

## 佐甲細胞情報研究室

主任研究員 佐甲 靖志 (D.Sci.)



### (0) 研究分野

分科会: 生物

キーワード: 生体膜、受容体、細胞内情報伝達、蛋白質ダイナミクス

### (1) 研究背景と研究目標

蛋白質分子・分子システム・細胞の各階層において、生体システムの示す情報処理機能の性質とその発現機構の解明を目標としている。環境ノイズと同レベルの低エネルギーで働く生体素子が集積して内在性あるいは外来性の情報を処理し、柔軟な細胞応答を生み出す仕組みを探る。細胞内1分子計測技術を始めとする顕微計測、細胞工学、生体システムの再構成、反応ネットワークの数理解析、計算機実験などの技術を開発・応用し、さらに1細胞計測により、細胞毎の応答ダイナミクスとゆらぎを実測し解析する。現在の主要な対象は、細胞膜受容体RTK、GPCRを起点とする細胞内情報処理システムである。これらのシステムで働く個々の蛋白質の分子反応と分子動態の詳細を知り、さらに細胞内における反応ネットワーク動態と細胞応答の関係を明らかにして、細胞運命を決定する情報処理を理解したい。

### (2) 2024年度成果と今後の研究計画

超解像・1分子計測による細胞膜受容体と膜脂質の相互制御機構の解明

酸性細胞膜脂質フォスファチジルイノシトール3リン酸(PIP<sub>2</sub>)は様々な細胞表面膜蛋白質の活性制御に関与していることが知られており、細胞運命決定に関与する膜蛋白質、上皮成長因子受容体(EGFR)もその一つである。しかし、膜脂質や膜蛋白質の細胞膜における動態を詳細に計測する方法がなかったために、活性制御の詳細は不明であった。

我々は細胞内1分子蛍光観察法を開発・応用してEGFRの動態計測を進めてきたが、近年、膜脂質の蛋白質プローブが開発されてきたことを利用して、超解像顕微鏡法でEGFRとPIP<sub>2</sub>の相互作用解析を行った(Fig. 1)。EGFRはPIP<sub>2</sub>や別の酸性脂質フォスファチジルセリン(PS)とのナノメートルサイズの共集合体が初めて観察されたが、EGFRを活性化するとPIP<sub>2</sub>との共集合が特異的に解消し、それは、EGFRの下流で活性化される脂質加水分解酵素フォスホリパーゼC<sub>γ</sub>の働きによることが分かった。EGFRはそのリン酸化酵素活性化時に2量体を形成することが知られているが、人工的に細胞膜のPIP<sub>2</sub>を減少させると、EGFRの2量体形成と酵素活性はともに減弱することから、PIP<sub>2</sub>はEGFRの活性化因子であるが、活性化したEGFRが周辺のPIP<sub>2</sub>の分解を促すことによる負のフィードバックが存在する。一方、PIP<sub>2</sub>の分解を抑制すると、活性化後に起こるEGFRのセリン654のリン酸化が減少し、EGFRの酵素活性は上昇する。EGFRと周辺脂質環境は相互に制御しあい、酵素活性の微妙なバランスが維持されていることが明らかになった。(Abe et al. 2024)

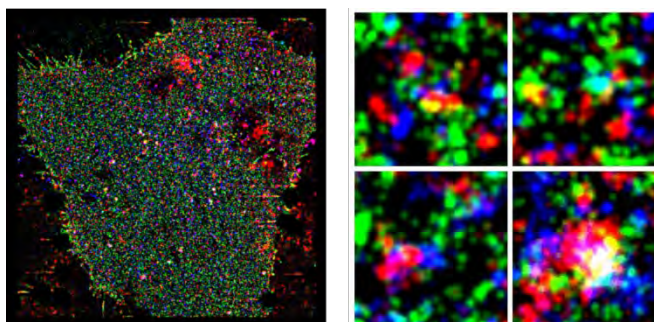


Fig.1. 細胞膜蛋白質と脂質の超解像可視化  
green: EGFR, red: PIP<sub>2</sub>, blue: PS. 左図の一边 1 μm

移行エントロピー計測に基づく細胞内反応システムの情報流解析

RAS-MAPKシステムはEGFRなどの下流で遺伝子制御や細胞運動を制御する細胞内情報処理ネットワークである。従来、細胞内反応ネットワークの解析は個々の分子反応速度式を連立させた微分方程式(ODE)モデルによることが多いが、モデルで採用されるネットワーク構造やパラメータ値には不確実性がある。2反応の同時時系列分布に基づく統計モデルは原理的にモデルフリーであり、またODEが個々の分子種の活性化量を対象とすることに対し、統

