

Amoeba proteus の運動におけるランダム性に関する研究

東京工業大学大学院 生命理工学研究科 分子生命科学専攻 正木 紀隆

1. 背景と目的

Amoeba proteus は原生動物の大型アメーバであり、一定の形を持たず、仮足の収縮と突出を繰り返し、細胞の形を大きく変化させながら移動や捕食を行う。この運動様式はアメーバ運動と呼ばれており、アメーバだけでなく、リンパ組織へと移動するリンパ球、細菌を殺傷する白血球、成長中の神経細胞など、多種の細胞がアメーバ運動を行う。このようにアメーバ運動は、単細胞生物が移動の手段として用いているだけではなく、我々の体内でも重要な生理学的過程を担っている。アメーバ運動は、Brown 運動と同様にランダムであると考えられてきた。しかし近年の我々の研究において、アメーバは単純なランダム運動をするのではなく決定論的なメカニズムにより支配されている可能性を示唆する結果を得てきた [1]。

移動する *Amoeba proteus* の重心軌道を詳細に調べると、移動速度と角度変化の分布はランダムであり、速度が大きい時は角度変化が小さく、速度が小さい時に大きく角度を変えろという、速度と角度変化に負相関があることが分かった。そこで二次元運動方程式 (Langevin 方程式) を考えて数値解析を行い、一見生物の探索行動とも思える速度と角度変化の負相関を二次元系の運動に固有の性質として再現することができた [2]。しかし、*Amoeba proteus* の運動軌道における負相関は緩やかに変化しながら持続していくものであったのに対して、数値解析によって再現された軌道から求めた負相関は持続せず、すぐに失われてしまうことが分かった。このことは Langevin 方程式において駆動力を一定としたことが原因であり、実際の *Amoeba proteus* の運動においては長時間スケールでの駆動力変動が存在し重要な役割をしていると推定された。

本研究の目的は *Amoeba proteus* の運動における駆動力生成のダイナミクスに関する知見を得ることである。そのために、長時間での運動測定と数理モデルを用いた解析を行い、その特性を明らかにする。また、細胞の巨視的及び分子レベルでの挙動を調べ、アメーバ運動のランダム性について考察する。



図 1: 顕微鏡下で観察される *Amoeba proteus*。

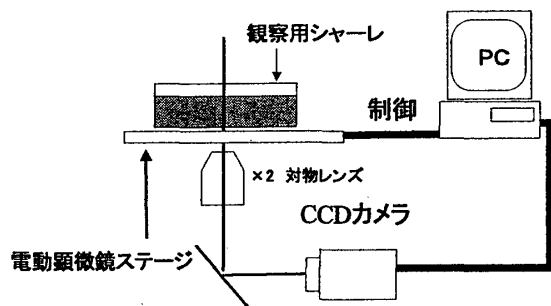
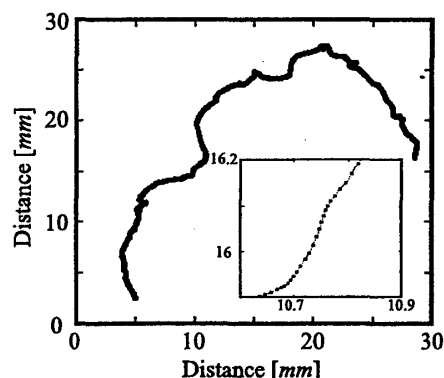


図 2: 実験装置の概略図.

図 3: *Amoeba proteus* の 10000 秒間にわたる重心軌道の一例. [3]

2. 軌道解析

無刺激環境下にある *Amoeba proteus* の運動を低倍率 ($\times 2$) の顕微鏡で 10000 秒間観測し、その画像を 5 秒間隔で取得した。画像の取得と同時に細胞の重心を解析し顕微鏡に取り付けた電動ステージを制御することで、時間分解能を落とすことなく従来よりも長時間の観察を行うことを可能にした (図 2)。アメーバ運動における細胞の形状変化は非常に複雑である。しかし運動を力学系としてみれば、あらゆる物体運動は重心の並進運動とその周りの運動 (振動, 回転等) に分解できる。そこで本研究ではまず細胞重心の並進運動に注目することにした。図 3 は *Amoeba proteus* の重心軌道の一例である。全体的には緩やかな曲線であるが、拡大してみると重心の変位が揺らいでいることがわかる。

