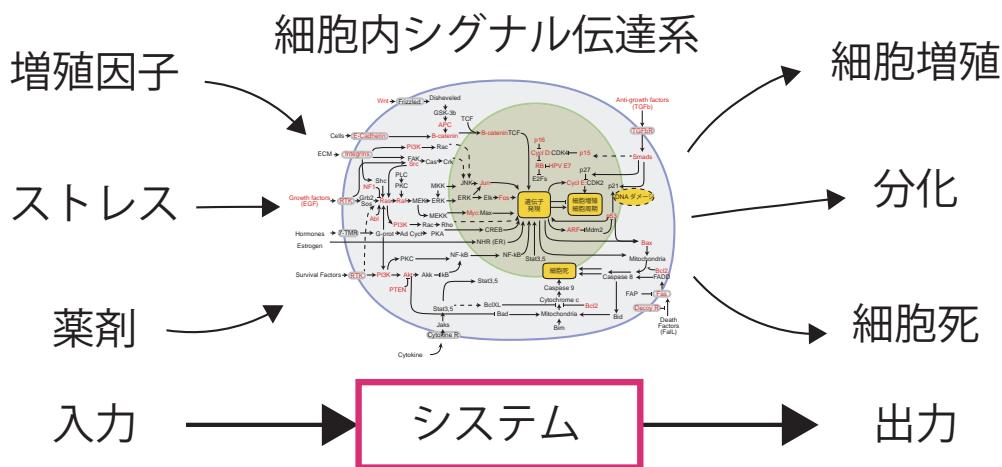


細胞内シグナル伝達系を定量的に理解する

細胞は、様々な環境からの刺激や内的な状態といった「入力」を感じし、その情報を「細胞内シグナル伝達系」により処理し、最終的に細胞の増殖や分化といった表現型を「出力」する、いわば「入出力装置」である。この入力シグナルをデコードし情報変換して適切に出力するシステムが「細胞内シグナル伝達系」であり、その実態は物理化学的な反応のネットワークである。分子生物学の進展に伴い、シグナル伝達分子やその経路の同定が進んだが、分子の濃度や反応速度といった定量的な情報が圧倒的に不足している。私たちは、細胞内シグナル伝達系を構成する反応を定量的に測定し、最終的にはコンピューターで細胞をシミュレートすることを目指して研究している。



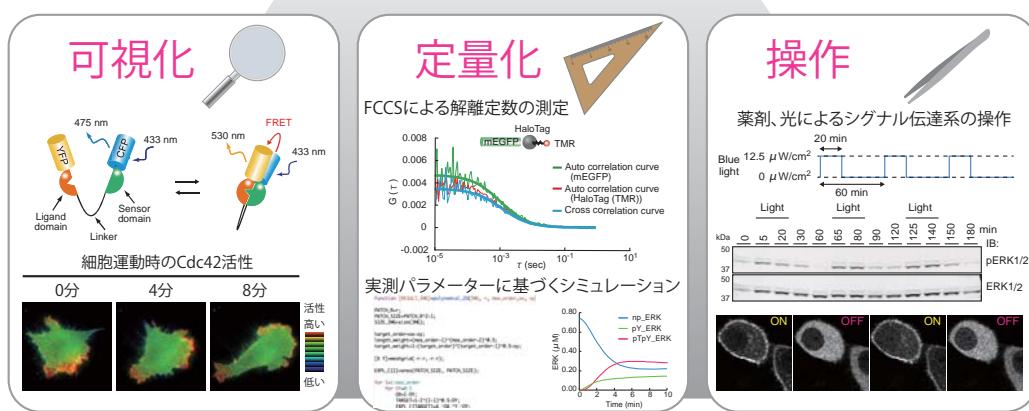
Member

教授
青木一洋

特別共同利用研究員
宇田 耀一
三浦 晴子
真流 玄武
小松原 晃

技術支援員
伊藤 玲奈
小野田 香織

3つのアプローチで細胞のシステムを理解する



細胞内のもつ入出力システム、すなわち細胞内シグナル伝達系の動作原理を、「可視化」、「定量化」、「操作」という3つのアプローチで理解することを目指す。

細胞をシミュレートする

細胞は生命の基本ユニットである。細胞は、環境や内的な状態の変化に応答し、適切に表現型に変化させ適応する。それを可能にしているのは、「細胞内シグナル伝達系」と呼ばれる細胞内の反応ネットワークシステムである。このネットワークは、分子と分子の結合や酵素反応といった化学的な素反応がいくつも連鎖して構成されている。したがって、全ての反応を速度論的に微分方程式で記述し、コンピューターで数値計算することで、理論上は細胞内シグナル伝達系の全ての構成分子の動態を予測できるはずである。これは細胞内シグナル伝達系の理解だけでなく、抗癌剤の最適な標的分子の探索や効果予測など臨床的にも非常に意義がある。しかしながら、現状はそうはうまくいっていない。その理由は、分子の濃度や反応速度といった定量的な情報（パラメーター）が圧倒的に不足しているからである。

