B333

細胞性粘菌移動体の走光性における屈曲とその内部の三次元的な細胞運動の関係

○三浦 耕太^{1,2} (1:阪大院・理・生物、²EMBL ハイデルベルク ドイツ)

細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) の多細胞期の移動体は、およそ 10 万の細胞の運動によって移動する。移動体は細長い砲弾状の形をしており、移動体内を前端から後端に向かって伝播する周期的な細胞外 cAMP 波と、cAMP に対する細胞の走化性応答によって多細胞の三次元的な運動が協調する。移動体は光にむかって移動する走光性応答を示す。移動体の側面に光を照射すると、移動体先端部が光源に向かって屈曲することで走光性応答は始まる。これまでの解析から、一部の細胞が光照射側面から反対側の側面へと移動し、その細胞の移動が非照射面の体積を増やし、屈曲がてこのように生じるという仮説を立てた (Asymmetric Cell Accumulation Hypothesis: ACA 仮説)。この仮説を検証するために細胞の三次元的な運動を、光学流動法に基づく画像解析アルゴリズムを開発した。これまでに暗条件下における移動体の形態の振動的な変化 (先端部のゆらぎ運動) と細胞の運動の関係の解析を行った。この結果、三次元的な運動においても移動体の形態変化とその内部の細胞の運動との関係は ACA 仮説に合致することがわかった。

Kota Mirua : Three-dimensional Cell Movement during the Phototactic Turning of *Dictyostelium discoideum* Slugs

B335

張力によって協調された細胞運動

○永山 昌史¹、芳賀 永²、高橋 正行³、川端 和重² (1:北大・院理・物理、²北大・院理・生物科学、³北大・院理・化学)

我々は、細胞運動時の協調機構を明らかにする目的で、細胞の力学的なかたさと内部に働く力に注目した研究を進めてきた。現在までに、走査型プローブ顕微鏡 (SPM) を用いた測定により、細胞運動にともなって細胞体が 10 倍近くも柔らかくなることを報告した。この結果から、細胞内に働く収縮力がかたさ変化を生み出すというモデルを提案してきた。

本研究では、収縮力とかたさとの関係を直接的に明らかにするため、アクチン-ミオシン相互作用を活性化する薬剤 LPA および抑制する薬剤 Y-27632 を用いてかたさ分布の測定を行った。LPA を投与された繊維芽細胞はかたくなり、Y-27632 を投与された細胞は柔らかくなった (下図)。この結果は、先のモデルを支持している。さらに、これらの薬剤を投与された細胞は収縮力を生み出す元となるストレスファイバーだけでなく広い領域のかたさを変えるという興味深い結果が得られた (下図の丸囲み内の領域)。この結果は、ストレスファイバーで発生した収縮力が細胞全体にわたる張力として働くことを示唆する。本発表では、張力のバランスにより引き起こされるという細胞運動の力学的なモデルについて実験結果と併せて報告する。

Y-27632の投与によるかたさ分布の変化

M.Nagayama, H.Haga, M.Takahashi and K.Kawabata : Cellular migration coordinated by cortical tension

B334

細胞性粘菌集合体の形態形成過程における細胞の動態解析

○吉岡 恭子、孫 怡、水野 敬文 ((独) 産総研・生物機能工学)

分化発生過程や組織形成過程などでは、細胞は細胞間の接着やシグナル伝達などにより、周りの細胞とうまく協調しながらそれぞれの決められた場所への移動を実現しているようである。このような細胞集合体中の細胞の運動や形態変化などを観察する手法として、集合体中の細胞の数%あるマーカーで染め分け、その細胞の動態を観察するという方法がある。我々は、CMFDA という蛍光色素を用いると、細胞質を均一に数日間は安定に染めることができ、細胞の機能を損なうこともないことを、細胞性粘菌について確認している。この方法を用い、細胞性粘菌の分化発生過程における形態形成において、集合体中の細胞の運動と形態変化を詳細に解析することができた。

細胞性粘菌の集合期に見られるストリーム中では、細胞の形態は細長く極性をもっており、走化性物質である cAMP の波の伝播に応じた数分間周期の協調した運動が見られた。マウンド内では角速度が一定の回転運動が観察された。発生がマウンド期で停止してしまうアクチン変異株では、この回転運動は見られなかった。マウンド内での協調した回転運動が正常な形態形成に関係している可能性が示唆された。この変異株は、野生株細胞と混合発生することで、発生過程を先に進むことができる。しかし、集合体の中では野生株細胞とうまく協調して運動ができない様子が観察され、その結果、集合体の後部に取り残されていた。子実体では、変異株細胞の多くは基部に存在していたが、ほとんど野生株で構成されている子実体上部の形態形成に異常が見られた。これは、胞子のうが柄の伸長と共に柄の上部へ持ち上がる際に、基部での細胞の運動が関与している可能性を示唆している。変異株細胞が野生株細胞とうまく協調して運動できない原因としては、細胞間接着や仮足伸長のための力発生不足が考えられる。

K.Yoshioka, Y.Sun and T.Mizuno : Cell dynamics in multicellular morphogenesis of *Dictyostelium*

B336

シリコンゴムで培養皿への細胞接着を制御 2

○大沼 清 (東大・院・総文化・広域)

昨年に引き続き、2 液混合シリコンゴムのポリジメチルシロキサン (Sylgard 184, Dow corning) を培養皿にスタンプし、細胞接着部位と非接着部位を培養皿上に作り、細胞の数や形や動きを制御する方法を報告する。昨年同様に特別な設備が不要で簡単にできることを念頭に置きながら、より精度が高く、実用性も高い方法に発展した。

本年度は、判子もシリコンゴムで作成した。これには、マイクロコンタクトプリンティングの手法を取り入れた。まず、鋳型を作り、そこにシリコンゴムを流し込み硬化させる。この判子を使うことにより、広い範囲に再現性良くスタンプできるようになった。また、インクにあたるシリコンゴムも、薄く延ばしてからスタンプすることにより、均一につく高精度に仕上げる事ができた。

これらの手法を用いてできた培養皿上に PC12 細胞をまいた。PC12 は神経成長因子で神経様に分化する細胞株である。この PC12 が分裂、分化する様子を観察した。詳細は年会で報告する。

K. Ohnuma : Control of cell adhesion on culture dish by silicone elastomer, 2nd