粘菌の形態形成に及ぼす変動磁場の影響

Effect of a Pulsed Magnetic Field on the Formation of Patterns in *Physarum polycephalum*

河野美由紀^{*,**}・上野照剛^{**}

^{*}大阪大学医学部生理学第一講座, 吹田市山田丘 2-2 (☎565-0871)

^{**}東京大学大学院医学系研究科医用生体工学講座, 文京区本郷 7-3-1 (☎113-0033)

M. Kono^{*,**} and S. Ueno^{**}

^{*}Department of Physiology, Osaka University Medical School,
2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

^{**}Department of Biomedical Engineering, Graduate School of Medicine,
University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Tokyo 113-0033

In this study, a new method is proposed for detecting the effect of a pulsed magnetic field without a loss of temporal information. The strength of exposed magnetic field was 0.1 T. Trains of 10 pulses of the magnetic fields at intervals of 0.05 s were applied at 1 Hz. *Physarum polycephalum* is an amoeba that moves in search of food, and its trace forms net-shaped patterns. Fractal analysis was performed, and the fractal dimension of the patterns was determined by the box-counting method. The value of the fractal dimension was about 1.7 in both exposed and control groups after 4 hours of exposure. After 8 hours of exposure, the value for the control group was 1.72 and that for the exposed group was 1.77. The results indicate that longer time exposure affects the complexity of the patterns of *P. polycephalum*.

Key words: pulsed magnetic field, pattern, *Physarum polycephalum*, fractal dimension

1. はじめに

磁場の生物に及ぼす影響については、細菌、細胞、動物個体などを用いることでさまざまな方向から研究が進められている¹⁾。影響の検出方法としては、細菌、細胞を用いた場合、破壊した曝露後の試料の生化学的手法による分析が多い。しかし、この方法では、磁場の及ぼす影響をリアルタイムで検出することは不可能である。

本研究では、形態形成を肉眼で観察できる粘菌 (Fig. 1) を用い、時間情報を失わずに磁場の影響を検出することを試みた。粘菌は餌を求めて動きまわるなど、単細胞でありながらかなり高度な情報処理を行っていると考えられる。この粘菌を対象に用いることで運動を含む個体レベルでの影響の検出も可能になると思われる。また、円形のプラスチックプレートの中に菌を生やすと円形に成長するなど、形態を制御することが可能である。しかし、この制御は接触による制御である。変動磁場あるいはそれに伴う渦電流を粘菌が感知して忌避するなどの現象が見られれば、接触以外により形態の制御性が示されることになる。そこで、これを検出することを試みた。影響の検出は形態の複雑性を指標とし、フラクタル次元を用いて定量的な評価を行った。

2. 方 法

2.1 曝磁装置と曝露した磁場の強度

磁場発生装置として、水冷式ヘルムホルツコイル (Fig. 2) を装着した連続パルス磁気刺激装置 (AAA-10718, 日本光電社製) を用いた。コイルの巻数は4巻×2であり、内径は11.8 cm, 外径は14.2 cm, コイル間距離は5.7 cmである。磁気刺激装置を連続的に動かすため、トリガー発生装置として Neuropack Σ (MEB-5504, 日本光電社製) を用いた。キャパシタバンクに蓄えた電荷をサイリスタスイッチを通してコイルに放電することによりパルス磁場を発生させた。磁場強度は、ピーク値で0.1 Tとした。コイルを流れる電流は2相性で、それぞれの波形の時間幅は120 μ sである。パルス間隔が0.05秒である10発のパルス磁場を1 Hzの頻度で発生させた。Fig. 3にコイルを流れる電流波形とその時間微分波形 (計算値) の1周期を示す。また、Fig. 4にシャーレの水平面上に発生する誘導電界の最大分布強度の図を、Fig. 5には発生磁場がピーク値のときの磁場の分布図を示す。磁場のピーク値は実測値であり、分布は計算値に基づく。

2.2 培養条件

真性粘菌 (*Physarum polycephalum*) の変形体を1% Agaroseの固形培地上で培養した。直径8 cmのシャーレを用い、

Fig. 1 Pattern of *Physarum polycephalum* grown in a doughnut-shaped plate.

Fig. 2 Helmholtz coil.

Fig. 3 Waveform of the current flowing in the coil, $I(t)$, and its time derivative, $dI(t)/dt$. The time courses of $I(t)$ and $dI(t)/dt$ are proportional to the magnetic fields and the induced electric fields, respectively.

Fig. 4 Magnitude of the electric fields induced in the medium. The diameter of the petri dish was 80 mm.

Fig. 5 Magnetic fields produced by Helmholtz coil. The horizontal axis shows a distance from the center of the coil.

