

論文審査の結果の要旨

氏名 前多 裕介

前多 裕介氏（以下 前多氏）の学位論文には2つの研究が記載されている。それらのうち特に重要な発見があった研究は学位論文第2章に記載された、自発的細胞運動の生物物理学的研究である。前多氏は本研究において細胞膜のダイナミクスとりわけ細胞膜の揺らぎに着目し、揺らぎの相関解析から自発的細胞運動の動作原理について述べている。

分子生物学の発展により遺伝子やタンパク質など多くの要素が同定され、生命現象の分子レベルでの理解が進んだ。しかし、生命現象は多数の分子および多数の細胞による相互作用から実現しているため、その本質は分子という要素ではなく分子により構築されたシステムの構造とふるまいにあると考えられる。したがって、生命現象の本質的理解にはシステムレベルでの研究が必要不可欠であるといえる。

また、従来の生物学では、ダイナミクスに着目した定量的なアプローチよりもむしろ機械論的に遺伝子スイッチのON/OFF制御で生命を記述してきた。機械論的な記述は細胞内で起こる化学反応の揺らぎが無視できるという前提の元で正しい。しかし、近年の顕微鏡やイメージング技術の発達により、細胞のように μm スケール空間での少数分子による化学反応は確率的にならざるを得ず揺らぎの影響を無視できなくなることがわかりつつある(M. Elowitz et al, *Science* **297**, 1183 (2004))。このように細胞が必然的に内包する揺らぎは細胞内揺らぎ(Intracellular stochasticity)とよばれる。

これらの研究によりバクテリアなど下等な原核生物における遺伝子発現の揺らぎの性質が解明されつつあるものの、より高等な真核細胞や多細胞生物が示す揺らぎに関する研究は少ない。前多氏は、揺らぎが真核細胞の高次生命現象においても重要であるという観点に立ち、顕著な自発的細胞運動を示す細胞性粘菌を用いて物理学的かつ定量的アプローチにより

(1) 自発運動中の細胞膜ダイナミクスの揺らぎを定量的に解析

(2) 細胞膜-細胞運動の動的相関の解析

を行い、真核細胞における自発的細胞運動の動作原理を探索した。

まず前多氏らは、位相差顕微鏡および蛍光顕微鏡を用いて単一の細胞性粘菌の自発運動を計測した。画像解析により、重心から細胞膜境界までの長さをすべての角度について求め、細胞膜の複雑な形態変化を定量化した。しかし、ただ形態変化を定量化しただけでは、揺らぎが大きすぎるため何ら特徴を見出すことが出来なかった。そこで、膜揺らぎの自己相関関数を計算することで時空間相関のない揺らぎを除き、規則的なパターンの分離抽出を行った。すると驚くべきことに、3つの典型的なパターン—伸張、回転、振動—が見出されることを発見した。この結果は、

外部刺激がない環境下においても膜揺らぎには相関のある揺らぎの成分が存在すること、つまり細胞膜は規則的に変形していることを意味している。3つのパターンは vegetative という極性が弱い状態、starved や aggregating phase という極性が強く形成された状態に共通して見出されたことから、従来の定説「自発運動過程における細胞性粘菌の膜変形はランダムである(van Haastert & Devreotes, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 626 (2004))に再考を迫る結果といえる。さらに、長時間にわたって1個の細胞を観察した結果、細胞は時々刻々とパターンを切り換えることも明らかとなった。

次に、前多氏は細胞膜揺らぎのパターンと細胞運動の動的相関の解析を行った。この解析は「細胞膜の変形は運動の方向をバイアスするか」という問いに答えるためである。膜変形と共に自発運動中の重心運動の軌跡を画像解析から抽出し、運動方向が持続する距離(持続長)を求めた。すると、starved 状態の細胞性粘菌において、伸張パターンをとる細胞は $25\mu\text{m}$ の、回転および振動パターンをとる細胞は $9\mu\text{m}$ の持続長を示すことを明らかとし、伸張する細胞はより長距離を直線的に進むことを発見した。さらに、細胞膜と運動速度の相互相関関数を求めたところ、回転および振動パターンをとる細胞が60秒以内に相関を消失してしまうのに対し、伸張パターンをとる細胞は200秒以上もの長い緩和時間を示すことを見出した。以上の結果は、外部刺激が無くとも細胞膜の伸張方向に細胞運動が自発的にバイアスされていることを意味している。更に、(1)このような細胞膜の伸張方向と運動方向の相関は starved 状態においてのみ見られ、極性形成の弱い vegetative 状態では明らかな膜-運動相関は見出されなかった。そして、(2) PI3-kinase や PTEN により自発的極性形成を阻害すると、starved 状態であっても膜と運動の相関が失われてしまった。この2つの結果は、PI3-kinase と PTEN による細胞膜の自発的極性形成を介して、細胞膜のパターンが運動方向をバイアスしていることを示唆している。

以上の結果、前多氏は細胞膜揺らぎの相関解析から

- (1) 細胞膜の変形は揺らぎが大きいが、その背後には規則的なパターンが存在する
- (2) 細胞膜変形のパターンは極性の強弱に依らず共通して存在し、時々刻々変化する
- (3) 細胞膜変形のパターンは PI3K と PTEN を介して運動方向をバイアスすることらを明らかとした。3つの発見に基づき、前多氏は自発的細胞運動の動作原理として「細胞膜-細胞運動カップリングモデル」すなわち細胞性粘菌は自発的に細胞膜変形を規則的な3つのパターンに組織化するシステムを備え、パターンを時々刻々変化させることで多様な自発運動を生み出している、という新たなモデルを提案している。極性の強弱によらず共通してパターンが見出されたこと、更に以下の2つの事実——極性の強弱によらず共通してパターンが見出されたこと、PI3-kinase がマウスなど他の生物種においても保存された機能を持っていること——から、このモデルがさまざまな高等生物に共通して備わっていることを想起することができる。本研究の結果は、普遍的な細胞運動の動作原理の解明に寄与するものと評価できる。

加えて、この論文の第三章には人工遺伝子ネットワークのダイナミクスと非線形特性の実験的・理論的研究を述べている。前多氏は大腸菌内に正のフィードバック

ク制御を備えた人工遺伝子ネットワークを構築し、そのダイナミクスが時間的に遅れを伴うことを世界で初めて検証することに成功した。さらに非線形特性として予測される遺伝子発現のヒステリシスが現れる条件が高い転写活性にあることを実験的・理論的に説明することに成功した。本研究は物性研究誌および **Journal of Molecular Biology** 誌に掲載済みである。

本論文は、松尾・山本 美希博士、猪瀬淳也氏、岩谷卓氏、佐野雅己教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったものであるため、提出者の寄与が十分であると認められる。したがって審査委員一同は同提出者に博士（理学）の学位を授与できると判断する。