

(京大・理・植物) 池田照明・竹内郁夫

粘菌細胞の集合によって形成される細胞集団(移動体)は、やがて孢子群とそれを支持する柄組織から成る子実体を形成する。その過程で、移動体の前部は柄細胞に分化し、後部は孢子に分化する。すでに移動体の時期に、前部の予定柄細胞と後部の予定孢子細胞の間には細胞分化が認められる。このような予定孢子細胞の分化にともなう、孢子特異抗原(酸性ムコ多糖)が細胞内顆粒に合成される(竹内)。一方、電子顕微鏡的研究によれば、予定孢子細胞には膜状および繊維状構造を内蔵する液胞(PSV)が特異的に存在する(前田・竹内)。また、この液胞は孢子形成の過程において細胞外に放出され、内部の膜状構造が孢子外被を形成することが示された。子実体形成の過程にみられるこれらの特異物質と特異構造の挙動から、PSVは孢子特異抗原を含む細胞内顆粒と同一構造であると推論された。

予定孢子細胞の分化に伴って特異的に形成されるこれらの構造と物質との関係を明らかにすることは、細胞分化や退分化に伴って起こるこれらの形成と消失の機構を知る上に重要であると思われる。そのために、まづこの細胞器官の分離を試みた。分画は、孢子特異抗原に対する蛍光抗体反応を指標として行ない、分離されたものの内容を電子顕微鏡によって調べた。

粘菌アメーバを栄養培地上で *E. coli* と2員培養し、2日後、細菌を除いて無栄養実天培地に移す。やがて、細胞は集合して、移動体を形成する。これらの移動体を集め、遠心洗浄後、細胞容量の約2~3倍量の0.25Mショ糖溶液(5mMトリス緩衝・0.1mMEDTA)中でポッター型ホモジナイザーを使って細胞をすりつぶす。800g・10分間の遠心で細胞や核を除いた後、1800g・20分間の遠心によって、ミトコンドリアと孢子特異抗原を含む顆粒が沈殿として分画される。得られた沈殿を上述のショ糖溶液に再懸濁し、それを不連続ショ糖密度勾配に重層し(30:45:47.5:50:52.5:55%)、64000g・5~8時間遠心すると、それぞれの濃度の境界にバンドが見られる(図1)。この時、ミトコンドリアは30-45%と45-47.5%の境界に現われる。一方、PSVは47.5-50%の境界に見られた。ただし、この分画には食胞が混在している。発生のこの段階では大部分の食胞は細胞外に存在していると思われるので、まず移動体をBAL-Pronase処理でバラバラの細胞に分散し、洗浄した後、上述の操作を行なった。その結果、上記の分画から食胞を除くことができた。PSVを均一な分画として得ることができた。これらの結果から、孢子特異抗原を含む細胞内顆粒がPSVと同一構造であることが結論された。現在、この顆粒がガラクトースガラクトサミン・ガラクトツロン酸より成る酸性ムコ多糖から構成されているかどうか、さらに、顆粒内にこれらの合成あるいは分解に関係する酵素系が存在するかどうかを検討中である。

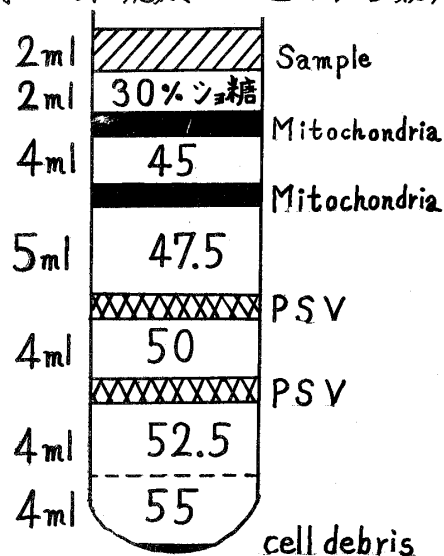


図1. ショ糖密度勾配による分画