
Review

Amoeba proteus の細胞生物学

園部誠司*、西原絵里

兵庫県立大学大学院生命理学研究科
兵庫県赤穂郡上郡町光都 3-2-1

Cell biology of *Amoeba proteus*

Seiji SONOBE and Eri NISHIHARA

University of Hyogo, Graduate School of Life Science,
Harima Science Park City, Hyogo, 678-1297

はじめに

Amoeba proteus は原生動物根足虫類に分類される単核単細胞で、細胞膜の一部を伸張させた仮足を出しながら基質上を這うという、いわゆるアメーバ運動をおこないます。繊毛鞭毛や眼点などの特殊化した器官をまったく持ちません。光学顕微鏡で観察すると細胞内には核と収縮胞、大小、丸四角などさまざまな形状の顆粒がみられるだけであり、細胞表面にも特殊化した構造は見られません (Fig. 1)。このようにアメーバは一見非常に単純な形態、ある意味では乱雑に細胞膜の袋の中に細胞小器官が詰め込まれた細胞であるといえますが、これがえさに向かって仮足を伸ばし、えさを取り込み消化するためには、光学顕微鏡では見えない厳密な制御機構が存在するはずで、私はアメーバ細胞内で構築されているこの制御機構を知り、アメーバという細胞のすべてを知りたいと思っています。しかし、実際の研究はある限られた現象に集中してしまいます。この総説ではアメーバに関する細胞生物学的研究の全般、特に運動、収縮胞、核についてのこれまでの研究を紹介したいと思います。なお、アメーバには非常に多くの種が同定されています。そのうち、生理

学的研究には単核で大きさ 0.5 mm ほどの *Amoeba proteus* や多核で 2 mm に達する *Chaos* 類が、生化学的研究には *Acanthamoeba* がよく用いられています。本稿では主として *Amoeba proteus* を材料としたものを紹介します (アメーバと日本語表記してあるものはすべて *Amoeba proteus* を指すとお考えください)。なお、アメーバの分類、生態などについては石井圭一先生が著され、堀上英紀先生と木原章先生により出版されたアメーバ図鑑 (1999、金原出版) というアメーバ研究者にとってはバイブルとも言える著作がありますのでそちらを参考にさせていただきたいと思います。また、*International Review of Cytology* の編集者を長くやっておられる K. W. Jeon 博士はアメーバ屋さんで、走性や共生について研究しておられます (Jeon 1995)。

最近アメーバ運動というと、動物培養細胞や細胞性粘菌、また特に解析が進んだ魚の鱗をつくるケラトサイトに研究の中心がありますが (Pantoloni et al 2001)、これらの運動速度はアメーバの 1/10 程度であり、したがって運動機構も異なるのではないかと考えています。いずれにしても本家アメーバ運動の *Amoeba proteus* にがんばってもらわなければならないと思っています。

*Corresponding author

Tel: +81-791-58-0176

Fax: +81-791-68-0175

e-mail: sonobe@stkt.u-hyogo.ac.jp

(Received 31 October 2004)

アメーバ運動

アメーバは基質に付着した状態で細胞の一部を連続的に伸張させた仮足を伸ばし、一方向に進む。細胞質は細胞膜下に固定されたゲル層と細胞内部の流動

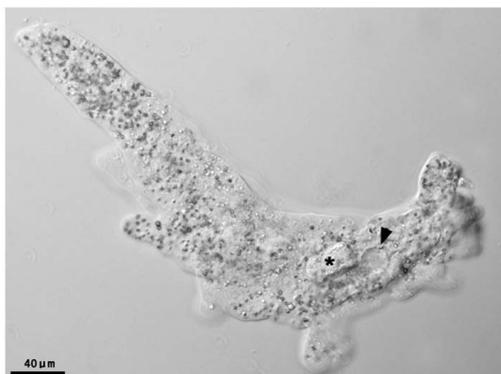


Fig. 1 *Amoeba proteus* の光学顕微鏡写真
Asterisk は核、arrowhead は収縮胞を示す

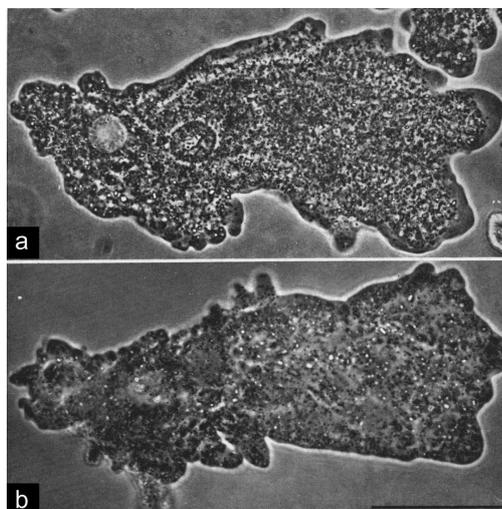


Fig. 2 *Amoeba proteus* のグリセリンモデル
上は生きているアメーバ、下はグリセリンモデル、
バーは 100 μm

性のあるゾル層に分かれている。運動に伴い、ゾル層は進行方向に流動する。その流速は最高 50 μm/sec ほどで、速いことで有名なシャジクモの原形質流動の流速に近い。ただし、進行の速度は 10-20 μm/sec ほどである。それにしても細胞が基質を動く速度としてはずば抜けて速いといえる。前方に達したゾルはゲルへ転換する。細胞膜の伸長は通常ゾルの流入に伴って連続的に起こる。しかし、ゾルの流入直前に細胞膜だけが伸長し、透明な仮足が形成される場合もある。

