



Title	Novel Functions of Intracellular Membrane Organelles in Slime Mold Cells I . The Slime-containing Vesicle is Involve in Formation of Pseudopods in <i>Physarum polycephalum</i> II . The Contractile Vacuole Is Involved in Transport of the Cell Adhesion Molecule DdCAD
Author(s)	瀬崎, 博美
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40858">https://hdl.handle.net/11094/40858</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	瀬 崎 博 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 4 0 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科 生理学専攻
学 位 論 文 名	Novel Functions of Intracellular Membrane Organelles in Slime Mold Cells I. The Slime-containing Vesicle is Involved in Formation of Pseudopods in <i>Physarum polycephalum</i> II. The Contractile Vacuole Is Involved in Transport of the Cell Adhesion Molecule DdCAD-1 in <i>Dictyostelium discoideum</i> 細胞内膜オルガネラの機能 I. 仮足形成における分泌小胞の関与 II. 収縮胞を介した非古典的タンパク質輸送
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中西 康夫 (副査) 教 授 米田 悅啓 助教授 中井 正人 教 授 小倉 明彦 助教授 萩原 哲

### 論 文 内 容 の 要 旨

細胞内膜オルガネラは細胞が正常な生命活動をおこなうために重要な役割を果たす。私の興味は細胞内膜オルガネラの機能を理解することであり、粘菌細胞における2種類のオルガネラ（スライム小胞と収縮胞）の機能を細胞生物的手法を用いて調べ、以下の研究成果を得た。

#### I. 仮足形成における分泌小胞の関与

細胞の移動運動に細胞内膜小胞が関与することが示唆されてきたが、その役割は殆どわかっていない。私は真正粘菌を材料とし、スライムを分泌する小胞（スライム小胞）が仮足形成に果たす役割を解明するために研究を行った。以下の実験結果から、スライム小胞が仮足形成に重要な細胞膜の前駆体である可能性が強く示された。

##### a) 細胞外基質の分泌と共に仮足形成

高解像度ビデオ顕微鏡を用い単一スライム小胞のエクソサイトーシスを可視化し、その直後に1つの仮足が伸長することを示した。さらに、定量的な形態測定から、仮足の膜面積が小胞の膜面積に比例することが示された。

##### b) スライム小胞の仮足先端における濃縮

生きた細胞内でスライムを蛍光染色し、移動中の細胞内におけるスライム小胞の挙動を観察した。小胞は伸長している仮足先端に濃縮した。蛍光強度と仮足伸長速度の定量的な解析は、仮足の伸長速度が大きいほど濃縮する小胞の数が多いことを示した。

##### c) GTP $\gamma$ Sの細胞内導入によるスライム小胞の減少と仮足形成の抑制

GTPの非仮水分解アナログであるGTP $\gamma$ Sを細胞内に導入すると、細胞内のスライム小胞の数が減少した。もし、この小胞が仮足の形成に必要であるならば、仮足形成が阻害されると予想される。実際に、GTP $\gamma$ Sの導入は仮足形成を阻害した。

#### II. 収縮胞を介した非古典的タンパク質輸送

細胞性粘菌で発現している細胞接着分子DdCAD-1はシグナルペプチドをもたない。シグナルペプチドを持たない細胞膜蛋白質は多く報告されているが、その輸送経路については殆どわかっていない。私はDdCAD-1の局在と細胞表

面への輸送経路を解明するために研究を行った。

a) DdCAD-1 の局在

蛍光抗体法を用いて胞子への分化過程における DdCAD-1 の分布パターンを解析した。単細胞のアメーバが多細胞体を形成する時期に、DdCAD-1 はサイトソルから細胞表面へと運ばれる。細胞表面では仮足と細胞接着部位に濃縮した。ビデオ顕微鏡観察から、接着部位形成は仮足を介しておこなわれることが明らかとなり、仮足上の DdCAD-1 は接着部位形成に重要な役割を果たすことが示唆された。分化がすすみ、別の接着分子 (gp80) により接着部位が安定化されると、DdCAD-1 は接着部位から消失していった。以上の結果から、DdCAD-1 は接着部位形成の初期過程に機能することが示唆された。

b) DdCAD-1 の輸送経路

形態学的手法と生化学的手法を組み合わせ、DdCAD-1 がサイトソルから収縮胞を経て細胞表面へ輸送されることを示した。収縮胞は今まで細胞の浸透圧調節に機能していると考えられてきたオルガネラである。本研究から蛋白質の輸送にも利用されていることが初めて明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

細胞内膜オルガネラは真核細胞の生命活動に必須の細胞内構造であり、その働きを理解することは生物学の基本的課題である。本研究では 2 種類の既知の細胞内オルガネラを細胞生物学的手法を用いて解析し、今までに知られていた機能に加えて、新しい機能を明らかにした。

1) 細胞外基質を分泌する小胞が仮足の細胞膜の前駆体として機能する。

細胞の移動装置である仮足の伸長には、細胞骨格の形成に加えて、細胞膜の面積拡大が重要な役割をはたす。細胞膜の面積拡大のためには、新しい膜成分が開口放出により供給される可能性が示唆されてきた。本研究では高解像度の光学顕微鏡法をもじいて、單一小胞のエクソサイトーシスとその直後における仮足伸長を初めて可視化した。詳細な定量的形態計測により、仮足の細胞膜が開口放出によってまかなわれていることを示した。さらに、その構造的実体が細胞外基質を分泌する膜小胞であることを電子顕微鏡をもじいて示した。

2) 収縮胞が非古典的タンパク質輸送に機能する。

細胞膜上あるいは細胞外に局在しているにも関わらず、シグナルペプチドを持たないタンパク質が存在する。これらのタンパク質は ER、ゴルジ体を利用しないことが示唆されているが、具体的な輸送経路は殆どわかっていない。細胞性粘菌の細胞間接着分子 DdCAD-1 も細胞表面で機能しているがシグナルペプチドをもたない。本研究では DdCAD-1 が収縮胞を介して、細胞質から細胞表面へ輸送されていることを明らかにした。収縮胞がタンパク質輸送にも関与していることが初めて明らかとなった。

以上のように、本研究はオルガネラの新機能を発見し、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。