オートミール 0.03 g を餌として与えた。培養条件をより均一にするため、培地はシャーレ 1 枚当たり、20 ml ずつを計量して調製した。

磁場曝露の条件を Fig. 6 に示す。磁場外での培養はインキュベーター (SANYO 社製, MIR-150) 内で行った。培養温度は $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ である。磁場曝露は、室温を $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保った実験室内で行った。

2.3 解析方法

粘菌の移動によって生じた痕跡の網目構造を顕微鏡下 (OLYMPUS 社製, SZH 10) で CCD カメラ (SONY 社製, MODEL XC-77) によって撮影し, (PHOTORON 社製, Image digitizer) コンピュータ (NEC 社製, PC9821 V13) に取り込んだ。粘菌には網目構造とシート状構造が存在するが²⁾, 網目構造に着目して画像の処理を行った。なお, 本実験の培養条件では, シート構造はほとんど出現せず, 網目構造を保ちながら移動していく姿が観察されていた。取り込み画像の決定は, ビデオモニター (SONY 社製, PVM-1442Q) 上で行った。取り込んだ網目構造のサイズは, $6 \times 7 \text{ mm}^2$ であった。

画像は 2 値化し, コンピュータに取り込んだ。Fig. 7 に実験の概要図を示す。画像解析は, 網目構造を含む平面を正方形の格子 (ピクセル単位) で分割し, すべての網目構造を覆いつくすのに必要な正方形の個数を数え (Fig. 8), 格子サイズと正方形の個数の常用対数をグラフにプロットする (Fig. 9) ボックスカウンティング法を用いて行った^{3)~5)}。このグラフを 1 次直線で近似した傾きの絶対値をフラクタル次元として求めた。

Table 1 Mean values of fractal dimension

	After 4 hours exposure	S.D.	After 8 hours exposure	S.D.
Control	1.70 ± 0.004	0.01	1.72 ± 0.009	0.02
Exposed	1.70 ± 0.010	0.02	1.77 ± 0.006	0.01

Table 2 Comparison of movability of exposed and control groups

	Exposed	Control
The number of samples moves slowly	4	0
Total	6	6

Fig. 6 Experimental scheme.

Fig. 7 Scheme of picture acquisition.

Fig. 8 Box-counting method.

使用したフラクタル解析用ソフトウェアでは、取り込み画像は512×480ピクセルサイズであり、これをもとにボックスカウンティングを行った。

3. 結 果

Table 1 に実験の解析結果を示す。Fig. 6 の手順に従って得た画像データを基にフラクタル次元を求めた。Table 1 には(平均値) ± (標準誤差) および、標準偏差を示した。データ数は、4時間曝露のコントロール群、曝磁群がそれぞれ、5, 6であり、8時間曝露のコントロール群、曝磁群がそれぞれ4, 5であった。結果は、磁場への曝露がより長くなるとコントロール群と曝磁群で差が生じることを示していた。曝磁群の方が、構造の複雑性が増したことになる。また、8時間を2回曝露した系では、中心からの移動に要する時間が長くなる現象が6

Fig. 9 Fractal dimension obtained by the box-counting method. In the formula, x represents $\log_{10}$ (scale) and y represents $\log_{10}$ (counts), and the coefficient of x means fractal dimension.

回の試行のうち4回で観測された (Table 2).

4. 考 察

本研究における解析には移動していく菌体の先端近傍の網目構造で、原形質が流動している部分の画像を取り込み、解析を行った。菌体が這い廻り始める前の構造は1.8以上のより複雑な構造をもつ。今回の培養条件下で求めた粘菌のフラクタル次元の値は約1.7であった。

今回得られたデータは、より長時間の曝露により磁場の影響が見られる可能性を示した。今後さらに実験を積み重ねる必要がある。また、影響があるとしても、磁場の影響なのか誘導電界の影響なのかを分離することができてはいない。しかし、時間情報を失わず、肉眼で観察可能な系を用いるという新たな方向で、磁場の影響を検出することのできる可能性が示された。

眼底網膜の血管のフラクタル次元が1.7~1.8であるという報告⁶⁾や、鶏受精卵の卵黄表面に分布する血管のフラクタル次元が1.7程度であるという報告⁷⁾と比較しても、今回得られた値とほぼ一致している。1.7近傍という数値は、ある面積に栄養などを分配する際にかなり効率のよい構造の形であると考えられる。粘菌の網目構造でも、同等の数値が得られていることは興味深い。

また、直流電界によって粘菌の複屈折構造の分布が変化することが報告されている⁸⁾。本実験によって観測された8時間×2の磁場曝露における運動障害を示唆する結果については、変動磁場によって誘導される電界の小さい中心部から移動するためにはより電界の大きい外側へ向けて動かなくてはならず、変動する電界を感知している可能性もある。これについては、移動度をビデオ撮影して画像解析するなど、別の方法を用いて、解析する必要がある。解析方法の検討を含めて、さらに実験を進めていく。

謝 辞 フラクタル解析用ソフトウェアを提供してくださいました東京医科歯科大学の松尾 崇助教授に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) E. M. Goodman, B. Greenbaum, and M. T. Marron: *Intl. Rev. Cytol.*, 158 (1995).
- 2) 上田哲男: 脳と心のバイオフィジックス, 松本修文編集, p. 53 (共立出版, 東京, 1997).
- 3) D. R. Morse, J. H. Lawton, M. M. Dodson, and M. H. Williamson: *Nature*, **314**, 731 (1985).
- 4) 松下 貢: 医学・生物学におけるフラクタル (朝倉書店, 東京, 1992).
- 5) 松尾 崇: 日本バイオレオロジー学会誌, **8**(3) (1994).
- 6) F. Family, B. R. Masters, and D. F. Platt: *Physica D*, **38**, 98 (1989).
- 7) A. A. Tsonis and P. A. Tsonis: *Persp. in Biol. and Med.*, **30**, 355 (1987).
- 8) T. Ueda, T. Nakagaki, and T. Yamada: *J. Cell. Biol.*, **110**, 1097 (1990).

1997 年 10 月 28 日受理, 1998 年 2 月 2 日採録