

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の発生後期における走化性の役割

磯 彩夏 (筑波大学 生物学類)

指導教員：桑山 秀一 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

細胞性粘菌, *Dictyostelium discoideum*, は真核アメーバ細胞であり、土壌中に生息し、単細胞として増殖しながらも多細胞の生活環を有するユニークな生物である。この生物は以下の利点から、発生や細胞運動のモデル生物として研究に利用されている。①実験室での培養や保存が簡便であり、遺伝子操作が容易である。②全遺伝子情報が解読されており、ゲノム配列も公開されている。③発生の誘導が簡単である。細胞性粘菌は、栄養が存在する状態ではアメーバ状の単細胞として増殖するが、飢餓状態におかれると一部の細胞が cAMP を分泌し始める。その後、周囲の細胞が cAMP に対する走化性応答により集合并、ナメクジ状の多細胞体を形成後、最終的に孢子と柄からなる子実体を形成する。

多細胞体を形成してからの細胞性粘菌の発生の後期において、走化性運動がどのような役割を担っているかを詳細に研究されたことはない。そこで、走化性を全く欠く非走化性不能株(KI-5 株)を利用して、多細胞体を形成してから発生後期における走化性の役割について考察を行った。

材料と方法

実験 I 細胞性粘菌の培養

無菌培養株 AX2(*Dictyostelium discoideum*)を野生株として用いた。また走化性不能株として KI-5 を用いた。野生株は蛍光顕微鏡下で KI-5 株と区別できるように蛍光タンパク質 Td-Tomato を発現させたものを使用した。Td-Tomato を発現させた野生株及び KI-5 株は HL5 培地で震盪培養し、細胞密度が $1.0\text{-}2.0 \times 10^6$ cells/mL となるように調整した。

実験 II 野生株と非走化性株 KI-5 の混合による発生の観察

調整された細胞は、 1.0×10^7 cells/mL になるようにリン酸緩衝液バッファー(pH=6.0)に懸濁した。Td-Tomato を発現させた野生株は下記の割合で KI-5 株と混合し、無栄養寒天上で飢餓状態に置き発生させた。発生段階に応じて(集合期、ナメクジ期、子実体期)蛍光顕微鏡により多細胞体を観察し、細胞集団における蛍光タンパク質発現された野生株細胞の割合を検討した。

結果と考察

I 集合期における混合

集合期においてはコントロールにおける野生株と KI-5 株細胞との間に量的に差異は見られなかった。

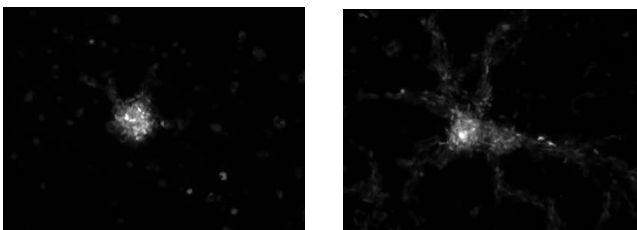


図 1 集合期の野生株 (左) と KI-5 株細胞と野生株を混合培養したもの (右)

II ナメクジ期における混合

ナメクジ期においてはコントロールにおける野生株と KI-5 株細胞との間に量的に差異は見られなかった。

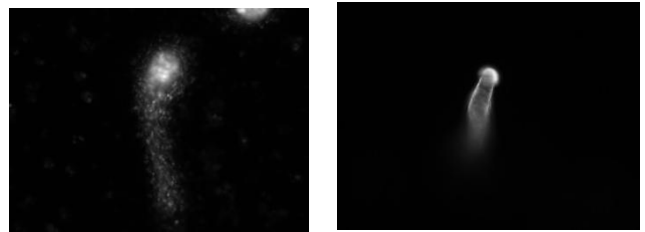


図 2 ナメクジ期の野生株 (左) と KI-5 株細胞と野生株を混合培養したもの (右)

III 子実体期における混合

子実体期においてはコントロールにおける野生株と KI-5 株細胞との間に量的に差異は見られなかった。

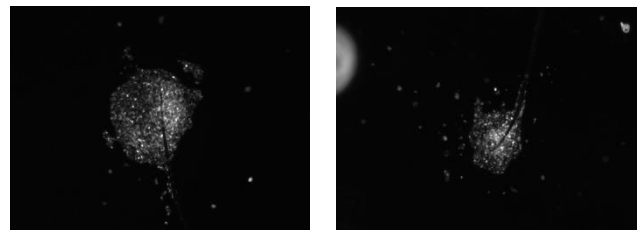


図 3 子実体期の野生株 (左) と KI-5 株細胞と野生株を混合培養したもの (右)

以上の結果は、非走化性不能株である KI-5 株細胞も発生後期において多細胞体の中に参加していない可能性を示唆するものであった。

今後の展望

今回は叶わなかったが、引き続き KI-5 株に Td-Tomato を発現させた株を用い発生における KI-5 細胞の挙動を検討したい。非走化性不能株 KI-5 の挙動を詳細におうことにより、より詳細に発生後期における走化性運動の役割を追うことができると考えている。