

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 三田 真理恵

グルコースは、動物にとって最も重要なエネルギー源である。血液を介して全身に運ばれたグルコースは、全身の細胞内でそれぞれ利用される。各種細胞ごとのグルコースへの応答性を解明するためには、単一細胞レベルでの細胞内グルコース濃度変化のライブセルイメージング解析が必要不可欠である。本論文では、高時空間分解能で細胞内のグルコース動態を可視化解析でき、多重色蛍光イメージングに適している、単色蛍光型の緑色蛍光型グルコースセンサーの開発を行った。そして、このグルコースセンサーを各種細胞やモデル生物に導入し、グルコース動態のリアルタイムな可視化解析を達成した。

開発された3種のグルコースセンサーは、細胞内のグルコースを特異的に認識し、8.1 μM ~15 mM という広い濃度範囲のグルコースを定量性高く検出できることを示した。大腸菌にリコンビナントタンパク質として作製させ、回収することで、血糖値測定などの生化学的なスクリーニングにも利用できることと、哺乳類の生細胞だけでなく、線虫生体内に発現させても機能することを明らかにした。培養細胞内では、シグナル配列を融合することで細胞小器官特異的に、生体内では、プロモーター配列を変えることで細胞種特異的なグルコース動態を観察できることを示した。また、他色のセンサーと組み合わせたマルチカラーイメージングにも適用可能であり、単一の細胞内で、グルコースと他分子の同時可視化にも成功した。

グルコースセンサーを利用したライブセルイメージングでは、さまざまな細胞で共通して、細胞内のグルコース濃度変化が速やかに起こることを見出した。多くの株化細胞では、外液中のグルコース濃度変化に応答して細胞内のグルコース濃度が変化し、その変化は、細胞質基質だけでなく核内にも及ぶという、局所的なグルコース動態についての新たな知見を得た。内分泌細胞では、細胞外のグルコース濃度が一定の条件でも、人工甘味料の刺激を受けることで、細胞内へのグルコース取り込みが促進することを見出した。内分泌細胞のグルコース取り込みについて、これまでの手法では時間的な解析が行われておらず、新規グルコースセンサーによる細胞内グルコースの時空間的観察が、病態の解析にも有効であることを示した。

以上より本論文は、生細胞や組織におけるグルコース動態のリアルタイムな可視化技術に貢献し、細胞種ごとのグルコース動態について新たな知見を寄与することで、生体恒常性の解明に貢献したといえる。今後も、他の分子センサーと組み合わせた多様な組織や細胞での生細胞イメージングを実施することで、細胞間の物質のやり取りをリアルタイムに解析し、細胞内分子の階層性や相互関係の理解に貢献することが期待される。したがって本審査委員会は、博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。