

研 究 報 告 書

「アメーバ運動の伸長収縮システムを用いた生物リズムの解明」

研究期間：平成20年10月～平成24年3月

研 究 者：岩 楯 好 昭

1, 研究のねらい

アメーバ運動は神経ネットワークの形成や白血球の遊走など生命活動に不可欠な細胞の機能である。細胞は外部に誘引物質が無くても自律的に運動することができる。運動をするためには、運動方向を決める前後の極性や、前端的伸長と後端的収縮の協調などの秩序を、何もない条件から生み出していることになる。細胞はアメーバ運動という秩序をどういうメカニズムで自律的に形成しているのでしょうか？この大きな目標に向かう本研究の具体的なねらいは

(A)細胞の前後極性はどのように決まるのか？

(B)前端的伸長と後端的収縮の周期性はどのように決まるのか？

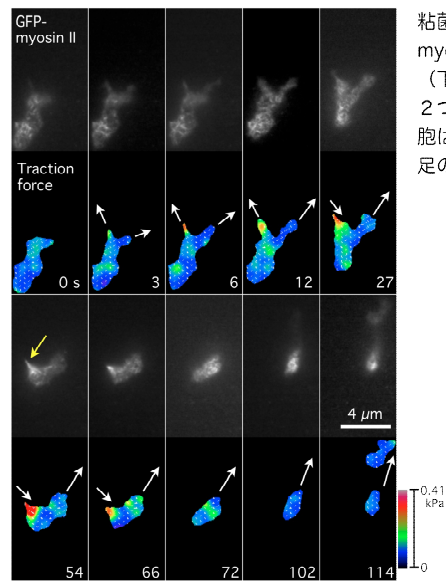
という2点を明らかにすることであった。

2, 研究成果

細胞は、外界に誘引物質が無くても、自ら前後の極性を創りアメーバ運動できる。このとき、細胞の受け取り得る情報は、自らが地面に及ぼす牽引力の反作用の力のみである。だとすれば、細胞は自分で地面に探りをいれ、その反作用の力の細胞全体でのバランスを計算して、極性を創り出し運動方向を決めていることになる。もしそうならば、これは根源的なアメーバの極性形成機構であるといえる。

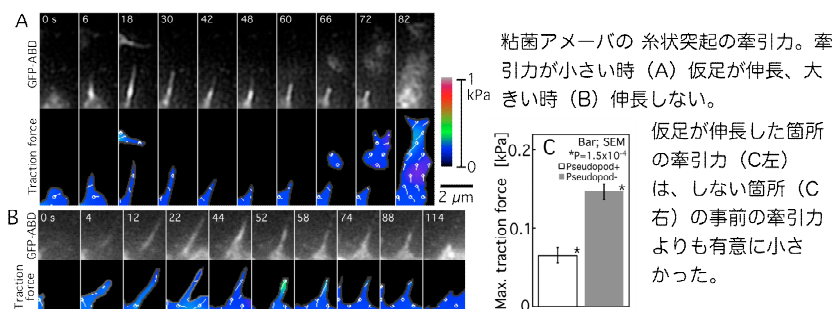
細胞のアメーバ運動では、前端的伸長がアクチン重合によって起こり、後端的収縮は、後端に集積したミオシン がもともと後端に存在するアクチン網目構造に結合してできるアクトミオシンの収縮によって起こることが知られている。

牽引力とアメーバ運動の前後極性形成との関係を調べるため、我々はまず、細胞性粘菌アメーバの生細胞を用い、細胞の発揮する牽引力と動力源の一つであるミオシン の細胞内動態を同時に観察した(下図)。粘菌アメーバは左右に同時に仮足を伸長させ、左の仮足は大きな牽引力を基質に発揮した一方、右の仮足は牽引力を発揮しなかった。その後細胞は左の仮足にミオシン を集積させ、右の仮足の方向に進行した。これは、細胞が牽引力の小さい方向を前とした前後極性を形成することと、この前後極性形成にはミオシン が関与していることを示唆している。