私たちは、細胞内シグナル伝達系を構成する反応とそのパラメーターを定量的に測定し、実測データを用いてコンピューターで細胞をシミュレートすることを目指して研究している。以下に、私たちが取り組んでいることを紹介する。

可視化

細胞内シグナル伝達系を生きた細胞内で定量的に可視化するためのバイオセンサーを開発している。細胞内の分子活性の変化を1細胞レベルで経時に捉えることができる、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)の原理に基づくバイオセンサー(文献4)(図1)や、細胞内局在を指標にしたバイオセンサーを開発している。

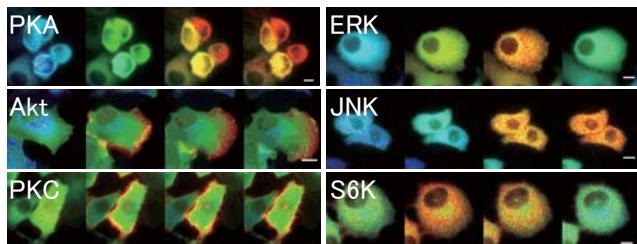


図1：リガンドで刺激したときのPKA, Akt, PKC, ERK, JNK, S6K活性をFRETイメージングで可視化した結果

キナーゼ活性を疑似カラーで示している。寒色が低活性、暖色が高活性を示しており、それぞれの色の明るさがFRETバイオセンサーの細胞内の局在を示している。

量化

反応パラメーターを効率良く取得するための技術開発も行っている。蛍光相互相關分光法(FCCS)を用いた解離定数(Kd)の測定(文献2)、CRISPR/Cas9遺伝子編集法による内在性分子の濃度の測定、イメージングによる酵素反応速度定数の測定などを行っている。得られたパラメーターを基に、ボトムアップでシミュレーションモデルを作成し、数値計算により仮説を検証する(文献5)。

操作

細胞内シグナル伝達系に含まれるフィードバック制御やクロストーク制御を理解するには、摂動による動的な変化を捉える必要がある。薬剤や光による細胞内シグナル伝達系の摂動法の開発にも取り組んでいる(文献3)。

細胞増殖・分化・細胞死の定量的な理解へ

上記の技術を利用して、細胞にとって本質的な機能である、細胞増殖・分化・細胞死の3つの表現型に関連するシグナル伝達系を定量的に理解することを目指している。アナログ的でしなやかなシグナル伝達系が、デジタル的で頑強な表現型を創発する原理に迫りたい。

参考文献

1. Komatsu, N., Fujita, Y., Matsuda, M., and Aoki, K. (2015). mTORC1 upregulation via ERK-dependent gene expression change confers intrinsic resistance to MEK inhibitors in oncogenic KRas-mutant cancer cells. *Oncogene*, 34, 5607-5616.
2. Sadaie, W., Harada, Y., Matsuda, M., and Aoki, K. (2014). Quantitative in vivo fluorescence cross-correlation analyses highlight the importance of competitive effect in the regulation of protein-protein interactions. *Mol. Cell. Biol.*, 34, 3272-90.
3. Aoki, K., Kumagai, Y., Sakurai, A., Komatsu, N., Fujita, Y., Shionyu, C., and Matsuda, M. (2013). Stochastic ERK activation induced by noise and cell-cell propagation regulates cell density-dependent proliferation. *Mol. Cell*, 52, 529-40.
4. Komatsu, N., Aoki, K., Yamada, M., Yukinaga, H., Fujita, Y., Kamioka, Y., and Matsuda, M. (2011). Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases. *Mol. Biol. Cell*, 22, 4647-56.
5. Aoki, K., Yamada, M., Kunida, K., Yasuda, S., Matsuda, M. (2011). Processive phosphorylation of ERK MAPkinase in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 108, 12675-80.
6. Aoki, K., Nakamura, T., Inoue, T., Meyer, T., and Matsuda, M. (2007). An essential role for the SHIP2-dependent negative feedback loop in neuritogenesis of NGF-stimulated PC12 cells. *J. Cell Biol.*, 177, 817-27.

教授
青木 一洋

