



Title	結合非線形振動子系の自己組織化に基づく細胞行動の発現
Author(s)	中垣, 俊之
Citation	Nagoya University. 博士(学術)
Issue Date	1997-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/34739
Type	theses (doctoral)
File Information	nakagaki.pdf



[Instructions for use](#)

結合非線形振動子系の自己組織化に基づく
細胞行動の発現

名古屋大学大学院人間情報学研究科
物質・生命・情報学専攻
D94110 中 垣 俊 之

1997年1月

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主 論 文 の 要 旨

論文題目

結合非線形振動子系の自己組織化に基づく細胞行動の発現

氏 名

中垣俊之

論 文 内 容 の 要 旨

1. 序

生物は時間的空間的秩序を自ら創り、様々な生理機能を創発する。秩序の自己形成や発展の機構は、近年、散逸構造理論や複雑系の理論によって解明され始めた¹。反応拡散モデルや結合振動子モデルは、その例である。本論文は、このような理論の枠組みを利用して、細胞行動の制御機構を実験的に解明することを目的とする。我々は、巨大なアメーバ様細胞である真性粘菌変形体(the plasmodium of *Physarum polycephalum*)の生物材料としての特徴を活かして研究を進める。変形体は、シート状に広がる原形質の集合体で、大きさは数cm以上にもなり、時空間ダイナミクスを容易に測定できる。さらに、変形体は、あらゆる部分で代謝振動やそれにカップルした周期的な収縮運動をしているため、結合振動子モデルを適用できると考えられる。これらのことから、細胞の行動発現に伴う細胞内化学パターンおよび収縮リズムの位相パターンを解析し、行動発現に見られる情報統合機構が動的な自己組織化であることを明らかにする。

2. 粘菌の行動レベルにおける刺激に対する応答性

定常光および周期的に変動する光刺激に対する変形体の応答を解析した^{2,3,4}。(1) 光行動と光形態形成(孢子形成)に対する波長依存性を比較し、さらに光行動に対する環境因子の影響を調べた。光行動と孢子形成のいずれも、UVC, UVA, blue, far-redの4つの波長に応答した。それらの感度は環境条件によって別々に変化した。粘菌は、複数の光受容系を持つことがわかった。(2) 周期的な光刺激に対して、粘菌の収縮リズムは引き込まれ、引き込み周波数帯で走光性が負から正へ逆転した。このように粘菌は、非線形振動特有の引込み現象を利用して行動を制御している。

複雑な化学環境に対する変形体の応答を調べた。約20箇所には餌が配置された場合、変形体は、餌の上に原形質を残しながら次々に広がった。餌と餌の間はシート状構造が消え一本の太い管状構造で結ばれ、全体の餌の配置パターンに依存してネットワークを形成した。この様に粘菌は寄る逃げるという行動以外に体制を作り替えることによっても、環境状況に対応する。

3. 細胞内化学パターンの自己組織化と行動発現

変形体の収縮リズムに伴ってATP, H^+ , Ca^{2+} , NAD(P)H, cAMP, cGMP, phospholipidなどの細胞内濃度が、約2分の周期で振動する⁵。散逸構造理論によると、これらは空間パターンを生み出す原動力となる。細胞行動に伴うATP濃度の空間分布の変動を調べた。粘菌全体を約50片の小片にメスで切り分け、各小片からATPを熱水抽出し、ルシフェリン-ルシフェラーゼ系の化学発光法により定量した。一方向に移動している変形体では細胞内ATP分布は、先端が高く後方に向かって減少する方向性のあるパターンを示した。円形や扇形等の様々な形に広がる場合では、細胞形状に対応した分布を示したが、高ATP濃度領域は変形体の進行端にあった。化学刺激によって移動を抑制すると、ATP分布は凸凹または平坦になった⁶。二個体の細胞融合や走光性・走電性発現に伴って、ATPパターンは、10~20分程度の時間スケールで別のパターンに推移した⁷。以上のように、ATP濃度の大域的な分布パターンが、細胞行動と対応することがわかる。

4. 収縮リズムの位相スイッチング現象による原形質流動と巨大アメーバ体制の調節⁸

アメーバ行動の発現に伴う収縮リズムの位相ダイナミクスを解析した。収縮リズムは、厚み変動のコンピューター画像処理法によりモニターし、等張張力や原形質流動の駆動力と比較した。収縮リズムは、ごく周辺部を除いて変形体内の大部分で同調していた。この同位相の関係は、次のような状況で反位相に切り替わった。(1) 二つの変形体が融合して一つの個体になる時、(2) カバーガラスによって一つの狭い連結部を残して二つの部分に仕切られた時、(3) ダンベル型の変形体において、中間部の往復原形質流動が、外部からの静水圧によって止められた時、である。いずれの状況も、反位相になった二つの部分間の相互作用が弱いといえる。原形質流動の駆動力は、反位相状態になると増大した。つまり、変形体の弱い相互作用は、同位相から反位相へ位相関係の切り替えを誘導し、この切り替えが原形質流動を激しくさせるため、相互作用が強まる。この大域的なフィードバック機構は、変形体が部分部分に分裂することなく巨大なアメーバ体制を維持するのに役立つと考えられる。結合振動子モデルによれば、結合強度の低下に伴い反位相が現れることがしばしば見られるため、変形体における反位相の出現は、粘菌の振動機構の特殊な性質ではなく、結合振動子系における共通した特徴と考えられる。

5. 収縮リズムにおける2ⁿ倍周期状態の出現と発展⁹

従来変形体の収縮リズムは、単純なリミットサイクル振動であるとされてきた。これに対し、我々は、原形質がゲル化するような刺激、例えば機械刺激等によって、振動数が分岐することを見出した。収縮リズムは、刺激後、約4時間かけて元の同調したリミットサイクル振動(周波数 ω_0)に戻った。その過程で、 ω_0 をはじめ、 $\omega_0/2$ 、 $2\omega_0$ 、無振動状態、乱れた振動状態が現れ、しばしば1 hr時間以上続いた。統計的には、 $\omega_0/2$ と ω_0 が高頻度であった。 $\omega_0/2$ と ω_0 は、period-doublingやreverse period-doublingに見られる波形変化を示して、互いに遷移し合った。空間的に見ると、二つの振動状態($\omega_0/2$, ω_0)は、一つの変形体の中でしばしば分離共存した。 $\omega_0/2$ と ω_0 の空間的な相互作用を明らかにする目的で、それぞれの振動状態にある変形体を細胞融合させた。振動数は、多くの場合1対1もしくは1対2のどちらかの比に1 hr以上固定された。以上の様に収縮リズムは、非線形振動子に一般的に見られる、2ⁿ分岐や相互引き込みを示すこと、ならびに、その過程を自律的に制御して単一のリミットサイクル振動体になることがわかった。

6. 変形体の形状変化に伴う収縮リズムの多様な動的パターンの出現^{9,10}

変形体は、通常図Aの様に管状構造のネットワークとシート状部分とからなる。この形状は、(1)障害物への接触等によって図Cの様な斑なシート状に、(2)殺菌灯照射によって図Eの様な網目状に、(3)10 mMフェニルアラニンによって均一な厚みのシート状に、変化した。この時、細胞内顆粒は、形状Aでは樹枝状に分岐した管に沿って一回の収縮振動のうちに変形体全体に行き渡ったのに対し、その他の形状では、狭い範囲に限定された。この様に、管の網目構造は、原形質の細胞内混合、すなわち振動子間の相互作用を担う。それぞれの形状における収縮リズムの位相パターンの一例を図BDFに示す。形状Cでは、細胞内で一定の振動数を保ったまま、帯状の位相波が、太さを変えながら細胞全体にわたり伝播した。形状Eでは、様々なパターンが、約20 minおきに現れては消えたが、いずれもほぼ鏡面对称的であり、位相波は大域的に伝播した。均一なシート形状では、振動数がめまぐるしく変動し、動的パターンは、大域的に伝播する事のない数多くの小さな位相波からなつた。以上の様に粘菌は、振動子間の結合様式を変え、多様な動的位相パターンを作り出す。

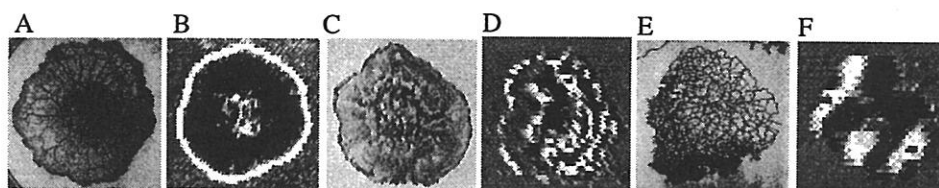


図. 変形体の様々な形状(A, C, E)と収縮リズムの位相パターンのスナップショット(B, D, F) 位相パターンの濃淡レベルは、変形体の厚みの増(黒)減(白)を表す。

6. 終わりに¹¹

以上により、1)引き込みや位相スイッチング現象という結合振動子系の性質に従い行動が制御されること、2)環境に依存して様々な秩序(化学パターンや収縮リズムの位相パターン)が形成されること、3)秩序形成の機構は、結合振動子系になぞらえると、振動子間の結合様式が自律的に制御されるという特徴をもつこと、が示された。

7. 参考文献

1. Nicolis, G. & Prigogine, I. (1993) 「複雑性の探求」 我孫子誠也・北原和夫訳. みすず書房 東京
2. Nakagaki, T., Umemura, S., Kakiuchi, Y., and Ueda, T. (1996) *Photochem Photobiol* 64, 859-862
3. Ueda, T., Mori, Y., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988) *Photochem Photobiol* 47, 271-275
4. Ueda, T., Mori, Y., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988) *Photochem Photobiol* 48, 705-709
5. Ueda, T. (1993) 「Oscillations and morphogenesis」 (Ed. by L. Rensing) pp.167-181. Marcel-Dekker Inc. New York.
6. Ueda, T., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988) *Protoplasma* [Suppl] 1, 51-56.
7. Ueda, T., Nakagaki, T., and Yamada, T. (1990) *J Cell Biol* 110, 1197-1102.
8. Nakagaki, T., and Ueda, T. (1996) *J Theor Biol* 179, 261-267
9. Nakagaki, T., and Ueda, T. (1997) in preparation
10. 中垣俊之、上田哲男 (1997) 細胞に心はあるかー細胞行動の心理・生理学の試みー「脳と心のバイオフィジクス」(松本修文編著) 共立出版 東京。(印刷中)
11. 上田哲男、中垣俊之 (1996) 粘菌行動の自己組織化ーPhase lockingと情報制御ー「自己組織化ー生物に見る複雑多様性と情報処理ー」(都甲潔・松本元編著) pp. 86-102, 朝倉書店 東京

目次

序章 はじめに	1
第1章 粘菌の行動レベルにおける刺激に対する応答性	
1-1 序	4
1-2 材料と方法	5
1-3 結果	7
1-4 考察	9
図表	11
第2章 細胞内化学パターンの自己組織化と行動発現	
2-1 序	21
2-2 方法	21
2-3 結果	22
2-4 考察	25
図表	27
第3章 収縮リズムの位相スイッチング現象による原形質流動と巨大アメーバ体制の調節	
3-1 序	36
3-2 方法	36
3-3 結果	37
3-4 考察	38
図表	40
第4章 収縮リズムの時間空間的な分岐と発展	
4-1 序	44
4-2 方法	44
4-3 結果	45
4-4 考察	47
図表	49
終章 終わりに	59
参考文献	60
謝辞	67

序章：はじめに

生物は、外界を積極的に感知し判断し行動する過程を自律的に営み、環境に適応して生き抜いている。単細胞生物も、脳や神経系を持たないにも拘わらず、このような高度な情報機能を創発している。細胞は生命の構造的機能的単位であり、物質と生命が会う場である。そこでは、おびただしい種類と数の分子が複雑な化学反応ネットワークで結びつき、多様なダイナミクスを生み出している。すなわち、細胞の自律的な情報機能は、これらの時空間ダイナミクスによって担われていると考えられる(Ueda, 1993)。例えば、アメーバ細胞のアクトミオシン系は細胞内で均一に分布するのではなく(Naib-Majani *et al.*, 1982; 福井, 1987)、細胞運動に伴い常に再配置される(Ogihara & Kuroda, 1979; Isenberg & Bottermann, 1976; Ishigami, 1986; Ishigami & Hatano, 1986; Ishigami *et al.*, 1987)。この様に細胞は、先頭部と後方部という役割分担を自ら作り出して、一つのまとまりあるシステムとして移動できる。本論文は、生物システムにおける機能創発の機構を、細胞の行動制御を例にとり解明することを目的とする。

生物の秩序は、どのように自己形成されるのだろうか？熱力学によれば、エネルギーや物質の出入りの無い系は、単にエントロピー最大の状態に落ち着くだけで決して巨視的な秩序を生み出さない。これに対し生物系では、物質の出入りや変化が絶えることなく起き続けている。プリゴジヌらは、この様な非平衡状態にある系の示す自己秩序形成を解明し、散逸構造と命名した(Nicolis & Prigogine, 1977)。具体的には、反応拡散系と呼ばれる、化学反応と拡散がカップルした系が挙げられる。例えば、呼吸鎖のモデル反応として考案された Belousov-Zhabotinski 反応(Winfree, 1980; Marek & Schreiber, 1991) や酵母抽出液からなる解糖反応系(Muller *et al.*, 1986; 1987)、またはミトコンドリアの懸濁液(Chay, 1981; Holmuhamedov, 1986; Jouaville *et al.*, 1995) 等である。ここでは、化学物質が不均一に分布し、螺旋や標的パターンをはじめとした様々な化学パターンが形成される。反応拡散系による散逸構造は、現実の生物においても観察されている。一例として、心臓細胞や血管内皮細胞等の様々な細胞におけるカルシウム波動(Goldbeter, 1996) が挙げられる。しかしながら、細胞内反応はシャレー中の反応とは異なり、原形質流動による拡はん効果、ならびにオルガネラや細胞内の構造に基づく空間の不均一効果が存在する。反応拡散系は、基礎的な理論モデルであり、その本質を抽象化することによって、さらに発展したモデルを構築できる。即ち、反応拡散系の秩序形成は、仮想的な微小反応槽で起こる非線形反応が、拡散により隣接反応槽と相互作用することによって生まれるといえる。つまるところ非線形要素とその相互作用が本質である。従って、拡散効果のみならず、様々な相互作用を検討すれば、モデルは自然に拡張される。その一つとして、近年、化学パターン形成におけるマランゴニ対流や電場効果(Snita & Marek, 1994) が検討されている。あるいは、より自由に相互作用を設定できるモデルとして、結合振動子モデル(Winfree, 1967; Kuramoto, 1984; 1991; Kaneko, 1990; 1993) やセルオートマトンが用いられている。

非線形要素の相互作用によると考えられる秩序形成は、細胞運動のみならず、細胞集団、

個体、群れ、生態系に至るまで、あらゆる階層の生命現象 (Murray 1989) に見られる。例えば、蝶の羽や貝殻 (Meinhardt, 1995)、熱帯魚の表皮 (Kondo & Asai, 1995) や哺乳類の毛皮等の模様、タマホコリやヒドラの形態形成 (Meinhardt, 1982)、心臓の拍動 (Guevara *et al.*, 1981; Glass & Mackey, 1988)、脳の活動電位 (Hayashi *et al.*, 1983; Skarda & Freeman, 1987; Singer, 1993)、視交叉上核における概日リズムの発現、免疫系ネットワーク (Segel & Jager, 1994; Segel *et al.*, 1995)、魚や鹿の群れ行動、植物や動物の生態的な住み分け、病気の流行と伝播、人口の変動、等々枚挙に暇が無い。これらの時間的空間的秩序は、それぞれ生理的役割を担っている。すなわち、生物は、要素の相互作用によって単なる要素の総和以上の機能を創り出していると予想される。そこで、現実の生命現象において、自己組織化現象と機能発現との関係を具体的に解明することが、重要となる。しかしながら、コンピューターシミュレーションの隆盛とは裏腹に、実験的な研究は決して多くはない。1952年に予言されたチューリングパターン (Turing, 1952) でさえも現実の化学系 (Castets *et al.*, 1990; Oyang & Swinney, 1991) や生物系 (Kondo & Asai, 1995) で検証されたのはごく最近である。これらの実験を遂行するためには、要素と全体の変動をつぶさに、しかも注目する生命現象に比べ十分速い時間で測定しなければならない。従って、実験系の選定が鍵を握る。

我々は、実験材料に巨大な単細胞生物である真性粘菌変形体 (the plasmodium of *Physarum polycephalum*) を用いる。変形体は、シート状に広がる原形質の集合体で、厚さは1~2 mm、大きさは数cmにも及ぶ (Alexopoulos & Mims, 1979)。変形体を切り分けるとそれぞれが独立した微小変形体となること、ならびに変形体同志が出会うと自然に融合して一つの個体になることから、変形体は自律的な要素が協調して一つのシステムを成しているといえる。あるいは、変形体のあらゆる場所で周期的な収縮弛緩運動が見られるため、変形体を収縮振動子の結合系と見なすこともできる。以上の特長を利用して、変形体の細胞内化学成分や収縮振動を、適当な空間分解能で個体全体にわたって測定できる。さらに、変形体は、様々な環境要因に応答してアメーバ様運動により動きまわる。この時間スケールは数分程度であるため、速すぎず遅すぎず実験上極めて都合が良い。本研究では、粘菌の持つ特徴を最大限に活かして、アメーバ様細胞の行動発現を細胞内化学パターン形成と収縮リズムの時空間ダイナミクスとに基づいて解明する。とりわけ、外界からの刺激が、どのように統合され、処理されて細胞運動に現れるかに注目する。

第一章では、行動レベルで見た刺激に対する応答性を論じる。まず光刺激に対する応答性が細胞の状態に依存して変わる事を示し、その意義を考察する。次に、周期的な光刺激が、収縮リズムを引き込むことによって走性を反転させることを示す。これは、結合振動子系の引き込み現象が行動発現を制御する事を示唆する。さらに、あちらこちらに餌があるというやや複雑な状況での粘菌行動を観察し、粘菌が高度な情報機能を持つことを明らかにする。続いて、第二章では、粘菌の形状、サイズ、移動速度、刺激応答に対応した細胞内化学パターン形成、具体的にはアデノシン三リン酸(ATP)の濃度分布、を示す。化学パターン形成を反応拡散モデルを用いて説明し、行動発現との因果関係を論じる。化学パターンは、破壊測定によって求められるためスナップショットしか得られない。これを克服するために、第三、

第四章では、画像処理法を利用して収縮リズムを時間空間的に測定する。第三章では、収縮リズムの位相スイッチング現象によってアメーバ体制や細胞行動が調節される事を示す。これは、結合振動子モデルにおける結合強度の変化として説明される。原形質の交換程度が結合強度に相当し、結合強度と位相スイッチングが巧みに合わさって細胞行動を調節する。第四章では、収縮リズムにおける多様な位相パターンの出現と分岐、発展を示す。振動子の結合様式に注目してパターンダイナミクスの機構を解明し、粘菌というシステムの特徴を結合振動子モデルになぞらえて考察する。以上により、1) 変形体に見られる多様な大域的秩序形成が反応拡散系や結合振動子系におけるパターン形成と見なせること、2) 引き込みや位相スイッチング現象という自己秩序形成能に従い行動が調節されること、3) 原形質の交換が振動子間の結合を担い、その結合の強度や範囲、方向性が全体のパターンを介してフィードバック制御されることでパターンが選択されること、を主張する。

