

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22111002

研究課題名（和文）細胞運動の自発的なゆらぎを利用した柔軟な環境応答の分子メカニズム

研究課題名（英文）Spontaneous signal generation in motile cells and its physiological significance

研究代表者

上田 昌宏（Ueda, Masahiro）

大阪大学・理学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：40444517

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 85,000,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、細胞の自発運動に関与するイノシトールリン脂質代謝系に注目し、多階層にわたる定量計測と数理モデル構築により、自発運動シグナルを生成する分子メカニズムを解明した。加えて、数理モデル解析から複雑な環境変動への追従性を最大化するように自発運動のゆらぎが最適化されていることが示され、細胞運動が適度にゆらくことにより複雑な環境に適応できることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：In this research, we aimed to clarify the mechanism by which random cell motility arises spontaneously based on the dynamics of intracellular reaction networks. We found that the Phosphatidylinositol (PtdIns) lipids are self-organized to generate spontaneous signals for random motility. Characteristic oscillatory dynamics within the PtdIns lipids system were determined experimentally and the reaction-diffusion model was developed to reproduce the characteristic oscillatory dynamics. Results show that the self-organization of the PtdIns lipids system provides the noise-robust mechanisms necessary to establish the spontaneous motility. In addition, the molecular noise can give rise to the phenotypic variability and thus be the origin of the spontaneous signals observed in random cellular motility. The model suggests that random cell motility is affected by the molecular noise, and that it contributes to adaptability and a flexible search strategy in a changing and complex environment.

研究分野：生物物理学

キーワード：自発性 自己組織化 興奮系 イノシトールリン脂質 シグナル伝達 細胞運動 1分子イメージング
細胞性粘菌

1. 研究開始当初の背景

本新学術領域では、「動く細胞がいかにして周囲の場と対峙し両方向性に作用しあうことで細胞集団・組織に秩序がもたらされるか」について理解を深めることを領域全体としての研究目的としている。ゆらぎ・自由度を生来的に内包する個々の細胞および細胞集団の「動き」が、組織レベルで形成される「場」によっていかにして拘束を受け、また「場」に働きかけながら、ひずみや機能不全を解消し、柔軟かつ頑強(ロバスト)な調和状態に至るのであるか? こうした研究を実施するために、本領域では、階層間を超えて「動く細胞と場の関係性、細胞の動きの結果による秩序の生成」を示す生物現象を広くカバーし、階層間に通底した「細胞固有のゆらぎに富んだ動きから多細胞組織の秩序がもたらされる原理」を共通の問いとして追求することとした。

こうした研究領域にあって、我々の計画研究班においては、もっとも空間・時間スケールの小さい「分子から細胞レベル」における「動く細胞と場の関係性」について探求した。具体的には、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* が示す走化性運動を研究対象とした。細胞性粘菌では、その生活環の集合期において、誘引物質勾配場の自律的な形成とその場に対する走化性運動という「場と細胞のクロストーク」により、多数の細胞間に協同的な集団運動が生み出され、その結果として多細胞体が形成される。そこで本研究では、細胞運動の自発的な運動のゆらぎが生まれる仕組みと誘引勾配場に対する応答の仕組み、さらに環境応答における自発運動のゆらぎの生理的意義について研究を進めることにした。

2. 研究の目的

細胞のランダムな自発運動を引き起こす細胞内シグナル伝達系(イノシトールリン脂質代謝系)の時空間ダイナミクスを1分子レベルからの多階層解析によって実験的に捉え、細胞の運動機能がゆらぎを内包しつつ自律的に形成される仕組みを明らかにするとともに、勾配場による変調の仕組みを解明することで、細胞運動のゆらぎが環境応答に巧みに利用される可能性について追求する。

3. 研究の方法

新学術領域内の連携を考慮しつつ、本研究班では主に次の3つの研究項目について実施した。(1)細胞運動と細胞内分子ダイナミクスを計測するための多階層イメージング技術の開発、(2)細胞運動を定量的に解析し記述するための細胞運動統計解析法の開発、(3)粘菌細胞の自発運動を誘起するイノシトールリン脂質代謝系の細胞内自己組織化メカニズムの解明である。こうした研究を通して細胞運動を記述する数理モデルを構築し、その解析から複雑な環境に適應する