アメーバの細胞骨格

Amoeba proteus の細胞膜はプラズマレンマと呼ばれてきたがそれは表面に糖衣を持っているためである。約 30 nm の厚さの均一な層が細胞膜に密着し、さらにそこから約 200 nm の長さの繊維構造が伸びている。この表面糖衣にはレクチンの一種である concanavalin A が結合する。細胞膜直下にはアクチン繊維およびミオシン繊維からなる層が存在する。この層の厚みはさまざまであるが後部の方が厚いようである。細胞膜を単離するとアクチン繊維もついてくることから (Kawakatsu et al 2000)、アクチン繊維は細胞膜に結合していると考えられる。ミオシンの太い繊維が見られるのは非筋細胞では非常にまれな例である。非常に変わっているのは、微小管がないことである。もちろん、分裂期には紡錘体が形成されるので微小管は現れるが、間期では全く見られない。中心体様の構

造も見られない。細胞質内部にもミオシン繊維が見られる。蛍光染色などの結果からアクチン繊維も存在すると思われるが電顕では同定が困難である。核膜近傍にもしばしばミオシン繊維が観察されるがその意味は不明である (Sonobe and Kuroda 1986)。

論争

1960-1980 年くらいの期間、アメーバ運動の機構に関して大論争が行われた。這っているアメーバを観察すると後ろが収縮し、中の原形質ゾルを前方へ押し出しているように見える。Mast は詳細な観察をもとに後部収縮説を唱えた。Goldacre (1964) はアメーバに ATP を注射し、ATP によって収縮が引き起こされた部位が後部になると報告し、アメーバ運動の原動力は後部原形質ゲルが収縮することにより発生する圧力が原形質ゾルを前方へ押し出す、という後部収縮説を唱えた。その後、グリセリンモデルの収縮がゲル層で起こるといふ報告がなされ、これを支持した (Opas 1976; Rinaldi and Opas 1976)。ところが Allen (1961) は細いガラス管にアメーバを吸い込み、ガラス管を割ることによってアメーバを破裂させ、出てきた原形質が動くのを観察した。このことは細胞膜に囲まれていない裸の原形質ゾルが動くということであり、原形質ゾルが圧力によって押し流されて動くのではないことを示している。Allen はこの観察から、仮足前端部のゾルからゲルへの転換部位において収縮が起こり、ゾル内の連

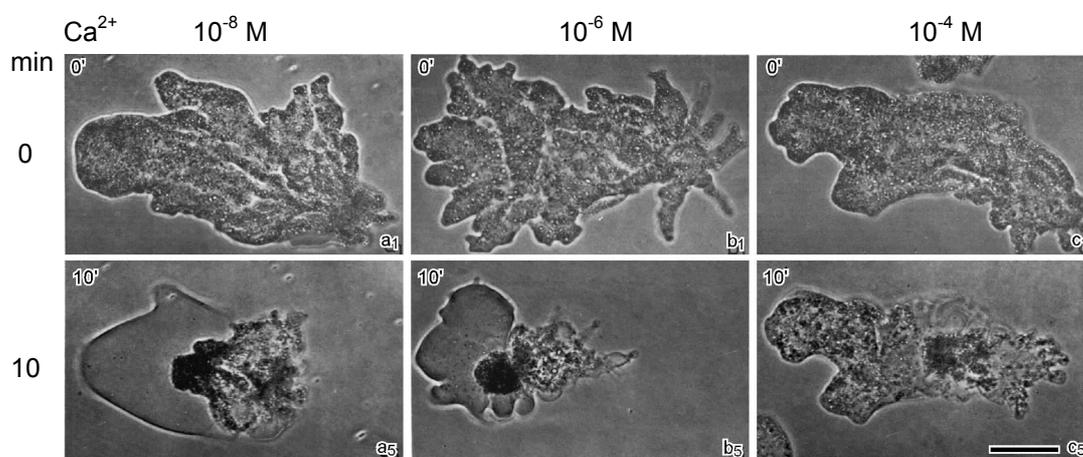


Fig. 3 グリセリンモデルの収縮

ATP 添加前 (a1, b1, c1) と ATP 添加 10 分後 (a5, b5, c5) を示す。

Ca²⁺濃度は 10⁻⁸ M (a1, a5) M, 10⁻⁶ M (b1, b5), 10⁻⁴ M (c1, c5), バーは 100 μm

続構造を前方に引き寄せるといふ前部収縮説を唱えた。Allen の弟子であった Taylor はカルシウムイオンの濃度を調節した試験液の中でアメーバの細胞膜を針で破り、出てくる原形質の様子を観察した (Taylor et al 1973)。すると、カルシウムイオン濃度が 10⁻⁶ M の時に流れ出た原形質が仮足のよう伸長するのを観察した。また、原形質内に繊維状構造が存在することを示した。これらのことは前部収縮説を強く支持した。