第1章 粘菌の行動レベルにおける刺激に対する応答性

1-1 序

粘菌は、環境に依存して図1の様な生活環を営んでいる。例えば、光による孢子形成の誘導、乾燥による休眠体の形成誘導、気流による孢子の飛散、湿度による孢子の発芽誘導、栄養等による変形体の成長等である。巨大なアメーバ細胞である変形体は、光、化学物質、湿度、温度、電気等に敏感に応答する事によって、好適条件下へ移動し活発に増殖する。変形体の先端部はシート状に広がり、後方部では管状の網目構造が発達する。その管の中を原形質のゾルが周期的に向きを変えながら往復流動する (Kamiya, 1959)。流動の駆動力となる収縮リズムも細胞の至る所で観察される (Kamiya *et al.*, 1972)。この様な原形質流動に基づいて、変形体は移動する。行動発現の機構を研究するにあたり、本章では、まずはじめに様々な刺激に対する行動レベルでの応答性を以下の三点について調べた。

1) 光は、変形体の光行動 (走光性) や光形態形成 (孢子形成) を引き起こす (Daniel & Rush, 1962; Gray, 1938; Rakoczy, 1980; Ueda *et al.*, 1988b)。野外では、子実体は朽ち木の上などの明るいところでよく見つけられる。従って、光行動と孢子形成の光受容系は互いに関連していると予想される (Rakoczy, 1980; Schreckenbach, 1984)。しかし、これらを同じ生物で直接比較した報告は、わずかに *Physarum nudum* に見られるのみである (Rakoczy, 1962; 1965; 1966; 1973)。我々は、第一に刺激光の波長依存性を明らかにするために、光行動と孢子形成の作用スペクトル (Hartmann, 1983) を調べた。次に、光行動に対する環境因子の変化の効果を調べた。そして、1) 光行動と孢子形成の両方が同様な光波長領域に応答したこと、2) 紫外領域から赤外領域にわたり4つの有効な波長領域が存在すること、3) それらの感度は環境条件によって波長選択的に変動すること、を示す (Nakagaki *et al.*, 1996)。

2) 粘菌の収縮リズムは、リミットサイクル振動と考えられる。従って、引き込み同期をはじめとしたいくつかの非線形振動特有の性質を示す (Kuramoto, 1991; 1994; Matsumoto *et al.*, 1986; 1988; Miyake *et al.*, 1992; 1993; 1996)。粘菌の行動は、元をたどれば収縮リズムによる原形質流動に基づくため、周期的な刺激に対してどのような行動をとるか極めて興味深い。そこで光の周期的刺激に対する応答を調べた。そして、1) 収縮リズムは周期的光刺激に引込まれること、2) 引き込みの起こる周波数帯で負の走光性が逆転若しくは減弱することを示す。結局、粘菌は、引き込み現象を利用して行動発現するといえる。

3) 野外では複数の環境要因が空間的にも時間的にも複雑に重なり合っている。例えば、ゆらゆら揺れる木漏れ日の下で凸凹した朽ち木の所々が露で濡れている様な状況である。野外ではごく自然に見られる複雑な状況で、粘菌はどのように行動するのだろうか? 厳しい生存競争を乗り越えて生き抜くためには、複雑な状況での総合的な判断こそが重要であろう。しかしながら、粘菌のみならず、単細胞生物の行動を複雑な状況で調べた例はほとんど無い。そこで、第一歩として、格子点状に離散的に置いた餌に対する粘菌の行動並びに形状変化を観察した。粘菌は、限られた量の原形質で効率良くたくさんの餌に接触することを示す。

1-2 材料と方法

生物材料の培養と調製

真性粘菌 *Physarum polycephalum* の変形体 (系統 HU554xHU560、親株を South Carolina Biological Supply より入手) を、スクレロチウムより再生し、オーツフレークを与えて暗所にて約 2 週間培養した (Camp, 1936)。実験に先立って、変形体を、新しいプレーン寒天ゲル (Difco 社の Bacto Agar 1 % のみ) に移し (40 x 25 cm²)、12 時間自由に這わせた後、胞子形成と走光性の作用スペクトルを調べる実験に供した。全ての培養ならびに実験は、特にことわらない限り 25 °C で行った。

培養した巨大な変形体 (25 x 35 cm²) のシート状の先端部をメスで切り取り (1 x 1 cm²)、プレーン寒天ゲル (1%) を敷いたシャーレ (直径 6 cm) の中に置いた。1~2 時間経って、直径 3 cm ほどの円形に広がった変形体を周期的光刺激の実験に供した。

胞子形成の作用スペクトルの決定

上記の様に這っている変形体のシート状の先端部をメス等で切り取り (3 x 3 cm²)、プレーン寒天ゲルをしいたシャーレ (直径 6 cm) に移した。暗所にて 110 時間放置後、単色光を 2 時間照射した。刺激光の単色性は、分光特性半値幅で 12 nm であった。これらの操作は、赤外光 (赤外発光ダイオード GL537, 最大波長 950 nm, 半値幅 45 nm, 東芝製, 東京, 日本) の下で赤外線ゴーグル (型番 NVR2015, 日本電気製, 東京, 日本) を掛けて行った。光強度は、発光ダイオード (型番 S1226-44BQ, 浜松フォトニクス社製, 浜松, 日本) を利用した手製の光度計を用いて測定した。この光度計は、あらかじめ、理化学研究所特製の光度計 HK-1 と比較され更正された。照射終了後 24 時間目に、黒色多頭形の子実体が形成されているかを観察した (Gray & Alexopoulos, 1968)。実験は、各波長の各光強度で少なくとも 10 回繰り返した。以上の実験は、岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所大型スペクトログラフ施設 (Watanabe *et al.*, 1982) にて実施した。

光行動の測定

上記の様に拡がっている変形体のシート状の先端部を切り取り (1 x 1 cm²)、1% プレーン寒天ゲルを敷いたシャーレ (直径 6 cm) に置いた。暗中で 3~4 時間経て、変形体は直径 2~3 cm ほどの円形に拡がった。変形体の半分に、上から垂直に単色光を 1 時間 30 分間連続照射した。この光照射は、上記の様に岡崎大型スペクトログラフにて実施した。変形体は、この光照射に対し、逃げる (暗い方に集まった)、寄る (明るい方に集まった)、応答無し (明るい方にも暗い方にも均等に拡がった) という三種類の応答を示した。光行動指標 (photobehavior index) は、次式により計算した。

$$\{ (\text{逃げた個体数}) - (\text{寄った個体数}) \} / (\text{全個体数})$$

つまり、忌避行動が強くなると光行動指標は大きくなり、逆に誘因行動が強くなると負の値をとる。どの条件においても、それぞれ少なくとも 20 回は試行した。

変形体の入ったシャーレを、温度可変プレートの上に置き、温度条件を変えた。

紫外線照射による収縮リズムの抑制効果の測定

周期的収縮は、コンピューター画像処理法により観察した (Ueda *et al.*, 1986)。図2は、測定装置の模式図である。変形体全体に下側から赤外光 (約920 nm) をあて、変形体を透過して来た光をビデオカメラで撮影した。透過光の強さは、主に原形質の厚みを反映した。このようにして、収縮リズムに伴う厚みの変化を時間空間的に測定した。変形体の半分に、上側から垂直に単色の紫外線をあてた。この照射は、上記の様に岡崎大型スペクトログラフにて実施した。図3は、輝度レベルの典型的な時間変化を示す。照射により、振動の振幅が減少した。照射前後の振幅をそれぞれ、 A_0 , A とし、抑制効果 (%inhibition) を次式により計算した。

$$(1 - A/A_0) \times 100$$

各条件で5回実験を繰り返し、平均値を求めた。

周期的な光刺激下の収縮リズムの測定

図4Aに、光強度をサイン波的に変動させて変形体に照射し、同時に収縮リズムを画像処理法により測定する装置の模式図を示す。光透過度が0%から90%まで連続的にかわるneutral densityフィルターを、コンピューターで制御し、光強度を様々な周期でサイン波的に変えた (最大強度時 4×10^{14} photons \cdot sec $^{-1}$ \cdot cm $^{-2}$ 、最低強度 4×10^{12} photons \cdot sec $^{-1}$ \cdot cm $^{-2}$)。冷光源 (型番Fiber Optic Light Source、ニコン、東京、日本) からの白色光を刺激光とした。変形体のすぐ上に設置した硝子板の上に、赤外フィルター (赤外より短波長をカットオフする) を置き、刺激光があたる部位を図4Bの様に全体または1/3に調節した。収縮リズムは、上記の方法に準じて赤外光により観察した。光センサーで刺激光の変動をモニターし、画像処理用のコンピューターに変形体の画像とともに取り込んだ。変形体の縁から少し内側にはいった部分の収縮リズムを図4Bの様に平均し、解析した。

収縮リズムの周波数変動と画像処理法による光行動の測定

時刻 t における収縮振動 $I(x, y, t)$ のドリフト成分 $DI(t)$ と振動成分 $\Delta I(t)$ とを、

$$DI(t) = (1/2) (1/T) \int_{t-T, t+T} \iint_A I(x, y, t) dx dy dt,$$

$$\Delta I(t) = \iint_A I(x, y, t) dx dy - DI(t)$$

と定義した。ただし、 $T=60$ secであり、 A は、細胞内の平均化する領域を表す。図5Aは、 $\Delta I(t)$ を模式的示す。刺激の前と後のpeak-to-peak時間を、それぞれ約5回(ω_0)と8回(ω)の振動で平均した。 ω_f は、刺激振動数を表す。図5Bは、局所的な刺激をした場合の $DI(t)$ を模式的に示す。 $DI(t)$ の低下は、原形質の集積に対応した。刺激前後の傾きの差 $\tan\theta^\circ$ を光行動指標とした。この指標の正又は負値は、それぞれ誘因または忌避行動に対応した。

複数の餌に対する粘菌行動の観察

四角い容器 (15 x 15 cm 2) の中にプレーン寒天ゲルを1.5 cm程の厚さで敷いた。その寒天の

上に、餌のオーツフレーク(0.5 x 0.5 cm²)を1.5 cmマスの格子点上の一つずつ置いた。大きな変形体(25 x 30 cm²)のシート状の先端部をメスで切り取り(2 x 2 cm²)、餌を載せた寒天ゲルの中央部に置いた。2~3時間後、粘菌は広がり近くの餌に接触した。少しずつ餌を食べながら広がって、餌にありついていく様子を観察した。

1-3 結果

光忌避行動の作用スペクトルと比較した孢子形成の作用スペクトル

図6は、孢子形成頻度を、*photon fluence rate*の対数に対してプロットしたものである。光の効果が見られる場合、典型的には、孢子形成は、対数*photon fluence rate*に比例した。弱いUVC(UVCは、200-280 nmの紫外線を指す。ここでは、図中の275 nm光を指す。)照射は、孢子形成を促すが、強いとむしろ阻害した。我々の実験条件では、変形体は、暗所でも18%程の頻度で孢子を形成したので、それ以下のレベルは光による効果ではないと判断した。よって、我々は、20%レベルを光効果のいき値とした(図6の破線)。

孢子形成の作用スペクトルを図7に示す。各波長におけるいき値*photon fluence rate*の逆数を*photon effectiveness*と定義し、黒丸印で示した。白丸は、用いた最大の*photon fluence rate*を示すが、孢子形成を促さなかったことを表す。比較の為に、光忌避行動の作用スペクトルを、破線で重ね書きした(Ueda *et al.*, 1988c)。孢子形成と光忌避行動の作用スペクトルは、赤外部で孢子形成が100倍も高感度であることを除けば、ほぼ同様であった。

飢餓状態に伴う光忌避行動の波長選択的变化

図8は、飢餓状態と栄養状態の光忌避行動の比較を示す。4つの光波長領域である、UVC(near 270 nm)、UVA(near 350 nm)、青(near 460 nm)、近赤外(near 750 nm)における、光行動指標を対数*photon fluence rate*に対してプロットした。飢餓状態では、UVAに対する応答性のみが15倍程度低くなったが、他の応答は影響されなかった。変形体は、飢餓状態でも光から逃げた。

温度変化による光忌避行動の波長選択的变化

図9は、栄養状態下の変形体の二つの異なる温度下における光忌避行動を示す。31℃では、青色光の光応答曲線のみが、約12倍低感度側へシフトした。青色光に対する応答のみが変化したし、他は変化しなかった。このことより、青色光とUVAに対する応答は異なる光受容系であると結論できる。

収縮リズムの抑制に対する作用スペクトル

変形体の収縮リズムは、UVC照射のみによって阻害された。*photon fluence rate-response* 曲線を、図10aに示す。阻害作用は、255 nmから290 nmにわたり、*photon fluence rate*の増加にともなって増加した。これらの阻害曲線は、飢餓状態でも栄養状態でも変わらなかった。70%の阻害効果に対する作用スペクトルを、図10bに示す。270 nm付近に単一のピークが見られ

た。

変形体全体に光刺激した時の収縮リズムの引き込み

図11は、段階的に変えられた刺激周波数下での、収縮リズムの周期の時間変化を示す。横軸は、振動の回数である。刺激前、数秒の揺らぎを伴った平均92秒の周期であったが、86秒周期の光刺激を開始（図中の破線）した直後、揺らぎの減少と共に速やかに86秒周期になった。12回程振動した後に、周期が95秒前後に延びて、周期の引き込みはひとりでに外れた。しかしながら、刺激周期を103秒に変えると、収縮リズムは再び引込まれた。さらに刺激周期を伸ばして124秒にすると、周期の引き込みは見られなかった。以上の様に、変形体は、外場の振動数の変化に対しては直ちに追々して引き込まれるが、一つの引き込み状態には長くは留まらないことが分かった。

図12は、様々な外場振動数に対する収縮リズムの周波数変動を示す。収縮リズムは、外場振動数が近い時（振動数の比で0.8から1.2）に限って1対1の周波数比で引き込まれた。それ以外では、周波数が高くても低くても収縮リズムの振動数は、定常光刺激の場合と同様に15%程低くなった。

局所的な周期的光刺激による光行動の変調

図13は、様々な周波数で局所的な周期的光刺激をした時の、変形体の光行動を示す。刺激周波数が収縮リズムの周波数に近い時に限り、変形体は、しばしば誘因行動を示した。このような周波数帯は、引き込み同調が見られる周波数帯とほぼ一致し、ゆえに、外場への引き込みによって行動が変調されるといえる。引き込み周波数帯以外では、定常光刺激の場合と同程度の忌避行動が現れた。この時、位相勾配は必ずしも先端から後方にかけて定常的に形成されず、向きを変えたり、曖昧になったりした。

多数の餌に効率よく接触するための細胞形状の準最適化

粘菌は、広がって餌に接触すると餌を覆い尽くし、餌を覆ったまま残りの原形質で新たな場所に広がった。図14は、このような状態を示す。格子点状に並べられた白い部分が、一つ一つのオーツフレイクを表し、その間に所々薄く白く見える糸状もしくは不定形の模様が粘菌の原形質である。一度接触した餌には原形質を残し続け、餌と餌の間には徐々に変形体糸が発達し、ついには一本の太い変形体糸のみになった。変形体は、細胞のどこか一ないし二ヶ所から集中的に扇型に広がり、新たな餌に接触すると広がるのを止めて餌に群がった。餌と餌の間を繋ぐ変形体糸は、はじめ変形体が這ってきた道筋をトレースしていたが、多くの餌に接触するに伴い再配置が行われ、2,3日経って全ての餌に接触するころには、図15の様にきれいな格子状になった。このような変形体糸のネットワークは、餌の配置を変える事によって変化し、場合によっては二つの個体に分裂する事さえ観察された。

1-4 考察

環境に依存した走光性の変調と4つの光受容系

野生の環境では、子実体はしばしば明るい場所で発見されるので、正の走光性が効いていると考えられてきた。しかし、このような推測に反して、正の走光性ではなく、光忌避行動のUVA選択的抑制(図8)や他の走性、例えば走湿性や走水性が効くようだ(Rakoczy, 1963)。それにもかかわらず、孢子形成と光忌避行動は同様の波長、例えばUVA、UVC、青、近赤外であり、近赤外を除いて感度も同様である、によって誘導される(図7)。従って、同様もしくは同一の光受容体が、両者の光信号伝達機構を担っているようである。

紫外と青色の両領域における最も可能性のある光受容体は、フラビン蛋白質である(Watanabe, 1995; Haeder & Tevini, 1987; Ahmad & Cashmore, 1993; Lin *et al.*, 1995a; 1995b)。しかしながら、変形体の光忌避行動は、環境変動により波長選択的に影響された(図8, 9)、UVCは、収縮リズムに対して特異な効果を示した(図10)。一つの可能な説明は、変形体の持つ黄色色素、これは光に対して光受容体をシールドするのであるが、が示す吸光度の変動に基づくとするものである(Rakoczy, 1971; 1973)。しかしながら、この可能性は我々の実験条件ではありそうもない。なぜなら、吸収スペクトルは、光忌避行動の作用スペクトルほどには変化しなかったからである。ゆえに、これらの光受容系は独立に作用しているように見えるから、変形体には4つの異なる光受容体が存在するということになる。

シダ植物の一種*Pteris vittata*において、われわれの結果を支持する報告がある。つまり、赤色光に誘導される孢子の発芽は、青色と紫外光によって阻害され、この阻害効果はさらに呼吸阻害剤によって拮抗されるが、UVCのみは拮抗されない(Sugai & Furuya, 1990)。この事は、青色と紫外光の信号が一つの光受容体分子によって単純に伝達されないことを示唆する。では、一体フラビン以外の他のどんな光受容体分子が作用しているのだろうか? 最近の研究では、ミドリムシ*Euglena*には3ないし4つのタイプの光受容体、つまりフラビン蛋白質、プテリン結合蛋白質、ロドプシン様蛋白質、その他の蛋白質が存在する事が示唆されている(Galland *et al.*, 1990; Brodhun & Haeder, 1990; Schmidt *et al.*, 1990; Sineshchekov *et al.*, 1994)。青色と紫外光の光信号は、粘菌変形体でも、これら複数の光受容体が複合した光受容系によって伝達されると考えられる。

引き込みによる光行動の発現

周期的な強い光刺激に対する引き込みによって光忌避行動が反転した。この光は、変形体に対し強い毒性(Rakoczy, 1980; Schreckenbach, 1984)を示す。にもかかわらず、忌避行動が変調されたことは、引き込み現象が行動発現にいかに関わっているかを示す。この事は、同様な結果が走熱性(Matsumoto, 1988; Miyake, 1996)でも報告されていることから、刺激の種類にもよらないことが分かる。粘菌の行動発現は、非線形振動子の動的性質に基づくことが明らかになった。

多数の餌に接触するための細胞形状の準最適化

変形体系は原形質が勢い良く往復流動する経路であるので(Kamiya, 1959)、餌の上にある

原形質同志は、少量の原形質で効率良く（より長い距離を強く）連絡する。そして、新たに餌を探索する時には、粘菌は特定の一，二箇所から集中的に拡がった。このようにして、粘菌は、一つの個体体制を維持しながら、効率良く餌にありついた。さらに、この変形体糸のネットワークは、全体の餌の配置に依存した最適状態を持つと考えられる。最終的なネットワーク構造は、一見無駄が少なく（図15）何等かの計算原理に基づいて準最適解を求めていると予想される。具体的な計算原理は不明だが、この性質は、今後の粘菌行動の研究の発展性を示唆する。なぜなら、粘菌は複雑な状況に置かれてはじめてその秘めた能力を発揮したのだから、様々な複雑な状況を設定してやれば粘菌の潜在能力をさらに引き出せるだろう。

