



2023年2月9日

国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学  
藤田医科大学  
東京理科大学  
大学共同利用機関法人 自然科学研究機構  
生命創成探究センター/基礎生物学研究所

## 細胞の変形・運動に複数のタンパク質が協調して関わる仕組みを数式で解明 複数の分子活性の経時変化を同時測定データとして統合化するデータ解析手法を開発 ～がんや免疫、神経疾患など医学生物学研究への応用が期待～

### 【概要】

奈良先端科学技術大学院大学（学長：塩崎 一裕）データ駆動型サイエンス創造センターの作村 諭一教授（兼：先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 データ駆動型生物学研究室）は、同大 先端科学技術研究科 情報科学領域の池田 和司教授、藤田医科大学の国田 勝行講師、東京理科大学の中村 岳史教授、自然科学研究機構 生命創成探究センター/基礎生物学研究所の青木 一洋教授らと共同研究を行い、情報伝達の分子スイッチの役割を果たす3つのRhoファミリーGタンパク質（Rho GTPase）の活性度を細胞エッジ（周縁）の変形速度として定量的に変換する数式の導出に成功しました。Rho GTPaseのうちCdc42、Rac1、RhoAの3つが細胞の形態制御に必要であることは知られていましたが、それぞれの役割を分担しながら協調して細胞を変形するという動的な制御メカニズムは未解明でした。本研究は、ヒト線維肉腫由来のHT-1080細胞において、これら3種の分子が細胞変形を説明するのに十分な情報を持っていることを数値的に証明するとともに、細胞変形に対してこれらの分子がどのように協調しているのかを解明しました。本研究で開発された解析法は、がん細胞や免疫細胞、発達中の神経細胞などのデータに応用可能で、医学や生物学の発展に寄与することが期待されます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）「メカノバイロロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出」研究開発領域における研究開発課題「細胞-基質間の力を基盤とした細胞移動と神経回路形成機構の解明およびその破綻による病態の解明」（研究開発代表者：稲垣 直之）および日本学術振興会（JSPS）科学研究費による支援によって実施しました。

この研究成果は、2023年2月10日午前1時（日本標準時）付で、Cell Reports オンライン版 (doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112071) に掲載されます。

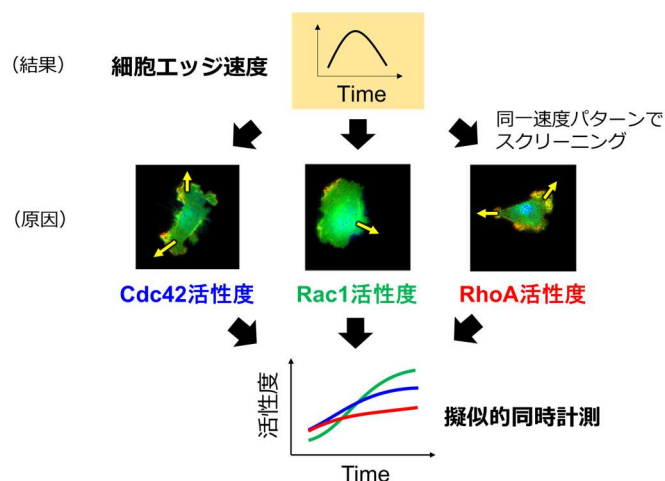
### 【解説】

細胞内の分子はそれぞれが簡素な役割しか持ちませんが、複数の分子が協調することで細胞運動を含む高度な機能を実現します。Rho GTPase の Cdc42、Rac1、RhoA が細胞運動に「関係する」ことは、これまで多くの細胞生物学の研究で報告されてきました。しかし、これらの分子がどのように協調して細胞運動を制御するのか、その制御法はどのような数式で定量的に表現できるのかは未解明でした。その理由は、複数種の Rho GTPase の活性状態を同時に観測することの難しさにあります。

生細胞で Rho GTPase の活性度を時系列として計測するには、近接した2つの蛍光分子間で生じる蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) という発光現象の原理に基づくバイオセンサーを用いた生細胞イメージング (FRET イメージング) を使用します。一般的に FRET イメージングでは、各細胞で1種類の分子活性度を計測し、複数種類の活性度を同一細胞で同時に計測することは技術的に極めて困難です。3つの分子と細胞形態変化が同時にどのように時間変化するか分からない以上、これらを定量的な数式で関係づけることは困難です。本研究では、データサイエンス手法を導入することでこれらの問題を解決し、Cdc42、Rac1、RhoA の協調による細胞形態変化を決定付ける定量的な数式を構築し、3つの分子が細胞運動のキー分子であると示すことを目的としました。

本研究で作村教授らは同時計測の問題を解決するデータ前処理法 motion-triggered average (MTA) を開発しました。この MTA を用いて、個別の細胞で計測された3つの Rho GTPase の活性度時系列を擬似的に同時計測と見なせる時系列データに変換しました。Rho GTPase の活性度を計測したイメージングデータから、ある細胞エッジにおける1種類の Rho GTPase 活性度とそのエッジの変形速度の時系列が得られます。また、どの細胞エッジも拡張と収縮の連続で変化します。したがって、短時間であれば Rho GTPase の種類に関係なく類似したエッジ速度時系列をほとんどの細胞から見つけることが可能です。

