

論文審査の結果の要旨

氏名 李 冀賢

細胞が外部から栄養分等の物質を細胞内に取り込む生物学的な過程をエンドサイトーシスという。エンドサイトーシスされた分子は小胞体として細胞内を運ばれ、細胞膜から細胞核の付近まで輸送される。小胞体の細胞内での挙動は、薬物の輸送など生物医学分野で幅広く応用される生物学的情報を含んでいることから、多くの研究がこれまでされてきた。しかし、生きている細胞内での小胞体の運動は、小胞体と細胞骨格との間の頻繁な相互作用による複雑な軌跡として現れる為、まだ完全には理解されていない。

本研究では、顕微鏡の光軸方向安定性を改善する装置を開発することで小胞体の3次元座標取得を可能とし、また、細胞内小胞体の3次元運動を細胞骨格との相互作用の観点から詳細に分析できる数値解析方法を提案した。さらにこの手法を用いて細胞骨格を軸として回転する小胞体の運動をはじめて観察することに成功した。

ヒト乳がん細胞 KPL4 に量子ドットで標識した小胞体のエンドサイトーシスを誘導させ、小胞体が細胞内で輸送される過程における座標データを Dual focus optics を用いた3次元イメージング方法で取得した。この際、小胞体の運動をナノスケールで正確に計測する為に、既存の顕微鏡が孕んでいる熱揺らぎ又は機械的な振動によるドリフトを数ナノメートル範囲に抑える必要があった。そこで、電気容量センサーを用いて顕微鏡の対物レンズとステージとの距離を一定に維持する光軸方向位置安定化装置を開発し、これを適用することで、小胞体の3次元座標取得に成功した。

本研究ではさらに、取得された小胞体の 3 次元座標を細胞内での小胞体と細胞骨格との相互作用の観点から分析する数値解析方法を考案した。まず、小胞体の全体的な運動様式を知る為、得られた 3 次元座標データをガウシアンフィルタでノイズ除去し、局所軌跡角度の測定で局所的な運動の線型性を判断した。この際、ガウシアンフィルタのフィルタサイズはシミュレーションで最適化した。小胞体の運動が線型性を持っていると判断された局所軌跡はその線型性が細胞骨格の線型性から由来したと仮定し、運動方向ベクトルを主成分分析方法で計算することで小胞体と相互作用した細胞骨格の位置を得た。また、細胞骨格上での小胞体の輸送を詳しく分析する為、小胞体の座標を得られた細胞骨格ベクトル上に投影し、時系列データの間の関係を座標系の変換として説明する解析方法を提案した。座標系の変換は回転運動と並進運動の合成で表現することができる為、小胞体が細胞骨格上で輸送される際の回転運動や並進運動の様子を数値的に表すことが可能となった。

本研究では次に、実際にがん細胞内の小胞体が微小管上を輸送される際の輸送様式を数値解析方法で分析し、小胞体の独特な回転運動を明らかにした。まず、GFP-微小管を発現するがん細胞に長波長の量子ドットを入れ、超解像処理をした微小管イメージと量子ドットで標識された小胞体のイメージを重ねることで、微小管で輸送される小胞体を選別した。その小胞体の 3 次元座標を数値解析方法で分析し、小胞体が微小管と相互作用していると判断される局所的な軌跡から小胞体の微小管上での運動ベクトルを計算した。その結果、小胞体が微小管を軸として回転運動をする様子が観測できた。今までの研究では、微小管上での小胞体の回転運動は、人工的に精製された実験環境において、微小管のプロトフィラメント螺旋構造により誘導されるものしか確認されていなかった。本研究は、微小管が直線的なプロトフィラメントを持つ細胞内環境における回転運動をはじめて確認し、この回転運動が輸送過程において小胞体が遭遇する障害物由来である可能性を示唆するものである。また、小胞体が回転運動をする際の角速度は一定でないことと、回転運動の前後で並進運動の区間が存在し並進運動区間の間には 180° の位相差があることが観測された。

以上のように、本研究では、細胞内の複雑な小胞体輸送を細胞骨格と小胞体の相互作用から理解する為、3次元イメージング顕微鏡の光軸位置安定化装置の開発からはじめ、取得した小胞体の3次元座標データの数値的な解析方法を考案し、さらにこの数値解析手法を実験の実験結果に応用することで、回転運動という今まで知られていなかった小胞体の運動様式を観測することに成功した。本研究で開発したイメージング安定化装置及び3次元座標データの数値解析手法は汎用的なもので、今後生物物理学分野で広く使用される可能性が高い。また、細胞骨格上で小胞体が回転運動をするという発見は、回転運動の背景にある分子メカニズムの理解など新たな研究領域を切り拓く役割を果たすと期待される。

この論文は、Hyuno Kim 博士、樋口秀男教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったもので、提出者の寄与が十分であると認められる。従って審査員一同は同提出者に博士（理学）の学位を授与出来ると判断する。