以上の様な行動の基本的な性質を踏まえて、行動発現の機構を以下の章で解析する。

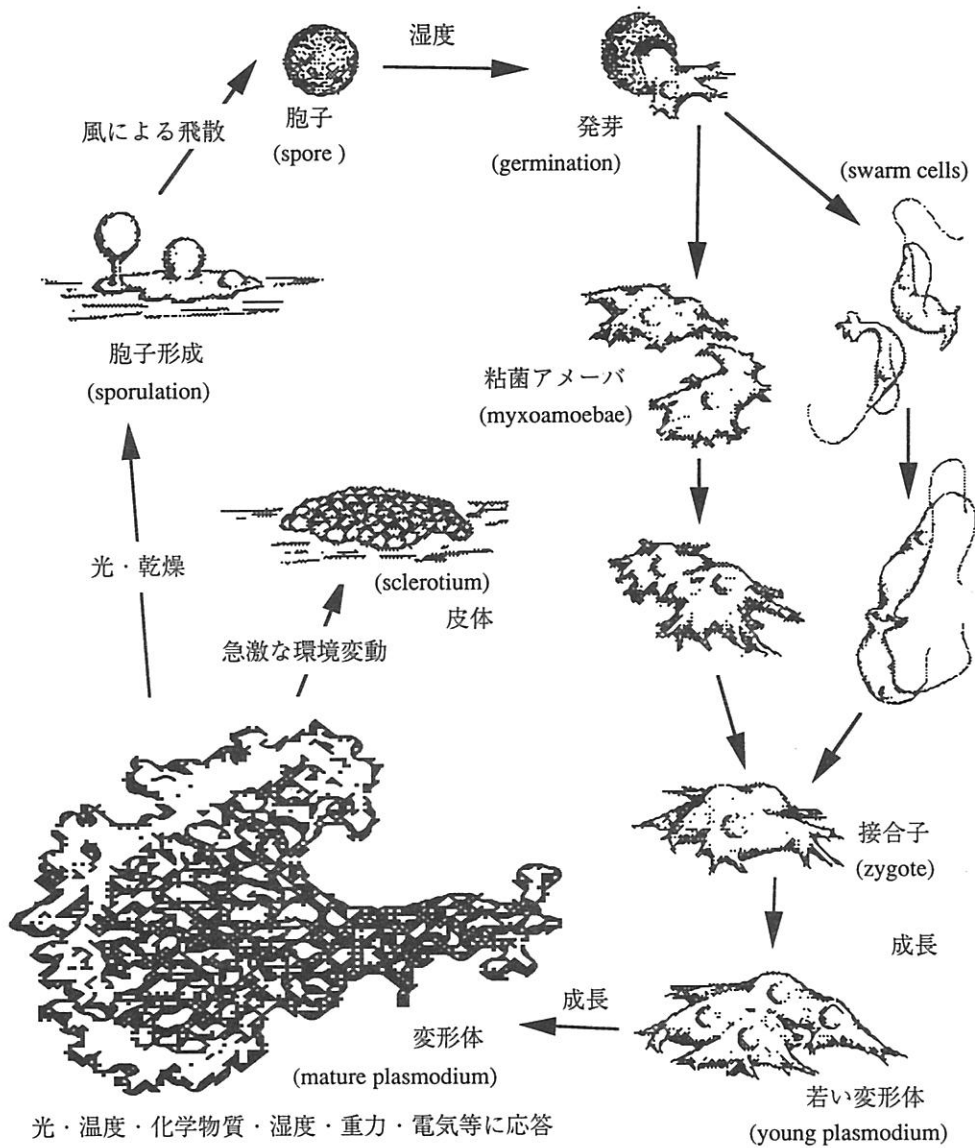


図1 真性粘菌 *Physarum polycephalum* の生活環

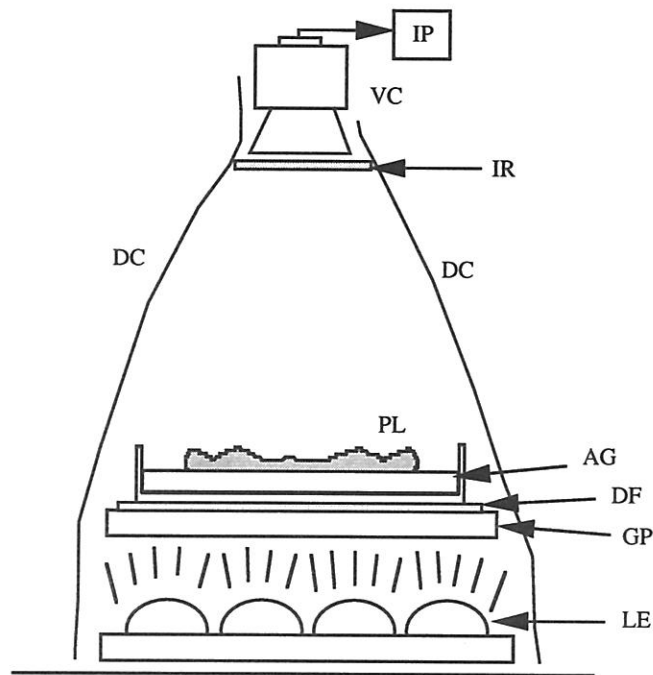


図2. 収縮リズムの動画像処理法による時間空間的測定法

装置の模式図。変形体 (PL) の下側から変形体に影響のない赤外光を照射し、透過光をビデオカメラ (VC) で撮影した。収縮リズムに伴う原形質の厚み変化が、透過光の強度変化にあらわれる。ビデオカメラのまえにフィルターを置き、刺激光を遮断した。IP; 画像処理ユニット, IR; 赤外より短波長を透過させないフィルター, DC; 暗幕, AG; 寒天ゲル, DF; 観測光を散乱させるためのトレーシングペーパー, GP; ガラス板, LE; 赤外発光ダイオード。

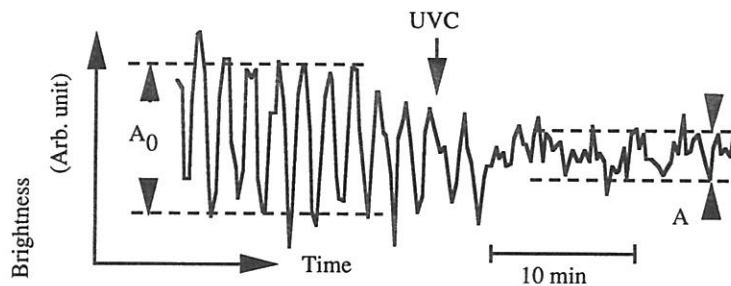


図3. UVC照射前後の典型的な収縮リズムの時間変化

変形体の収縮リズムは、UVC照射によって抑制された。その効果は、 A/A_0 という照射前後の振幅の比により定量した。

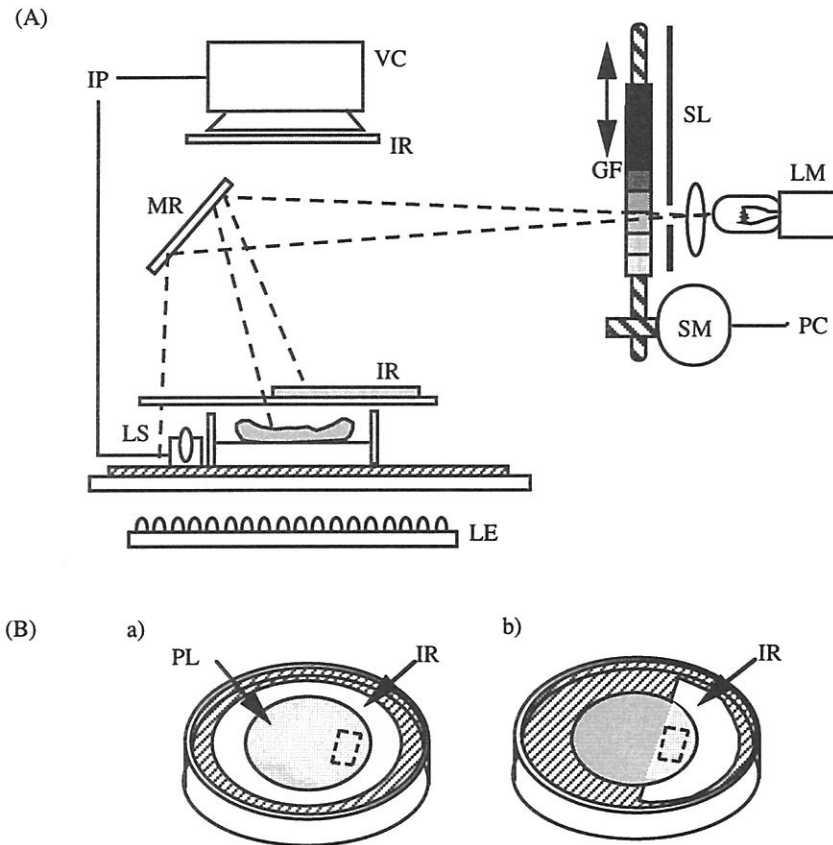


図4. 光強度をサイン波的に変動させて変形体に照射しながら収縮リズムを測定する装置(A)と光照射(B)の模式図

(A) 連続的な光透過度 (90% から 0%) をもつ neutral density フィルター (GF) を、コンピューター制御 (PC) されたステッピングモーター (SM) で往復運動させ、冷光源 (LM) からの白色光の強度を自在に変えた。刺激光の強度を光センサー (LS) でモニターし、赤外線 (LE) で観察した粘菌の画像とともに画像処理用コンピューター (IP) に取り込んだ。VC; ビデオカメラ, MR; 鏡, IR; 赤外線より短波長をカットするフィルター, SL; スリット。

(B) 図 a と b は、全体的照射と局所的照射(1/3)の様子をそれぞれ示す。破線で囲まれた部分の平均的な収縮リズムを測定した。PL; 変形体, IR; 照射部位。

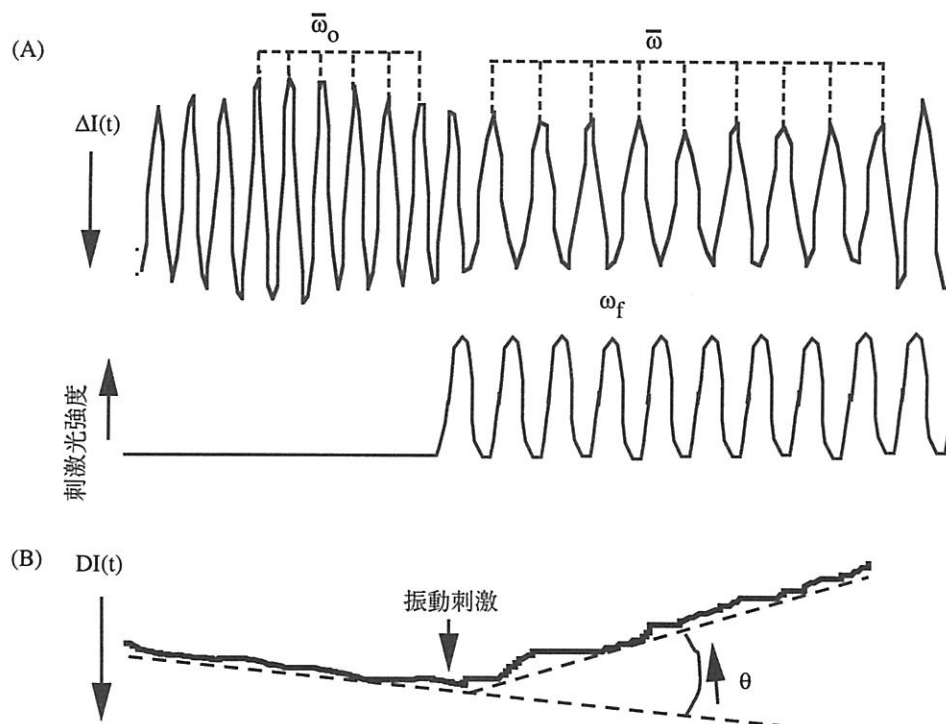


図5 収縮リズムの振動数(A)と光行動(B)の測定方法

(A) ΔI 振動の模式図。決められた場所(図4B)の透過光強度 I を平均化した。ドリフト成分 DI との差をとり、振動成分を強調した。刺激の前(ω_0)と後(ω)のpeak-to-peak時間を測定し、それぞれ5回、8回の振動で平均した。 ω_f は、刺激振動数である。

(B) 局所的な光刺激をした場合のドリフト成分 $DI(t)$ の時間変化の模式図。 $DI(t)$ の増大は、原形質の正味の減少を示した。刺激による傾きの変化 $\tan \theta$ を光行動指標にした。正または負値は、誘因と忌避行動をそれぞれ示す。

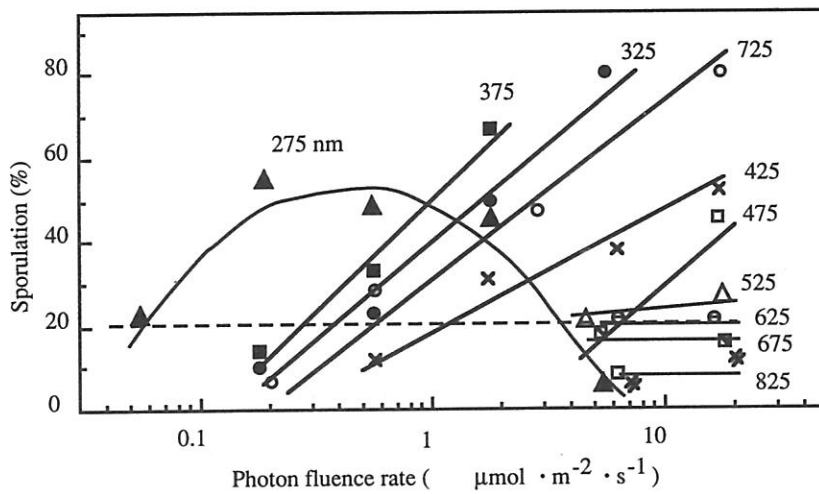


図6. 胞子形成の fluence rate 依存性

破線は、暗中での胞子形成率 (20%) を表す。胞子形成誘導の最低 fluence rate は、各波長における fluence rate - response curve と 20% レベルとの交点により決められた。

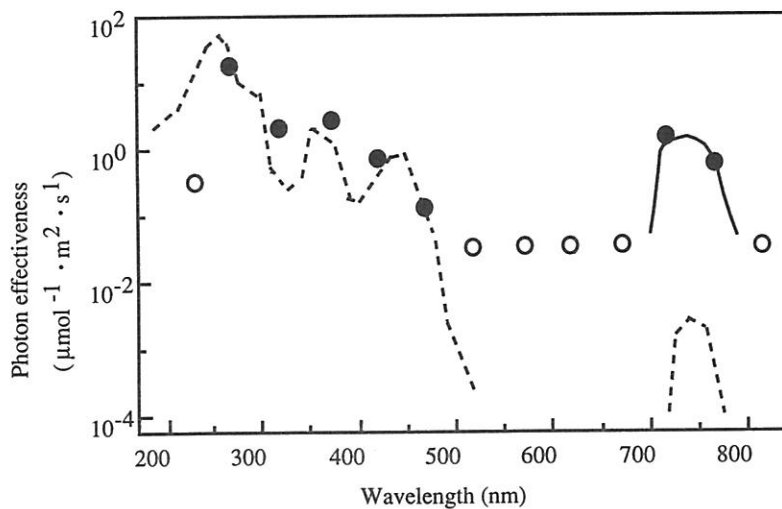


図7 胞子形成と光忌避行動の作用スペクトル

黒丸印と実線：胞子形成；白丸印：試験された最大 photon fluence rate の逆数（胞子形成を誘導しなかった）；破線：光忌避行動 (Ueda *et al.*, 1988c より転載)。変形体は、良く知られた UVA と青色光に加えて、UVC や近赤外光照射後にも胞子を形成した。

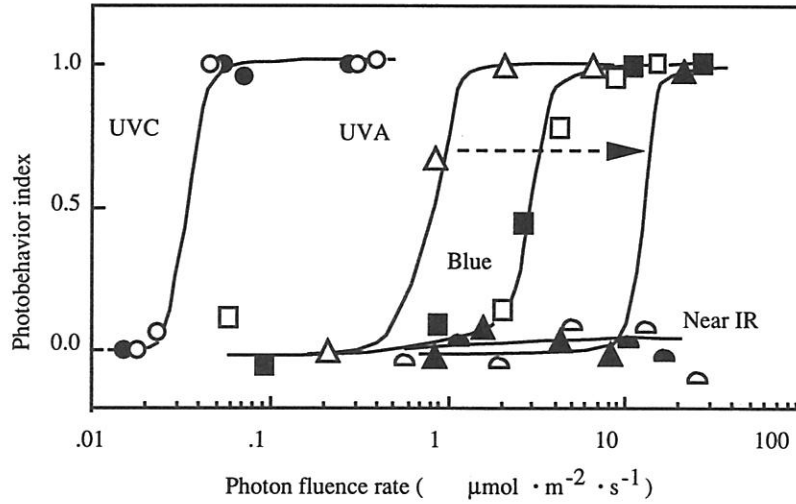


図8. 栄養状態（白抜き印）と飢餓状態下（黒印）での光忌避行動の波長選択的抑制
 光行動指標 photobehavior index は、 $\frac{\text{逃げた個体数} - \text{寄った個体数}}{\text{全実験個体数}}$ で定義され、UVC (270 nm, 丸印), UVA (350 nm, 三角印), 青色 (460 nm, 四角印), 近赤外 (750 nm, 半円印) において、対数 fluence rate に対してプロットされた。光行動は、常に忌避行動であり、近赤外光に対する応答は極めて弱かった。UVA に対する応答性は、飢餓状態で低下したにもかかわらず、UVC と青色光に対する応答性は飢餓状態でも栄養状態下と同じであった。

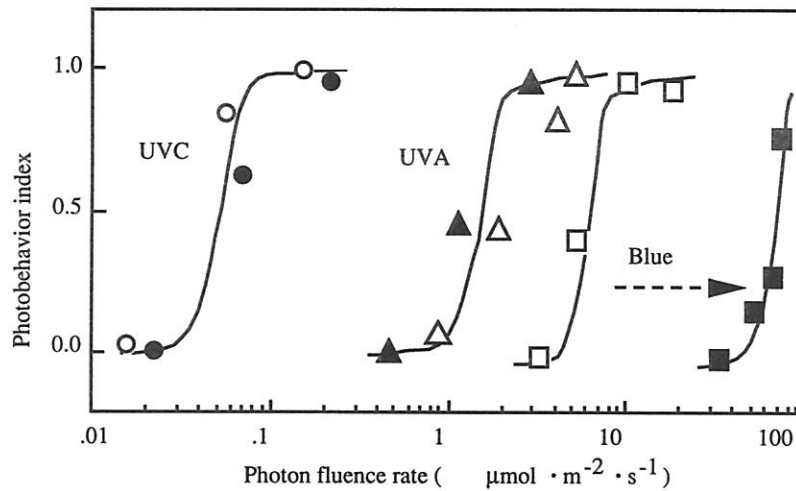


図9. 温度変動による光行動の波長選択的抑制
 白抜きと黒い印は、それぞれ 25 °C と 31 °C の条件を表し、丸印はUVC を、三角印はUVA を、四角印は青色をそれぞれ表す。青色光に対する応答のみが、高温下で弱まった。