本研究では各 Rho GTPase ごとに MTA を適用し、エッジが同じ動きをしたときの活性度時系列を収集し、データを平均化しました (図1)。これにより、エッジの特定の速度パターンと同時に発生した3つの Rho GTPase 活性度パターンを抽出できました。これらの活性度パターンは特定の速度パターンを生み出す最も典型的な時系列であり、擬似的に同時計測時系列と見なせます。抽出された3種の活性度時系列は、個々の Rho GTPase に関する先行研究の報告と一致する性質を持っており、細胞エッジの速度時系列に対してそれぞれの分子が固有の活性度時系列を持つことが分かりました。



(図1) 同時計測の問題を解決するデータ前処理法 motion-triggered average (MTA) の概要。個別細胞で計測された Rho GTPase 活性度を、同一の細胞の動きを基準に統合する。得られた活性度時系列は擬似的に同時計測したデータと見なせる。

次に、3種の活性度時系列を変換してエッジ速度系列を抽出する数式が得られるかどうか検証しました。3種の活性はいくつかの物理過程を経てエッジ変形に至ります。これら過程をブラックボックスとして、活性度から速度への変換式が存在し得るかを調べました。定量的な変換式が存在すれば、活性度が変形速度の情報を持っていることを証明できます。

本研究では、5つのカテゴリーに分けられたエッジ速度時系列を用意し、それぞれに対応する Rho GTPase の活性度時系列を MTA により抽出しました。モデル選択法や交差検証を用いた解析により、3つの Rho GTPase 活性度から定量的にエッジ速度を予測する数式が存在すること、それは活性度とその時間微分の和からなることが分かりました(図2)。ここで得られた数式はデータに潜む法則を捉えていると言えるため、データ駆動の法則として他のあらゆる活性度パターンに対するエッジ速度予測も精度が良いと考えられます。本研究は初めて細胞内分子活性と細胞エッジ変形の関係を定量的に定式化しました。

**得られた変換式**  $[\ ]$  は活性度、 $d/dt$  は時間微分を表す

$$\begin{aligned} \text{エッジ速度} = & a_1 [\text{Cdc42}] + a_2 [\text{Rac1}] + a_3 [\text{RhoA}] \\ & + b_1 \frac{d}{dt} [\text{Cdc42}] + b_2 \frac{d}{dt} [\text{Rac1}] + b_3 \frac{d}{dt} [\text{RhoA}] \end{aligned}$$

(図2) MTA で得られた Rho GTPase 活性度からエッジ速度を予測する数式。エッジ速度は活性度とその微分の線形和となる。

#### 【今後の展開】

本研究で得られた数式から、HT-1080 細胞の移動方法が解明される可能性があります。MTA と数式フィッティングを他の細胞に適用することで細胞種ごとに移動方法が解明され、移動メカニズムの違いから組織形成や免疫機能における新たな発見が得られる可能性があります。また MTA のデータ前処理法は、原因と結果の時系列があれば、ヒトや植物、微生物など様々な生命現象に適用可能であり、複数の因子が駆動する動的な生命現象を解明するのに役立ちます。

#### 【用語解説】

1. Rho ファミリーG タンパク質：細胞の移動や極性の制御に関わる主なシグナル分子。
2. HT-1080 細胞：ヒト線維肉腫由来の細胞。変形と移動をするため、細胞運動の実験でよく利用される。
3. FRET イメージング：2つの蛍光タンパク質間で生じる蛍光エネルギー移動 FRET の原理に基づき設計されたバイオセンサーを用いて、細胞内の分子活性度を計測するイメージング技術。タンパク質の活性やリン酸化など様々な分子活性の計測に用いられている。
4. モデル選択法：簡素なモデルで、かつ、実データとの誤差を少なくするようにしてモデルを選択する方法。赤池情報量基準など。
5. 交差検証：データを学習データとテストデータに分割し、学習データで推定した数式のパラメータを用いて、テストデータの予測精度を評価する検証法。
6. データ駆動の法則：ケプラーの法則やメンデルの法則など。全てのデータでなくても、一部のデータで十分に検証された関係は、全てのデータでも成立すると考えられる。

【論文情報】

タイトル: Decoding cellular deformation from pseudo-simultaneously observed Rho GTPase activities

著者名: Katsuyuki Kunida, Nobuhiro Takagi, Kazuhiro Aoki, Kazushi Ikeda, Takeshi Nakamura, Yuichi Sakumura\*

\*責任著者

雑誌名: Cell Reports

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 データ駆動型サイエンス創造センター  
先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 データ駆動型生物学研究室  
教授 作村 諭一

<報道に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 企画総務課 渉外企画係  
TEL : 0743-72-5026/5063 FAX : 0743-72-5011 E-mail : s-kikaku@ad.naist.jp

学校法人 藤田学園 広報部 学園広報グループ  
TEL : 0562-93-2868 E-mail : koho-pr@fujita-hu.ac.jp

東京理科大学 経営企画部 広報課  
TEL : 03-5228-8107 E-mail : koho@admin.tus.ac.jp

自然科学研究機構 生命創成探究センター 研究戦略室  
TEL : 0564-59-5885 FAX : 0564-59-5202 E-mail : press@excells.orion.ac.jp

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 広報室  
TEL : 0564-55-7628 FAX : 0564-55-7597 E-mail : press@nibb.ac.jp