1P306

クラミドモナスに共存する二つの細胞周期制御機構の相互関係

○松村 和典¹、八木 俊樹²、安田 賢二¹ (¹ 東大院・総合文化、² 東大院・理)

酵母などの細胞は、その大きさによる細胞周期の制御を受け、一定の大きさになると分裂を開始する。一方、単細胞緑藻類クラミドモナスの細胞周期はサイザー（一定の大きさになると分裂）とタイマー（一定時間後に分裂）と呼ばれる2つの機構により制御されていることが知られているが、これらが細胞内でどのような相互関係になっているかは未だ明らかになっていない。我々は、これまでに、クラミドモナスを1細胞単位で培養・観察する実験系を開発し、細胞の受ける照射光量が一定の環境を作ることに成功した。これを用いて、様々な光環境下の細胞周期を測定・解析した結果、(1) 連続光照射条件ではサイザーのみによる制御をうける、(2) 細胞成長の途中で光照射を止めると、成長は止まり、細胞周期はタイマーによる制御を受け、照射停止時の成長状態に応じて分裂開始までの時間が決まる、(3) 照射を一度停止した後、再開させると、タイマーがリセットされ、細胞周期が再びサイザーによる制御に切り替わることを示した¹⁾。本研究では、これまでの研究を継続し、様々な光照射条件において細胞周期を測定・解析した。その結果、上記(2)の条件で、照射強度を弱くして成長速度を遅くすると、同じ大きさになった時点で光照射を停止した場合、分裂開始までの時間が長くなった。つまり、タイマーにより制御される分裂開始までの時間は、照射停止時の細胞の大きさだけでなく、照射強度にも依存することが示唆された。(3)の条件で、照射再開の時機を遅らせ、暗条件で一定時間が経過すると、細胞の大きさに関係なく、光照射によるタイマーのリセットが起きないことが判った。これらの結果に対する考察など詳細については本会にて発表する。

1) Matsumura, et al. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* (2003) 306 (4) 1064-1069

K. Matsumura, T. Yagi and K. Yasuda : Interaction of two cell cycle control systems in *Chlamydomonas*

1P308

培養心筋細胞を用いた細胞ネットワークの機能解析

○小島 健介、金子 智行、安田 賢二（東大院・総合文化）

【目的】組織や器官は独立した要素である細胞で構成されている細胞集団であるが、細胞ネットワークの形状や複雑さが、細胞集団の機能にいかに関与するかはほとんど未知である。本研究では、培養心筋細胞をモデルとして、拍動リズム安定化と細胞ネットワークの相関を解析して細胞ネットワーク化の意義を説明することを目的とし、組織モデルとなる応答特性を有する培養細胞集団の構築を目指す。

【方法】コラーゲンコートしたガラス基板上に作ったアガロース薄層を、集束レーザー光で加熱し、局所的に溶かしてアガロースマイクロチャンバ(AMC)を作製した¹⁾。各AMC内に新生ラットの心室筋細胞を1細胞ずつ配置して培養し、段階的に細胞ネットワークサイズを増加させ、その応答変化を比較した。

【結果・考察】別々のリズムで拍動していたAMC内の9個の心筋細胞の拍動リズムがすべて同期するまでのダイナミクスを連続計測した所、拍動リズムゆらぎが細胞数の増加と共に減少する傾向が見られた。この結果は、細胞のネットワークサイズが細胞集団の安定的振る舞いを決定する重要な要素になっていることを示唆していると考えられる。

1) Kojima, et al. *Lab Chip*. 2003.3(4):292-6.

K. Kojima, T. Kaneko and K. Yasuda : Functional analysis of cell network using cultured cardiac myocyte

1P307

周期閃光刺激時の α 波の位相関係の動特性について

○西藤 聖二、大門 弘典、田中 正吾（山口大・工・電気電子）

【目的】ヒトの脳(α)波は、周期的な閃光刺激により引き込まれる。この非線形性の解明は、脳波の種々の応用にとって重要である。最近、我々は交互に点滅する赤/青刺激により、 α 波がしばしば空間的に同相同期することを見出した。 α 波の位相分布は、 α 波の振動子系の協調状態を反映すると考えられるため、今回は位相分布の動特性について調べたので報告する。

【方法・結果】21~26歳の健常者34名に対して、10Hzの光刺激（単色・赤、交互・赤/青）を30秒間与えたときの脳波を測定し、後頭部を基準とした位相差分布の動特性を調べた。図1に前頭部と後頭部の位相差（同相、逆相及び中間状態の3つに分類）の時間変化を示す。被験者Yでは(a)単色刺激時に逆相が支配的であるが、(b)赤青刺激時では同相と逆相の交替が頻繁に起こる。ところが、被験者Kでは全く逆の傾向になる。この個人差は安静時 α 波の位相差（Yが逆相、Kは中間的値）と関連すると考えられる。すなわち、同相と逆相の交替の頻度は、 α 波の振動子系と刺激の拮抗の強さを表していると思われる。また、いずれも同相と逆相の交替は非周期的に生じ、各状態の滞在時間に特徴的なスケールは認められない。

図1 位相差の時間変化 ((a)単色刺激、(b)赤青刺激)

S.Nishifuji, H.Ohkado and S.Tanaka : Phase dynamics of the alpha wave under periodic flicker stimuli

1P309

細胞間相互作用の細胞動態への影響

○大沼 清¹、古江 美保²、浅島 誠¹、金子 邦彦¹ (¹ 東大院・総文、² 神奈川大・生化)

細胞は互いに影響を及ぼしあい、その状態が動的に変化する。この種の動態は、一般的な特性として、試料の前処理、初期状態、細胞数、相互作用の強さなどの条件に依存して、まるで違う振舞いを見せることが知られている。そのため、良く制御された単純な系を使い、様々な条件下で実験することが重要となる。我々は、相互作用が細胞の動態に与える影響を調べるのに適した系を構築した。

サンプルは、神経前駆細胞のように振舞う株細胞、PC12、を使用した。PC12細胞はシナプスを形成しないが、アセチルコリンを放出、受容できる。この相互作用は、阻害剤や分解酵素などでその強さを制御できる。細胞を無血清培地中で2ヶ月以上にわたり増殖させることにより、血清中に多量に含まれる未知因子の影響を完全に除いてある。更に、セルソーター (ALTRA, Beckman Coulter) を使い、大きさや形が等しい細胞のみを選び、使用した。また、1~数個の細胞を隔離して相互作用させ、その動態を観察するため、培養皿を修飾した。細胞が接着しないシリコンゴムの Sylgard 184 (Dow corning) を、50~200 マイクロメートル円環状に培養皿上へと塗布した。細胞は、この円環の内側のみで培養皿に接着して生存できる。細胞運動のタイムラプス撮影や、細胞内カルシウム濃度の経時変化などを測定することにより、細胞の動態を評価した。

本大会では、構築した実験系と、観察された動態を紹介する。

K. Ohnuma, M. Furue, M. Asashima and K. Kaneko : Effects of cellular interaction on cell dynamics