

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25840069

研究課題名(和文) マイクロ流路を用いた動的な場の制御による進行波走化性の解析

研究課題名(英文) Analysis of spatial and temporal aspects of chemotaxis using a dynamic gradient generator

研究代表者

中島 昭彦 (NAKAJIMA, Akihiko)

東京大学・総合文化研究科・特任助教

研究者番号：90612119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：動く細胞の代表格である細胞性粘菌は走化性誘引物質cAMPの進行波を頼りに集合する。cAMP波の前面と背面は逆向きの勾配のため、波の両面で勾配をのぼると動きが相殺されて一方向には進めない「走化性パラドクス」を細胞がなぜ回避できるのか、数十年来の未解決問題であった。本研究では、微小デバイス実験系を用いて動的濃度勾配を作り出し、生細胞イメージング実験と理論的な解析から、cAMP濃度が時間的減少する場合に走化性応答が抑制される整流的な方向検知によって一方向運動が実現されることを明らかにした。これらのことは、「先に応答した側が勝つ方式」によって時間センシングによる方向検知が働いていることを支持している。

研究成果の概要(英文)：Aggregation of Dictyostelium discoideum is mediated by chemotaxis towards propagating waves of chemoattractant cAMP. Because the direction of chemoattractant gradient reversed during the wave passage, how unidirectional migration is achieved remains unresolved. By precise microfluidics emulation of the dynamic chemoattractant field we demonstrate that, in Dictyostelium cells, directional migration as well as activation of small guanosine triphosphatase Ras at the leading edge is suppressed when the chemoattractant concentration is decreasing over time. The 'rectification' of directional sensing occurs only at an intermediate range of wave speed and its optimum is at about a period of 6 minutes which is consistent with the wave period typically observed in aggregating cells. These results indicate that the ability of Dictyostelium cells to move only in the wavefront is closely associated with rectification of adaptive response combined with local activation and global inhibition.

研究分野：生物物理

キーワード：走化性 粘菌 自己組織化 進行波 方向検知 時間センシング マイクロ流路 適応

1. 研究開始当初の背景

走化性応答は原核生物からヒト細胞に至るまで多くの細胞が持つ普遍的細胞機能である。それにより、細胞は栄養物質や成長因子などの環境情報を読み取って移動することができる。走化性を考える際、物質勾配の場は静止したものと思いがちだが、実際の自然環境や多細胞組織環境ではシグナルは時空間的に大きくゆらぐ。また、白血球細胞では、細胞が誘因物質を自己分泌的に放出して他の細胞を誘因する。このように細胞同士によるシグナルリレーやフィードバックによって作られる誘因物質の場は時間・空間的にダイナミックに振る舞う。動的な場からの情報を細胞はどのように適切に取り、目的の場所へ移動できるのか。細胞の知覚メカニズムに対する理解が求められている。この問題に対して、本研究で扱う細胞性粘菌は優れた実験系を提供する。粘菌細胞はえさのない環境では、誘因物質 cAMP への走化性で集合する。この時の場は静的な空間勾配ではなく、らせん状の cAMP 進行波ができる。細胞は cAMP 波がやってくる方向に向かい、らせん中心へ集合する。だが進行波の場合、空間勾配は常に一定ではなく、波が細胞を通過するごとに勾配の方向が反転することが問題になる。空間勾配を検知するだけでは、繰り返し反転する場に対して細胞は行ったり来たりしてしまい、一方向に進めないはずである。この問題は走化性パラドクス (" chemotactic wave paradox " や " back-of-the-wave paradox " と呼ばれる) と呼ばれ、数十年来の謎とされており、細胞がどのように進む方向を検知するのかよくわかっていないままであった。

2. 研究の目的

動的な場からの情報を細胞はどのように適切に取り、目的の場所へ移動できるのか。cAMP の進行波に対して一方向運動を示す粘菌細胞を例に、時空間変化の情報統合によ

て可能になる、動的な場に対する走化性運動のメカニズムを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

微小流路技術を使って時間空間的に動的な走化性場をつくり出し、実験と理論的解析の両面から cAMP の進行波に対して 1 方向運動するメカニズムにせまることとした。我々が構築した進行波刺激系は本来細胞が集団で形成する cAMP 進行波を人工的に生成でき、かつ、その時空間スケールを任意に変えることができるため、高精度に制御された場のもとでの生細胞タイムラプス観察を行い、細胞の重心運動や仮足伸縮の振る舞いとあわせて、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、走化性シグナル分子の時空間動態を詳細に解析した。さらに、得られた実験データと理論的解析を照らし合わせることから、進行波走化性運動のメカニズムの理解を試みた。

4. 研究成果

マイクロ流路技術を用いて時間的・空間的に動的な cAMP の勾配を作り出し、そのような場の下での細胞の走化性応答を定量的に解析した。1 細胞イメージング実験による細胞運動と低分子量 G タンパク質 Ras の細胞内分子動態の詳細な解析の結果、走化性誘引物質の絶対濃度が時間的に減少する濃度勾配に対しては方向検出応答がみられないという、ダイオードのような、時間的な増減に対して強い選択性「整流作用」をもった方向検出応答が細胞に内在することを明らかにした。整流的な応答は走化性シグナル経路下流のフォスファチジルイノシトール 3 リン酸キナーゼ (PI3K) 活性、および運動装置であるアクチン重合阻害下においても観察された。これらのことから、下流の反応による増幅や細胞の運動に伴った運動方向に関する記憶の保持が失われた状況下でも、整流作用をもった方向検出によって進行波走化性が実現さ