グリセリンモデル

私が研究を始めたのは Taylor の研究から 7-8 年たったころであった。その間に Allen は亡くなり、論争は明確な結論が出されないままになっていた。私は「アメーバのグリセリンモデルをつくる」というテーマで卒業研究を始めた。アメーバが前進している形態を保ったままでグリセリンで脱膜した後、ATP を与えると原動力発生の場が収縮することが期待された。グリセリンモデルは細胞をグリセリン溶液に浸すことで細胞膜に穴を開け、同時に細胞内の可溶性成分を抽出したものであり、筋収縮の研究で用いられ、その後 Hoffmann-Berling (1954) が非筋細胞に応用したものである。収縮装置が保存されるので後から ATP を添加すると収縮が起こる。アメーバのグリセリンモデルもそれまで多く発表されていたがそれらはいずれも這っている時の姿とは程遠いものであった (Opas 1976; Rinaldi and Opas 1976)。それは、アメーバがグリセリン溶液に触れると急速に丸くなってしまふからである。

そこで私は-20 度に冷却したグリセリンを直接アメーバにかけることでアメーバの運動を停止させ、生きている時のアメーバの形態を保ったグリセリンモデルをつくった (Fig. 2)。モデルに ATP を添加すると著しい収縮が、核周辺で起こった (Kuroda and Sonobe 1981)。核は後部にあることが多いため後部から収縮しているように見える場合もあるが、基本的には核が収縮の中心になり細胞内顆粒が集まってきた。電子顕微鏡で観察すると核周辺に形成された顆粒塊の中にはアクチン繊維とミオシンの太い繊維が塊状に存在していた (Sonobe and Kuroda 1986)。アクチン繊維の機能を阻害する cytochalasin B は収縮を阻害したことから、モデル内の収縮はアクチンとミオシンにより引き起こされ、これらはお互いに引き合って塊を形成したものと考えられた。その後の反応は Ca²⁺濃度により変化し (Fig. 3)、10⁻⁸ M では細胞質全体が細胞膜からはがれるように収縮し核の周りに集り、10⁻⁶ M では活発な流動を示した。10⁻⁴ M では核周辺の収縮以外、運動は起こらなかった。電子顕微鏡で観察すると、10⁻⁸ M の場合にはアクチン繊維とミオシン繊維が層状になり、顆粒質を取り囲んでいた。10⁻⁶ M では流動が起こっているところに網目状のアクチン繊維とミオシン繊維が見られた。これらの繊維構造の分布はモデル内の運動をよく説明できるものであった。10⁻⁴ M では核周辺に形成されていたアクチン繊維がなくなっており、ミオシンの塊だけが残されていた。この現象はその後アクチンのリン酸化による脱重合であることが判明した (後述)。

グリセリンモデルでは ATP 添加直後には核周辺で



Fig. 4 収縮胞を含む細胞膜小胞 バーは 50 μm

収縮が起こった。これは予想外のことで今でもうまく説明はできない。グリセリンをかけられ、丸くならうとする反応が起きた状態 (形はそのまま) で固定された可能性もある。そうすると、前部収縮説を支持することになる。また、 10^{-6} M Ca^{2+} で起きた流動は原形質の連続構造、すなわちアクチン繊維とミオシン繊維が引っ張りあって流動が起こることを示しており、これも前部収縮説を支持している。一方、 10^{-8} M Ca^{2+} で見られた細胞膜からの繊維構造の脱離と収縮は後部収縮説を支持していると考えられる。いずれにしても原動力発生の際は特定できなかった。

アメーバ運動の原動力発生の場合

その後、Allen が若くして亡くなったこともあり、論争は下火になった。また、Taylor ら (1980) は *Chaos carolinensis* の細胞内 Ca 濃度を調べ、後部で高くなっていること、 Ca^{2+} を注射すると運動が促進されたことなどから、solation-contraction coupling hypothesis、すなわち、後部における Ca^{2+} 濃度上昇がゲルからゾルへの転換を促すと同時に、収縮を引き起こすという説を提出した。さらに、Janson と Taylor (1993) はこれらを再現する試験管内モデルをつくり、この説を補強している。Yanai ら (1996) は、仮足伸長と内圧の低下が一致することを示し、圧力が原動力となっていることを示した。このように、現在ではアメーバ運動は収縮によって生じた圧力が原形質ゾルを押し出すという説が一般的である。

圧力差で動くといえば、有名なのは真正粘菌である。真正粘菌、*Physarum polycepharum* の変形体は栄養増殖期の細胞であり、細胞壁を持たず多核の原形質の塊である。内部では活発な原形質流動が起こってお