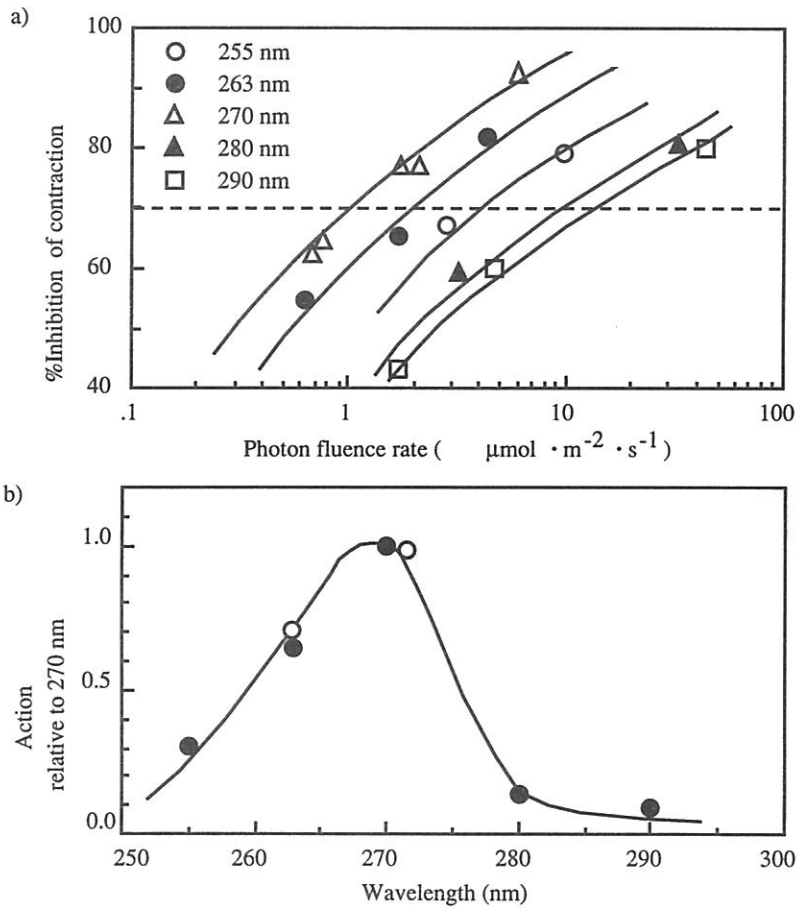


図10. 変形体における収縮リズムの抑制に対する作用スペクトル

(a) UVC領域における収縮リズムの抑制にたいする fluence rate - response 曲線。
 (b) 70% 抑制に対する作用スペクトル (黒丸印。270 nm の値を 1 とした。)。270 nm に単一のピークを示した。同様の応答性が、飢餓状態の変形体で見られた (白丸印)。

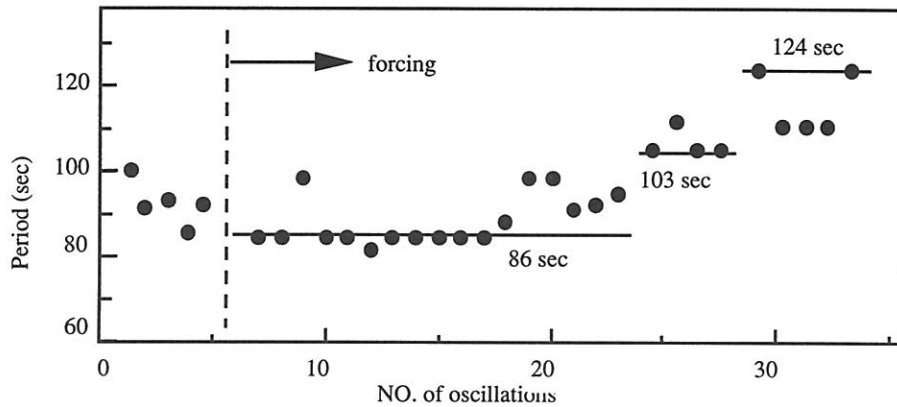


図11. 変形体全体に周期的光刺激をしたときの収縮リズムの周期の時間変化
 光強度をサイン波的に振動させ、周期を86 sec, 103 sec, 124 sec (実線で示した) と変えた。点線で示したところより光照射を開始した。横軸は、観察を始めてからの収縮振動の回数を示し、縦軸は、その振動のpeak-to-peak時間を周期として示す。平均92 secの周期で振動している変形体に、光刺激の強制振動を始めると、すぐさま周期引き込みが起こった。12回程振動した(約17分)後に、引き込みが外れたが、外場の周期を変えるとまた引き込みが起きた。周期の差が大きくなると、引き込みは起きなくなった(124 sec)。

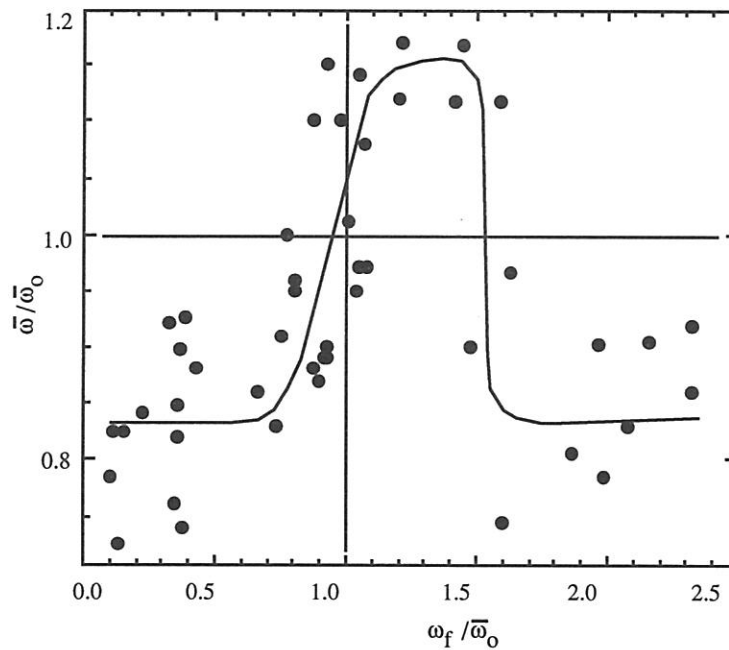


図12. 光刺激の振動数に対する収縮リズムの引き込み周波数帯
 変形体全体に周期的光刺激(振動数 ω_f)を開始した後、約8回分の収縮振動の振動数 (peak-to-peak時間より求めた) を求めて平均($\bar{\omega}$)し、刺激前の収縮振動の振動数(ω_0)で割った。 ω_f と ω_0 が近いときに限り、かなり揺らぐもののほぼ1対1の周波数引き込みが見られた。

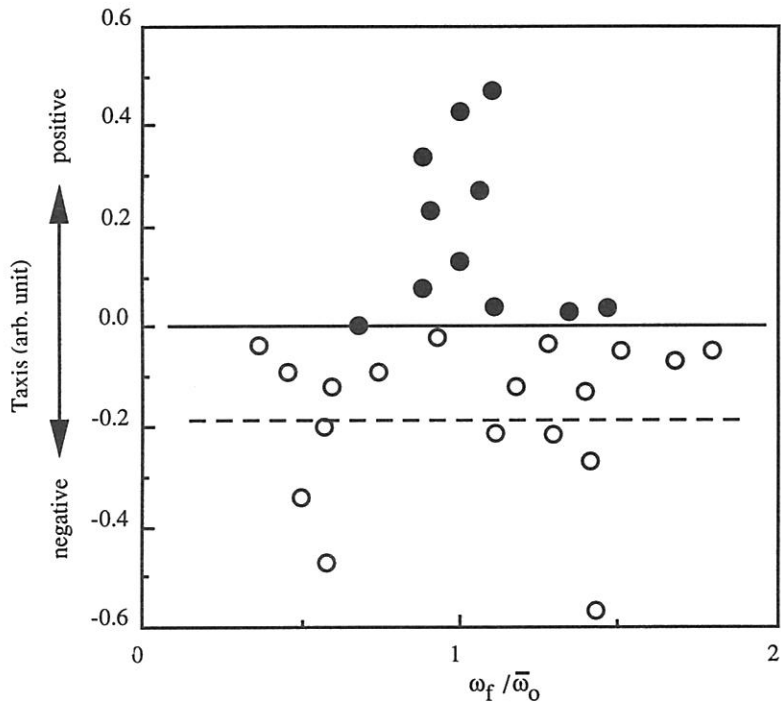


図13. 局所的な周期的光刺激による光行動の変調

円形に拡がる変形体の約 1/3 に、周期的光刺激をした。 ω_f と ω_0 は、刺激振動数と刺激前の収縮振動の周波数（刺激直前の約 5 回の振動を平均した）とを、それぞれ表す。図12に示した引き込み周波数帯に対応して、光行動指標が誘因行動側にシフトした。点線は、定常光刺激下における、光忌避行動の強さを示す。

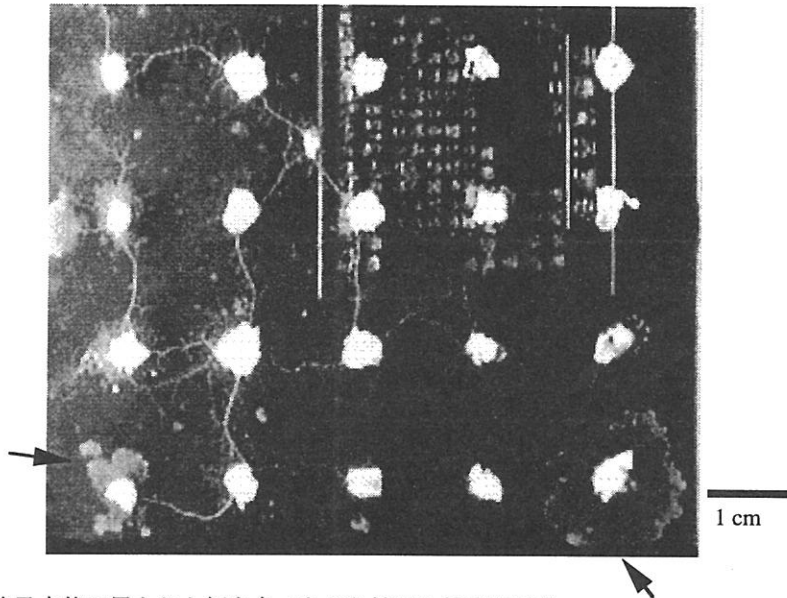


図14. 格子点状に置かれた餌を食べながら広がる粘菌変形体
 格子点状に並べられた白い部分が、一つ一つのオーツフレーク（餌）を示す。オーツフレーク間の糸状もしくは不定形の白い模様が変形体の原形質である。一ないし二箇所（矢印で示した）で、集中的に扇形に広がった。

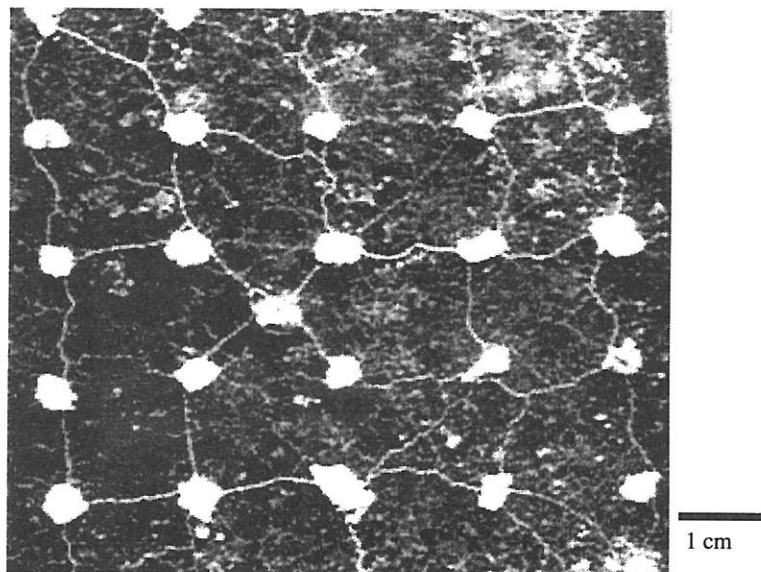


図15. 格子状に配置された餌の間に変形体糸を発達させた変形体
 始めに作られた変形体糸は、新たな餌に接触するに連れて再配置され、最終的にほぼ格子状になった。

第2章 細胞内化学パターンの自己組織化と行動発現

2-1 序

変形体の安定した収縮リズムは、収縮系とカップルした代謝振動に基づくと考えられている (Kamiya *et al.*, 1957ab; 1958; Abe *et al.*, 1958; 1959; Ogihara, 1982; Satoh *et al.*, 1982; 1984; Baranovski, 1985; Achenbach & Bottermann, 1986ab; Ueda *et al.*, 1986; Mori *et al.*, 1986; Ueda *et al.*, 1987)。今までに、ATP (Yoshimoto *et al.*, 1981a), H^+ (Nakamura *et al.*, 1982), Ca^{2+} (Ridgway & Durhan, 1976; Yoshimoto *et al.*, 1981b), NAD(P)H (Mori *et al.*, 1987), cAMPやcGMP (Akitaya *et al.*, 1985), phospholipid (Ueda, 1995) が、収縮リズムと同期して、しかもそれぞれ固有の位相差で振動する事が明らかにされている。さらに、ATPや H^+ では、収縮リズムに対応して変動するスケールに比べ10倍以上も大きい濃度差が、細胞内に存在する事が示唆されている (Nakamura & Kamiya, 1985; Ueda *et al.*, 1986)。本章では、このような大きいスケールで細胞内ATPの空間パターンが、行動発現に対応して自己形成されることを示す。様々な状況下でのATPパターンを調べ、化学パターン形成の生理的役割や形成機構を考察する。

2-2 方法

生物材料ならびに画像処理法による収縮リズムの時間空間的測定

1-2節の方法に準じた。ただし、収縮リズムの空間二次元的な測定の際には、処理時間の短縮のため、30秒前との輝度レベルの差を求め、白黒のドットパターンで表示した。原形質が厚くなるほど、より黒いパターンにした。

移動速度の測定

変形体を、濡れたろ紙 (Whatmann, NO.1) を載せた1%プレーン寒天ゲル(22 x 33 cm² の容器)の上を一晩暗所にて自由に這いまわせた。翌朝、いくつかの容器から変形体の先端部分をろ紙ごと切り取り、それらをあわせてさらに新たな濡れたろ紙の上に置いた。2~3時間後、それらは融合して巨大な変形体となって広がり、進行端は約60 cmにも及んだ(Ueda *et al.*, 1988b)。このような大きな変形体の先端部を30片以上 (2 x 1 cm²) にろ紙ごと切り取りわけ、被験化学物質が混入した寒天ゲルをしいた細長い容器 (2 x 20 cm²) の端にそれぞれ置いた。変形体は、数時間にわたり定常速度で伸びた。プレーン寒天ゲルでの移動速度は、秒速3~4 μm だった。実験は、一つの化学物質の希釈系列について二重に行い、かつ二回繰り返し平均値をとった。

直流電場での移動速度の測定

巨大な変形体(22 x 33 cm²)の先端部を数片切り取り、プレーン寒天ゲルをしいた細長い桶 (2 x 20 cm²)の中央部に置いた。2~3時間後、変形体は、融合して一団体となり、桶の両方向に同じように伸展した。この様な両極性の変形体を用いて、移動運動に対する直流電場の電

極依存的な効果を調べた。直流電流は、桶の両端に置いた一対の銀・塩化銀電極を通じて供給された(Ueda *et al.*, 1990)。進行端の位置は、時間に比例して進んだので、定常的な移動速度を印可電流の強さの関数として表した。それぞれの直流電場に対して、実験を5回繰り返し平均値を求めた。

細胞内ATPの空間分布の測定

粘菌を約50片の小片(0.2 x 0.2 cm²)にメスで切り分け、各小片からATPを熱水抽出(100 °C, 10 min, 10 mM Tris-HCl buffer, pH 7.3)した。遠心分離後(30,000 g, 20 min, 4 °C)、上清をATP定量に、沈澱を蛋白質定量に、それぞれ供した。ATP量を蛋白質量で除しATP濃度とした。ATPの定量は、ホタルの発光系であるルシフェリン-ルシフェラーゼ系を用いた化学発光法によった(Beutler & Baluda, 1964)。蛋白質の定量については、沈澱を水酸化ナトリウム(1 N, 0.7 ml)で抽出(1 hr, 十分攪拌した)し、遠心分離(30,000 g, 20 min)後、上清をLowry法により行った。

2-3 結果

化学物質による移動速度の抑制

多くのアミノ酸がmM濃度で変形体の移動を抑制した(図16A)。その抑制は、濃度に依存し、次のようなHill型の式に適合した(Ueda *et al.*, 1988a)。

$$V = V_0 / (1 + (K C)^n)$$

VとV₀は、化学物質がある時(濃度はC)と無い時の移動速度をそれぞれ表す。Kとnは、それぞれ化学物質に対する感度と協同性を表すパラメータであり、それぞれのアミノ酸の値を、表17にまとめた。n=1/2という低い協同性は、側鎖に陰電荷を持つアミノ酸(アスパラギン酸、グルタミン酸)や、ベータ位の炭素に極性の有る嵩高い基がついたアミノ酸(スレオニン、チロシン)で見られ、一方n=2という高い協同性は、側鎖に陽電荷を持つアミノ酸(アルギニン)や、ベータ位の炭素にメチル基がついたアミノ酸(イソロイシン、バリン、プロリン)で見られた。さらに、光学異性体であるD型セリンは、L型セリンに比べ10倍も低感度でかつ、協同性も低かった。簡単にいえば、Hill型の式に現れる協同性と感度は、側鎖の電荷状態とアルファ位またはベータ位の炭素における分子の配座状態に強く影響される。いくつかのアミノ酸(表中のグループII)は、部分的にしか移動を抑制しなかった(60から90%)。

一方、糖類や塩類は、高濃度でのみ移動を抑制した(図16B)。移動速度vは、濃度の上昇にしたがい直線的に減少した。つまり、

$$V = V_0 (1 - C / Kc)$$

に適合した。パラメータKcは、完全な抑制をする濃度を表す。第一近似として、Kc値は溶液の浸透圧に関連する。従って、糖類や塩類の効果は、溶液の熱力学的性質を通じて現れる。

変形体における直流電場による電極選択的移動抑制

電流は、変形体の移動を陰極側でも陽極側でも抑制した(図18)。電流が増加するにつれて、

移動速度Vは、はじめ徐々に、そして臨界電流値 I_{crt} 付近で急に低下した。臨界値を超えると移動は完全に抑制された。抑制効果を表す経験的な式は、次の様に臨界現象の様であった (Ueda *et al.*, 1990)。

$$V/V_0 = (1 - I/I_{crt})^a$$

ここに、 V_0 は $I=0$ における移動速度であり、また指数 a は0.21であった。陰極側の I_{crt} 値は、陽極側に比べほぼ1.4倍大きかった。従って、陽極側の抑制が陰極側より強いので、変形体は陰極側へ寄っていく様に見えた。

