真正粘菌変形体における原形質流動の自己組織化

細胞機能素子研究分野 西山宣昭 情報数理研究分野 柳田達雄

数十µm程度の大きさを持つ真正粘菌の微小変形体を用いて,変形体のサイズの増大に伴う原形質 往復流動の秩序化過程を明らかにした.往復流動は定常的に起こっておらず間欠的であるが,大きな サイズの変形体では往復流動の起こる時間が長くなる傾向が見られた.このようなサイズ効果を説明 するモデルとして,定常点とリミットサイクルとの共存系およびその結合系を考えた.

1 はじめに

真正粘菌変形体は,多核のアメーバ様単細胞であ る.栄養が十分ある場合には,約10時間周期の同 調した核分裂を繰り返すが,細胞質の分裂は起こら ない.したがって,単細胞のまま数十 cm にも及ぶ 大きさに成長する.変形体では,1~2分周期の激 しい原形質往復流動が観察される、これは、巨大な 変形体における代謝など細胞内化学反応の空間的不 均一性を回避し,一個体としてのまとまりを維持す る役割を担っていると考えられる.一方,数十µm 程度の微小変形体では、原形質流動は微弱で、その 方向も定まらない.この程度の大きさでは,細胞内 での物質輸送は,拡散によって十分達成されるもの と考えられる.つまり,変形体には自身のサイズに 見合った原形質流動を発生させる自己制御機能の存 在が示唆される.本研究では,変形体のサイズ増大 に伴って, 微弱かつ無秩序な流れが, 周期的な方向 性を持った往復流動へといかに自己組織化されてい くかを明らかにし,そこに利用されている非線形ダ イナミクスを実現する数理モデルの構築を目的とし た.



図 1 低温処理や近赤外光照射によって誘導される変形体の フラグメンテーション

2 実験方法

2.1. 変形体の調製および原形質流動の観察

図1に示すように,低温処理あるいは近赤外光照 射により,変形体は約8個の核を含む球状の微小変 形体に過渡的に分裂する(フラグメンテーション [1]).この現象を利用してサイズの異なる変形体を 系統的に調製した.22 で培養した変形体の一部 を直径約100 µmの大きさに切り分けた.これら を12 ~ 15 に5時間放置して低温処理すること により,球状の微小変形体を得た.顕微操作して, 任意の数のフラグメントを単離,接触させ,室温に 放置した.2 ~ 3時間後には完全に融合した.融合 させるフラグメントの数を変えることにより,系統 的にサイズの異なる変形体を得た.原形質流動,細 胞形状の時間的変動をSITカメラ(CTC-9000, Ikegami Tsushinki Co.)を通してタイムラプスビデ オ(BR-S925, Victor)に録画した.

2.2. 微小変形体における F - アクチンの観察

1.の方法で得た微小変形体を,Triton X-100 を 含む固定液(2% glutalaldehyde,2% paraformaldehyde,50mM KCl,25mM EDTA,0.5%Triton X-100,10mM K-phosphate buffer pH7.0)で浸し,10 分間4 に放置した.引き続き Triton X-100 を含ま ない上記固定液で室温下 30 分間処理した.固定液 を洗浄後,20 µ M ローダミンファロイディンによ り細胞内F - アクチンを特異的に標識し,共焦点レ ーザースキャナーユニット(CSU10,Yokogawa) を装着した蛍光顕微鏡(Diaphot-TMD,Nikon)に より観察した.568nm Kr-Ar レーザー (50643-50YB, Yokogawa) で励起し,冷却 CCD カメラ (RTE/CCD-1300-Y, Princeton Instruments Inc.)を 経て蛍光像をコンピュータに取り込み,コントラス ト補正などの画像処理を行った.

3 結果および考察

3.1. 原形質流動のサイズ依存性

図2(a)に,単一フラグメントについての原形質 流動,細胞形状の観察例を示す.約2時間の観察 時間内に,球状の形態をとる状態と激しい細胞変形



(c) 30 fragments fused

図2 フラグメントを接触,融合させて得た変形体における 原形質流動と細胞形状の時間変化を示したもの.太線は, 球形で微弱かつランダムな原形質流動が起こっている時間領 域を示している.細線の領域は,激しい細胞変形を伴う往復 流動が起こっている時間帯.

