

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	河野夏鈴
論文題目	Par複合体による細胞極性再構成系の極性形成プロセスにおける微細構造の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞はその構成成分を非対称に分布させることで、細胞に極性をもたらす。この細胞極性は、細胞移動や非対称細胞分裂などの方向性をもった細胞の振舞いや、上皮構造の形成・維持による多細胞組織の秩序形成など、様々なスケールの生命現象に必須な役割を果たしている。中でも、Par3、Par6、aPKCから構成されるPar複合体を基盤とした細胞極性は、種を越えて保存された最も一般的な細胞極性システムである。</p> <p>Par極性の形成プロセスや挙動について様々な実験系で解析が進められた結果、Par極性形成システムは、細胞接着や細胞分裂など様々な生体プロセスと共役することが知られている。そのため、細胞極性あるいはその形成過程のPar複合体の挙動の一般的な性質は不明な点が多い。</p> <p>本研究では、細胞極性、接着性を持たない培養細胞であるSchneider2細胞(S2細胞、ショウジョウバエ胚由来)を用いてPar極性の再構成系を樹立し、Par極性の一般的な性質を理解することを目指した。S2細胞は、Par複合体の3因子を全て発現しているにも関わらず、それらは細胞質に分布するため、極性は形成されない。申請者はPar3の過剰発現により、Par複合体が細胞表層に現れ、S2細胞が自律的に極性を形成することを見出した。また、S2細胞のPar極性形成には、内在性のPar6、aPKCおよびLethal giant larvae(Lgl)が必須であることがわかった。このことから、再構成された細胞極性は<i>in vivo</i>と同様な機構によって形成され、Par複合体とLglの相互抑制が極性形成に重要であることが示唆される。</p> <p>さらに、この実験系を用い、Par極性の形成過程をライブイメージングで追跡した。その結果、S2細胞表層におけるPar複合体の集合が、(1)点状の凝集体を多数形成し、(2)この凝集体の成長、短い紐状構造の形成を経て、(3)不定形の構造「Par-island」へと成長することを発見した。定常状態では、細胞表層でPar-islandがクラスター化して細胞が極性を持つ状態と、Par-islandが分散して分布し、極性を持たない状態の2状態を取り得ることが判明した。Par-islandはこの再構成系の解析で初めて同定された構造体であり、定常状態においても、変形・集合・解離を繰り返すダイナミックな特徴を示す。さらに、超解像度顕微鏡観察により、Par-islandは長さ約400nm、幅約200nmの基本構造を持つ網目状構造からなることが判明した。この網目状構造の形成には、Par3の自己会合ドメインが重要な役割を果たす。Par-islandと類似した構造はショウジョウバエ神経幹細胞にも観察された。従って、Par-islandが人為的な極性形成に固有な産物ではなく、<i>in vivo</i>にも存在する構造であることが強く示唆された。以上の解析から、S2細胞のPar極性再構成系が示す諸性質は、極性形成時あるいはその過程でPar複合体が示す一般的な性質を反映していると結論づけた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

細胞極性は様々な生命現象に重要な役割を果たす。中でも、Par3、Par6、aPKCからなるPar複合体を基盤とした細胞極性は、種を越えて保存された極性形成システムとして、多様な生物学的過程で使われている。

本研究では、そのままでは細胞極性と接着性を持たない培養細胞株Schneider2細胞(S2細胞、ショウジョウバエ胚由来)を用い、Par極性の再構成系を確立し、Par複合体システムによる細胞極性の形成過程並びに形成された極性の一般的性質を理解することを目指した。構成的アプローチを本研究で採用した背景には、Par極性システムは、それが働く細胞種によって、細胞接着や細胞分裂などの他の細胞内外の現象とカップルすることで、それぞれ固有の性質を示すことがある。このため、Par複合体による細胞極性とその形成過程に本質的な性質がいまだ明確に理解されていなかった。

S2細胞にはPar3, Par3, Par6のPar複合体システムの基本成分が発現しているが、いずれも細胞質に存在する。申請者は、Par3を過剰に発現させることにより細胞表層に

Par複合体成分が移行し、40%程度の細胞でPar因子の非対称な分布、すなわち細胞極性が形成されることを見出した。これまで細胞接着などを利用し非自律的にPar複合体を局在させた研究は報告されているが、自律的なPar極性を誘導したのはこの研究が初めてである。

申請者は、この再構成系のPar3の発現を誘導的にすることにより、Par複合体の巨視的な構造が形成される過程をタイムプスイメージングによって解析した。その結果、(1)多数の点状構造の形成に始まり、(2)短い紐状構造の形成、それらの不規則な合体、解離を経て、(3)不定形で動的の島状構造(Par-island)が多数形成されることを明らかにした。このPar-islandの分布には2状態があり、Par-islandがクラスタリングして細胞が極性を持つ状態と、Par-islandが細胞表層にランダムに分布する非極性状態である。それぞれ24時間以上安定した定常的な状態をとるが、Par-island同士は違いにダイナミックに動く、動的状態にあることが判った。この二つの状態を生じる原因の解明には至らなかったため、Par-islandの形成が極性の形成に必須だとは言えない。しかし、ショウジョウバエ神経幹細胞の非対称分裂の際にも、同様な構造が見られることから、Par複合体が細胞極性を形成する際にはこの状態にある、すなわち、Par-islandの密なクラスタを形成している可能性を示唆している。

このPar-islandはPar-複合体からなる長さ約400nmの単位構造を持つ網目状構造をとっており、Par-islandに短い紐状構造が結合あるいは、分離する様子も捉えられている。この構造の形成にはPar3のaggregationドメインを必要とするが、この網目状構造の形成の仕組みの解明は端緒についたばかりで、将来の課題である。

申請者は、この研究を通して、生命科学の高度で幅広い学識を身につけ、専攻分野における優れた研究能力を身につけたと認められる。本論文は論理的かつ一貫性を持って記述され、この研究によって明らかになった細胞極複合体の動的成長過程と定常状態のPar複合体構造は新たな知見であり、生命科学のさらなる理解に寄与するものである。以上の評価に基づき、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、令和2年2月12日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日