

Correlation analysis of subcellular ATP dynamics and changes in cellular morphology

February 2018

Rika Suzuki

報告番号	Ⓐ 乙 第	号	氏 名	鈴木 李夏
主 論 文 題 名 : Correlation analysis of subcellular ATP dynamics and changes in cellular morphology (細胞内 ATP 動態と細胞形態変化の相関解析)				
(内容の要旨) <p>細胞はその機能に応じた形態をとる。形態は状況に応じて変化するが、この過程には細胞内エネルギー物質アデノシン三リン酸 (ATP) の関与が示唆されている。しかしこれらの知見の大部分は阻害剤等を用いたエネルギー産生抑制の結果に基づくため、生理的条件下での両者の関係は明らかではない。また形態変化の活発さは細胞内で様ではないため、ATP も高空間分解能で分析することが求められるが、これまで細胞内の局所で ATP を解析した例は多くなかった。本論文では画像処理や相関解析などの手法の有用性に着目し、ATP と形態の同時観察にこれら解析手法を組み合わせることで、生理的条件下における細胞局所形態と ATP レベルとの相関を示した。</p> <p>第一章では、まず、細胞形態に着目する意義を細胞機能との関連から述べた。次に、これら細胞形態の変化・形成における ATP の関与について、既知の知見に触れたのち、未解決な課題として i) 生理的条件下、ii) 細胞局所における ATP 測定、を挙げた。次いで種々の ATP 測定手法を踏まえた上で、近年開発された蛍光タンパク質型 ATP センサーについて、前述 i), ii) を達成しうる手法として解説した。最後に、前述 i), ii) のようなシグナルの解析において、画像処理や相関解析が強力な手段となることを示した先行研究を紹介し、ATP センサーと画像処理・相関解析を組み合わせることで、生理的条件下で細胞局所における ATP - 細胞形態相関に迫るという本論文の方針を述べた。</p> <p>第二章では、代表的な実験細胞である HeLa 細胞を生理的条件下で観察した結果を述べた。細胞端という局所において、ATP 変動、形態変化とその分子基盤である細胞骨格分子動態の 3 者について相関を調べた。細胞端は 2 層構造をとり、そのうち内側領域の微小な形態変化は微小管の流入後に起り、これは ATP 上昇を伴った。更にこの ATP 変動と外側領域の形態変化の時間変遷を、生理的条件時と骨格分子動態阻害時とで比較することで、細胞骨格分子アクチンと微小管は各々細胞内 ATP の変動に関わることを示した。</p> <p>第三章では、形態と機能との関係が密接な例として神経細胞を取り上げ、神経突起局所での ATP 産生器官ミトコンドリアの動態と突起伸長との関連を調べた。生理的条件下において、突起先端の構造である成長円錐に着目すると、突起部分と比較して成長円錐におけるミトコンドリア密度及び総ミトコンドリア ATP レベルは高かった。この総 ATP レベルは突起の伸長距離と正の相関があり、成長円錐内ミトコンドリアの ATP が神経伸展において重要であることがわかった。</p> <p>第四章では、画像処理と相関解析を用いて生理的条件下における局所 ATP - 形態相関の可視化を実現したという本論文の成果と、二章、三章で明らかにした結果の生物学的意味について述べた。また今回明らかになった「生理的状态」とこれまでよく調べられてきた「ダメージを受けた状態」の間にあると考えられる、ダメージが引き起こす細胞の「変性プロセス」の解明可能性等について、本論文の結果を踏まえて言及した。</p>				

Thesis Abstract

No.

Registration Number	<input checked="" type="checkbox"/> "KOU" <input type="checkbox"/> "OTSU" No.	*Office use only	Name	Rika Suzuki
Thesis Title Correlation analysis of subcellular ATP dynamics and changes in cellular morphology				
Thesis Summary Cells take appropriate morphology according to its functions. Their morphology is unstable, and always changing depends on their surrounding conditions. Adenosine triphosphate (ATP) is suggested to be related to this process, however, their relationships under physiological conditions are still unclear because most of previous insights were derived from extreme ATP reduction. Moreover, although spatial heterogeneity in activities of cellular morphological changes requires high-spatiotemporal ATP analysis, only a few works reported such analysis so far. This thesis have succeeded to visualize relationship between local morphological change and fluctuation of ATP levels under physiological conditions, due to highly useful analytical methods: image processing to quantify signals spatiotemporally and correlation analysis to evaluate relationships between the signals. Chapter 1 remarks that unresolved problems in analysis of the correlation mentioned above: i) under physiological condition and ii) subcellular ATP quantification. A genetic ATP sensor recently developed was took up and described as one capable method for such observation. Then, some previous works demonstrating usefulness of image processing and correlation analysis for such quantification were cited to describe the objects in the thesis: to show physiological and local ATP-morphological correlation <i>via</i> combination of simultaneous imaging and such analytical approaches. In chapter 2, edges of HeLa cells consisted from two distinctive structures were focused on. The morphology of the inner structure changed after microtubule influx to the local region under physiological conditions, and this accompanied an ATP increase. The fluctuation of ATP and morphological changes of outer structure were also visualized. Comparison of the transient patterns between physiological conditions and cytoskeletal-inhibited conditions suggested that two typical cytoskeleton, actin and microtubule, are related with local ATP fluctuation, respectively. In chapter 3, neuronal extension and dynamics of mitochondria, energy plants of cells, were analyzed simultaneously under physiological conditions. Neuronal structure growth cones (GCs) were focused on because they are related to neuronal extension. In GCs, mitochondrial density and integrated mitochondrial ATP levels were higher compare to ones in neuronal process. The integrated ATP signals positively correlated with elongated distance of neurites, and the importance of mitochondrial ATP within GC for neurite elongation was indicated. Chapter 4 summarizes the outcomes of this thesis, and the prospects of these approaches for future biological research were discussed.				