

博士論文審査報告書

論文題目 : Dynamics of the cell coat and cell membrane complex accompanied by locomotion
of *Amoeba proteus*

「アメーバ運動に伴う細胞膜糖衣複合体のダイナミクス」

申請者 : 谷口 篤史

1. 論文内容の要旨

原生生物 *Amoeba proteus* は、そのアメーバ運動の際に、細胞膜とその外側の糖衣からなる細胞表層を、細胞質と一緒に、伸長中の仮足先端側に供給する必要がある。申請者は、移動中の *A. proteus* の細胞表層の動きを詳細に検討し、現在提唱されている細胞表層輸送モデルのうち、Total Folding and Unfolding モデル (TFU モデル) が、その動きを最も正しく説明できることを示した。即ち、複数の標識手法とタイムラプス観察によって、*A. proteus* の培養液に露出した側の細胞表層と接着基質面側の細胞表層が運動方向と同方向に移動していること、エンドサイトーシスの亢進がアメーバ運動に影響しないこと等、TFU 以外のモデルに反する事実を明らかにした。特に、申請者は、(1) 細胞表層と細胞質内の動き、および、(2) *A. proteus* の培養液に露出した側の細胞表層の動きと接着基質面側の細胞表層の動き、を同時に観察することを目的として digital scanned laser light-sheet fluorescence microscopy (DSLM) を用い、運動中の *A. proteus* の縦断面の動画観察に初めて成功した。さらに、申請者は、TFU モデルにおいて明確に組み込まれていなかった、接着基質への接着点が、*A. proteus* の接着基質面側細胞表層に斑点状に分布することも明らかにした。

また、申請者は、DSLM を発展させ、運動中の細胞全体のリアルタイム観察を可能にするため、新たに改良型 DSLM (ezDSLM) システムの構築に取り組み、アメーバ運動中の *A. proteus* 全体の 3D 動画観察に成功、TFU モデルの正しさを証明した。さらにこの中で、細胞後部に存在するウロイドと呼ばれる突起の細胞表層が、ウロイド収縮中に独特の旋回運動をすることも見出した。また、今まで細胞膜は、アクチンフィラメントによって細胞質ゲルと密接に結合していると考えられていたが、申請者は、上記の細胞表層・細胞質の同時動画観察の中で、細胞膜と細胞質ゲルの間には薄い細胞質ゾル層があることを見出し、細胞表層と細胞質ゲルは独立に運動しうることを明らかにした。

2. 論文審査結果

上記に示したとおり、申請者が、*A. proteus* の細胞表層運動は他のモデルでは無く TFU モデルに従った運動を行うことを決定づける解析結果を得、長年の懸案に決着をつけたことは、当該の学術分野における明確な貢献である。さらに、今まで *A. proteus* の細胞膜はそ

の直下にあるアクチン層を通じて、細胞質ゲルと密接な関係にあるとされてきたが、申請者の解析によって、細胞膜と細胞質ゲルの間には、滑り層として薄い細胞質ゾル層が形成されており、両者が独立に動くことが明らかとなった。この発見も、細胞表層がどのように動くかといった分子機構を理解する上で、発想転換をこの分野に与える重要なものである。申請者は博士論文において、*A. proteus* の細胞運動に関するこのような重要な知見を得ただけで無く、新たな顕微鏡観察手法である ezDSLIM 法の開発にも貢献した。高速で 3 次元動画を取得できる ezDSLIM 法は、おそらく、今後、細胞運動の解析にとって様々な成果を生むことが期待出来る。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 25 年 7 月 18 日、論文内容及び関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査：吉久 徹 印

副査：大隅 隆 印

：月原 富武 印

：洲崎 敏伸 印
(神戸大学大学院理学研究科、准教授)

：園部 誠司 印