際の細胞運動のゆらぎの影響を計算機シミュレーションにより検討した。

4. 研究成果

(1)多階層イメージング技術の開発:本研究項目では、イノシトールリン脂質代謝経路の構成分子の1分子レベルでの分子特性、及び、構成分子群が作る分子ネットワークの時空間ダイナミクス、さらに、細胞運動ダイナミクスの計測を実現するために、既存設備の「細胞内1分子顕微鏡」「細胞内分子ダイナミクス顕微鏡」「1細胞運動計測顕微鏡」を改良して多階層のダイナミクスを同時に計測できる顕微鏡の開発を目指した。結果、イノシトールリン脂質代謝経路の構成分子が分子集団として形成する進行波を計測しつつ、同時に構成分子の振る舞いを1分子レベルで計測できる新規の顕微鏡の開発に成功した(細胞内1分子と分子ダイナミクスの同時イメージング)。また、細胞の集合過程で個々の細胞の運動と細胞内分子ダイナミクスを追跡できる顕微鏡システムを開発した(細胞内分子ダイナミクスと細胞運動の同時イメージング)。イノシトールリン脂質代謝系の構成要素のひとつであるPTEN分子に注目し、こうした顕微鏡法を適用することで1分子レベルからの多階層解析を実施した(結果は(4)に記載した)。

(2)細胞運動の統計解析法の開発:細胞の重心位置の時間変化を統計解析することにより、粘菌細胞の自発運動が次の一般化ランジュバン方程式で記述できることが明らかになっている[Takagi et al. (2008)]。

$$\frac{d\overline{v}(t)}{dt} = -\beta(v(t))\overline{v}(t) + \alpha\overline{V}(t) + \sigma(v(t))\overline{\eta}(t) \quad (1)$$

$$\overline{V}(t) = \alpha \int_{-\infty}^t e^{-\gamma(t-t')} \overline{v}(t') dt' \quad (2)$$

ここで、 $v(t)$ は細胞重心の運動速度、 $b(v)$ は運動速度の減衰強度、 a は運動速度の記憶項、 g は記憶の特徴時間の逆数、 $s(v(t))$ はノイズ強度、 $h(t)$ はガウシアンホワイトノイズであり、細胞の運動速度は、減衰項、記憶項、ノイズ項のせめぎ合いで決まることをこの方程式は表している。

この方程式は、環境に刺激のない状況での細胞の自発運動を記述しているが、環境に何らかの刺激の勾配場があるときの走性運動については記述できていなかった。そこで、電場に対する走性運動に一般化ランジュバン方程式の適用可能性を検討した。その結果、式(1)右辺の第2項(メモリー項)に走性運動に伴う運動方向のバイアスを表す項を加える事で、自発運動と勾配場に対する応答運動を定量的に記述することが可能になった。これにより、勾配場に対する細胞応答を計算科学的手法により予測できるようになった。

この数理モデルを用いて、一定ではなく変

動する入力に対して、細胞がどのように応答するのかを計算機シミュレーションによって検討した。その際、一定入力存在下での細胞の応答効率と、入力反転に対する細胞の追従能の双方を取り入れることにより、変動する入力に対する細胞応答の効率指標を新たに導入した。その結果、細胞の応答を規定する主要因は運動速度の記憶項とノイズ強度の比率であり、野生型細胞では環境変動に対してもっとも効率よく適応可能な記憶強度に最適化されていることが明らかになった。つまり、細胞は運動に適度なゆらぎを内在化させることによって、環境変化に対して柔軟に反応する仕組みを持っていると言える。

(3) 自発運動を誘起する自己組織化メカニズムの解明：細胞の自発運動のシグナル生成に働くイノシトールリン脂質代謝系に注目し、構成分子による細胞内自己組織化の仕組みを多階層にわたる定量計測と数理モデル構築により解明した。その結果、イノシトールリン脂質代謝系が興奮系 (excitable system) の特徴を示す事が実験的に明らかになった [Nishikawa et al. (2014)]。また、この興奮系の特徴を数理モデル化することに成功し、興奮系のダイナミクスを基盤とする走化性濃度勾配検出メカニズムを理論的に明らかにした [Shibata et al. (2013)]。興奮系であることから、イノシトールリン脂質代謝系の構成分子の活性のゆらぎが確率的に増幅されて細胞運動のシグナルが生成されると考えられる。細胞の興奮・振動現象は、大腸菌、酵母、ES細胞の遺伝子発現等においても見つけてきている。様々な興奮・振動現象に共通する普遍的なシグナル伝達のメカニズムが存在する可能性があり、本研究の発展によりその生理的意義を広い生命現象の中で捉えることが可能になるだろう。また、本研究で構築したイノシトールリン脂質代謝系の反応拡散モデルは、免疫細胞における走性運動の分子メカニズムの理解にも繋がることを期待される。