粘菌のサイズや形状に対応したATPパターン

図19は、一つの方向に移動する変形体の細胞内ATP分布パターンを示す。(A)の様に、幅2 cmの細長い容器中を這っている時、ATPは、(B)の様に先端が高く後方に向かってなだらかに減少するという不均一な分布をとった。同じ形をしたより大きな変形体(約20倍)では、(C,D)の様に相似的な分布パターンを示した。つまり、ATP濃度は、先端からの絶対的な距離ではなく、細胞全体のどこにあたるかに対応するので、細胞内の位置情報を担うことができる。濃度差は、先端部と後方で約2倍であり、絶対値で15 $\mu\text{g}/\text{mg protein}$ だった。これは、変形体の含水量から換算して、0.3 mM程であり、収縮リズムに同期した変動量に比べ10倍以上も大きく、ATP変動は少なくとも二相的であることがわかった。

円形に広がる粘菌(図20A)では、(B)の様に周辺部が高く内側が低いというATPパターンを示した。一方向に移動する場合と比較すると、進行の前方から後方にかけてATP濃度が減少する点で一致した。図21Cbは、完全に閉じこめられた時の変形体の写真である。原形質が全体にわたって散らばり、形態的に見て前後という極性が失われている。ATPの空間分布(図21Ca)は、極性を失った凸凹なパターンになっている。壁を一部取り外し出口を作ると、原形質が出口にあつまってきた(Bb)。先頭部分の形成に伴い、前方から後方にかけてのATP勾配も形成され(Ba)、分布パターンに極性が現れた。狭い通路をあけると、変形体は扇状に広がり(Ab)、自由に移動する場合と同様なシート状管状構造を呈した。ATP分布は、外側の縁に沿ったうねりが見られるものの概して先端部が高かった(Aa)。様々な形状の変形体において、ATP勾配は、細胞の進行方向と常に一致した。

移動速度の抑制に伴うATPパターン

先に述べたように様々な化学環境によって移動運動は抑制された。移動速度が、コントロール(プレーン寒天ゲル上を移動する場合)の20%程度に低下した時のATP分布を図22に示す。分布パターンは、アミノ酸や糖や塩等をはじめとした化学物質の多様性にも拘わらず、二つの型に分けることができた。一つは、閉じこめられた時(図21C)のような凸凹なパターンであり、フェニルアラニン、セリン、グリシン、システイン等の各アミノ酸存在下で見られた。一つ一つの凸凹は、コントロールで見られるような二倍に及ぶ濃度差を示すものもあり、個体全体としての極性が曖昧になっていた。高ATP濃度のところでは、大抵、原形質が集合してシート状となり、全体の進行方向とは無関係に、小さな扇型をした新たな進行先端

を形成した。もう一つは、先端部のATP濃度が低下した全体に平坦なパターンであった(図22)。このパターンは、トリプトファン、イソロイシン等のアミノ酸、グルコース等の糖類、塩化カリウム等の塩類がそれぞれ存在している場合に見られた。このような平坦パターンを呈する場合において、移動の速さは、図23に示すように、先端部のATP濃度の減少とともに低下し、先端ATP濃度が後方部と同レベルになったところで、完全に抑制された。この関係を表す曲線は、化学物質の種類によらず一定で、ATP濃度15 µg/mg protein付近に臨界濃度ATP_cを持つ協同現象的な次式にしたがった。

$$V / V_0 = a (ATP - ATP_c)^{0.7}, \quad a \text{ は定数}$$

結局、移動抑制されたときのATPパターンは、凸凹型にしる平坦型にしる細胞極性は曖昧であった。さらに、ATP勾配の大きさと移動の速さ是对応しており、移動抑制はATPパターンの極性の消失という一つの視点で理解できる。

細胞融合や走性発現に伴うATPパターンの変動

自発的な細胞融合に伴う、形状とATP分布の変動を図24に示す。融合する前、進行している先端部の原形質は厚く、ATP濃度は高い(a)。融合直後、しかしながら、先端部の原形質はそこから移動して周辺部に集まった(Bb)。この時、ATP濃度は、中央部で低く両端や周辺の一部で高かった(Ab)。さらに時間が経つと、原形質は全体的に散らばって明確な先端部が無くなり、ATPパターンは極性を持たず波状になった。融合過程に対応して、ATPパターンが形成された。

図25Aに示す様に、一方向(図中の左の方へ)に進んでいる変形体の先端部に、局所的に青色の光をあてると、変形体は被刺激部位から逃げた。刺激5分後、ATPの極性分布は、被刺激部位のごく近傍でやや乱れた(b)。20分後にはその乱れが、細胞全体にわたる巨大な凸凹となっており、パターンの極性はすっかり消失した。このように、ATPパターンは、走光性発現に伴って、20から30分程度の時間スケールで全く別のパターンに推移した。

細長い桶の中を二つの方向に広がっている変形体に、0.4 mAの直流電場をかけた場合のATPパターン変動を、図26に示す。電場が無い時(a)、ATPは、両端の先端部が高いという(変形体は図中の右側と左側に進行している)左右対称的な濃度パターンを示した。電場をかけて1時間後(b)、変形体が陽極側へは伸展しなくなるのに伴い、ATPパターンは、非対称的な波状のうねりパターンになった。

ATPの変動の過程を図27に示す。電場をかけた直後(b)、ATPは陰極側より陽極側でより減少し、多少の凸凹はあるものの全体的に陰極側が高い勾配パターンを形成した。時間が経つにつれて、陽極端のごく内側部分と陰極端とのATP濃度が、減少し、ATP濃度の大きな二つの山が現れた(c,d)。以上のように、走電性発現に伴うATPパターン変動は、大雑把には極性を示すものの常に変動し続けており動的かつ複雑であった。この事は、ATPパターンが、単に行動発現の結果として現れるのでは無い事を意味しており、さらに、ATPパターンのみならず他の細胞内化学成分のパターン形成も行動発現に重要な役割を持つ事も同時に示している。

ATPパターンに対応した収縮リズムの位相パターン

図28は、円形に広がる変形体の収縮リズムを示す。ごく周辺部と内側部分で位相がそれぞれ揃いかつ互いに逆の関係になっていた。一方向に進んでいる時も(図29A)、同様にごく先端部と後方で位相が揃いかつ逆の関係であった。ATP濃度の高い所と低いところで収縮リズムの位相がそれぞれ揃った。さらに、しばしば、ATP勾配に沿って、収縮リズムの位相が伝播した。

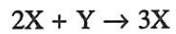
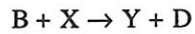
化学環境により移動が抑制された時の収縮リズムの位相パターンは、ATPパターン同様に二つの型に分類できた。しかも、ATPパターンの型と対応した。つまり、ATPが平坦パターンの時、収縮パターンでは、図29Bの様に、位相の揃い方はコントロール(プレーン寒天ゲル上を移動する場合)と同様だが振幅が低下した。一方、ATPが凸凹パターンの時、収縮パターンでは、振幅はコントロール程度に見られるが位相がばらばらになった(C)。このようにATPパターンと収縮リズムの位相パターンは密接に関係している。

図30は、走光性発現に伴う収縮リズムの位相パターンを示す。円形に広がる変形体の周辺部に局所的に青色光をあてた。被刺激部位から逃げるに従い(図中の右に移動)、対称性の高いパターンが崩れ非対称的なパターンへと推移した。つまり、非刺激部位で刺激後直ちに位相が逆転し、さらに周りから位相が流れ込んだ。走光性発現に伴い、ATPパターンも収縮パターンも変動した。

2-4 考察

行動発現のメカニズムとATPパターンがどう関わっているか考察してみよう。これまで見てきたように、粘菌変形体の移動や原形質の細胞内輸送は、細胞内ATP分布に密接に関係しており、あるいは支配されている。現実には、高濃度のATPを細胞内微小注入すると、原形質は注入部位に向かって流れてくる。さらに、変形体糸の張力は、0.2 mMのATPで最大となる釣り鐘型の用量作用曲線を示すため(Ueda *et al.*, 1978)、高濃度部位の収縮力は弱い。なぜなら、粘菌のATP濃度レンジはほぼ15 - 30 $\mu\text{g}/\text{mg protein}$ であり、95 mg water / mg protein という含水量で換算して0.3 - 0.7 mMに相当するからである。ゆえに、結局、ATPレベルが高い先端部、つまり相対的に収縮力が弱い方へ原形質が押し出されて、細胞が移動することになる。

一体どのようにして様々なATPパターンが粘菌変形体の中で自己形成されるのだろうか? 熱平衡から遠く離れた系における散逸構造dissipative structureの生成機構は(Nicolis & Prigogine, 1977)、粘菌の化学パターン形成に適用できそうである。理論的には、自己触媒的な性質を持つ化学反応は、振動しかつ、拡散によって空間的に相互作用すると、空間的パターンを形成する。その様な系は、反応または拡散定数や境界条件に依存して、一つのパターンから別のパターンへ分岐することができる。良く知られた例では、形態形成におけるアクチンベクター-インヒビターモデル(Meinhardt, 1982)やブラッセレーターモデル(Nicolis & Prigogine, 1977)等がある。ここでは、ブラッセレーターを取り上げて、ATPパターンと比較してみよう。ブラッセレーターは、次のような反応系



である。AとBは供給されることにより、またD、Eは除去されることにより常に一定に保たれるという非平衡の条件をおく。この時、中間生成物X、Yのバランス方程式は、

$$\partial X / \partial t = A - (B + 1) X + X^2 Y + D_1 \nabla^2 X$$

$$\partial Y / \partial t = B X - X^2 Y + D_2 \nabla^2 Y$$

と表される。いろいろな境界条件と反応速度定数に対して、二次元空間での解が得られている。図31は、Xの濃度の空間分布を示している。この化学パターンのいくつかは、実際に観測されたATPパターンとよく似ている。最近、時空間パターンの形成が、解糖系 (Hess, 1983; Muller *et al.*, 1986; Sinjo *et al.*, 1995) やミトコンドリアけん濁液 (Chay, 1981; Holmuhamedov, 1986; Jouaville *et al.*, 1995) などの無細胞系で示されている。これらの無細胞系において細胞応答をまねることができるのかもしれない。

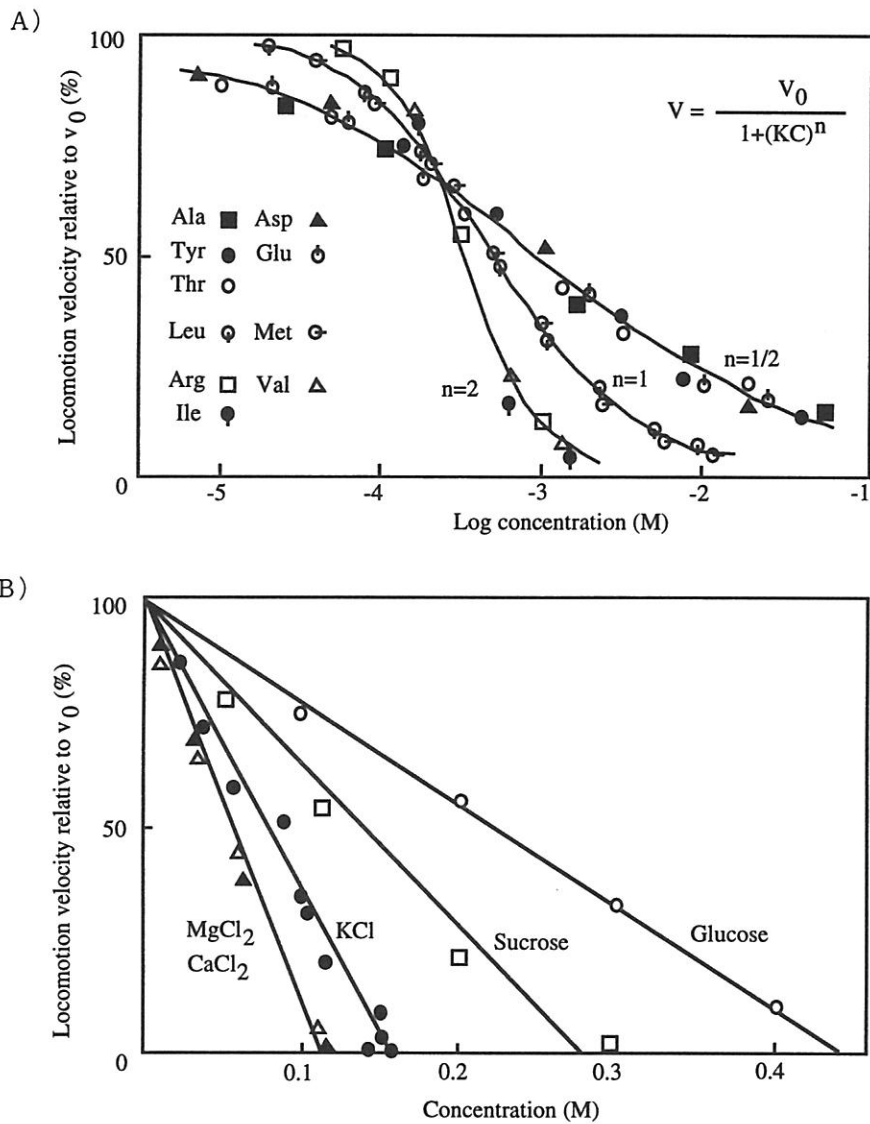


図16. 化学物質の濃度の関数として表した変形体の移動速度

(A) アミノ酸存在下での移動速度。濃度は対数で表示した。実線は、Hill 型の式 $V/V_0 = 1 / \{1 + (KC)^n\}$ による曲線である。 V , V_0 , C は、移動速度、化学物質濃度ゼロでの移動速度、化学物質濃度を、それぞれ表す。

(B) 塩類や糖類存在下での移動速度。塩類や糖類は、アミノ酸に比べ高濃度で移動を抑制した。濃度の増加に伴い、移動速度は、直線的に低下した。

Group I		Group II		
Amino acids	Concentration (M) at 50% inhibition (= 1/K)	Amino acids	Concentration (M) at 50% inhibition	
n=1	Tryptophan	1.5×10^{-4}	Cystein	1.5×10^{-4}
	Lysine HCl	1.5×10^{-4}	Serine	1.5×10^{-4}
	Methionine	6×10^{-4}	Histidine	6×10^{-4}
	Leucine	6×10^{-4}	Glycine	1.0×10^{-3}
	Asparagine	8×10^{-4}		
	Glutamine	1×10^{-3}		
n=2	Isoleucine	5×10^{-4}		
	Arginine	5×10^{-4}		
	Valine	5×10^{-4}		
	Proline	5×10^{-3}		
n=1/2	Alanine	6×10^{-4}	Phenylalanine	1×10^{-2}
	Glutamic acid	6×10^{-4}		
	Aspartic acid	7×10^{-4}		
	Threonine	6×10^{-4}		
	Tyrosine	1×10^{-3}		
	D-Serine	2×10^{-3}		

表17. Hill の式 におけるパラメータ n と K の一覧表

グループ I の化学物質は、移動を完全に抑制したが、グループ I I の化学物質は、部分的にし
か抑制しなかった。Hill の式は、 $V/V_0 = 1 / \{1 + (KC)^n\}$ であり、V, V_0 , C は、移動速度、化学
物質濃度ゼロでの移動速度、化学物質濃度を、それぞれ表す。

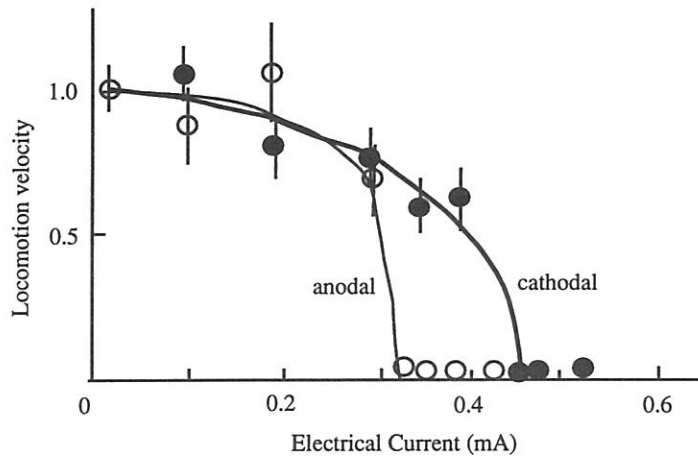


図18 電流による変形体の移動阻害
 白丸印と黒丸印は、陽極側と陰極側の移動速度をそれぞれ表す。Mean \pm s.d.(N=5)

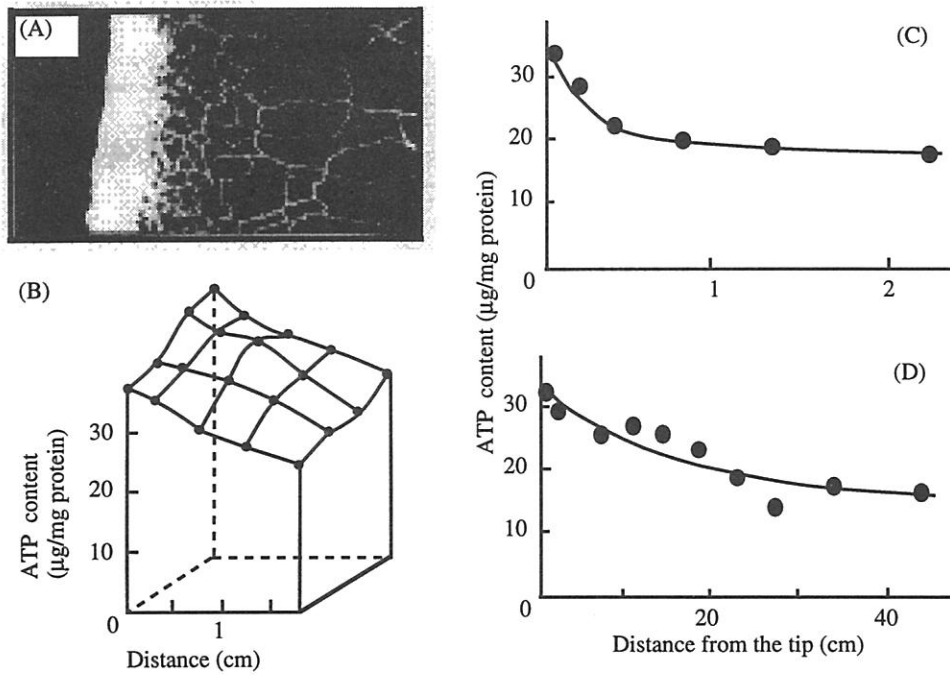


図19. 一方向に移動する変形体の細胞内ATP濃度の極性分布
 (A) 図の左方向に移動する変形体の形態。(B) 図(A)に示した変形体の空間二次元的なATP分布。
 (C, D) 小さい変形体と大きい変形体のATP分布。

