

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* におけるソリトン様細胞集団運動時の細胞間相互作用

平野 靖也 (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

細胞性粘菌は真核単細胞アメーバであり、バクテリアを餌として単純に分裂・増殖を行う。飢餓状態に置かれると自己分泌物質に対する走化性反応により自発的に集合する。ナメクジ様の多細胞体を経て形成最終的には球体の胞子嚢とそれを支える柄細胞から構成される子実体を形成する。また、培養方法も確立されていて実験室での扱いも容易であることから、様々な遺伝学的、分子生物学的な手法を用いて細胞運動や細胞間相互作用などの研究に優れたモデル生物である。

先行研究において、走化性を失った突然変異体が、飢餓状態において波状の細胞集団を自発的に形成した後、波状構造を維持したまま一定の速度で運動し、この波状の細胞集団が互いに衝突しても形や運動量を崩すことなくすり抜けるといったソリトン波に似た運動 (以下、ソリトン様細胞集団運動) をすることが発見された (Kuwayama and Ishida 2013)。ソリトン様細胞集団運動の特徴には、

1. ソリトン様細胞集団の運動は、進行方向前部にある細胞を取り込みながら前進すると同時に、取り込んだ分に相当する細胞を後方に残していくことで、一定の大きさを保っている。つまり、その形状は動的平衡によって一定に維持されている。
2. ソリトン様細胞集団同士が衝突すると、一時的に細胞のシャッフリングが起こるが、離れる際にそれぞれが衝突前と同じ構成メンバーのソリトン様細胞集団を再形成する。これにより、一見するとまるで通り抜けたような現象に見える。
3. ソリトン様細胞集団の形成と維持は、走化性などによる外部からの化学信号によるものではなく、細胞間の接着によって形成・維持されている。

が見られる。

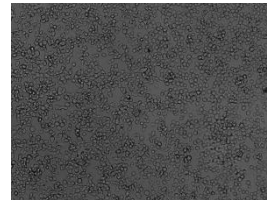
これらの観察は、ソリトン波様の形状や運動量には記憶が存在し、その記憶は構成される細胞集団運動ソリトン現象は、多細胞生物の発生における形態形成の普遍的なメカニズムの一端を示していると推測している。しかしながらこの非走化性株が示すソリトン様運動において細胞間でどのようなやり取りが行われているのかについてはまだ明らかになっていない。そこで本研究では、ソリトン現象の理論的な説明を模索し、そのメカニズムの解明に迫ることを考えていく。

本研究では走化性欠失ソリトン変異株 (KI-5) に蛍光タンパク質を発現させた細胞性粘菌株をドロップしその行方を追うことで変異株とドロップした細胞性粘菌との相互作用および細胞内情報伝達の関連を検証することによりソリトン形成のメカニズムを解明することを目的とする。

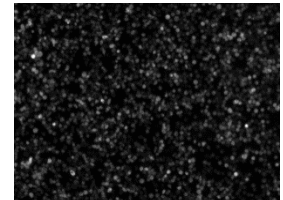
材料と方法

- (1) 走化性変異株への蛍光遺伝子を導入した細胞株のドロップ
細胞性粘菌の走化性喪失突然変異株 (KI-5) を用いて、ソリトン波が形成されるのを確認した後に波の進行方向に蛍光タ

ンパク質を発現し 16 時間飢餓状態においた野生株細胞 (AX2 Td Tomato) をドロップし、ソリトン様細胞集団運動における野生株細胞の運動を検証する。



AX2 Td Tomato 株



発光している様子

- (2) 野生株 (AX2) 及びソリトン変異株 (KI-5) に Flamindo (細胞内の cAMP に反応して赤い蛍光を発する) 遺伝子を導入する。

細胞の形質転換にはエレクトロポレーション法を用いる。Flamindo のベクタープラスミド DNA には pHK12 neo を用いているので、ネオマイシン薬剤耐性の有無によって細胞のセクションを行う。

結果と考察

蛍光顕微鏡による観察ではソリトン波の移動する様子は観察できたものの、その移動先にいた蛍光した細胞の挙動を観察したところ、波の動きとは無関係な様子しか観察されなかった。これは、野生株細胞調整における発生の時間の違いによる細胞のソリトン波に対する感受性が無いのか、あるいは野生株はソリトン様の細胞集団運動に対する感受性をそもそも備えていないことを意味している。

細胞内 cAMP は細胞外の走化性物質 cAMP を感受して合成されることが分かっている。そこで細胞内 cAMP をセンサーとして細胞外 cAMP の挙動を観察するため細胞内の cAMP に反応して赤い蛍光を発する Flamind 遺伝子を導入することを試みたが、数度の試行において目的の形質転換株を取得することはできなかった。

今後の展望

観察による検証では、野生株細胞において波の動きに合わせるような挙動は見られなかった。このことは、野生株はソリトン様の細胞集団運動に対する感受性をそもそも備えていないか、野生株細胞調整における発生の時間の違いによる細胞のソリトン波に対する感受性が無いことを意味しており、今後さらに発生時間を変更し検証する必要がある。

また、飢餓状態になった際に発現する cAMP に着目し、ソリトン波を形成に cAMP に対する感受性がどうかを Flamind 遺伝子導入細胞株を用いて検証していきたい。