

## モデル生物・細胞性粘菌の自家蛍光

内山三郎

〒020-8550 盛岡市上田 3-18-33 岩手大学教育学部

uchiyama@iwate-u.ac.jp

はじめに

「モデル生物」とはどのような生物を指しているのかということであるが、厳密に「モデル生物」と「非・モデル生物」との線引きがされているわけではない。一般には研究の分野において、ゲノム生物学的・遺伝学的・発生生物学的・細胞生物学的等々の多角的な研究が進んだ生物で、研究用実験生物として解析が容易に進められる利点のある生物を指しているようである。アメリカの国立衛生研究所 (NIH: National Institutes of Health) のホームページ<sup>1)</sup>には、医学生物学研究のための「モデル生物」として9つの生物種が挙げられていて、細胞性粘菌もその一つとして取り上げられている。そこには、ほ乳動物ではマウスとラットの2種、ほ乳動物以外の生物として細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum* キイロタマホコリカビ)、出芽酵母、線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、アフリカツメガエルの6種、その他として高等植物のシロイヌナズナが挙げられている。粘菌研究者が、恣意的に細胞性粘菌を「モデル生物」としているわけではない。また、「モデル生物:細胞性粘菌」<sup>2)</sup>と題した研究書も出版されている。他ではこれらの生物以外にも、ニワトリ、ホヤ、分裂酵母などが「モデル生物」とされている。

## 1. モデル生物としての細胞性粘菌

ヒト・ゲノムプロジェクトでは、2001年にヒトの全塩基配列である約30億塩基対の全容が解明され、遺伝子数は約3万個(2004年10月現在では2万5千個以下)であることが判明した。モデル生物においてもゲノム情報は、有力な手段である遺伝子解析を行う上で必須の要件である。

細胞性粘菌の場合、染色体数は6本、DNAは約3千4百万塩基対(34Mbp)、遺伝子数は約8,000個である。現在全DNAの塩基配列決定に向けて、英・独・仏・米の共同研究によるゲノム・プロジェクトが進行中である。このゲノム・プロジェクトに先駆けた日本国内主導(英国1大学も参画)の共同研究として、細胞性粘菌のcDNAプロジェクトが始められており、移動体(多細胞体)期に

おける cDNA ( mRNA に由来する DNA ) の解析が行われている。すでに分離された全ての cDNA の両末端塩基配列が決定・公開されており、遺伝子の機能解析に向けて利用されている。また細胞性粘菌ではプロテオーム・プロジェクトもオーストラリア主導の共同研究で進められており、全発現タンパク質の分離とアミノ酸配列決定、ゲノム情報との整合性と機能解析が行われている。近年、細胞性粘菌は国内の高等学校生物の教科書にも取り上げられており、より身近な生物の一つとなってきた。

## 2. 細胞性粘菌の生活環

モデル生物としての細胞性粘菌について、その生活環を概観してみる。粘菌は孢子から発芽し、アメーバ状の細胞となる。粘菌アメーバは周囲の細菌を餌として捕食し、二分裂によって増殖する。周囲の細菌が無くなると細胞は集合して多細胞化するが、このときの集合現象から細胞性粘菌は社会性アメーバとも称されている。即ち、増殖した均質な単細胞粘菌アメーバは、cAMP 等の集合物質に走化性を示し、集合して多細胞体となり移動体を形成するのである。移動体はなめくじ状を呈する十万個から百万個の細胞からなる多細胞体で、個々の粘菌アメーバに比べて、より速く広範囲に培地上を動き回ることができる。移動体の時期にはすでに細胞分化が始まっており、前から約 1/3 の細胞は将来柄を形成する予定柄細胞に、また残り 2/3 の細胞の大部分は将来孢子を形成する予定孢子細胞に分化している。この移動体は、光や乾燥の刺激で移動運動を停止し、子実体形成運動により子実体となる。子実体は、休眠状態の孢子集団からなる球状の孢子塊と、孢子塊を空中に持ち上げる柄からできている。柄は孢子塊を支持する構造を形成する柄細胞からできており、柄細胞は空胞化した死細胞であり、セルロース性の細胞壁を持っている。

