分子の局在が、細胞の非対称な形状や細胞骨格の配向の決定に重要な役割を果たしていることが報告されている。細胞性粘菌では、単量体 G 蛋白質 Ras の GTP 型 (Ras-GTP) およびイノシトールリン脂質の PI (3, 4, 5) P3 (PIP3) が、外部からの刺激がない環境下においても、細胞膜上に非対称な局在パターンを示すことが知られる。さらに、Ras-GTP および PIP3 は、外部刺激に対して、興奮系様の応答を示すほか、ある特定の環境下においても、自己組織的に細胞膜上を伝搬する波状のパターン (Ras/PIP3 wave) を形成する。総じて、これらの現象はシグナル分子のネットワークの制御構造を反映していると考えられてきた。実際に、これまで、これらの現象を説明するための数理モデルがいくつか提唱されたが、計測手法の限界から、理論的に仮定された様々なフィードバック制御の存在を裏付けることができなかった。本研究では、定量的な生細胞イメージング解析をおこなうことで、Ras/PIP3 wave の形成に関わる分子群 (Ras, PI3K, PTEN, PIP2, PIP3) の細胞膜上での時間的・空間的制御を明らかにした。全反射照明蛍光顕微鏡を用いた計測系を構築し、これまで観察が困難であった分子の振る舞いの詳細な解析に成功した。その結果、Ras と PI3K の相互作用が PIP3 および PIP3 代謝に関わる分子の局在変化の引き金となっていることを見出した。また、Ras-GTP の局在パターンが、下流のシグナル分子に依存せずに興奮系としての性質を示すことを発見し、Ras の制御ネットワークが非対称性を生む興奮系の核を担うことを示した。これらの結果を踏まえ、新たな反応拡散モデルを構築し、各分子の時空間的な関係を明らかにした。

本研究で、福島君は、全反射照明蛍光顕微鏡を用いた計測系の構築、解析プログラムの作成、さまざまな遺伝子欠損株や遺伝子変異体や阻害剤を用いた多数の分子群 (Ras, PI3K, PTEN, PIP2, PIP3) の時空間動態計測に至る全てを独力で遂行した。これらを通して、先行研究における仮説を検証した。その結果、仮説と異なり PTEN は Ras/PIP3 wave に必須ではなく、むしろ、Ras の活性化とその制御ネットワークが Ras/PIP3 wave の核となることを福島君は明らかにした。さらに、制御ネットワークの新たな仮説の立案とその検証を実験計測と数理モデルを用いて自ら明らかにしている。これら一連の発見は、新規性も高く、細胞の非対称性の自発的形成機構の理解を大きく進めるものである。

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。