(4) 細胞運動のゆらぎを再現する細胞運動モデルの構築：
細胞運動を記述するモデル - Cortical factor feedback model - を構築した [Nishimura et al. (2009); Nishimura et al. (2012)]。このモデルではアクチン重合を制御する一連の調節因子を cortical factor と呼び、この因子が細胞の変形に伴い細胞後部へと移動し、細胞極性の確立を通して細胞運動を増強することでさらに細胞後部へと調節因子の移動を引き起こすというフィードバックモデルとなっている。確率的なシミュレーションにより、自発運動に見られる様々な形態パターンや自発運動の軌道のゆらぎを再現する事に成功した。この数理モデルは実験的に得られた細胞運動の統計的特性を再現する。さらに、自発運動のゆらぎが障害物の回避や環境変動へ

の適応に利用されることが明らかになった [Nishimura et al. (2012)]。走化性誘引分子がソースから分泌されているが障害物があるために細胞が直接たどり着けない場合でも、細胞運動がゆらぐことにより、ときどき誘引分子の濃度勾配に逆らって運動し、障害物を迂回してソースに到達することが計算機によって示された。その際、環境変動への追従性を最大化するように自発運動のゆらぎが最適化されていることが示され、細胞運動が適度にゆらぐことにより複雑な環境に適応できることが明らかになった。この結果は、細胞運動のランダムさの程度が複雑な自然環境に柔軟に適応できるように丁度よいかげんに設定されていることを示唆している。

(5) PTEN 分子に着目した 1 分子レベルからの多階層解析：イノシトールリン脂質代謝系構成分子の PTEN に着目し、1 分子レベルでの確率的特性と自己組織化ダイナミクスの関係、さらに細胞運動のゆらぎの関係を定量的に解析した。PTEN 分子の細胞膜結合反応の 1 分子解析により、C2 ドメインの重要性が明らかになった [Yasui et al. (2014)]。この結合調節の仕組みは、この代謝系の興奮性を適度な強度に保つことに寄与しており、膜結合性の変調により細胞の自発運動のゆらぎが変調されることが明らかになった。こうした定量計測に基づき、イノシトールリン脂質代謝系の自己組織化モデル [Shibata et al. (2013)] と細胞運動モデル [Nishimura et al. (2012)] を統合した数理モデルを構築した。これにより、1 分子レベルでの確率的特性と細胞レベルでの自発運動の関係を定量的に議論できるようになった。結果として次のコンセプトに至っている。『細胞は自己組織化メカニズムにより興奮系の特徴を持つシグナル伝達系の形成を通して、分子運動・分子反応の確率性に起因する分子数ゆらぎを運動機能の発現へと結びつけ、細胞の振る舞いに確率的要素を加えることで変動する環境へ柔軟に適応するシステムを作り上げている (organized randomness) 』

(6) その他の研究成果： 新規の 1 分子解析法を開発し、PTEN が細胞膜上を hopping する現象を発見した。これは PTEN と細胞膜の相互作用が数十ミリ秒の間隔で連続して起こるもので、タンパク質の細胞膜局在の新しい仕組みといえる [Yasui et al. (2014)]。量子ドットを用いた多色 1 分子計測により、従来よりも高密度下での 1 分子実時間追跡を実現した [Komatsuzaki et al. (2015)]。細胞運動統計解析法を神経細胞内の細胞核の運動解析に適用した結果、核の運動モードを特徴づけることに成功した (領域内共同研究) [Okamoto et al. (2013)]。走化性運動を介して起こる多細胞体形成についても研究を進めたところ、細胞間において細胞運動の同調化を引き起こす走化性シグナルが遺伝

子発現のシグナルとしても働き、細胞間で遺伝子発現を同調化させることを明らかにした[Cai et al. (2014)]. これらの成果は本研究で開発した定量的イメージング解析法・統計先関法を応用したものであり、当初計画で想定した研究成果を超えるものである。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

