

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 神野圭太

神野圭太氏の博士論文 "A response-rescaling property revealed by single-cell analysis of cAMP signaling response in the social amoeba *Dictyostelium discoideum* (和訳「社会性アメーバ *Dictyostelium discoideum* が示す cAMP 応答のリスケール特性の一細胞解析」)は、細胞による刺激の知覚、検出の特性と、その機能についての解明を目指したものである。本論文は8章、131ページからなり、第1章は序論と研究背景、第2章は実験系の装置、材料の解説にあてられている。第3章では細胞性粘菌の cAMP リレー応答の測定と解析結果、第4章ではモデル解析、第5章ではモデルからの予想についての実験検証、第6章では cAMP 応答のシグナル上流に位置する PI3 キナーゼ経路の応答の実験解析について詳しく記されている。そして第7章では、倍変化検出と細胞集団の振る舞いの頑強性との関係について理論解析と考察、そして第8章で結論とそれに関する論考と将来展望が述べられている。

第1章では、実験対象とした社会性アメーバ (和名キイロタマホコリカビ) *Dictyostelium discoideum* (通称：細胞性粘菌) について述べ、その特徴的な cAMP を介した細胞間シグナリングと走化性について解説し、背景にある興奮的な応答の適応性と、集団的な振動現象の細胞密度にたいする非依存性についての知見をまとめている。また、適応的な応答について、粘菌以外の生物種でみられる例にもふれ、細胞の知覚が多くの場合、倍変化型の検出機構であることが予想されている学問分野の状況を確認している。この相対的变化にたいする応答の波形の全体が保存される場合を倍変化検 (Fold-change-detection) 型、ピークや一部の特徴のみが保存される場合をウェーバー則型として区別して解説している。また、細胞性粘菌の集団でみられる cAMP 振動が、細胞密度変化にたいして頑強性を示しているという先行研究の結果を紹介し、この特性が既存の数理モデルでは説明できないことを解説し、細胞の入出力関係の理

解に不備があることを浮かびあがらせている。

第2章では、本研究で利用した可視化プローブ、変異体の内容、培養方法、顕微鏡の測定系、画像解析方法について述べられている。第3章では、隔離した細胞性粘菌にたいして、灌流系を用いて細胞外 cAMP の濃度を制御する実験の測定と解析方法の概要を述べ、続いて cAMP 刺激にたいして細胞内 cAMP が一過的に上昇する応答について、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した生細胞イメージングに基づく実験解析をおこなっている。特に、細胞を一定時間非ゼロの cAMP 濃度環境にさらした後に、細胞外 cAMP をさらにそこから上昇させる実験をおこない、その結果、一過的な細胞内 cAMP 上昇のピーク値が、細胞外 cAMP 濃度の相対的な変化、具体的には倍変化によって特徴づけられていることを突き止めている。また、この特徴が、二桁の絶対濃度領域にわたって、この検出が成立していることを明らかにしている。さらに、周期的な入力にたいしても、3-4 分間以上の間隔の周期的な相対的濃度変化にたいして、追従することから、実際の細胞集団でこのような特性がいかされている可能性を強く示唆した。cAMP 応答の波形のおそい時間成分が濃度依存性を示すため、全体ではウェーバー則型であるが、第1ピークにかぎってみると倍変化型と言えることを述べている。また、細胞間のばらつきにも触れ、連続するステップ入力に対して単一細胞が示す出力間に強い相関がみられることから、個々の細胞の倍変化検出という特性そのものはどの細胞も示している頑強な性質であることを述べている。

第4章では、第3章で明らかになった倍変化型検出による細胞内 cAMP 産生がもたらす生物学的機能について述べている。特に、倍変化検出の必要条件について先行研究にもとづいてさらに解析し、このことが系の密度対称性を保証することを理論的に明らかにした。さらに、倍変化検出が具体的に cAMP 振動の頑強性をもたらすことを簡単なモデルシミュレーションにより示している。第5章では、第4章で予想された cAMP 振動が細胞密度変化に非依存性を示すことを、実験的に明らかにし、さらに振動がみられる細胞外 cAMP 濃度領域とその相対的変化が、単一細胞計測から明らかになった倍変化検出が可能な条件と一致することを見出している。

第6章では、cAMP の産生調整のシグナル上流にある PI3 キナーゼによるホスファチジルイノシトール(3,4,5)三リン酸(PIP3)の産生について、これと選択的に結合するタンパクドメインに蛍光タンパクを融合させたプローブによ

って生細胞イメージング測定をおこなった。その結果、PIP3の一過的な産生も倍変化型検出によること、ただし、ダイナミックレンジはcAMPのものより一桁ばかり小さいことを示している。また、PIP3はcAMPの産生と走化性の方向検出の双方を調整していることから、走化性の方向検出機構について、これまでのモデルを改良するネットワークトポロジーを提案している。

第7章は、倍変化検出に基づいた出力によって、細胞外の方が形成される際の密度にたいするスケーリングについての一般論を述べ、細胞外物質の生成の抑制、分解や分泌などが調節をうけても、多くの場合に頑強性条件がみられることを示し、その機能の一般性を明らかにし、微生物集団や動物発生などにおいて予想される役割を論じ、まとめて今後の展望、将来に残された問題について記述している。

以上のように、本論文は、粘菌の飢餓の初期においてみられる、cAMPの一過的産生を題材にとり、その背後にある入出力関係について詳細な解析をおこない、倍変化検出型というこれまでに知られていなかった特性を明らかにした。こうした性質は、近年、ヒトを含めた動物細胞の多くの細胞種で予想されているが、単一細胞レベルでこのように明確に実証されたのは初めてである。本論文の内容は、そうした一般性のある現象にたいして、これまでなかった定量的かつ詳細な解析をおこない、系についての理論式の対称性という一般的な議論を通じて、観察される多細胞集団の振動現象にとって重要な性質を抜き出すことに成功している。加えて、その結果明らかになった集団現象の密度についてのスケーリングは、粘菌のみならず多細胞体制の形成機構で普遍的に利用されていることを示唆するもので、その意義は大きい。なお、本論文中の第1章は澤井哲と藤本仰一、第2章から6章は、近藤洋平、澤井哲との共同研究であるが、論文の提出者が主体となって、実験解析、理論解析をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。