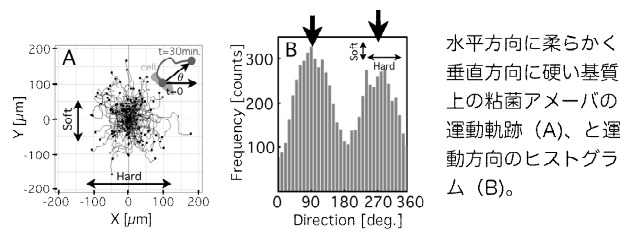


粘菌アメーバの GFP-myosin II (上) と牽引力 (下) の同時観察。同時に2つ出した仮足のうち、細胞は牽引力の小さい右の仮足の方向に進行した。

細胞が牽引力の小さい方向を前とした前後極性を形成するならば、細胞は牽引力の大きい方向よりも小さい方向に仮足を伸長させる頻度が高いはずである。そこで、牽引力の大きさと仮足の伸長の関係を定量的に検討した。粘菌アメーバが基質に向かって突出させた糸状突起の牽引力の大きさとその後同じ箇所での仮足の伸長の有無を調べてみると(下図)、牽引力が小さな箇所での仮足の伸長の頻度は大きな箇所での頻度よりも有意に高いことがわかった。

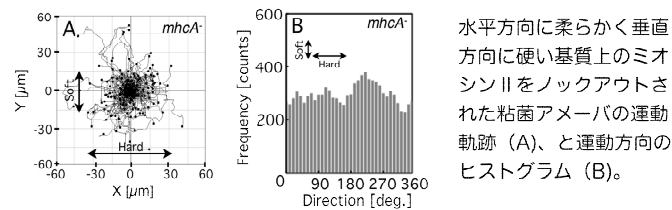


細胞が牽引力の小さい方向を前にした前後極性を作るならば、もし、硬さに方向性のある基質の上を細胞にアメーバ運動をさせれば、細胞は基質の柔らかい方向に進むはずである。ある方向に柔らかく、その方向とは垂直な方向には硬い基質を作成し、この上を粘菌アメーバに這わせてみた。すると粘菌アメーバは予想通り基質の柔らかい方向に進行した(下図)。

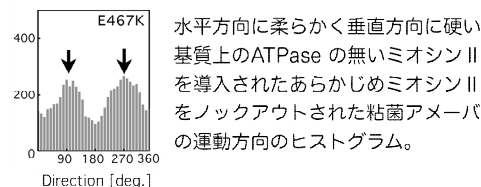


先に述べたようにこの極性形成にミオシン が関与しているかどうかを検討するために、ミオシン をロックアウトされた粘菌アメーバをこの基質の上に載せ運動を観察したところ、細胞の

運動方向に方向性は見られなかった(下図)。



牽引力による細胞の前後極性形成に、ミオシン が牽引力に応じて集合することのみが必要なのか、あるいは、アクトミオシンとして収縮することが必要なかを調べるために、ATPaseのない改変ミオシン を導入されたミオシン をロックアウトされた粘菌アメーバを、硬さに方向性のある基質の上で運動をさせた。細胞は基質の柔らかい方向に運動した(下図)。これはミオシンのアクトミオシンとしての収縮が極性形成に必要ない事を示している。



以上の実験結果を踏まえた細胞のアメーバ運動の牽引力に基づく極性形成の仮説は、以下のようになる。

- (1)細胞はランダムに牽引力を発揮する。
- (2)牽引力の大きな箇所にミオシン を集積させる。
- (3)ミオシン はその後の仮足の形成を抑制する。この抑制には ATPase は必要ない。
- (4)(1)～(3)を時々刻々繰り返すことで運動の前後極性を形成する。