研究材料としての細胞性粘菌の特徴は、このように比較的単純な細胞分化が見られることである。最終的に柄と孢子塊からなる子実体を形成するが、このとき柄細胞と孢子という基本的に 2 種類の細胞分化のみが見られる。更に、培養が容易であり、餌である細菌との二員培養でも、無菌的培養でも選択することができる。細胞の維持管理も容易であり、孢子として少なくとも一年間の冷凍保存 ( - 20 °C ) が可能である。また、この生物は通常半数体であるので遺伝子操作の影響が容易に検討でき、近年は細胞分化と共に細胞運動の研究にもよ

く用いられている。

この他にも細胞性粘菌は、マクロシストを形成する有性生殖過程の生活環も持っている。しかし、粘菌の全ての種で見られる現象ではなく、またマクロシストからの発芽条件など、まだ良くわかっていない部分も多い。

### 3. 粘菌における自家蛍光物質の局在

粘菌の自家蛍光は、蛍光物質による生体染色を検討する過程で、偶然に観察された。この偶然の観察を切っ掛けに、細胞性粘菌の生活環を自家蛍光の観点から調べたところ、我々は粘菌における蛍光の局在性を確認することができた<sup>3)</sup>。細胞性粘菌の増殖期細胞には顕著な自家蛍光があり、細胞内の小胞に局在化していること、生細胞でのみ観察できることを明らかにした。自家蛍光は対数増殖期が最大であり、増殖の終了期には減少し、リン酸緩衝液中で振とうすると更に減少する。固形培地上で形成された移動体では、全体が自家蛍光を発し、個々の細胞レベルの自家蛍光小胞は観察できない。最終的分化形態である子実体では、孢子塊にのみ自家蛍光は観察され、柄の領域には観察されない。即ち、自家蛍光は孢子塊にのみ局在している。この蛍光の局在性は、顕微鏡観察ばかりでなく顕微分光測光によっても確認されている<sup>4)</sup>。更に孢子塊を詳細に観察すると、自家蛍光は孢子に存在するのではなく、孢子の間隙に存在することが明らかになった。また移動体期に柄を形成しながら移動する近縁種(タマホコリカビ *Dictyostelium mucoroides*) の移動体の観察により、自家蛍光は柄の形成に伴い細胞外に放出されることが認められた<sup>5)</sup>。

### 4. 粘菌の自家蛍光物質

生物が生成する物質の中には、蛍光物質であるものもいくつか知られている。プテリジンはヒトを含めた哺乳類から細菌まで生物界に広く分布する自家蛍光物質であり、特にチョウ類の翅には色素成分として大量のプテリジンが存在している。細胞性粘菌においても、細胞が生成する主要な自家蛍光物質はプテリジン(プテリン類)であることが推定され、その後分離・精製されてキイロタマホコリカビの仲間である *Dictyostelium* 属に特有の、ディクチオプテリン Dictyopterin であることが特定されている<sup>6)</sup>。また粘菌細胞では、このディ

クチオプテリンが細胞外に放出される過程で脱アミノ化され、細胞外ではより水に溶解易い形のディクチオルマジンとして存在していることも明らかになっている<sup>7)</sup>。

ディクチオプテリン、ディクチオルマジンは分離精製の過程で粘菌細胞における主要な自家蛍光成分であることが分かっているので、粘菌アメーバ細胞および子実体の孢子塊で観察される蛍光は、それぞれディクチオプテリン、ディクチオルマジン由来の蛍光であると考えられる。これは顕微鏡観察ばかりではなく、顕微分光測光による蛍光のスペクトル分析によっても支持されている<sup>4)</sup>。

#### 5. 粘菌におけるプテリジンの機能の一端

高等動物におけるプテリジンの機能については、芳香族アミノ酸（チロシン、トリプトファン、フェニルアラニン）の水酸化酵素の補酵素として、その活性調節に重要な働きをしていることが知られている。これらのアミノ酸はこの酵素反応の後さらなる代謝過程を経て、いくつかの重要な神経伝達物質になる。即ち、フェニルアラニンはチロシンに変換され、チロシンからはドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンが、トリプトファンからはセロトニン、メラトニンが合成される。このプテリジンがこれらの酵素活性に関与する知見は、すでにヒトのフェニルケトン尿症の治療にも応用されている。この病気はフェニルアラニン水酸化酵素の活性異常による遺伝病であり、幼少時から高次の知能発達障害を伴うが、その原因の一部はプテリジン合成障害によるものである。このような症例ではこれまでフェニルアラニンを除いた食事療法のみであったが、飲み薬によるプテリジン補充療法での治療が開発され、良好な結果を得ているとのことである。更に近年、生理活性物質としての一酸化窒素（NO）の作用に神経細胞障害作用、血管平滑筋弛緩作用、アポトーシス抑制作用等があり、その多様な機能に関心が集まっている。この一酸化窒素（NO）合成酵素の補酵素もプテリジンであることが分かっている、酵素活性調節に関与しているようである。