計モデルは2反応の相関を対象とするなど、ODEに対する補完的な役割が期待できる。我々は統計モデルの内、移行情報量 (TE) 計測による情報流解析法の細胞内反応への適用を検討した (Fig. 2 upper)。TEは上流反応の下流に対する制御能を表す。

SOS蛋白質は、様々な細胞内反応の調節に関わっているRASの活性化因子であり、活性化されたRASの下流で働く代表的なリン酸化酵素にRAFがある。SOS, RAFの活性化反応は、いずれも細胞質から細胞膜への分子移動として可視化計測できる。SOS, RAFの反応ダイナミクスを1,000個以上の細胞で同時計測した。従来のTE解析は定常的な反応を対象とすることが多いが、遷移的な反応における上流の特定時刻から下流に流れる情報量を計測する計算法を考案し、単一時刻から複数のピークを持った情報が流れていることを明らかにした (Fig. 2 lower)。このような情報の流れは、フィードバックやバイパスの存在を示唆している。遺伝病の原因因子として発見されたSOS変異体を持つ細胞や特定反応を阻害した細胞で情報流解析を行い、TE計測が病理・薬理解析に応用できることも示された。(Umeki et al. 2025)

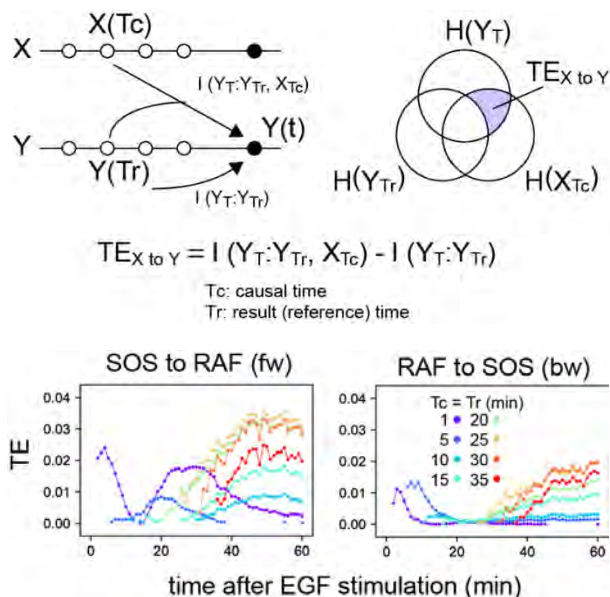


Fig. 2: upper: X(Tc)からY(t)へのTEは時刻TcにおけるXからY(t)への制御 (因果) を表す。lower: SOSからRAF, RAFからSOSへの情報流の時間変化

その他、細胞表面蛋白質の1分子可視化のための新たな標識法開発 (Yoda et al. 2024)、線虫トランスポゾンシステムの網羅的な遺伝子解析 (Arata et al. 2024)を行った。今後もこれらの研究を継続・発展させる。

### (3) 研究室メンバー

(2024年度)

(主任研究員)

佐甲靖志

(専任技師)

山本明弘

(専任研究員)

阿部充宏、荒田幸信、岡本憲二

(研究員)

梅木伸久、永峰俊弘

(テクニカルスタッフ)

佐藤裕美

(研究パートタイマー)

太田伊津美

### (4) 発表論文等

1. T. Yoda, Y. Sako, A. Inoue, and M. Yanagawa, “Four-color single-molecule imaging system for tracking GPCR dynamics with fluorescent HiBiT peptide”, **Biophys. Physicobiol.** 21, e210020 (1-16), (2024). *cover article, Editors’ Choice Award*
2. M. Abe, M. Yanagawa, M. Hiroshima, T. Kobayashi, and Y. Sako, “Bilateral regulation of EGFR activity and local PI dynamics observed with superresolution microscopy”, **eLife** 2024:e101652 (1-27), doi: 10.7554/eLife.101652, (2024). *selected for eLife digest*
3. Y. Arata, P. Jurica, N. F. Parrish, and Y. Sako, “Bioinformatic annotation of transposon DNA processing genes on the long-read genome assembly of *Caenorhabditis elegans*”, **Bioinformatics and Biology Insights**, doi: 10.1177/11779322241304668 (2024).
4. N. Umeki, Y. Kabashima, and Y. Sako, “Evaluation of information flows in the RAS-MAPK system using transfer entropy measurements”, **eLife** 2025, 14:e104432 (1-32) (2025)..

Laboratory Homepage

[https://www.riken.jp/research/labs/chief/cell\\_inf/index.html](https://www.riken.jp/research/labs/chief/cell_inf/index.html)

<http://www2.riken.jp/cell-info/>