り、基質に付着して這う。その点で巨大なアメーバともいえる。この原形質流動は圧力差によって押し流されていることが明らかにされている (Kamiya and Kuroda 1958)。ところが、細胞膜が再生しないように取り出した裸の原形質でも流動が起こる (Kamiya 1981)。また、粘菌をカフェイン溶液につけると原形質が噴出して、カフェインドロップと呼ばれている小さい丸い細胞を形成する (Sato et al 1981)。カフェインドロップ内では活発な運動が起こっている。これらの運動は圧力差によるものとは考えにくく、原形質そのものに運動性があることを示している。このように、粘菌の原形質ゾルは運動性を持っているが、普段は圧力差による大きな力によって押し流されている、と考えられる。このことは、アメーバ運動にも当てはまるのではないだろうか。原形質ゾルは通常は細胞膜下のゾル層の収縮によって発生した圧力によって押し流されている。しかし、ゾル中にもアクチン繊維やミオシン繊維が存在しており、ATP によるすべり運動を起こし得ると考えられる。Allen や Taylor が観察した裸の原形質ゾルの運動は圧力差のないところで現れてきたものと考えられる。Korohda と Stockem (1975) はアメーバにエーテルの入ったガラス管を近づけると、仮足を伸長することを報告した。この現象はエーテルによって細胞膜の張力が低下し、細胞内圧によって原形質が押し出されたと考えたと説明できるように思われる。また、細胞膜直下にはアクチン繊維とミオシンの太い繊維からなる層が存在することは先に述べたが、常にミオシンの太い繊維が存在することは、常に収縮し、圧力を発生しているとも考えられ、上記の考えを支持するものと思われる。

アクチンリン酸化

グリセリンモデルで、 10^{-4} M Ca^{2+} ではアクチン繊維の消失が見られた。 Ca^{2+} と ATP に対する濃度依存性を調べたところ、アクチンの消失は高濃度の Ca^{2+} と ATP に依存していることがわかった。当時、リン酸化によって制御されるアクチン結合タンパク質が粘菌で報告されていたこともあり、モデル内のタンパク質のリン酸化を調べてみた。すると分子量 44 kDa のポリペプチドが Ca 依存的にリン酸化されていることがわかった (Sonobe et al 1985)。このタンパク質を精製するために、アメーバの大量培養と生化学的な仕事を開始した。それまで、0.5 g という少量のアメーバからミオシンを単離したという報告はあったが (Condeelis 1977)、技術的に困難なため大量培養を試みた。

