

細胞内1分子計測法を用いた走化性情報処理システムの解析 Single molecule analysis of chemotactic signaling system

柳田 敏雄 (Yanagida Toshio)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授



研究の概要

細胞の走化性応答を担う細胞内情報処理システムを対象として、熱ゆらぎの影響を受けながら機能する情報伝達分子の確率的振る舞いを1分子レベルで実験的に明らかにした。その知見をもとに、分子反応の確率性に着目した走化性情報処理の理論モデルを構築した。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：走化性、1分子、細胞性粘菌、神経細胞、ゆらぎ、ノイズ、確率

1. 研究開始当初の背景・動機

細胞は環境からの微弱なシグナルを高感度で検出し、生命活動に重要な様々な生理学的応答を行なう。応答を誘起するシグナルには熱ゆらぎに起因するノイズが伴い、時にはノイズがシグナルより大きい場合さえ知られている。細胞はそうした微弱で曖昧なシグナルをナノメートルサイズの生体分子により受容・処理するために、そのシグナル伝達過程も熱ゆらぎによるランダムな揺動の影響を常に受ける。しかしながら、細胞はそうした微弱で曖昧なシグナルに対してさえもしばしば的確に応答する。細胞がゆらぎの中で安定して応答する仕組みを解明することは、細胞内情報処理研究における重要な課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、細胞内1分子イメージング解析法を駆使することにより、化学刺激の受容から細胞運動の制御にいたる情報伝達過程を細胞内で1分子イメージングし、熱ゆらぎの影響を受けながらはたらく情報伝達分子の振る舞いを明らかにするとともに、情報伝達分子の反応の確率性に着目して、走化性情報処理の理論モデルを構築する。

3. 研究の方法

研究目的を達成するために、主に次の3項目について研究を進めた。

- (1) 細胞内1分子イメージング技術の開発。
- (2) 走化性情報処理システムの細胞内1分子解析。
- (3) ノイズ解析法および理論モデルの構築

4. 研究の主な成果

(1) 細胞内1分子イメージング技術の開発

従来の細胞内1分子顕微鏡法では鮮明な1分子画像の取得が細胞底面のみに限られていたが、蛍光色素の照明法を改良することにより、細胞表面全面にわたって高コントラストな1分子観察を可能にした。これにより細胞全面でのリガンド結合数(シグナル入力数)の定量化に成功し、数十から数百分子程度の少数分子のリガンド結合によって細胞応答が引き起こされることが明らかになった。シグナル分子数の直接計測という手法は、シグナル計測法・閾値決定法として全く新しい実験技術を提供しており、世界に先駆けた成果といえる。また、多色の1分子同時イメージング光学系及びケージド光分解刺激法の導入に成功した。

(2) 走化性情報処理の細胞内1分子解析

(i) リガンド結合数の時間的・空間的变化が実測され、細胞へのシグナル入力を実際にノイズを伴うことが分かった。(ii) 活性化した三量体G蛋白質の寿命がリガンド受容体複合体の寿命より10倍程度長いことが明らかとなり、受容体から伝搬してきたノイズがG蛋白質の活性化を通して時間平均され、ノイズが減退されていることが示唆された。(iii) 活性化した三量体G蛋白質の別々のサブユニット(G α とG β)によって「濃度勾配情報」と「平均濃度情報」の二つの情報が分離・伝達されることが示唆された。(iv) 仮足形成の制御にはたらくPTEN-PI3K経路において自己組織化的進行波形成が見いだされた。この経路がコンパスのように働くことで細胞の運動方向が

決まる。PTEN-PI3K 経路の自己組織化反応は分子の確率性を織り込んで形成されるためにノイズに対して強靭さを有すると考えられる。このように、『ノイズ処理』の仕組みとして(a)時間積算によるノイズ低減、(b)自己組織化によるノイズロバストなシステム構築が示唆された。

受容体が受け取ったノイズな入力シグナルは、情報処理システム最上流の G 蛋白質において、時間平均化作用によりノイズ除去が行なわれるとともに、G 蛋白質サブユニットの分離を通じた情報分離が行なわれ、細胞膜上で濃度勾配情報、細胞質中で平均濃度情報が生成される。こうした情報は、PTEN-PI3K 経路が自発的に形成する確率的作動コンパスに方向性を与え、これにより細胞の自発運動が誘引物質の濃度勾配の方向にマッチするようにバイアスされると考えられる。