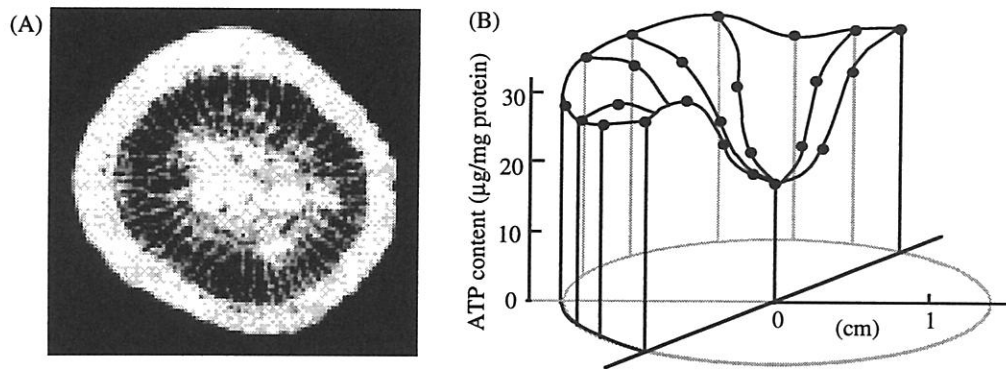


図20. 円形に広がる粘菌の写真 (A) と ATP 分布 (B)
ATP 濃度は、先端で高く中心部で低いという分布パターンを示した。

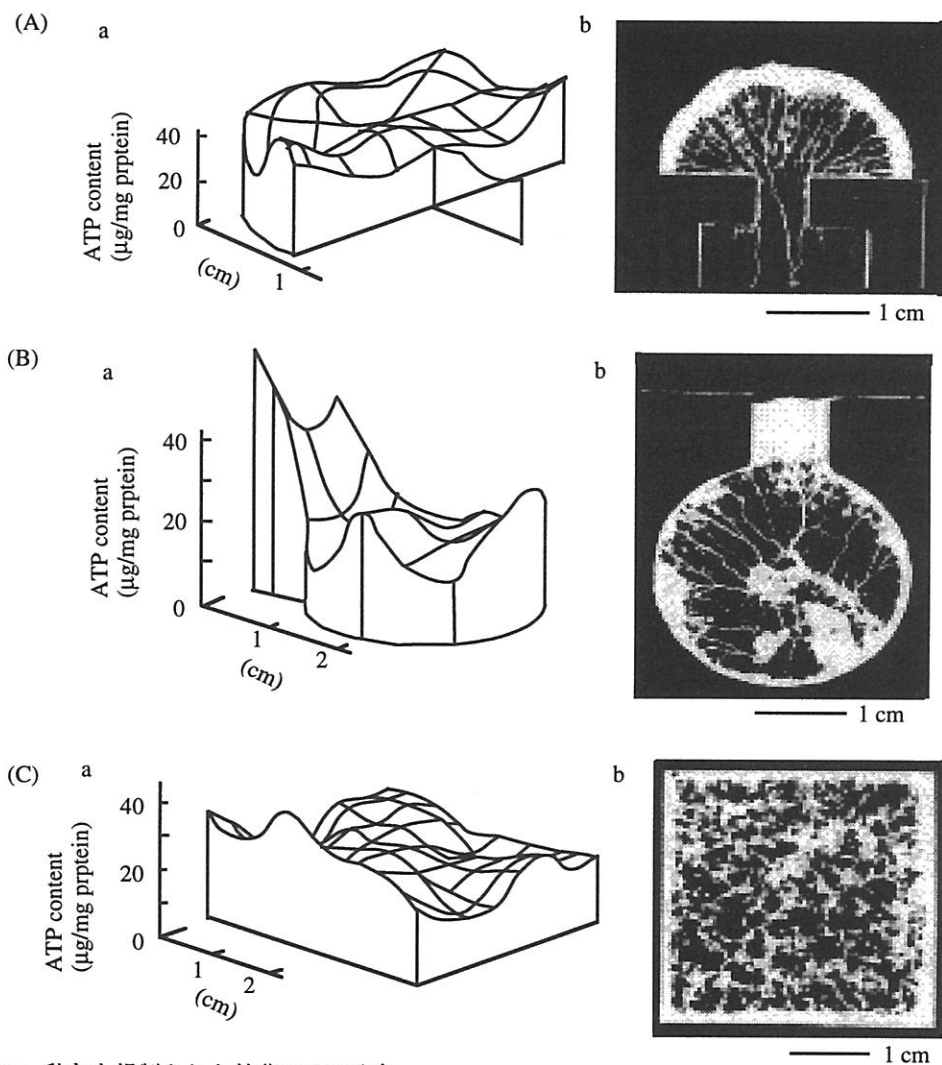


図21. 動きを規制された粘菌のATP分布

粘菌が扇状に広がる場合 (A b)、ATP 分布は周辺部でうねっているが概して先端部が高いパターンである (A a)。狭い通路を通り抜ける場合、原形質が先端に多く集まり (B b)、その時 ATP 分布は先端部で著しく高いパターンを示した (B a)。完全に閉じ込められると、原形質が散らばり (C b)、ATP 分布は方向性のない凸凹なパターンになった (C a)。

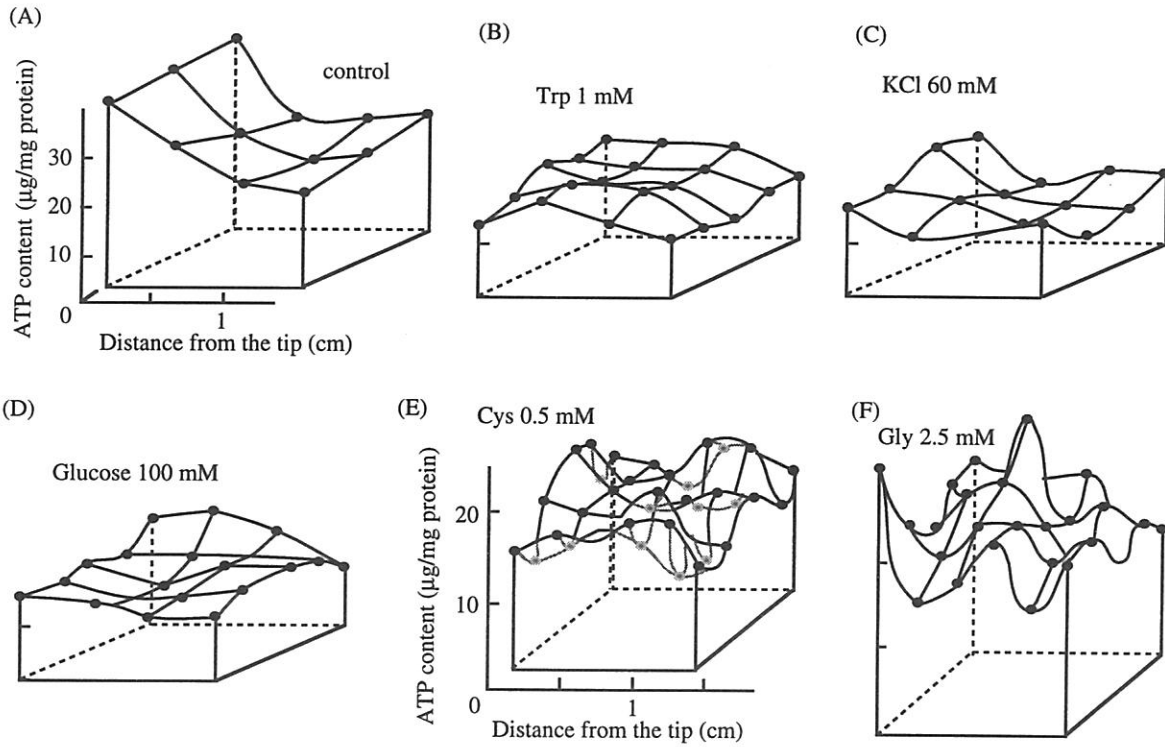


図22. 化学物質により移動抑制された粘菌でみられるATP分布パターン

相対移動速度がコントロールの約20%に抑制された時、ATP分布は、平坦型と凸凹型の二つに分かれた。平坦型は、tryptophane (B) などのアミノ酸、KCl (C) などの塩類、glucose (D) 等の糖類、凸凹型は、cysteine (E) や glycine (F) などのアミノ酸で見られた。(A) はコントロール（化学物質がない時）を示す。(A-D), (E-F) は、それぞれ同じATP濃度目盛りである。

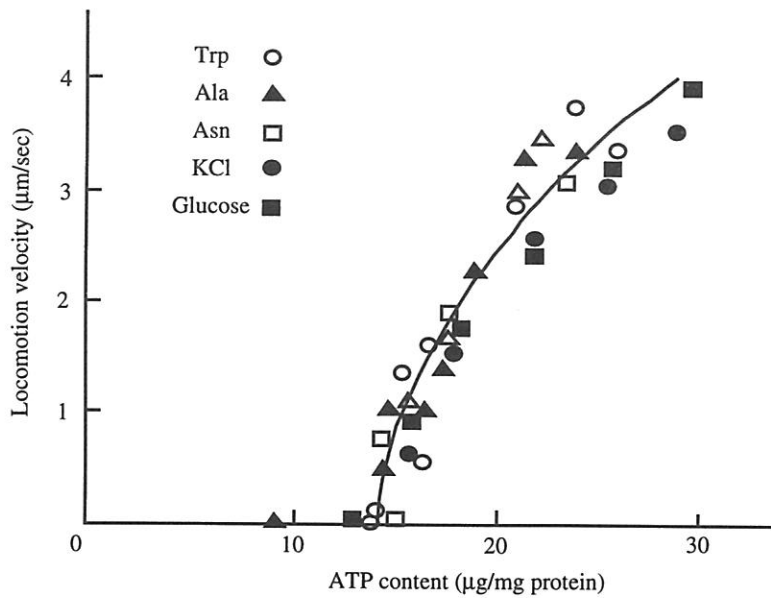


図23. 先端ATP濃度と移動速度の関係

粘菌の移動速度 (V) と先端部のATP濃度との関係は、 $V_0 \propto (\text{ATP} - \text{ATP}_{\text{crt}})^d$ に従った。 d は約0.7であり、 ATP_{crt} (臨界濃度) は15 $\mu\text{g}/\text{mg protein}$ であった。

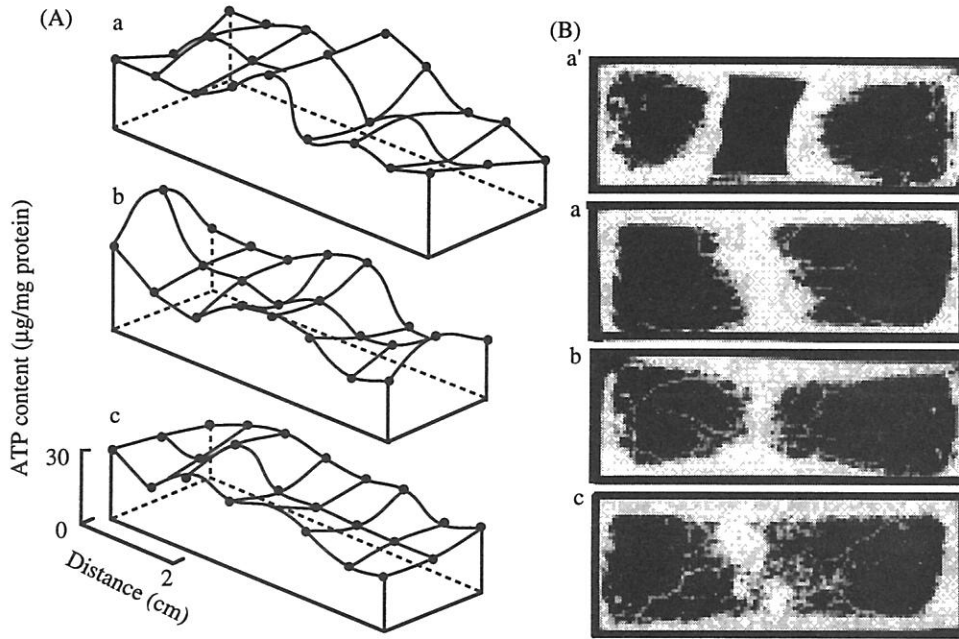


図24. 細胞融合に伴うATP分布の変動 (A) と形状変化 (B)

融合に伴い、中央部にあった原形質 (B a) が、両端に移動し (B b)、全体に散らばった (B c)。ATP分布は、衝突直後では中央部で高くなっているが (A a)、やがて低下し別のパターンに推移した (A b、c)。

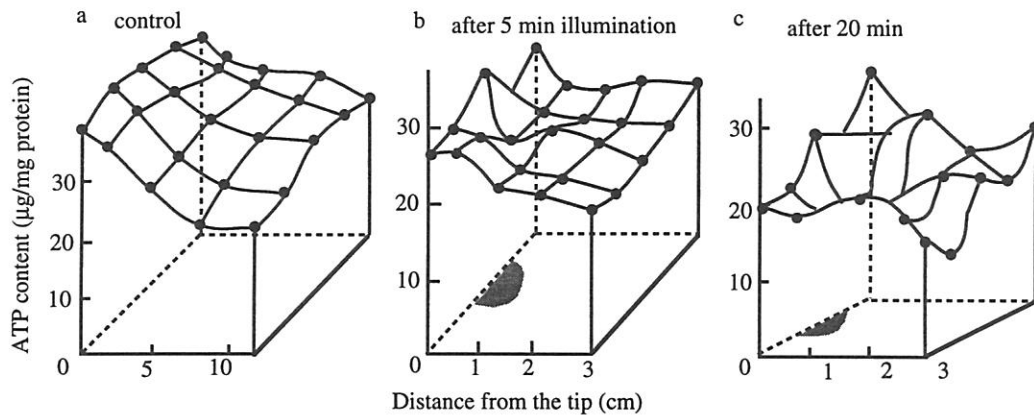


図25. 走光性発現に伴うATP分布の変動

一方向に進んでいる粘菌の先端部に青色光を照射 (灰色部分) すると、粘菌は照射部位から逃げた。ATP分布は、照射5分後には照射部位付近で小さい凸凹を示し (b)、20分後には細胞全体にわたって大きく変動した (c)。

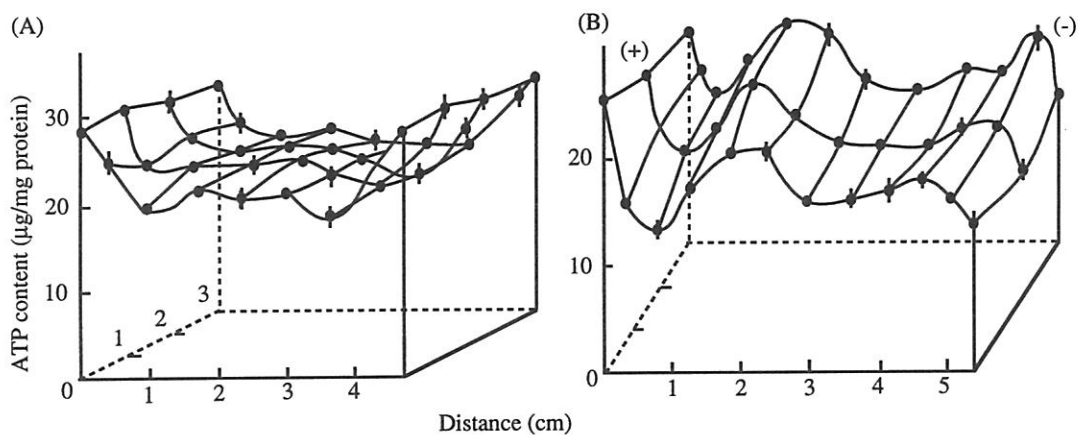


図26. 二方向に拡がる変形体の典型的なATP濃度の二次元分布

(A) 図中の左右の方向に拡がる変形体。(B) 直流電場印可 (0.4 mA) 1 時間後の変形体。陰極側へに向かって移動している。

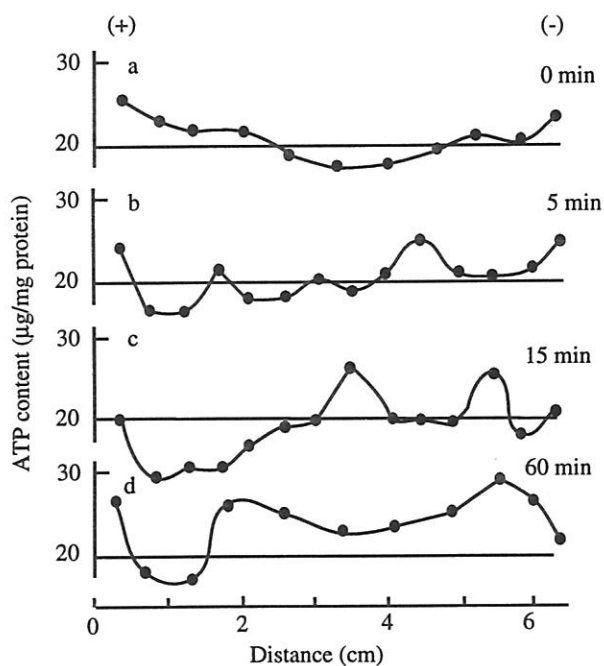
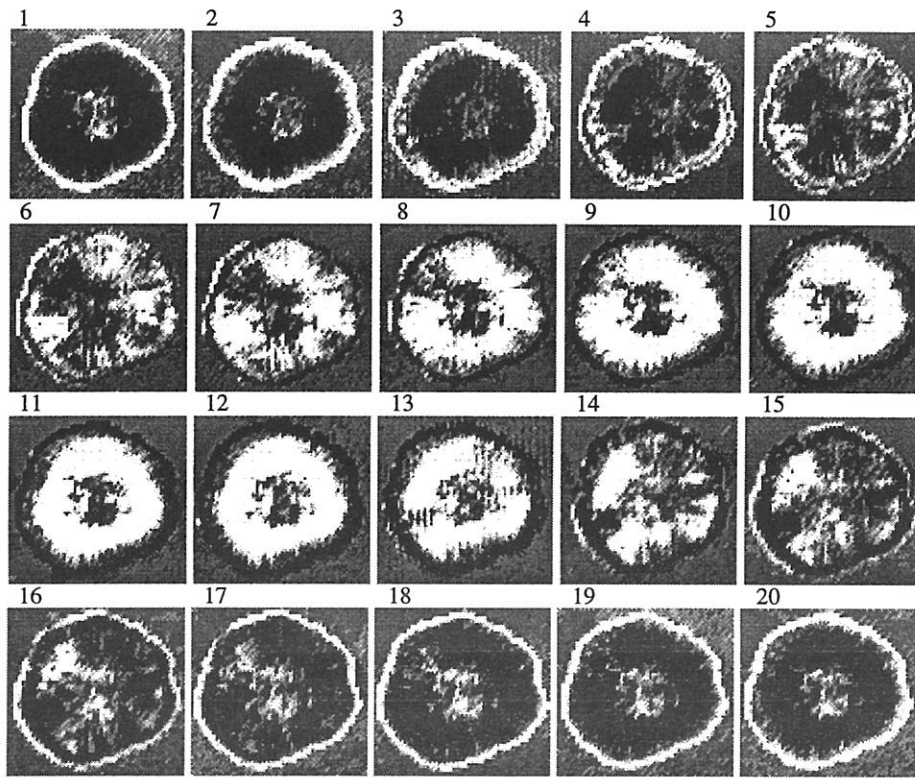


