

京都大学	博士（医科学）	氏名	柴田明裕
論文題目	Archipelago architecture of the focal adhesion and its formation mechanism: Elucidation by single-molecule tracking (接着斑の群島構造と形成機構：1分子追跡による解明)		
(論文内容の要旨)			
接着斑（FA）は、細胞が細胞外マトリックス（ECM）に結合し遊走の足場とする、細胞膜上の構造体である。FA は、タンパク質の大規模集積体であると考えられてきた。このようなタンパク質の大規模集積体であるにもかかわらず、FA は、数分から数10分という短時間で、形成と分解をおこなう。このようなFA の急速な形成と分解の機構は、細胞生物学の大きな謎となっていた。 本学位授与申請者は、この謎を1分子イメージング・追跡法を用いて解明することを目指した。まず、さまざまな膜分子がFA 外からFA 内へと容易に拡散運動によって侵入し、FA 内でも拡散運動を行うことを発見した。FA 構成分子でECM に結合する受容体であるインテグリンβ3 は、FA 領域内で一時停留と拡散を繰り返し、最終的にFA 内で静止するものもあった。これらに基づき、本申請者は、FA の「群島構造モデル」を提案した。即ち、FA 領域のほとんどは液体状の細胞膜からなり、その中に、FA タンパク質のクラスター（島）が距離をおいて存在する、即ち、FA 領域はFA タンパク質の「群島構造」をとっているというモデルである。 さらに、FA の形成と分解に関わる低分子量G タンパク質のRac1 と、その活性化因子であり、FA 構成分子の一つであるαPIX とβPIX が、FA 領域にリクルートされる過程を検討した。Rac1 もPIX も、多くは細胞質内に存在し、細胞膜の内側表面にランダムに衝突してくる。このとき、PIX は、FA 外では細胞膜に結合せず、FA に衝突した分子のみが結合して、そこで運動停止した。すなわち、PIX は細胞質からFA に直接リクルートされることがわかった。これとは対照的に、約70%のRac1 は、まずFA 外の細胞膜（内側表面）に非特異的に結合し、細胞膜内側表面を2次元拡散し、FA に衝突した時には、確率的にFA 内へと拡散していった。FA 内でのRac1 の自由拡散係数は、他の膜分子と同様、FA 外でのそれに比べて、1/2 から1/4 であった。さらに常時活性化型変異体Rac1 分子の多くは、FA 内で拡散と一時停留を繰り返し、また、観察時間中、ずっと停止したりしていた。 このように、Rac1 のFA 周辺とFA 内での挙動は、FA の群島構造モデルを支持するものである。また、野生型Rac1 がFA 内にリクルートされたあと、FA の島々に衝突した時にPIX によって活性化され、その後、これらの島々に結合して一時停留したり、そこで長時間停留する可能性が示された。 これらを総合的に考察することにより、FA の迅速な形成と分解は、群島構造によって可能になっていることを提唱した。			

（論文審査の結果の要旨）	
接着斑（FA）は、細胞が細胞外マトリックス（ECM）に結合し遊走の足場とする、細胞膜上の構造体である。FA は、タンパク質の大規模集積体であると考えられてきた。 本学位授与申請者は、1分子追跡法を用い、さまざまな膜分子がFA 外からFA 内へと容易に拡散運動によって侵入し、FA 内でも拡散運動を行うことを発見した。FA 構成分子でECM に結合する受容体であるインテグリン$\beta 3$ は、FA 領域内で一時停留と拡散を繰り返し、最終的にFA 内で静止するものもあった。これらに基づき、本申請者は、FA の「群島構造モデル」を提案した。即ち、FA 領域のほとんどは液体状の細胞膜からなり、その中に、FA タンパク質のクラスター（島）が距離をおいて存在する、即ち、FA 領域はFA タンパク質の「群島構造」をとっているというモデルである。 さらに、FA の形成分解に関わるシグナル分子であるRac1 と、その活性化因子のPIX が、細胞質からFA 領域にリクルートされる過程も解明した。これによって、Rac1 が、FA の島々に衝突した時にPIX によって活性化され、その後、これらの島々に結合して一時停留したり、そこで長時間停留したりする可能性が示された。 これらに基づき、FA の迅速な形成と分解は群島構造によって可能になっていることが提案された。 以上の研究は、細胞移動機構と細胞膜構造形成の解明に貢献し、癌転移や創傷治癒の理解に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成25年2月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。	
要旨公開可能日：平成25年 2月 20日 以降	