(3) ノイズ解析法および理論モデルの構築

走化性情報処理にはたらく受容体を数理モデル化し、受容体のシグナル伝達に伴うノイズの生成・伝搬を理論的に整理した。これにより、細胞内 1 分子計測法で明らかとなった受容体の確率的特性 (例えば、リガンド結合時間やリガンド結合数のゆらぎの時定数) に基づき、受容体が出力するシグナルのシグナル・ノイズ比 (SN 比) を計算することが可能になった。この走化性シグナルの SN 比と生理学的実験から明らかになっていた走化性の効率を比較したところ、両者にきわめてよい一致が見られた (図 1)。この結果は、走化性効率は受容体レベルでの信号の SN 比によって決まることを示唆する。この理論研究を通して、走化性応答の実験データを理論的に説明することが可能になった。また、ノイズを考慮することによりはじめて理論的に説明できたことは特筆すべきことである。ここで検討した数理モデルから得られた結果は、他の多くの細胞内情報処理システムで成り立つと考えられる。

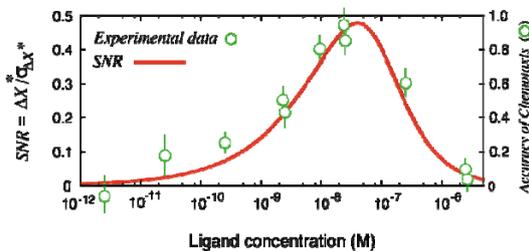


図 1 走化性シグナルの SN 比。走化性シグナル伝達の確率モデルに基づきシグナルの SN 比を計算すると、Fisher et al. (1989) で実験的に計測された走化性効率のリガンド濃度依存性とよく一致した。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究成果の一部は The Journal of Cell Science Prize, Best Paper Award 2006 を受賞するなど国際的に高い評価を受けるとともに (JCS 120, 1503)、確率的分子情報処理の工学応用へと展開をみせ、生物学だけでなく工学を含めた他分野へと波及している。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線) Uyemura, T., Takagi, H., **Yanagida, T.**, and Sako, Y.: Single-molecule analysis of epidermal growth factor signaling that leads to ultrasensitive calcium response. *Biophys. J.* **88**, 3720-3730 (2005).

Tani, T., Miyamoto, Y., Fujimori, K., Taguchi, T., **Yanagida, T.**, Sako, Y., and Harada, Y.: Trafficking of a Ligand-Receptor Complex on the Growth Cones as an Essential Step for the Uptake of Nerve Growth Factor at the Distal End of the Axon: A Single-Molecule Analysis. *J. Neurosci.* **25**, 2181-2191 (2005).

Matsuoka, S., Iijima, M., Watanabe, T.M., Kuwayama, H. **Yanagida, T.**, Devreotes P., and Ueda M.: Single molecule analysis of chemoattractant-stimulated membrane recruitment of a PH domain-containing protein. *J. Cell Sci.* **119**, 1071-1079 (2006).

Vazquez, F., Matsuoka, S., Sellers, W. R., **Yanagida, T.**, Ueda, M., and Devreotes, P.: Tumor suppressor PTEN acts through dynamic interaction with the plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 3633-3638 (2006).

Teramura, Y., Ichinose, J., Takagi, H., Nishida, K., **Yanagida, T.**, and Sako, Y.: Single-molecule analysis of epidermal growth factor binding on the surface of living cells, *EMBO J.* **25**, 4215-4222 (2006).

Ueda, M., and Shibata, T.: Stochastic signal processing and transduction in chemotactic response of eukaryotic cells, *Biophys. J.* **93**, 11-20 (2007).

Ueda, M., Ueda, M., Takagi, H., Sato, M. J., **Yanagida, T.**, Yamashita, I., and Setsune, K. Biologically-inspired stochastic vector matching for noise-robust information processing. *Physica A*, in press (2008).

ホームページ等

<http://www.phys1.med.osaka-u.ac.jp/>