図27. 直流電場印可時の典型的なATP分布の変動。

左右に拡がる変形体の左右対称的なATP分布 (a)が、直流電場によって非対称的 (b-d) に変わった。



Interval = 4sec

図28. 円形に拡がる変形体の収縮リズムの振動パターン

変形体の収縮運動に伴って起こる原形質の厚み変化を、白黒の濃淡によって表した。白さは原形質の減少（弛緩）を、黒さは増大（収縮）を示す。4秒毎に1-20の順序で示した。ごく周辺部と内側とでそれぞれ位相が揃いかつ反対の関係になっていた。

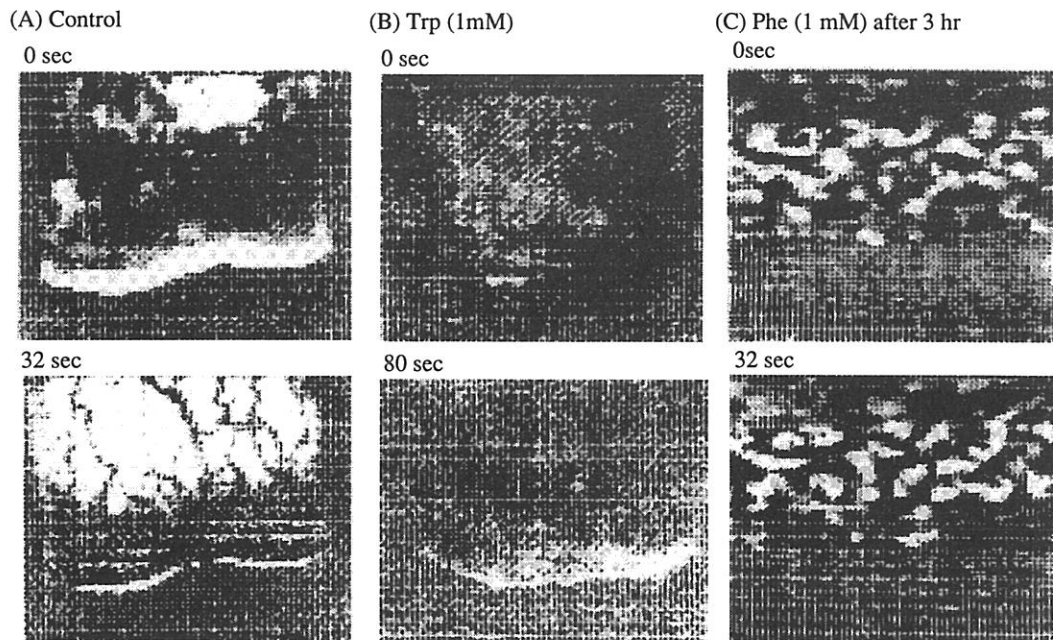


図29. 化学物質によって移動抑制された変形体の収縮リズムの振動パターン

一方向に（図の下側に）移動する時、先端部と後方部で位相がそれぞれ揃いかつ逆の関係であった(A)。移動速度が control の20% 程度に抑制された時、振幅が低下(B, tryptophan 存在下), もしくは乱れた(C, phenylalanin 存在下)。

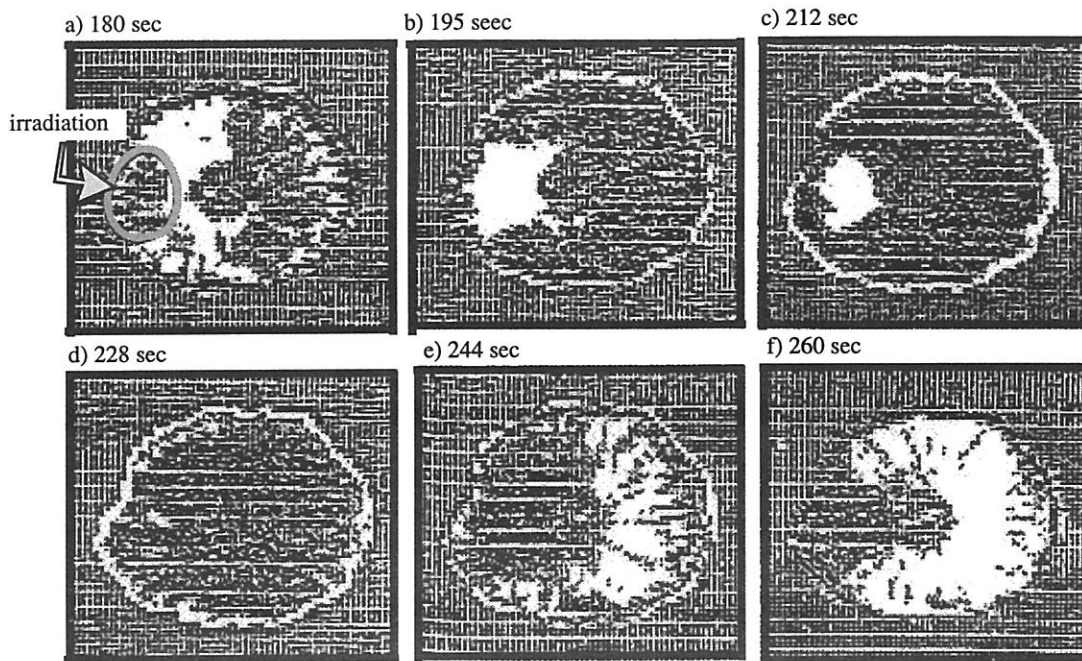


図30. 光忌避行動に伴う収縮リズムの振動パターン変動
 光を照射し始めてからの時間を各図の左上に示した。収縮リズムの位相波が照射部位に向けて伝播した。

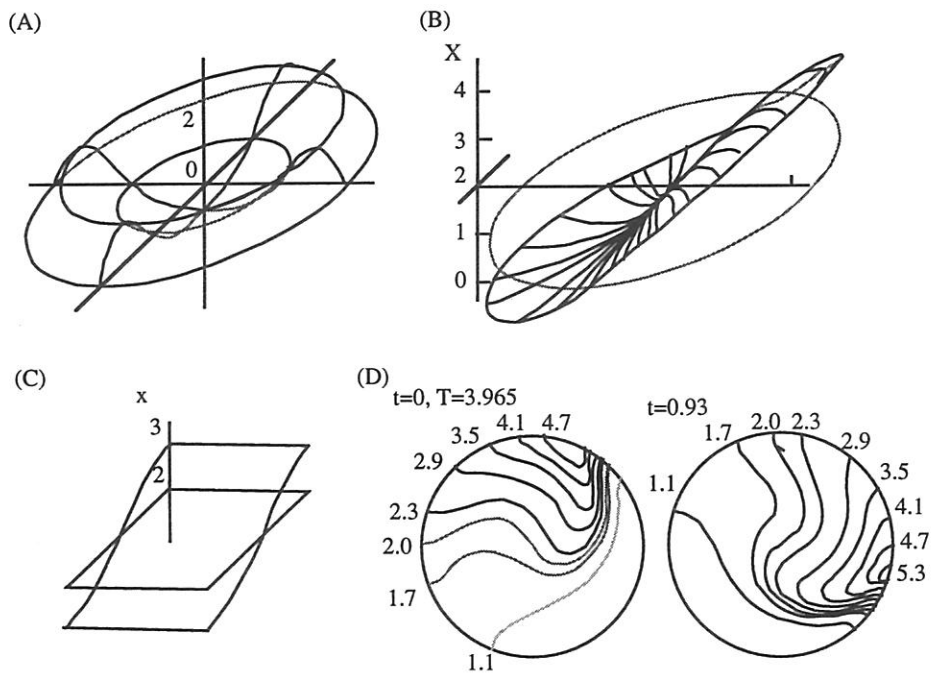


図31. 非平衡系における化学パターンの自己形成 (Nicolis & Prigogine, 1977)
 Brusselator というモデル反応系において (詳細は本文を参照)、中間生成物 X の濃度分布は、色々な境界条件と反応速度定数に対して様々なパターンを示す。

第3章 収縮リズムの位相スイッチング現象による 原形質流動と巨大アメーバ体制の調節

3-1 序

アメーバ細胞は、どのようにして統合された一つの単位として振る舞えるのだろうか。この問題は、巨大なアメーバ細胞である粘菌変形体にとって、特に切実である。なぜなら、変形体は原形質の巨大な集合体であり、部分部分に分離する危険に常に直面しているからである。現実には、しかしながら、この生物は、巨大なアメーバ様の構造を維持し続けている。つまり、原形質は、先端部ではシート状に広がり、管の複雑なネットワークが後方部に向かって発達している。そして、その管の中では原形質のゾルが規則的に往復流動している (Kamiya, 1940; Kamiya *et al.*, 1972)。変形体は、普通、細胞内で同調して収縮し弛緩している (Grebecki & Cieslowska, 1978)。この同調したリズム性の収縮は、原形質の流動によって維持されている、なぜなら、この同調性は、原形質流動が静水圧を負荷することによって止められた時に、崩れるからである (Takeuchi & Yoneda, 1977; Yoshimoto & Kamiya, 1978a)。その原形質流動自身は、細胞質外質の能動的収縮弛緩によって発生する静水圧に基づく受動的流れである (Kamiya, 1940; Yoshimoto & Kamiya, 1978a,b; Ishigami 1990)。それゆえ、能動的収縮の空間的に平均化された差位が、駆動力を生み出すはずである。しかしながら、色々な種類の局所的な刺激を受けた場合を除いて (Matsumoto *et al.*, 1986; Mori *et al.*, 1986)、収縮リズムの位相は、細胞内ではほんの僅か異なるだけであり、ゆえに収縮リズムの単なる微小な差が原形質流動を担っていると推測されている (Yoshimoto & Kamiya, 1978; Ishigami, 1990)。

本章では、我々は、以下のことを報告する (Nakagaki & Ueda, 1996)。変形体内の二つの部分間の相互作用が弱い時、同位相の関係が反対位相にスイッチし、そして、その交替が原形質流動の駆動力を増大させるようにはたらく。これらの結果は、巨大なアメーバ体制を一つの統合された単位として維持するように、変形体が原形質流動をグローバルに調節するという新しいタイプの調節機構の存在を示している。最後に、位相スイッチングの可能な機構を、結合非線形振動子モデルに基づいて議論する。

3-2 方法

生物材料

三つの株 (HU554xHU560, HU311xHU320, HU130xHU260) を用いた。基本的な培養法は1-2節に従った。粘菌の細胞融合は、遺伝子に支配されている (Cooke & Dee, 1975)。HU130xHU260株は、異なる *fus* 対立遺伝子を有しているため他の二つの株とは融合しなかった。一方、HU554xHU560とHU311xHU320間、あるいは同一株間では、融合した。

細胞融合並びに細胞の部分的分離に伴う原形質の厚み振動測定

粘菌変形体を餌無しで一晩、1%寒天ゲル上に自由に這わせた (20 x 30 cm²)。移動している

変形体の先端部をメスで切り取り1%寒天ゲル上に置いた。細胞融合実験では、このような変形体を二つ、適当な距離をおいて、図32aに示すように設置した。二つの個体は、広がり、ついには出会い、融合遺伝子が適合していれば融合した。分離実験では、二枚のカバーガラス(20 x 20 mm²)を、図32bに示すように、円形に広がっている変形体(直径約30 mm)に隙間dをもって垂直に突き立てた。隙間dを2から20 mmにわたって変えた。従って、変形体は、ほとんど二つの部分に区分けされて二つの部分の結合強度が様々に変えられたことになる。

1-2、2-2節に準じて細胞の厚み振動 $I(x,y,t)$ を時間的空間的に測定した。これら実験条件では、それぞれの変形体で、収縮リズムがごく周辺部を除いてほとんど同調したので、その同調した内側部を空間的に平均化 $\Delta I(t)$ した(例えば、図32の破線で囲まれたそれぞれの領域)。二つの部分の位相差は、平均化した振動 $\Delta I(t)$ のピーク位置を比較して決めた。

原形質流動と厚み振動の同時測定

図33に、原形質流動の駆動力と厚み振動を同時に測る実験装置の概略図を示す。二つの変形体を、複室のそれぞれに置き、変形体糸で繋いだ(Kamiya, 1940)。中央の糸は、原形質流動を観察するための光を光ガイドチャンネルを通じて照らされた。複室間には、静水圧差がかけられるようになっている。中央の糸内の流動が常に止まるように圧力をかけつけ、その負荷した圧力を駆動力とした。このような状況下で、二つの部分の厚み振動を測定した。

細胞融合に伴う等張張力と厚み振動の同時測定

図35aに、等張張力と厚み振動を同時に測定する実験装置の概略図を示す。張力測定は、吉本-神谷の方法に準じた(Yoshimoto & Kamiya, 1978b)。大きい変形体からの変形体糸を、寒天ブロック上を円形に広がる変形体に付けた。変形体糸とシート状変形体は、融合し一つの個体になった。糸の下端にガラスの錘(約6 mg)を付け、糸の長さの変化、つまり等張張力を測定した。このような変形体を二つ用意し、5 mmほど離して置いた。2~3時間後、二つは融合して一個体になった。シート状の部分の厚み振動を画像処理法により測定した。

3-3 結果

変形体融合の初期における反位相ロッキング

細胞融合に伴う厚み振動と位相差の典型的時間変化を、図34に示す。二つの変形体は、図中(a)の矢印部分で出会い、融合し始めた。この頃、一つの変形体の振動振幅(実線)は、他方のそれ(破線)に比べて小さかった。図(c)の上側に見るように、この小さい振幅は、同調性が悪いことに起因している。融合後10分程たって、振幅は、大きくなり、二つの変形体の振動は反位相になった。この状態は、30分程たってほとんど同位相になるまで続いた。この時には、二つの変形体間に太い変形体糸が形成されていた。図(a)と(c)の比較より、振幅の増大は、振動の空間的な同調性の増大によっていることがわかった。その振幅は10から15分程の周期で増えたり減ったりしたが、この現象もまた空間的な同調性の変動によっていた。

等張張力は、融合時に同様な反位相関係を示した。図35 bは、細胞融合時の一つの変形体セットにおける等張張力と厚み振動の典型的な時間変化を示す。この結果は、張力と厚み振動が同調して振動している事を明らかにしている。従って、明るさの変化で測定した厚み振動は、変形体の能動的収縮によって引き起こされた。変形体の二つの部分の等張張力は、反位相で振動し（データは示されていない）、その位相差の時間変化は、図(c)の通りであった。かなりのふらつきが見られるものの、約30分間は、反位相状態にあった。

同様な反位相関係は、図34に見るように、遺伝子的に適合した変形体同志の融合の初期に現れ、 20 ± 10 分 ($N=18$, $\text{mean} \pm \text{s.d.}$) 間続いた。遺伝的不適合な変形体同志で起こる単なる接触では、明白な反位相も同位相も現れなかった。これらの結果は、同位相と反位相の形成に細胞融合、つまり原形質の直接的連結が必須であることを明らかにしている。

部分的分離による同位相振動から反位相へのスイッチング

融合の逆の場合として、変形体の部分的分離の効果を調べた。円形に拡がる変形体を二つの部分に部分的に分離した時（図中の矢印で分離した）の、厚み振動の典型的な時間変化を、図36に示す。部分分離の前では、振動は同位相であった。この同位相は、隙間の幅に依存して、反位相にスイッチするか、さもなければ同位相のままであった。隙間が狭い時 ($d=6$ mm)、反位相状態は、分離後5分程で現れ、同位相状態に戻るまで、約15分間続いた(図36 c)。これに対し、広い隙間の時には、位相は、同位相の周りで単にふらつくのみであった。12分以上続くような反位相状態は、約20回の実験中で、直径の5分の1以下の隙間の時に限って現れた(図37)。従って、原形質流動の妨害は、同位相から反位相へのスイッチングを引き起こした。

原形質流動の妨害により誘導される反位相振動とそれに対応した駆動力の増大

図38a, bは、時間ゼロより静水圧を負荷して原形質流動を止めた時の、ダンベル型変形体の二つの部分の、厚み振動と位相差の典型的な時間変化をそれぞれ示している。二つの部分の振動は、原形質流動を止める以前ならびに以後の短い間で、同調していた。この同位相関係は、図(a)の矢印で“switching”と印された12分頃に直ちに反位相に切り替わった。この時、位相関係は、融合や部分分離の場合に比べ、より安定して反対位相に固定された。中央の糸中の原形質流動を再び自由にさせると、程なくしてリズムの同調性が回復した。

図(c)は、二つの部分の振動の差と原形質流動の駆動力の時間変化を示す。駆動力は、はじめ小さく、反位相になった時、増大した。図39は、駆動力と厚み振動の差との二つの振幅の関係を示している。位相関係の如何に拘わらず、二つの量は、比例関係にあった。結局、厚み振動は張力発生により引き起こされるので、この結果は、原形質流動の駆動力が能動的収縮の平均化された差に基づくという仮説を実証している。

3-4 考察

収縮リズムの同調性は、次の様な場合に反位相に切り替わる。融合の初期、部分的な分離、

それに原形質流動の抑制時であり、これらは、変形体内の部分間での相互作用が弱くなった時である。この反位相関係は、駆動力を強くし、原形質流動を盛んにする。それゆえ、そこでの相互作用が強まる。この様にして、変形体は、部分間の原形質流動もしくは結合強度を調節するグローバルなフィードバック機構を有する。この機構は、変形体が、巨大なアメーバ体制を維持するのに役立つ。

変形体は、一つの結合振動子体と見なすことができる(Matsumoto *et al.*, 1986; 1988)。結合振動子モデルでは、一般的に、振動子間の結合強度が、グローバルな位相関係の形成に重要な役割を担っている。ある適当なパラメータ領域では、結合強度が弱くなると反位相が現れることがごく普通に見られる。このことは、結合ベルーソフ・ジャボチンスキー反応系(Yoshimoto *et al.*, 1993)、ファンデアポール方程式の結合リミットサイクル系(Yoshinaga *et al.*, 1991)やロジステックマップの結合カオス系(Kaneko, 1990)でも成立する。従って、変形体における反位相の出現は、粘菌の振動機構の特殊な性質と言うよりはむしろ、非線形動力学における共通した特徴と言える。

どのような機構により変形体は、細胞内コミュニケーションをしているのだろうか。電気信号、化学信号、機械的信号の三つの可能性がある。電位の長距離相互作用は、変形体では有り得ないようだ。なぜなら、膜電位の変化は、伝播せず、極めて短い距離で消滅してしまうからである(Tasaki & Kamiya, 1964)。原形質流動は、同調するための必要条件であるから、化学的な相互作用は、欠くことのできないものである。しかしながら、われわれの複室の実験では、同位相から反対位相へのスイッチングが、原形質流動が全く無いかごく僅という条件で、極めて急に生じた。従って、機械的(力学的)な相互作用、つまり細胞質外質の細胞骨格等を通じての相互作用は、否定できない(Romanovsky & Teplov, 1988; Teplov, 1988; Teplov *et al.*; 1991)。