上記の実験はこの仮説を示唆するものではあるが、証明してはいない。この仮説を実験的に直接証明するのは難しいので、細胞が牽引力の小さい方向に運動するということが物理現象としてありえるかどうか、数理モデルを作成し検討した。牽引力にある閾値を設定し、細胞のある箇所の牽引力がその閾値を超えると、その箇所が基質から脱着する、という条件をモデルに導入すると、計算機上で細胞は牽引力の小さい方向に運動した。牽引力の大きさで細胞が基質から脱着するというのは実験事実と合致しているので、この数理モデルは、細胞が牽引力の大きい方向に進むことがあり得ることを示唆している。

外部に誘引物質等のない状況でのアメーバ運動はアメーバ運動の最も根本的な機構である。本研究では、細胞自身の牽引力に注目し、細胞がそれを自分で反作用として受容し前後極性を形成する仕組みを明らかにした。

3, 今後の展開

本研究で作成した数理モデルのなかのパラメータは実験的に得られたものではない。牽引力の大きさと集積するミオシンの量の関係などを定量的に測定し、パラメータを求め、モデルの正当性を検討しなければならない。さらに、自己の牽引力による細胞の前後極性形成機構が粘菌アメーバだけのものではなくて、他の細胞も含めたアメーバ運動の根本的な原理であることを確かめるため、白血球(好中球)や魚類ケラトサイトなど、他のアメーバ運動する細胞の運動も

詳細に調べていかなければならない。

4, 自己評価

研究の狙いで述べた、

(A)細胞の前後極性はどのように決まるのか？

(B)前線の伸長と後線の収縮の周期性はどのように決まるのか？

のうち、残念ながら、(B)についてはうまくいかなかった。しかし(A)については研究の大きな進捗をみた。おしむらくは、期間内に数理モデルに定量的な実験データに基づくパラメータを代入するところまで進行出来なかったことと、そのために、論文の投稿(現在投稿中と投稿直前で準備中)や特許の出願(現在出願直前で準備中)が遅れてしまったことである。今後、実験材料を粘菌アメーバだけでなく、白血球(好中球)などに拡張できれば、研究の幅が大きく広がると共に、その重要性も高まるだろう。

5, 研究総括の見解

細胞性粘菌のアメーバ運動では、牽引力の反作用の大きなところに myosin II が集積すること、myosin II の集積しない方向に、運動のための前後極性が形成されること、さらに、この極性形成には myosin II の ATPase 活性は必要無いことを実験的に明らかにし、細胞が牽引力の反作用を受容して、前後極性を形成する仕組みを解明した。今後、様々な細胞のアメーバ運動が同じメカニズムで、説明できるモデルの提唱を期待します。

6, 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Uyeda TQP, Iwade Y, Umeki N, Nagasaki A, Yumura S (2011) Stretching Actin Filaments within Cells Enhances their Affinity for the Myosin II Motor Domain. PLoS ONE Vol.6: e26200.
2. Iwade Y, Okimura C, Sato K, Nakashima Y, Minami K Myosin II Mediated directional migration of *Dictyostelium* cells in response to cyclic stretching of substratum (Submitted).
3. Iwade Y, Sakumura Y, Okimura C, Hiratsuka Y. Polarity generation for cell migration by their own traction forces (In Preparation).

(2)特許出願

研究期間累積件数: 1件
(非公開)

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

招待講演

岩楯好昭 アメーバ運動の"力"による自律的な前後極性形成 第1回粘菌学会 2011 年
11月 大阪大学

Iwade Y. A possible mechanism of traction forces and directional migration in
Dictyostelium cells. MBI seminar. 2011 年9月 National University of Singapore

岩楯好昭 アメーバ運動の力と極性形成の機構 日本分子生物学会 ワークショップ テ
ーマ名: 細胞が感じる力と生み出す力 2010 年12月 神戸ポートピアホテル
岩楯好昭 アメーバ運動の力計測と力受容による運動方向の決定 定量生物学の会第
二回年会 2010 年1月 大阪大学