重心変位から単位時間当りの変位つまり軌道上の速度を求め速度時系列を得た。速度の動的特性を調べるために速度時系列の Fourier 解析を行い、そのパワースペクトルを推定した。結果を両対数表示で図 4(a) に示す。 $10^{-4} \sim 10^{-2} \text{ Hz}$ の低周波領域では一定であるが、それよりも周波数が高い領域では傾きが -2 で減衰し、典型的な Lorentz 型の特性を持つことが分かった。このことはアメーバの軌道運動には単分散型の緩和過程が存在することを意味し、この例ではその緩和時間が 209 秒と推定された。このようなスペクトルにおける Lorentz 型の特性は、本研究で観測した 16 個体の *Amoeba proteus* 全てで見られ、緩和時間は 100~300 秒程度とほぼ同じオーダーであった。更にこのスペクトルの特性がアメーバ運動における駆動力のダイナミクスを反映したものであることが Langevin 方程式のスペクトル解析により分かった。

緩和時間よりも長い時間スケールの挙動に注目すると、ノーマルスケールにおけるパワースペクトルは図 4(b) のように複数の鋭いピークを持つことがわかる。図中に $f_1 \sim f_7$

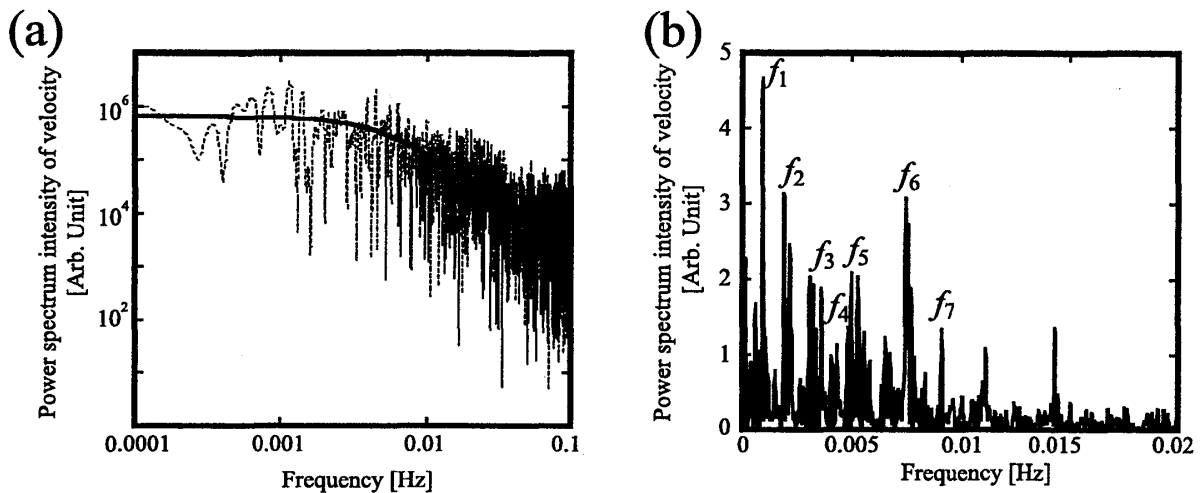


図 4: *Amoeba proteus* の速度のパワースペクトルの一例 [3].

- (a) :両対数による表示. 実線は Lorentz 型スペクトルの式によるフィッティング結果を表す.
 フィッティングにより推定された緩和時間は 209 秒であった.
- (b) :ノーマルスケールによる表示. $f_1 \sim f_7$ のピークに対応する周波数の比が簡単な有理数で表される: $f_1/f_4 = 1/5$, $f_1/f_5 = 1/6$, $f_2/f_4 = 1/2$, $f_4/f_5 = 5/6$.

で示したピークに対応する周波数を調べると, $f_1 = 0.93 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_2 = 2.16 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_3 = 3.09 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_4 = 4.36 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_5 = 5.27 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_6 = 7.45 \times 10^{-3}\text{Hz}$, $f_7 = 8.33 \times 10^{-3}\text{Hz}$ であり, これらの比は互いに簡単な有理数比で表すことができた: $f_1/f_4 = 1/5$, $f_1/f_5 = 1/6$, $f_2/f_4 = 1/2$, $f_4/f_5 = 5/6$. このような特性は 11 個体の *Amoeba proteus* で見ることができた. 更に, 低周波数側の二つのピーク周波数を f_1 , f_2 として他のピーク周波数 f_i を $f_i = m_1 f_1 + m_2 f_2$ (m_1, m_2 は整数) の形で表すことができるという f_1 - f_2 型の特徴が残りの 5 個体で見られた. f_1 - f_2 型のスペクトル構造は流動現象で多く見られ, 前述の有理数比型の特性の特殊な場合に相当する. 従ってアメーバ運動の駆動力変動を反映した多数の振動成分からなるスペクトル構造が単一振動子のカオス的特性 (非線形性) を持つことが分かった. このような駆動力の特性は *Dictyostelium* アメーバで報告されている仮足先端におけるアクチンの濃度の振動及びその重心運動との関係や [4], 真正粘菌で報告されている ATP 合成等の解糖系の振動 [5] を反映していると考えられる.