20 × 30 × 5 cm のプラスチックケースを培養器として、これを約 200 枚用意して大量培養を行った。3日

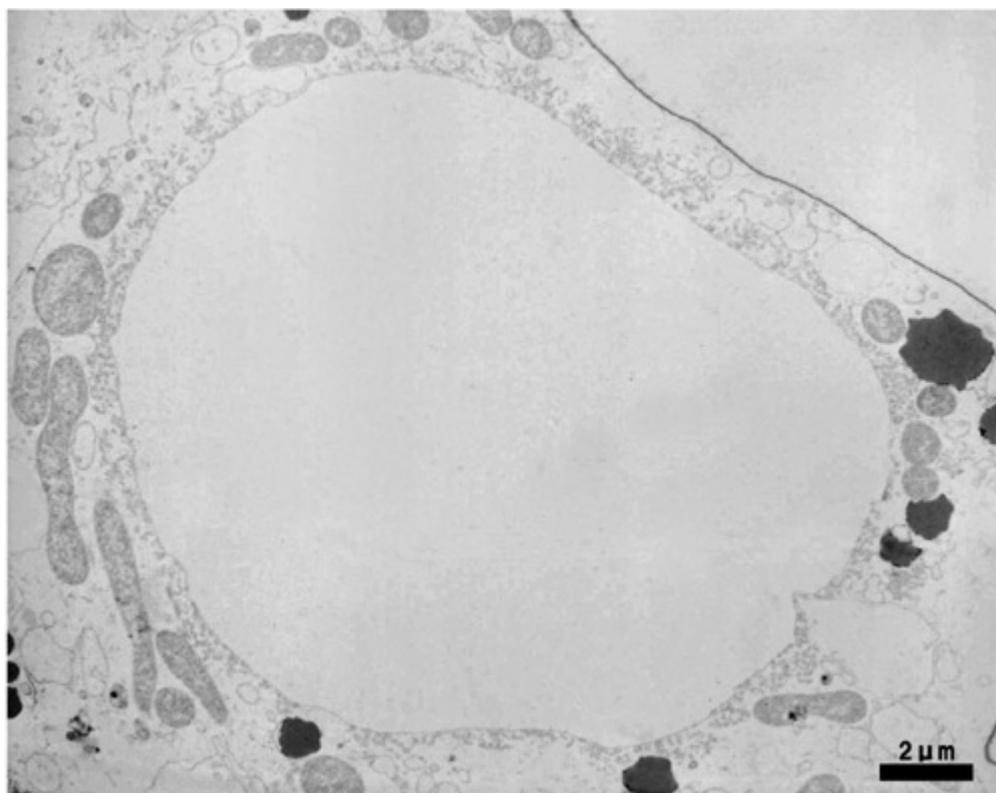


Fig. 5 収縮細胞の電子顕微鏡写真。バーは2 μm

毎に *Tetrahymena* をえさとして与え、毎週 70-100 g のアメーバを得た。アメーバの細胞粗抽出液をイオン交換カラムで分画し、それぞれの分画をアメーバの破碎液に入れてリン酸化の増加が起こるものを探すという方法でリン酸化タンパク質を探した。すると高イオン強度で溶出される分画を加えた時に 44kDa ポリペプチドのリン酸化が亢進した。さらに精製していくとそれはアクチンであった。アクチンはその分画の直前に大量に溶出されていた。しかし、リン酸化の亢進はほとんど見られなかった。リン酸化した分画を遠心するとアクチンは沈殿しているにもかかわらず、リン酸化タンパク質は上清にあった。また、アクチン分画を希釈するとリン酸化量が増加した。こうしたことから G-actin だけがリン酸化されることがわかった。高濃度のアクチンを含む分画ではリン酸化 buffer に含まれる Mg によってアクチンが急速に重合し、リン酸化されなくなっていたと考えられた。そこで、リン酸化の効率を上げるために、アクチン重合調節因子である profilin を加えてリン酸化反応を行った。こうして反応液中の 80% 以上のアクチンがリン酸化された。次に、

リン酸化がアクチンの重合に与える影響を調べた。その結果、リン酸化されたアクチンは重合能を失うことが明らかになった (Sonobe et al 1986)。このことから、グリセリンモデル内で見られたアクチン繊維の消失は G-アクチンのリン酸化による平衡状態のシフトが F-actin の脱重合を引き起こしたものと考えられた。リン酸化酵素は未同定であり、生細胞内におけるアクチンリン酸化の機能についてもまだ検証されていない。

モデル系

ここでモデル系を用いた研究について述べたい。モデル系にはさまざまな手法を用いたもの、さまざまなレベルのものが含まれるが、あえて単純化した言い方をするなら、「複雑な生細胞を解体した上で、生理現象を再現する実験系」とも言えるであろう。私はグリセリンを用いて脱膜したグリセリンモデルを作製した。グリセリンモデルでは生理現象が再現されたとは言い難い反応が引き起こされた。しかし、そこに

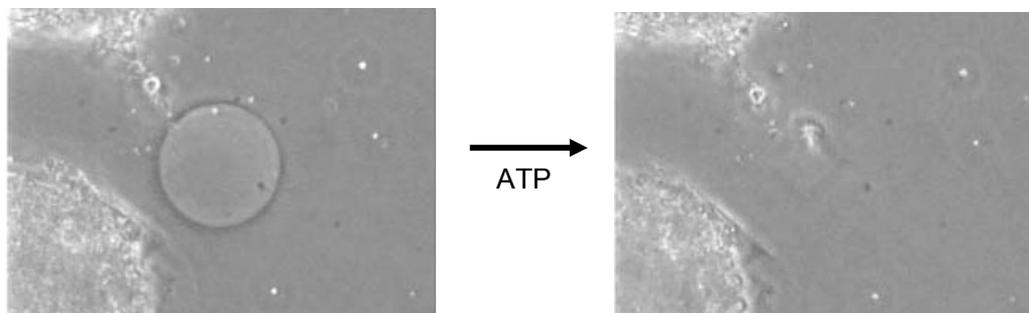


Fig. 6 単離収縮胞のATPによる収縮
単離した収縮胞（左）に1 mMのATPを添加し約3分後のもの（右）、収縮はATP添加後約3分後に急激に起こる（1秒以内）

は何らかの真実が含まれており、部分的には生理現象の再現が起こっていると考えられる。これを見出し、追求していくことが必要である。ところで脱膜モデル作製にはしばしば Triton X-100 や Brij58 などの detergent が使われるが、アメーバでは細胞膜外の糖衣のためか、detergent の効きが非常に悪く、少なくとも瞬時に脱膜することはできない。したがって、detergent を用いた脱膜モデルの作製は困難である。

Allen や Taylor は生きているままで機械的に脱膜した。これはより生細胞に近い状態の“モデル”であると考えられる。原形質を取り出すという点では *Xenopus* 卵を用いた研究が有名で、非常に広範囲の現象の研究に用いられている。アメーバでは細胞周期関連の解析は今のところ困難であるが、核膜輸送、オルガネラ機能の研究などに単離細胞質が利用できるかもしれない。

逆に細胞膜だけを残す方法もある。アメーバをパーコール溶液（さまざまな大きさのシリカゲルビーズの混合液で、遠心すると密度勾配を自動的に形成する。ショ糖とは異なりそのものの浸透圧は0に近く、粘度も低い）に分散して遠心すると、核やオルガネラを含む細胞と収縮胞のみ（顕微鏡で見えるものとしては）を含む細胞に分かれる（Fig. 4）。収縮胞のみを含む細胞で何らかの生理現象を再現させることはできないが、細胞膜や収縮胞単離に利用できるのではないかと考えている。細胞膜をカバーガラス上に単離する方法も開発されている（Kawakatsu 1999）。先に述べたようにアメーバの表層は糖衣で覆われており、これにはレクチンの一種である concanavalin A (Con A) が結合する。Con A を塗った2枚のカバーガラスでアメーバをサンドイッチにし、カバーガラスをはがすと、アメーバが“開き”状態になり、それぞれのカバー

