

博士論文審査報告書

論文題目：Studies on mechanisms of amoeboid locomotion using a novel model system
「新規モデル系を用いたアメーバ運動機能の研究」

申請者：西上 幸範

1. 論文内容の要旨

学位申請者は、*Amoeba proteus* のアメーバ運動について、その運動原理を明らかにする目的で、細胞質抽出液とアクチン・ミオシン重合物懸濁液を用いた *in vitro* 系を開発した。申請者はこの系を用い、*A. proteus* のアメーバ運動の再構成に成功し、この運動が、アクチン・ミオシン重合物懸濁液と細胞質抽出液の界面に形成されるアクトミオシンゲルの収縮による懸濁液内圧の上昇と、部分的な界面ゲルの崩壊に基づく内部懸濁液の吐出の繰り返しによって進むことを示し、生体膜で囲まれていないゾル・ゲル成分だけで ATP 依存のアメーバ運動が起こることを証明した。これによって、*A. proteus* のアメーバ運動が「後部収縮説」に従うことを決定づけた。

また、アメーバ運動では、細胞質の運動方向への輸送能と細胞の機械的強度とのバランス維持に細胞質ゲルと細胞質ゾルの変換が必要だが、そうしたゲル-ゾル変換は、 Ca^{2+} 濃度調節による厳密な制御過程だと考えられてきた。しかし、申請者はこの変換が、一定の Ca^{2+} 濃度条件下であれば、圧力で引き起こされる単純なアクティブゲルのゲル-ゾル変換でも理解できることを、上記 *in vitro* 系の解析や *in vivo* での観察から提唱した。他方、この変換を可能にする濃度域への細胞質 Ca^{2+} 濃度調整が、細胞膜からの Ca^{2+} 流入で引き起こされることを、(1) 仮足形成部位では Ca^{2+} 濃度が上昇していること、(2) 人為的な Ca^{2+} 流入誘導で仮足形成が誘起できること、といった *in vivo* 観察から示した。

さらに申請者は、生体膜で囲まれたアメーバ運動再構成系構築の前段階として、油中の微小水滴の界面に脂質単分子層を形成させ、この水滴中に細胞抽出液や ATP を封入した *in vitro* 系の構築も行った。申請者は、両親媒性分子として正に帯電した DOTAP を利用することで、アクチンの脂質表面への集積を可能にし、さらに、アクチン・ミオシン重合物懸濁液を加えることで、界面に結合したアクチンが凝集することを見出した。これは、将来、アクトミオシン内包リポソームを利用したアメーバ様の収縮運動の再構成につながるものだと考えられる。

2. 論文審査結果

申請者は、*A. proteus* のアメーバ運動を再現する *in vitro* 系を、本博士論文の中で世界に先駆けて構築した。膜系を持たず、細胞質抽出液とアクチン・ミオシン重合物からなる本

系は、アメーバ運動のパワージェネレーションメカニズムを知るための系として、また、そうした機構を司る因子を同定する系として大きな貢献が期待される。実際、申請者は、この系を利用し、*A. proteus* 細胞質の運動に伴うゾルーゲル変換が、 Ca^{2+} 濃度の厳密な調節に基づくアクティブな制御下にあるという今までの概念に対して、アクティブゲルのずり応力による物性的なゾルーゲル変換といった受動的変換でも十分説明できるという仮説の提唱に至った。他方、申請者は、このような変換には、細胞質抽出液がゾル状態にある Ca^{2+} 濃度が必須であることを *in vitro* 実験で明らかにし、加えて、*in vivo* での *A. proteus* 細胞の局所的な Ca^{2+} 濃度上昇誘起実験から、 Ca^{2+} 濃度上昇が仮足形成の位置決めに関わることを明らかにした。このように、申請者は、自身の開発した *in vitro* 系と、*in vivo* 観察とを組み合わせ、当該の研究分野のそれまでの問題を解決すると共に、アメーバ運動における新たな概念の提出にも至っている。さらに、申請者は外界との界面をもったアクトミオシン運動系の構築にも着手し、今後のアメーバ運動再構成に関して、新たな展開も模索している。こうした点、申請者の博士論文での研究は、*A. proteus* のアメーバ運動のメカニズムの理解に貢献し、また、今後も様々に寄与することが期待される。

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