- [1] Komatsuzaki, A., Ohyanagi, T., Tsukasaki, Y., Miyanaga, Y., Ueda, M., and Jin, T. (2015). "Compact Halo-Ligand Conjugated Quantum Dots for Multicolored Single-Molecule Imaging of Overcrowding GPCR Proteins on Cell Membrane." *Small*, 11: 1396-1401. doi: 10.1002/smll.201402508. 査読有 .
- [2] Yasui, M., Matsuoka, S., and Ueda, M. (2014). "PTEN hopping on the cell membrane is regulated via a positively-charged C2 domain." *PLOS Computational Biology*. 10: e1003817. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003817. 査読有 .
- [3] Cai, H., Katoh-Kurasawa, M., Muramoto, T., Santhanam, B., Long, Y., Li, L., Ueda, M., Iglesias, P. A., Shaulsky, G., and Devreotes, P. N. (2014). "Nucleocytoplasmic shuttling of a GATA transcription factor functions as a development timer." *Science*, 343: 1249531. doi: 10.1126/science.1249531. 査読有 .
- [4] Nishikawa, M., Hörning, M., Ueda, M. and Shibata, T. (2014). "Excitable signal transduction induces both spontaneous and directional cell asymmetries in the Phosphatidylinositol Lipid Signaling System for Eukaryotic Chemotaxis." *Biophysical Journal*, 106: 723-734. doi:10.1016/j.bpj.2013.12.023. 査読有 .
- [5] Shibata, T., Nishikawa, M., Matsuoka, S., and Ueda, M. (2013). "Intracellular encoding of spatiotemporal guidance cues in a self-organizing signaling system for chemotaxis in Dictyostelium cells." *Biophysical Journal*, 105, 2199-2209. doi: 10.1016/j.bpj.2013.09.024. 査読有 .
- [6] Okamoto, M., Namba, T., Shinoda, T., Kondo, T., Watanabe, T., Inoue, Y., Takeuchi, K., Enomoto, Y., Ota, K., Oda, K., Wada, Y., Sagou, K., Saito, K., Sakakibara, A., Kawaguchi, A., Nakajima, K., Adachi, T. Fujimori, T., Ueda, M., Hayashi, S., Kaibuchi, K. and Miyata, T. (2013). "TAG-1-assisted progenitor elongation streamlines nuclear migration to optimize subapical crowding." *Nature Neuroscience*, 16, 1556-1566. doi:10.1038/nn.3525. 査読有 .
- [7] Matsuoka, S., Shibata, T. and Ueda, M. (2013). "Asymmetric PTEN distribution regulated by spatial heterogeneity in membrane-binding state transitions." *PLOS Computational Biology*, 9, e1002862. doi:10.1371/journal.pcbi.1002862. 査読有 .
- [8] Shibata, T., Nishikawa, M., Matsuoka, S. and Ueda, M. "Modeling the self-organized phosphatidylinositol lipids signaling system in chemotactic cells based on quantitative image analysis." *Journal of Cell Science*, in press (2012). doi: 10.1242/jcs.108373. 査読有 .
- [9] Tsujioka, M., Yumura, S., Inouye, K., Patel, H., Ueda, M. and Yonemura, S. "Talin couples the actomyosin cortex to the plasma membrane during rear retraction and cytokinesis." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 12992-12997 (2012). doi:10.1073/pnas.1208296109. 査読有 .
- [10] Nishimura, S. I., Ueda, M. and Sasai, M. "Non-Brownian dynamics and strategy of amoeboid cell locomotion." *Physical Review E*. 85, 041909 (2012). doi:10.1103/PhysRevE.85.041909. 査読有 .

〔学会発表〕(計 180 件)

- [1] 上田 昌宏 (2014) "細胞内シグナル伝達系におけるゆらぎの階層化", 自然科学研究機構プロジェクト合同シンポジウム「脳神経情報の階層的研究」「機能生命科学における揺らぎと決定」, 平成 26 年 2 月 27 日, 岡崎, 生理学研究所 .
- [2] 上田 昌宏 (2013) "走化性シグナル伝達ネットワークの 1 分子・システム生物学", 顕微鏡学会シンポジウム「最先端ハイオイメージングによる生命システムの動作原理解明にむけて」, 平成 25 年 5 月 2 2 日, 大阪, ホテル阪急エキスポパーク .
- [3] Ueda M. (2013) "Single-molecule analysis of heterotrimeric G protein dynamics during chemotaxis in living cells" , Single Molecule Biophysics 2013, Aspen Center for Physics, January 8, Colorado, USA.
- [4] Ueda M. (2012) " Self-organization of intracellular signaling networks for chemotactic response and migration " , 2012 Annual meeting of the Japanese Society for Immunology , International symposium "Systems immunology" , December 7, Kobe International Conference Center, Kobe, Japan.
- [5] Ueda M. (2012) "Self-organization of chemotactic signaling networks for random and directional cell migration, " UK-Japan Symposium for Mechanochemical Cell Biology, August 24, 2012, Scarman House, University of Warwick, UK.
- [6] Ueda M. (2011) "Intracellular signalling oscillators for random cell migration and chemotaxis in Dictyostelium cells" , International symposium "Designing the Circadian Clock", November 25, 2011, Nagoya University .
- [7] Ueda M. (2011) " Self-organization of the PtdIns lipids signaling system for spontaneous random motility in Dictyostelium

