

## 論文の内容の要旨

論文題目 細胞膜微小変形による細胞内シグナル伝達の  
分子イメージング技術を用いた研究

氏名 塚本 哲

生体はその内外で物理量を特に細胞が感受して生理機能を維持していることが知られる。それら物理量はメカニカルストレスと呼ばれ、メカニカルストレスは細胞内に生化学応答である細胞内シグナルを惹起することも知られる。この細胞内シグナルは細胞がメカニカルストレスを感受する機序を解明する手がかりになると考えられている。そこで本研究ではメカニカルストレスのモデル系として細胞膜微小変形を用いることで、メカニカルストレスが惹起する細胞内シグナルの中でも  $\text{Ca}^{2+}$ シグナル経路を検証した。

過去の文献によると、細胞膜微小変形が惹起する  $\text{Ca}^{2+}$ シグナル経路の中でも PLC 活性化より上流の細胞内シグナルについては検証がほとんどなされていない。そこで本研究では阻害実験を用いて細胞膜微小変形が惹起する  $\text{Ca}^{2+}$ シグナル経路、特に PLC 活性の上流シグナルを含えてその周辺の細胞内シグナルを多角的に阻害実験にて確認した。さらに、最近他分野で試みられている PLC 活性化のリアルタイムイメージングを用いて PLC 活性化の直接的に観察した。また、PLC 活性化と細胞内  $[\text{Ca}^{2+}]$  上昇との相関関係について他分野で試みられている手法よりも改良をさらに加えた上でこれを検証した。

本研究で、物理刺激で惹起される複数の細胞内シグナル、すなわち、FRET で計測できる細胞内シグナルと細胞内  $[\text{Ca}^{2+}]$  なる組み合わせの細胞内シグナルを同時にリアルタイムイメージングすることができる計測システムを構築できた。

新規に構築した FRET、細胞内  $[\text{Ca}^{2+}]$  同時計測システムを用いて、細胞膜微小変形により惹起される  $\text{Ca}^{2+}$ シグナル経路の一部である  $\text{PIP}_2$  分解と細胞内  $[\text{Ca}^{2+}]$  上昇を同時に計測し、細胞膜を微小変形された細胞内での  $\text{PIP}_2$  分解と細胞内  $[\text{Ca}^{2+}]$  上昇の相関関係を調べることができた。