れることを示した。一連の実験結果をもとに構築した数理モデルの解析から、整流作用をもった走化性応答は、濃度変化に対する応答の反応機構に超感度性 (ultra-sensitivity) が内在することで実現できることを明らかにした。また一連の結果から、定常的な空間的な濃度を比較することなく、「先に応答した側が勝つ方式」によって誘引物質の刺激が最初にやってきた方向が検知されるという時間センシングによる方向検知が働いていることを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

- ・ 中島昭彦、石原秀至、澤井哲、「動く細胞が読み取る時間と空間:走化性のパラドクスと整流作用」生物物理 56(2) p. 98-101. 2016年(カバーイラストに選出)(査読有り)
- ・ Nakajima, A., Ishihara, S., Imoto, D., & Sawai, S. (2014). Rectified directional sensing in long-range cell migration. *Nature communications*, 5, 5367. (査読有り)

[学会発表](計 12件)

- ・ Akihiko Nakajima, Delineating temporal and spatial aspects of directional sensing in migrating cells (2016) Fourth annual winter q-bio meeting, Honolulu (USA), 2016/02/17
- ・ Akihiko Nakajima, Shuji Ishihara, Dissecting temporal and spatial information for direction sensing in migrating cells (2015) 16th international conference on systems biology ICSB 2015, Singapore

(Singapore), 2015/11/23 (招待講演)

- ・ 中島昭彦、石原秀至、井元大輔、澤井哲、整流的な細胞の移動に見られる時間空間情報の統合メカニズムとその操作(2015)生命動態の分子メカニズムと数理～生命動態システム科学4拠点、CREST、PRESTO 合同シンポジウム、2015/03/16, 17、京都大学芝蘭会館(京都府、京都市左京区)
- ・ Akihiko Nakajima, Rectified directional sensing by integration of spatial and temporal information (2015) Directed cell migration, Gordon research conference, 2015/01/28, 29, Texas (USA)
- ・ 中島昭彦、細胞の走化性応答に見られる時間空間認識機構の定量生物学的解析(2015)定量生物の会第7回年会、2015/01/12、九州大学筑紫キャンパス(福岡県春日市)(招待講演)
- ・ 中島昭彦、石原秀至、井元大輔、澤井哲、細胞の走化性応答に見られる時間空間情報の統合:数理と実験の融合的アプローチ(2015)生命ダイナミクスの数理とその応用-異分野とのさらなる融合-、2014/12/03、東京大学駒場キャンパス(東京都、目黒区)
- ・ Akihiko Nakajima, Experimental and theoretical approaches for dissecting cellular dynamics in complex chemoattractant fields (2014) The joint annual meeting of the Japanese society for mathematical biology and the society for mathematical biology, 2014/07/31, 大阪府立国際会議場(大阪府、大阪市北区)(招待講演)
- ・ Akihiko Nakajima, How do cells know in which direction to move in spatiotemporal chemical environments? (2014) iCeMS symposium mesoscopic chemical biology: integrated chemical-physical systems

towards cell control, 2014/02/07, 京都大学(京都府、京都市) (招待講演)

・ 中島昭彦、石原秀至、井元大輔、澤井哲、
時空間的にダイナミックな化学誘引場
における細胞移動メカニズム、数学数理
科学と諸科学産業との協働によるイノ
ベーション創出のための研究促進プロ
グラム「生命ダイナミクスの数理とその
応用」(2014) 2014/01/21、東京大学駒
場キャンパス(東京都目黒区)

・ 中島昭彦、石原秀至、井元大輔、澤井哲、
時空間的にダイナミックな化学誘引場
における細胞走性メカニズム、定量生物
の会第6回年会(2013) 2013/11/23、大
阪大学吹田キャンパス銀杏会館(大阪府
吹田市)

・ Akihiko Nakajima, Shuji Ishihara, Daisuke
Imoto, Satoshi Sawai, Directional sensing
and rectified cell motion towards
temporally changing gradient, 日本生物物
理学会第51回年会(2013) 2013/10/28、
国立京都国際会館(京都府、京都市)

・ 中島昭彦、石原秀至、井元大輔、澤井哲、
時空間的に変動する cAMP 場に対する
細胞応答と進行波走化性(2013) 日本
細胞性粘菌学会第3回年会、2013/10/12、
京都大学理学研究科セミナーハウス(京
都府、京都市)

[図書](計 3件)

・ * Nakajima, A., Sawai, S., Dissecting
spatial and temporal sensing in
Dictyostelium chemotaxis using waveform
stimulus, Chemotaxis: Methods and
Protocols 2nd edition, Springer (印刷中)

・ 澤井哲、井元大輔、福神史仁、中島昭彦
(2014)「動く細胞の定量的動態解析」
画像解析手取り足とりガイド (青木一
洋、小林徹也 編)澤井哲 2章-10 羊

土社、pp. 154-166

・ 澤井哲、石原秀至、中島昭彦 (2013)
一細胞イメージングから見る細胞内シ
グナルの自己組織化現象(【特集】生命
システムを定量する 企画/小林徹也)
『実験医学』vol.31, No.8, pp.
1217-1223

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 昭彦 (NAKAJIMA, Akihiko)

東京大学大学院総合文化研究科、複雑系生
命研究センター、特任助教

研究者番号: 906112119