cells”, International symposium “New Aspect of Phospholipid Biology and Medicine 2011”, November 14, 2011, Hotel Luigans Spa and Resort, Fukuoka.

- [8] Ueda M (2011) "Self-organization of chemotactic signaling system for spontaneous random migration in Dictyostelium cells", Gordon Research Conference, Gradient sensing and directed cell migration, June 6, 2011, Les Diablerets Conference Center, Les Diablerets, Switzerland.
- [9] Ueda M. (2011), "Self-organization of the PtdIns lipids signaling system for spontaneous motility in Dictyostelium cells", Morphogenesis based on cell polarization, 44th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists □(cosponsor: the Asia-Pacific Developmental Biology Network), Okinawa Convention Center, Okinawa, Japan, May 19, 2011.
- [10] Ueda M (2011) "Single-molecule imaging analysis of chemotactic signaling", Dictyostelium meeting at Devreotes Laboratory, March 10, WBSB Conference Room, Department of Cell Biology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

〔図書〕(計12件)

- [1] 松岡里実, 上田昌宏 (2014). 11章 細胞膜内での運動, 11-3 細胞表面における情報処理. DOJIN BIOSCIENCE SERIES 『1分子生物学』(化学同人), pp. 139-147.
- [2] 松岡里実, 宮永之寛, 上田昌宏 (2012). “1分子イメージング”, 『モデル生物: 細胞性粘菌』((株)アイピーシー出版), 阿部知顕, 前田靖男編, 分担執筆, pp.51-71.
- [3] 柴田達夫, 上田昌宏 (2011). “細胞の反応ゆらぎとシグナル伝達”, 『生命科学の新しい潮流 理論生物学』(共立出版), 望月敦史編, 分担執筆, 「第3章 分子から細胞へ, 第1節 細胞における情報処理の確率性と自発的対称性の破れ」, pp.97-115.
- [4] Sako, Y. and Ueda, M. (2011). Cell Signaling Reactions: Single-Molecule Kinetic Analysis. Springer-Verlag., 330 pages. doi 10.1007/978-90-481-9864-1.

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称: 多重蛍光画像の画像解析のための装置, システム, 方法, およびプログラム
発明者: 尾崎 裕一, 上田 昌宏
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特願 2012-84643
出願年月日: 2012年4月3日
国内外の別: 国内

名称: 光学顕微鏡システムおよびスクリーニ

ング装置

発明者: 柳田敏雄, 上田昌宏, 佐甲靖志, 廣島通夫, 小塚淳

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2014-113244

出願年月日: 2014年5月30日

国内外の別: 国内

〔その他〕

(1) 研究室のホームページ

http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/ueda/index.html

<http://www.qbic.riken.jp/csd/ja/index.html>

(2) 発表論文の内容について以下のホームページで紹介している。

Komatsuzaki et al., (2014)の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info82.html>

Yasui et al., (2014) の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info81.html>

Cai et al., (2014) の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info79.html>

Matsuoka et al., (2013) の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info76.html>

Tsujioka et al., (2012) の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info71.html>

Nishimura et al., (2012) の研究成果

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/newinfo/info69.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 昌宏 (UEDA, Masahiro)

大阪大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 40444517

(2) 連携研究者

高木 拓明 (TAKAGI, Hiroaki)

奈良県立医科大学・物理学教室・講師

研究者番号: 10444514

富樫 祐一 (TOGASHI, Yuichi)

広島大学・大学院理学研究科・特任准教授

研究者番号: 50456919

西村 信一郎 (NISHIMURA, Shin I.)

広島大学・大学院理学研究科・研究員

(現在、さくらアカデミア株式会社)

研究者番号: 60402541