一方、下等微生物におけるプテリジンの機能については、芳香族アミノ酸の代謝以外には特に目立った作用は知られていない。神経伝達物質に限って言えば、下等微生物には必要ないものなので当然であろう。しかし粘菌アメーバの

場合、蛍光顕微鏡で容易に観察が可能な程存在する大量のプテリジンは、生物の合目的性から考えて更に何らかの機能を付帯している可能性が考えられる。そのような観点から粘菌細胞におけるプテリジンの局在を再考してみると、化合物としてのプテリジンは紫外線を吸収して可視光を発生する蛍光物質であり、子実体では孢子塊に局在している。細胞性粘菌の生息する場所は主に林床であるとはいえ、野外では少なからざる紫外線を浴びることになる。これらをつなぎ合わせると、孢子は次の世代に生命を継承する生殖細胞であるので、プテリジンが孢子を紫外線から防御していることが推測される。実際に紫外線に暴露させた孢子の発芽率をみてみると、プテリジンを取り除いた孢子では極端に低下した。それに比べて無処理の孢子塊には、あまり強い紫外線の影響は見られなかった。この実験結果から、粘菌細胞の生産するプテリジンが孢子を紫外線から防御していることが明らかになり、粘菌におけるプテリジン機能の一端が判明した<sup>8)</sup>。

#### おわりに

増殖期の粘菌アメーバもまた、プテリジン(ディクチオプテリン)を小胞内に局在化させているが、こちらのプテリジンにはどのような機能があるのだろうか。野外の粘菌アメーバは、細菌の繁殖する湿度の高い環境の腐葉土層または落葉の下にいたので、紫外線の影響はほとんどないものと思われる。増殖期アメーバのプテリジンは、孢子塊に局在するプテリジンのための単なる供給源であるとも考えられる。しかし、もしそうであれば、対数増殖期のアメーバは当面不要の物質を大量に合成していることになる。あるいは、増殖期粘菌アメーバにおけるプテリジンの役割は、別にあるのかも知れない。粘菌アメーバにおけるプテリジンの役割については、今後さらに追求してみたいと考えている。

著者は今年度4月より岩手大学教育学部生物学教室に教育研究の場を得ることができ、岩手生物教育研究会にも入会いたしました。早速、今回の研究発表会(第38回)における記念講演の機会を頂き、「モデル生物・細胞性粘菌における自家蛍光物質の局在性とその機能」と題して、細胞性粘菌の紹介と共に粘菌の自家蛍光についての研究紹介の機会を頂くことになりました。本稿は、こ

の時の講演原稿を元に、一部加筆してまとめたものです。

#### 引用文献

- 1 ) <http://www.nih.gov/science/models/>
- 2 ) 前田靖男 ( 編著 ) 2000. モデル生物 : 細胞性粘菌 . アイピーシー .
- 3 ) Uchiyama, S., Nagai, S. and Maruyama, K. 1993. Localization of fluorescent substances in the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum* cells during growth and development. *J. Plant Res.* 106: 345-349.
- 4 ) Uchiyama, S., Nagai, S. and Maruyama, K. 1997. Lumazine-like fluorescence in a mass of spores of the cellular slime mold, *Dictyostelium discoideum*. *J. Plant Res.* 110: 383-386.
- 5 ) Uchiyama, S., Nagai, S. and Maruyama, K. 1994. Fluorescence in the migrating pseudoplasmodium of the cellular slime mold *Dictyostelium mucoroides*. *Cell Struct. Func.* 19: 159-163.
- 6 ) Klein, R., Thiery, R. and Tatischeff, I. 1990. Dictyopterin, 6-(D-threo-1,2 dihydroxypropyl)-pterin, a new natural isomer of L-biopterin. Isolation from vegetative cells of *Dictyostelium discoideum* and identification. *Eur. J. Biochem.* 187: 665-669.
- 7 ) Klein, R., Tatischeff, I., Tham, G. and Mano, N. 1994. Chiral lumazines: Preparation, properties, enantiomeric separation. *Chirality* 6: 564-571.
- 8 ) ( 投稿準備中 )