ガラスには細胞質側を表出した細胞膜断片が張り付いている。これを用いて細胞膜とアクチンの相互作用の研究を行い、新たな発見があった。これについての解説は次号八木澤氏の稿に譲る。

このようなモデル系を用いた生理学的研究は、最近あまり見かけなくなりましたが、質量分析計を用いて微量のタンパク質の一次構造が決定できるようになった昨今、もっと利用されてもよい研究法ではないかと思っている。特に大量培養が困難な原生動物では。

カルシウムイオン

Ca^{2+} は江橋 (1968) によって筋収縮の制御シグナルとしてその重要性が示されて以来、さまざまな生理現象に関与していることがわかった。アメーバにおいても Taylor らの単離細胞質やグリセリンモデルを用いた研究から、アメーバ運動が Ca^{2+} により制御されることが示された。 Ca^{2+} は収縮の調節と、細胞質のゾルゲル変換、すなわちアクチン繊維同士の架橋の調節関与していると考えられる。前者はミオシンの活性調節、後者はアクチン結合タンパク質の調節に還元できるであろう。動物細胞ではほとんどの場合 Ca^{2+} はミオシン活性の促進、アクチン繊維同士の架橋の解離あるいは繊維の切断を引き起こすことが知られている。このように Ca の機能は運動機構を考える上で非常に重要であり、 Ca 濃度の時間的、空間的变化を知ることは不可欠である。Cobbald (1980) は *Chaos carolinensis* に Ca 結合性発光タンパク質である aequorin を注射し、 Ca^{2+} の分布と時間変化を調べ、どの場所も常に 10^{-8} M の低いレベルにあると報告した。しかし、Taylor (1980) らは同種のアメーバで同様の実験を行い、後部で連続

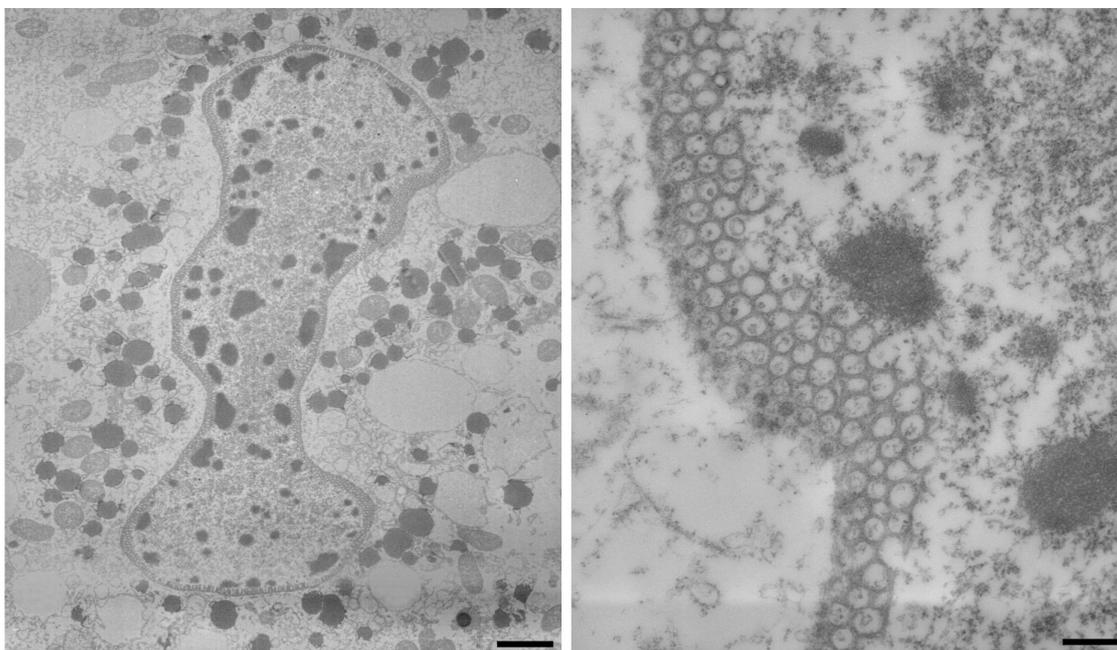


Fig. 7 核の電子顕微鏡写真。バーは左、2 μm ; 右、200 nm

的に高濃度状態が保たれ、前端部では突発的上昇があると報告している。また、*Amoeba proteus* を用いて同様な結果も報告されており (Kuroda et al 1988; Gollnick et al 1991)、後部で Ca^{2+} 濃度が上昇するというのは間違いないようである。しかし、Taylor らが観察した仮足先端における突発的な Ca^{2+} 濃度上昇も、仮足形成機構を考える上で興味深い。