を示す状態とが交互に起こることがわかった.球形 の時間帯では,細胞内顆粒の動きは微弱でかつラン ダムであるのに対して,細胞変形を繰り返す不定形 の時間帯においては,変形に追随した原形質流動が 認められた.図2(b)は,10個のフラグメントを 接触,融合させて得た変形体についての観察例であ る.1個のフラグメントの場合と同様に,方向性の ない微弱な流れを示す球形の状態と,秩序立った原 形質流動を伴って激しく細胞の変形が起こる状態と が現われた.(a)に比べて,より明確な往復流動が 認められた.ただし,その方向は安定せず,数周期 ごとに不規則に変化した.図2(c)は30個のフラ グメントを接触,融合させた場合の結果で,球形の 状態は観測時間内にわずか1回だけ現われ,顕著な 往復流動が長時間にわたって観察された.以上のこ とから,微小変形体においては,原形質往復流動は 間欠的に発生し,変形体サイズの増大とともにその 発生時間が長くなり,十分な大きさの変形体におけ る定常的な往復流動に至るものと考えられる.本研 究室の古家らにより,細胞内顆粒の速度の変形体サ イズ依存性が測定されている[2].図3に示すよう



図3 変形体内顆粒の速度のサイズ依存性 (Koya and Ueda 1998)

に,25 個程度のフラグメントによる変形体サイズを 境にして,急激に速度が上昇している.このしきい 値が定常的な往復流動発現に対応するものと考えら れる.

以上のように、微小変形体においては、原形質の 往復流動は定常的に発生しておらず、間欠的であ る.すなわち、定常状態(微弱かつランダムな流れ の状態)と振動状態(往復流動の状態)との間を遷 移している.そして、サイズの増大とともに振動状 態が優勢になるものと考えられる.このようなダイ ナミクスのサイズ依存性を説明する数理モデルとし て、定常点とリミットサイクルとの共存系が考えら れる.亜臨界型のホップ分岐を示す力学系では、2 つの分岐点の間で安定な定常状態と安定なリミット サイクルの共存が可能である.両者の間のセパラト リックスを越えるような適当な摂動により、定常状 態と振動状態との切り替えが実現する.このような ダイナミクスを示す化学反応系としては、BriggsRauscher 反応や, Moran と Goldbeter による酵素反応モデル[3]などが知られている.特に,後者のモデルでは,相空間において定常点とリミットサイクルとが局所的に接近しており,わずかな摂動によって両者間の遷移が可能である.以上述べた共存系を拡散により結合していき,サイズの増加に伴う系全体のダイナミクスの変化を計算機実験により調べる予定である.

3.2. 微小変形体における F - アクチンの分布

図2(a)の単一のフラグメントにおけるF - アク チンの分布を図4に示した.(a)は細胞変形を示す 状態,(b)は球形の状態でのF - アクチンに特異的



図4 単一のフラグメントにおける F - アクチンの分布. 左 は, 位相差像. 右は, F - アクチンに特異的に結合したロー ダミンの蛍光像.

に結合したローダミンの蛍光像である.(a)では, 細胞体から四方に伸びる偽足の先端部にF - アクチ ンの集積が認められる.(b)では,数本の細いフィ ラメントが認められるが,むしろ細胞全体にわたっ て均一に無構造なF - アクチンが分布しているよう に見える.このことから,図2の激しい細胞変形を 伴う往復流動の状態(振動状態)には,F - アクチ ンの時間空間的な周期的変動が関わっているものと 考えられる.

細胞性粘菌のアメーバ細胞において,F - アクチ ンの円形波やらせん波など,振動媒質で知られる化 学波が観察されている[4].F - アクチン波の伝播 には, G - アクチンの重合とF - アクチンの脱重合 とが関わっている.これらの過程は,コロニンや ABP-50 などの多くのアクチン結合蛋白質(ABP) により制御されている. さらに, ABP 活性の主な調 節因子として Ca イオンが知られている.細胞内に おける Ca イオンの濃度振動や化学波は,多くの細 胞で観察されている.Caイオンの濃度振動は,真 正粘菌変形体においても起こっており,先に述べた 定常点とリミットサイクルとの共存に基づくモデル の分子的実体として, Ca イオンを想定することは 興味深い.微小変形体における Ca イオンの時空間 的変動と往復流動の自己組織化との関係を実験的に 明らかにする予定である.

[参考文献]

- [1] Kakiuchi, Y. and Ueda, T. Protoplasma 206(1999)131-136.
- [2] Koya, S. and Ueda, T. ACH Models Chem. 135(1998)297-304.
- [3] Moran, F. and Goldbeter, A. Biophys. Chem. 23(1985)71-77.
- [4] Vicker, M. G., Xiang, W., Plath, P. J. and Wosniok W. Physica D 101(1997) 317-332.