

細胞性粘菌における種間認識機構の解析

芝野 郁美, 井上 敬
(京都大・院理・生物科学)

Analysis of the mechanism for interspecific recognition in *Dictyostelium*

Ikumi SHIBANO and Kei INOUE
(Dept. Bot., Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ.)

SUMMARY

The social amoebae *Dictyostelium* multiply as single cells but aggregate upon starvation and form fruiting bodies with viable spores and dead stalk cells. When amoebae of different species are mixed and starved, they eventually recognize the same species each other and form separate fruiting bodies. The purpose of this work is to elucidate the mechanism for this interspecific recognition in *Dictyostelium*. We mixed GFP-labeled *D. discoideum* cells and unlabeled *D. purpureum* cells. After a variable period of starvation, we plated the cells onto agar plates and observed aggregating cells using a confocal laser scanning microscope. Consequently, we observed that the cells of each species tended to adhere mutually lengthways. This tendency was strong when the starvation period was long. The observation results suggest that end-to-end adhesion factors are involved in the interspecific recognition in *Dictyostelium*. Experiments using heterologous expression of *D. purpureum* candidate genes in *D. discoideum* are underway.

【目的】 細胞性粘菌は単細胞で増殖しているアメーバが、飢餓になると集合し、孢子と柄細胞からなる子実体を形成する。*Dictyostelium* 属の中には、集合時に同じ走化性物質（例えば cAMP）を用いる種があることが知られている。それらの種は、同じ場所に集合することがあっても、多くは集合後、互いに同種を認識し、最終的には独立した子実体を形成する。しかし、細胞

性粘菌が同種、異種を見分ける機構については、ほとんど分かっていない。本研究では、細胞性粘菌における種間認識機構の解明を目的として、同じ走化性物質 cAMP を用いる 2 種の細胞性粘菌、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) とムラサキタマホコリカビ (*D. purpureum*) を使い、観察および実験を行った。

【方法】 研究に用いた *D. discoideum* は AX2 (GFP-ABD) 株であり、液体培地で培養した。 *D. purpureum* は野外から得られた P1Ba 株を LP 寒天プレート上で *Klebsiella aerogenes* を餌として培養した。 これら 2 種の増殖期のアメーバを PB (Phosphate buffer, pH 6.0) で洗い、血球計算版を用いて細胞数を測定した。 細胞数を揃えた 2 種の粘菌をひとつのフラスコに入れて振盪 (200 rpm) し、一定時間ごとに少量ずつ取って PB の寒天プレートへスポット状に置いた。 フラスコで振盪している間、細胞は飢餓となっているが、集合することは出来ない。 スポット状に置いた粘菌の集合期を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。 *D. discoideum* の AX2 (GFP-ABD) 株は F アクチンが GFP で標識されるため、2 種の細胞性粘菌を見分けることが出来る。

【結果と考察】 同種の細胞性粘菌は、進行方向に対して縦につながり、その傾向は飢餓状態においた時間に伴って強くなることが観察された。 細胞性粘菌は、縦方向と横方向で接着因子を使い分けていることが知られている。 縦方向の接着 (end-to-end 接着) は、細胞集合期に発現する csA と集合期後に発現する LagC、横方向の接着 (side-by-side) は飢餓後 2-3 時間で発現する csB などによってなされている¹⁾。 また、同種内の株認識において、LagC が重要な役割を果たしてい

るという報告もある²⁾。 これらの事実と、今回の結果から、細胞性粘菌の種間認識には、縦方向の接着因子が関わっている可能性が示唆される。 つまり、横方向の接着よりも縦方向の接着の方が種特異性が高いため、同種同士が縦につながる。 さらに縦方向の接着因子は飢餓後、時間をおいて (集合期または集合期後) 発現するため、飢餓をかける時間を長くするほど、縦につながる傾向が強まると考えられる。 この仮説を確認するため、候補となる遺伝子の形質転換を行い、さらなる解析を進めていく。

また、接着因子 (のみ) ではなく、移動性の違いによって同種を見分けている可能性もある。 つまり、2 種の細胞性粘菌の移動速度に大きな差があれば、移動の速い種の後には遅い種がついて行くことは困難となり、同種同士がつながると考えられる。 飢餓をかけた時間との相関も、飢餓によって移動速度が変化するとすれば説明できる。 よって、今後は種間の移動速度の違い、また飢餓状態における移動速度の変化も計測し、接着因子とは別の角度からも種間認識機構の解明を目指したい。

【文献】

- 1) Siu et al. (2004) *Semin. Cell Dev. Biol.*, 15, 633-641.
- 2) Rocio et al. (2009) *Curr. Biol.*, 19, 567-572.