収縮胞

アメーバを電顕観察するとしばしば大量のミトコンドリアに取り囲まれた膜構造に出会う (Fig. 5)。これは収縮胞で、淡水に棲む原生動物に普遍的に見られる水排出器官である。収縮胞の構造や機能に関しては、ゾウリムシを材料とした内藤豊博士の研究がある (Allen and Naitoh 2002)。ゾウリムシでは水を集めるチャンネルなど構造と機能が高度に分化しており、複雑な構造を持っている。しかし、アメーバの収縮胞は大きな袋とその周りの小胞からなる単純な構造をしている。

アメーバをカバーガラスとスライドガラスの間にはさみ、押しつぶしていくと、やがて細胞が破裂し収縮胞が遊離する。これに ATP を与えると、非常にすばやく、見えなくなるぐらいまで小さく収縮した (Fig.

6)。単離収縮胞の ATP による収縮は Prusch (1970) によって報告されていた。しかし、収縮速度や程度はその報告と非常に異なったものであった。今のところ ATP による収縮の機構については全くわかっていないが、この観察から収縮胞に興味を持ち最近研究をはじめたところである。大きく、単離が容易であることがアメーバを用いた収縮胞研究の利点であると考えている。

取り出した収縮胞の外液の浸透圧を変化させるとそれに応じて収縮胞の体積が変化した。つまり収縮胞の膜は半透性であることを示している。では、細胞内では浸透圧にしたがって水を集めているのかというと、ことはそう簡単ではない。細胞内の収縮胞は原形質に取り囲まれている。原形質は当然水より浸透圧が高いので、収縮胞内に水があるとすると原形質に含まれる水は浸透圧に逆らって、収縮胞に入らなければならない。収縮胞内の水になんらかの溶質が存在し浸透圧が高められていれば、水は原形質から収縮胞に移動できる。しかし、排出のたびに溶質も排出されると、その補充が必要である。このように水の集積機構だけを考えても、収縮胞の機構にはなぞが多く残っており、収縮の機構も含めて、これらを明らかにしたいと考えている。

核

アメーバの電顕観察で最も目を引くものは核である (Fig. 7)。その表面は多数の穴で覆われており、高倍で観察すると穴の内部に 8 つの点が円周に沿って並んでいるのが見える。これは核膜孔複合体である。また、核膜の横断面では内部に 2-30 nm 入りこんだ筒状構造があり、全体として蜂の巣構造と呼ばれている。核膜孔を介した選択的物質輸送も行われるようで、機能的には哺乳動物の核と同じであると考えられる。大きく、核膜孔が多量に存在することから、核構築や核膜輸送の研究には非常に適しているのではないかと常々考えている。

分裂中にはこの核膜孔複合体は見えなくなる (Gromov 1985)。アメーバの核分裂では核膜が突然消失することではなく、核膜孔複合体が次第に減少し、小胞体膜が染色体を取り囲むようになる。核膜孔複合体がどこへ行き、どのように再生されるのか、非常に興味深い。また、先に述べたようにアメーバでは間期に微小管がなく、分裂期にのみ現れる。チューブリン遺伝子の細胞周期による発現制御機構も興味深い。細胞周期に関連した現象の解析となると、細胞周期の同調化が必要である。アメーバはえさを十分取り込むと丸くなり分裂するが、その分裂は全く同調的ではない。そこでえさを与え、同時に DNA 合成を阻害するという方法を試した。DNA polymerase α の阻害剤である aphidicolin を試したところ、全く阻害効果が見られなかった。牧岡らによると赤痢アメーバでは aphidicolin が増殖を抑えるということであるので、*Amoeba proteus* は全く異なったタイプの DNA polymerase を持っているのかもしれない。次に、hydroxyurea を試したところ、分裂は阻害されたが同調化はできなかった。濃度、処理時間など現在検討中である。

終わりに

アメーバの宣伝を試みた割には、我田引水の総説になってしまいました。また、勉強不足でここでご紹介できなかった事項があります。それはアメーバの走性に関することです。実は一番不思議だと思っていることがあります。それは、アメーバがなぜ *Tetrahymena* を捕まえられるのか、という点です。えさをやっていると、*Tetrahymena* はアメーバの周囲でじっとしています。その間にアメーバは仮足を伸ばし、*Tetrahymena* を包み込んでしまいます。*Tetrahymena* はその時になってようやく気づき、食胞内で暴れまわりますが、あとの祭り……。アメーバが撒き餌をしておびき寄せたり、麻酔をかけたり (絨毛は動いていま

す) しているのでしょうか。不思議です。しかし、これは *Tetrahymena* の側の走性の問題ですね。

原生動物を材料にしているということはその材料にとことんこだわりその材料の生物学、つまりすべてを解明する、というのが目的になりますね。お金にはなりません、このような研究も大切にしたいですね。