3. 三次元可視化

次に、*Amoeba proteus* における細胞の巨視的振舞いを明らかにするために、観察時に取得した画像強度（透過光強度）に注目し、これを高さとして三次元空間に可視化することで細胞の内部ダイナミクスについて直接的に調べた。Lambert-Beer の法則で知られているように、透過光強度の変化は行路長（厚み）や化学物質の濃度、密度の変化を反映する。全ての画像に対してこの操作を行い、その変化を詳細に調べたところ図5のように、細長い形状にある細胞において周期的なパターンが顕著に現れることが分かった。このようなパターンを示した画像に対して二次元 Fourier 解析及びエネルギースペクトルの推定を行うことでその周期性が確かめられ、空間周期は $53\mu\text{m}$ と求められた。更に全ての画像に対してエネルギースペクトルの推定を行い、その時間変化の様子を調べたところ図5のように細長い形状で一つの仮足を伸長させて移動している場合、時間と共に空間周期が短くなるのが分かり、多仮足の形状である場合にもそれぞれの仮足において同様な振舞いをする周期的なパターンが見られることが分かった。細胞が丸まって移動をしない場合にも周期的なパターンは見られたが時間と共に変化はせず、空間構造の変化が仮足の伸長と密接に関係し、アメーバ運動の駆動力生成ダイナミクスにおいて重要な役割を果たしていることが推定された。

4. 細胞内カルシウムイオンの観察

運動している *Amoeba proteus* の細胞内に周期的な空間構造が存在することが明らかになったが、このような空間構造は分子レベルの挙動としても捉えられるだろうか？仮足の

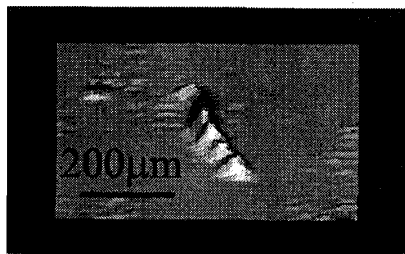


図 5: *Amoeba proteus* の三次元可視化像における空間周期構造。

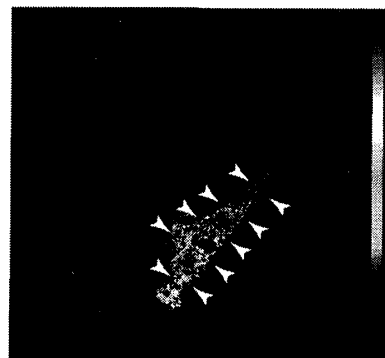


図 6: *Amoeba proteus* の Ca^{2+} 蛍光画像における周期的パターン。濃度の高い部分を矢印で示した。

伸長と密接に関係していることから、これはアクチン-ミオシン系の挙動に関連していると考えられる。一方、その支配系であるカルシウムイオンが仮足先端から細胞後端へと伝播していくことが知られており [6]、これが三次元可視化により明らかにした空間構造の挙動と類似していることから *Amoeba proteus* の細胞内におけるカルシウムイオンの振舞いを観測した。その結果、アメーバ運動を行う細胞内でカルシウムイオン濃度が周期的なパターンを示す画像例を得ることができた (図 6)。

5. まとめ

アメーバ運動の重心軌道を解析することで駆動力の変化における振動構造の存在が明らかになった。更に細胞が巨視的なレベルで動的に変化する周期的空間構造を持つことを見出し、この空間構造に類似した周期的なパターンを分子レベルでも観測することができた。これらの結果により、アメーバ運動が単純なランダム運動ではなく流動と拡散-反応系による決定論的カオスに従う運動であることが推定された。

参考文献

1. H. Miyoshi, Y. Kagawa and Y. Tsuchiya. Chaotic behavior in the locomotion of *Amoeba proteus*. *Protoplasma* (2001) 216: 66-70.
2. H. Miyoshi, N. Masaki and Y. Tsuchiya. Characteristics of trajectory in the migration of *Amoeba proteus*. *Protoplasma* (2003) 222: 175-181.
3. N. Masaki, H. Miyoshi and Y. Tsuchiya. Characteristics of motive force derived from a trajectory analysis of *Amoeba proteus*. *Protoplasma* in press.
4. S. Yumura, H. Mori and Y. Fukui. Localization of actin and myosin for the study of amoeboid movement in *Dictyostelium discoideum* using improved immunofluorescence. *J. Cell Biol.* (1984) 99: 894-899.
5. T. Ueda, K. Matsumoto, T. Akitaya and Y. Kobatake. Spatial and temporal organization of intercellular adenine nucleotides and cyclic nucleotides in relation to rhythmic motility in *Physarum plasmodium*. *Exp. Cell Res.* (1986) 162: 486-494.
6. Frank Gollnick, Rainer Meyer and Wilhelm Stockem. Visualization and measurement of calcium transients in *Amoeba proteus* by fura-2 fluorescence. *Eur. J. Cell Biol.* (1991) 55: 262-271.