引用文献

- Allen, R., D. (1961) A new theory of amoeboid movement and protoplasmic streaming. *Exp. Cell Res.*, 8, 17-31.
- Allen, R. D. and Naitoh, Y. (2002) Osmoregulation and contractile vacuole of protozoa. *Int. Rev. Cytol.*, 215, 351-94.
- Cobold, P. H. (1980) Cytoplasmic free calcium and amoeboid movement. *Nature* 285, 441-446
- Condeelis, J. S. (1977) The isolation of microquantities of myosin from *Amoeba proteus* and *Chaos carolinensis*. *Anal. Biochem.* 78, 374-394
- Ebashi, S. and Endo, M. (1968) Calcium ion and muscle contraction. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 18, 123-183.
- Goldacre, R., J. (1964) On the mechanism and control of amoeboid movement. In "Primitive Motile Systems in Cell Biology", eds. by Allen, R., D., and Kamiya, N. Acad. Press. New York and London, 237-255.
- Gromov, D. B. (1985) Ultrastructure of mitosis in *Amoeba proteus*. *Protoplasma*, 126, 130-139.
- Hoffmann-Berling, H. (1954) Adenosintriphosphat als Betriebsstoff von zellbewegungen. *Biochim. Biophys.*, 52, 269-274.
- Janson, L. W. and Taylor, D. L. (1993) In vitro models of tail contraction and cytoplasmic streaming in amoeboid cells. *J. Cell Biol.* 123, 345-356
- Joel, K. W. (1995) The free-living Amoebae: wonderful cells for biological studies. *J. Euk. Microbiol.* 42, 1-7.
- Kamiya, N. and Kuroda, K. (1958) Studies on the velocity distribution of the protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodia. *Protoplasma* 49, 1-4
- Kamiya, N. (1981) Molecular basis of cytoplasmic streaming. *Annu. Rev. Plant Physiol* 32, 205-236.
- Kawakatsu, T., Kikushi, A., Shimmen, T., and Sonobe, S. (2000) Interaction of actin filaments with the plasma membrane in *Amoeba proteus*: studies using a cell model and isolated plasma membrane. *25(4)*, 269-277.
- 川勝智生 (2001) *Amoeba proteus* の仮足形成における

- 細胞膜とアクチン繊維との相互作用 姫路工業大学修士論文
- Korohoda, W. (1977) Experimental induction of locomotion in enucleated fragments of *Amoeba proteus* and its bearing on the theories of Amoeboid movement. *Cytobiologie* 14, 338-349.
- Kuroda, K. and Sonobe, S. (1981) Reactivation of a glycerinated model of amoeba. *Protoplasma*, 109, 127-142.
- Kuroda, K., Yoshimoto, Y. and Hiramoto, Y. (1988) Temporal and spatial localization of Ca^{2+} in moving *Amoeba proteus* visualized with aequorin. *Protoplasma* 144, 64-67.
- Opas, M. (1976) Course of glycerination of *Amoeba proteus* and contraction of glycerinated models. *Acta Protozool.* 15, 485-499.
- Pantaloni, D, Le Clainche, C. and Carlier M.F. (2001) Mechanism of actin-based motility. *Science* 292, 1502-1506.
- Prusch, R., D. and Dunhum, P., B. (1970) Contraction of isolated contractile vacuole from *Amoeba proteus*. *J. Cell Biol.*, 46(2), 431-434.
- Rinaldi, R. and Opas, M. (1976) Graphs of contracting glycerinated *Amoeba proteus*. *Nature* 260, 522-526.
- Sato, H., Hatano, S. and Sato, Y. (1981) Contractility and protoplasmic streaming preserved in artificially induced plasmodial fragments, the "caffeine drops". *Protoplasma* 109, 189-208.
- Sonobe, S., Takahashi, S., Hatano, S., and Kuroda, K. (1986) Phosphorylation of amoeba G-actin and its effect on actin polymerization. *J. Biol. Chem.*, 261 (31), 14837-14843.
- Sonobe, S., Hatano, S., and Kuroda, K. (1985) Cytoplasmic movement in a glycerinated model of *Amoeba proteus*. In "Cell Motility; mechanism and regulation", Ishikawa, H., Hatano, S. and Sato, H., eds., pp271-282, University of Tokyo Press.
- Sonobe, S. and Kuroda, K. (1980) Ultrastructural aspects of a glycerinated model of *Amoeba proteus*. *Protoplasma*, 130, 41-50.
- Taylor, D., L., Moore, P., L., and Allen, R., D. (1973) Contractile basis of amoeboid movement. I. the chemical control of motility in isolated cytoplasm. *J. Cell Biol.*, 59, 378-394.
- Taylor, D., L. and Wang, Y., L. (1978) Molecular cytochemistry: incorporation of fluorescently labeled actin into living cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 75 (2), 857-61.
- Taylor, D. L., Blinks, J. R. and Reynolds, G. (1980) Contractile basis of amoeboid movement VIII. Aequorin luminescence during amoeboid movement, endocytosis, and capping. *J. Cell Biol.* 86, 599-607.
- Yanai, M., Kewnyon, C. M., Butler, J. P., Macklem, P. T. and Kelly, S. M. (1996) Intracellular pressure is a motive force for cell motion in *Amoeba proteus*. *Cell Motil. Cytoskel.* 33, 22-29.