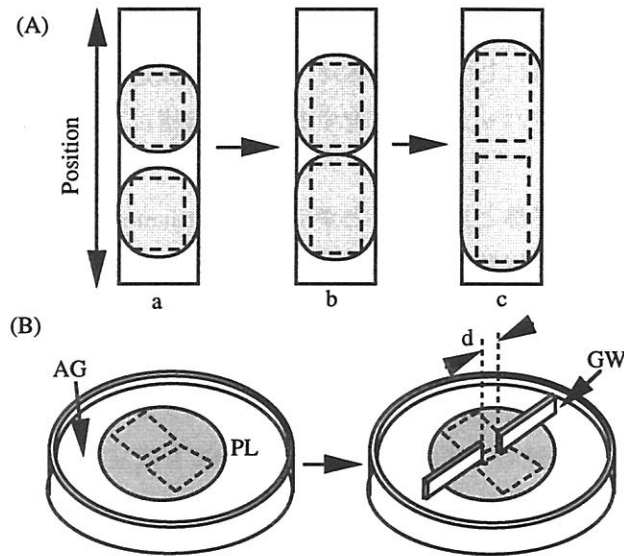


図32. 細胞融合 (A) と細胞の部分分離 (B) の実験を説明する模式図

(A) 実験セットの上面図。灰色の部分は変形体を示す。二つの変形体は、約 5 mm 離されて寒天ゲルの上に置かれ (a)、進展して出会い (b)、そして融合し一つの個体を形成した (c)。
 (B) 寒天ゲル (AG) 上を円形に拡がる変形体 (PL) を、二枚のカバーガラス (GW) で隙間 (d) を残して部分的に仕切った。(a)、(b) いずれの場合も、厚みの振動は、細胞内側の破線で囲まれた部分を平均して得られた。

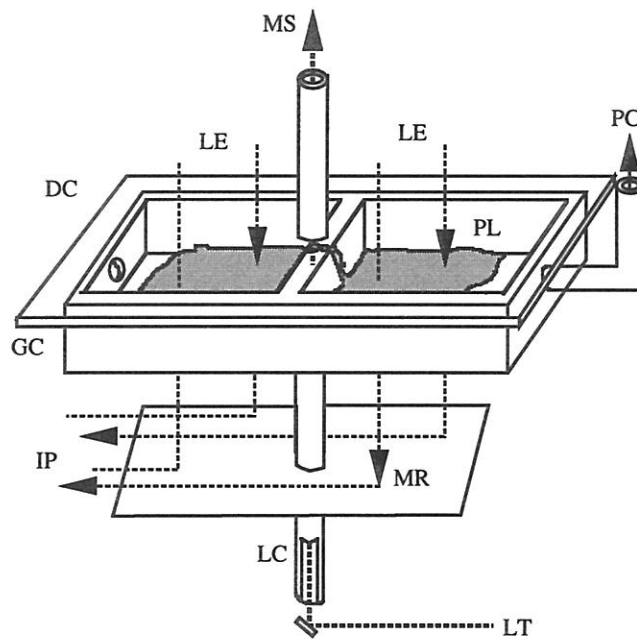


図33. 原形質流動の駆動力と厚み振動を同時に測定する複室装置の模式図

ダンベル形の変形体 (PL) を、複室 (DC) に置いた。光源 (LT) からの光を漏れないようにガイド (LC) して中央部分の変形体糸にあて、原形質流動を顕微鏡 (MS) で観察した。その流動が常に止まる様に、複室内で静水圧差をかけた。この静水圧差を流動の駆動力とした。変形体は、厚み振動の観測用に赤色発光ダイオード (LE) で上側から照射された。変形体の透過光画像は、鏡 (MR) の反射をへてビデオカメラに撮影され、コンピューターで画像処理された。

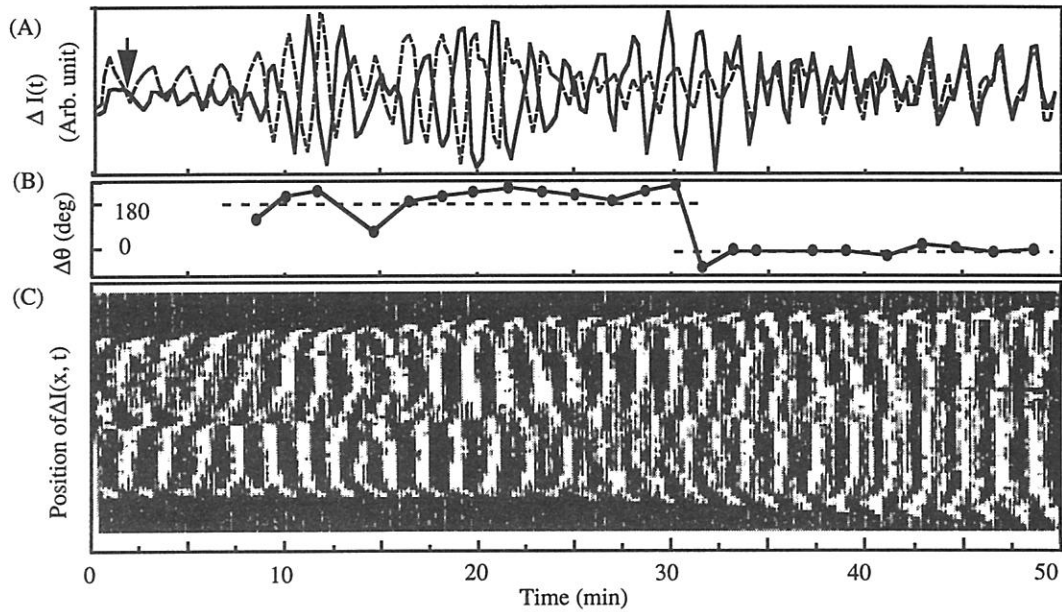


図34. 変形体の融合に伴う厚み振動における位相関係のパターン変化

(A) 変形体の二つの部分（図32Aの破線で囲まれた部分）の厚み振動。(B) 位相差の時間変化。
 (C) 厚み振動の空間一次元分布。上側半分は、図(A)の実線のデータに対応する。 $\Delta I(x,t)$ が正と負の時、グレースケールはそれぞれ白と黒である。融合の初期に反対位相が現れた。

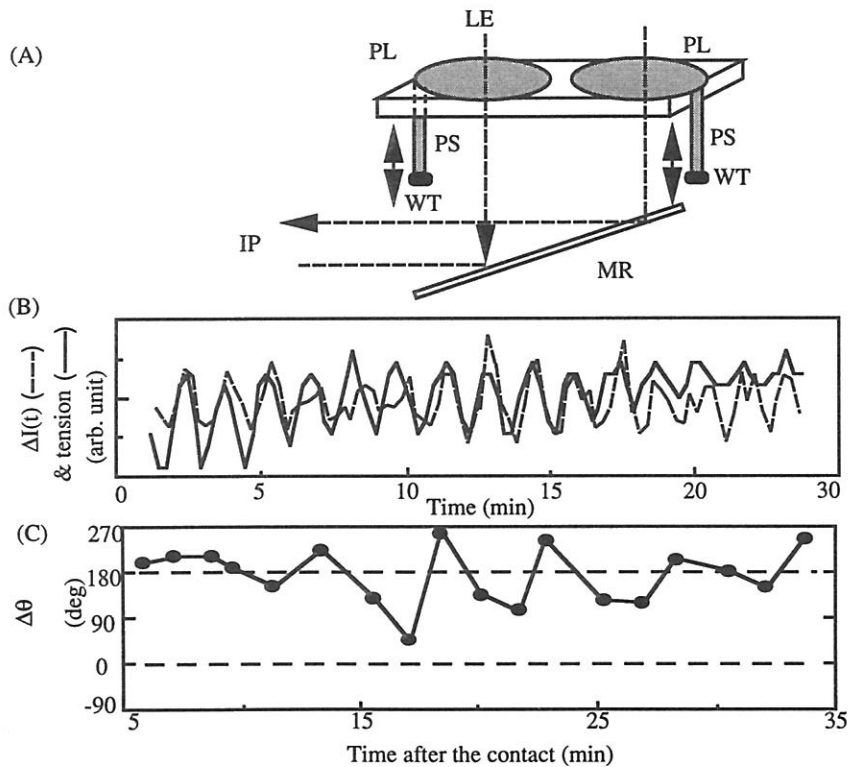


図35. 変形体の融合に伴う等張張力の変動

(A) 収縮リズムと等張張力を同時に測定する実験装置の模式図。PL、変形体；PS、変形体糸；WT、ガラス製のおもり；MR、鏡；IP、画像処理ユニット；LE、発光ダイオード。
 (B) 等張張力（実線）と収縮リズム（破線）の変動の比較。両者は良く一致した。
 (C) 等張張力における位相差の時間変化。位相差は、反対位相の周りで揺らいでいた。

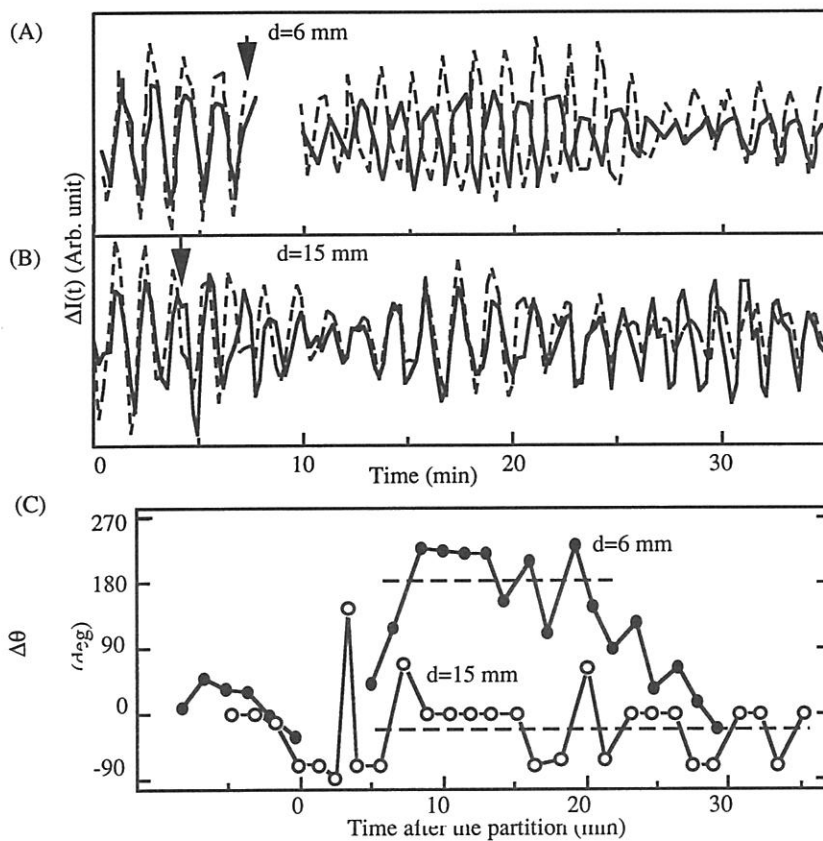


図36. 変形体の部分分離に伴う厚み振動の位相関係の変動

(A) & (B) それぞれ 6 mm, 15 mm の隙間を残して部分分離した時の厚み振動の時間変化。(C) 位相差の時間変化。反対位相は、狭い隙間のときに現れた。

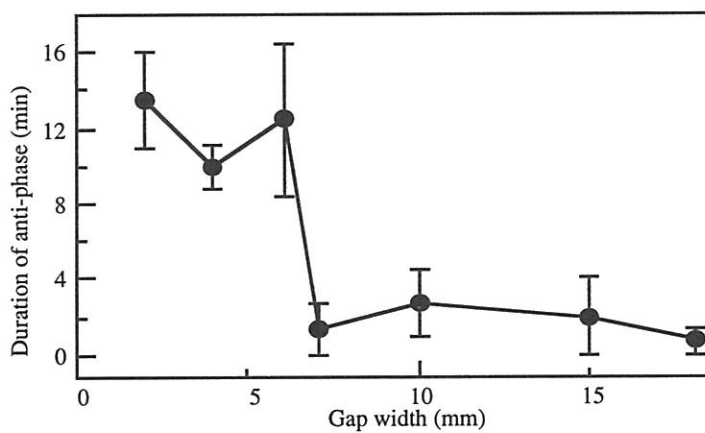


図37. 部分分離における隙間の大きさの関数とした反対位相の期間

変形体の 4/5 が仕切られた時、反対位相状態は、約 12 分続いた。Mean \pm s. d. (N=4)

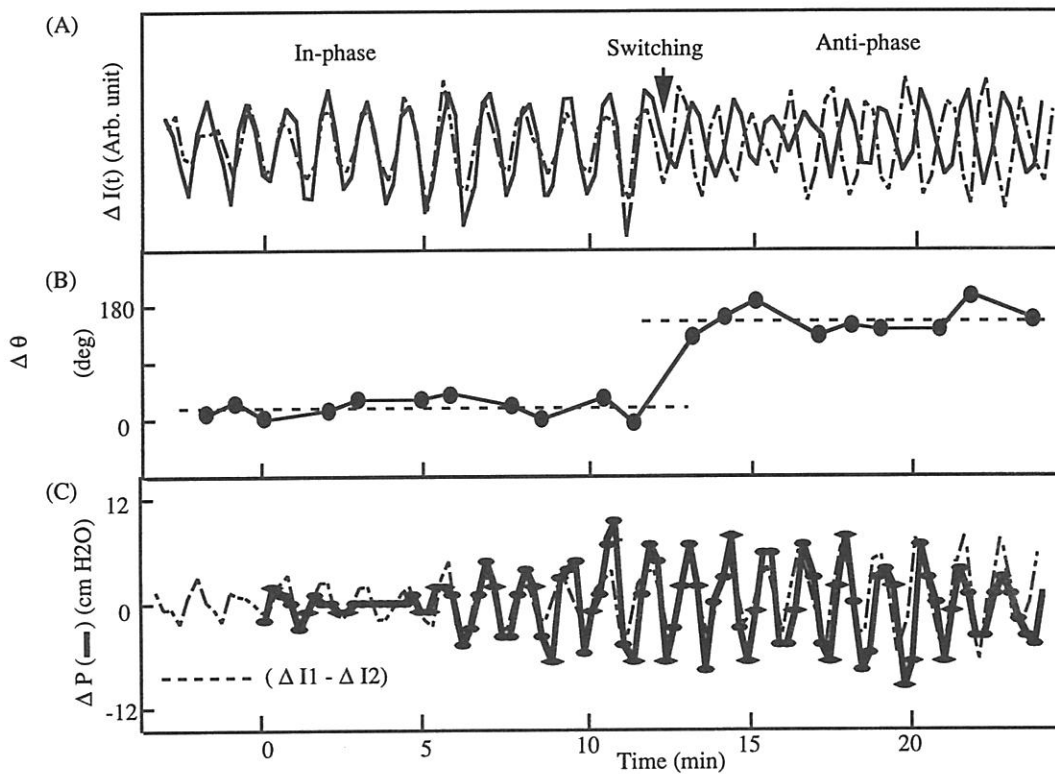


図38. 原形質流動の駆動力と厚み振動の関係

(A) 複室内の変形体の二つの部分の厚み振動。(B) 図(A)より求めた位相差の時間変化。
 (C) 駆動力(実線)と厚み振動の差(破線)の時間変化。位相関係は、時間ゼロで流動を止めて少しして、同位相から反対位相へ切り替わった。駆動力は、厚み振動の差に一致した。

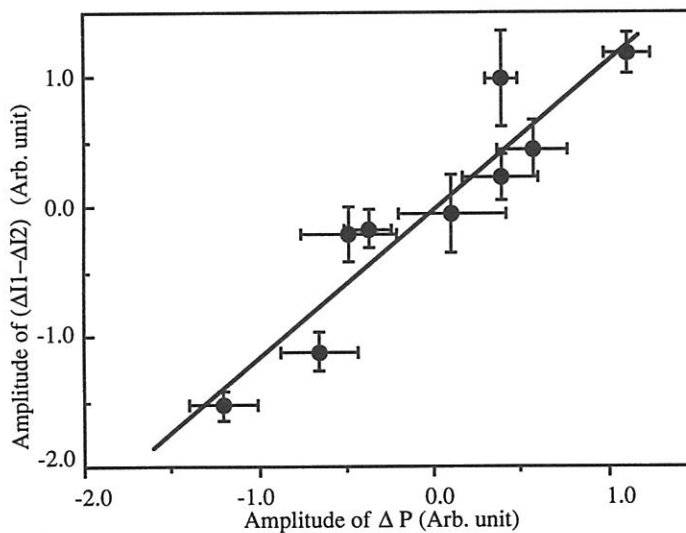


図39. 厚み振動の振幅と駆動力の振幅との相関

Mean \pm s. d. (N=6)

第4章 収縮リズムの時間空間的な分岐と発展

4-1 序

粘菌変形体の収縮リズムは、1942年の定量的研究 (Kamiya, 1940) 以来、一般的に細胞全体で同調したリミットサイクル振動であると考えられている。これまでになされた多くの研究は、リズムの規則性や同調性を主張してきた。これに反し、本論文のこれまでの結果は、環境変化に応じて二個 (第3章で見た様に二つの部分が反位相で振動した場合) ないし数個 (第2章で見た様に化学物質で移動抑制された時の位相がバラバラになった場合) のリミットサイクルに分裂することを示した。変形体の収縮リズムは、単一のリミットサイクルでは決して記述しきれない複雑さを秘めている。変形体は、空間的に広がりを持つ複雑な代謝反応系からなるため極めて高自由度の多体系であるといえる。このような系は、理論的には、同調した周期運動のみならず、時空間カオス (蔵本, 1994) やカオスの遍歴 (金子ら, 1996) と呼ばれる現象をはじめとした複雑多様なダイナミクスをも示す。ゆえに、これまで観察されてきた変形体の収縮リズムは、多様な可能性の中から選ばれたほんの一部の秩序状態にすぎないと予想される。もしくは、機能発現に関連していくつかの秩序状態のみが自律的に選択されているとも考えられる。収縮リズムにおけるダイナミクスの多様性やその発展規則を解明することは、自己秩序形成能に基づく機能創発の原理を明らかにすることに結びつく。

安定した状態にある系が、刺激によって違う状態に移り、そこからどのように発展するかを調べることは、系の動力的性質を調べるにあたり、しばしば有用な情報をもたらす (Winfrey, 1980)。今まで、安定した変形体の収縮リズムを乱すことは困難とされてきたが、我々は、温度ショックや機械刺激、紫外線照射等の刺激によって収縮リズムを一時的に停止させることに成功した。したがって、その刺激の後、変形体を静かに放置し元の安定した同調リズム体に戻る発展過程を調べた。そしてさらに、紫外線照射や化学刺激によって様々な形態の変形体を誘導することができたので、形態と収縮リズムの関係についても調べた。この章では、初めに、収縮リズムの発展過程における、相互引き込みに関連した振動周波数の分岐と共存を示す。次に、収縮リズムの同調範囲が、細胞形態や原形質の混合範囲に関連して変わることが明らかになる。これらの結果を基に、振動子集団として見た変形体が、どのように境界条件や振動子間の結合状態を自律的に更新するかを考察する。最後に、粘菌システムのモデルを提案し、結合非線形振動子系の自己秩序化に基づいて機能を発現する機構について論じる。

4-2 方法

生物材料と細胞の刺激方法

1-2節の方法に従って調製した大きい変形体 (25 x 35 cm²) のシート状の先端部から、8つの小片 (4 x 4 mm²) を切り取り寒天ゲルを敷いたシャーレ (直径9 cm) の中に2 cmほど離して格子点状に置いた。1~2時間して直径1 cmほどの円形に広がった変形体に、様々な刺激を

与えた。刺激は、1) 機械的刺激：金属性の針で変形体を満遍なく約30回ほど突き刺し、さらに口で風を吹き付けた、2) 低温刺激：4℃のチャンバーに一時間入れた、3) 紫外線照射：殺菌灯を照射した（東芝製殺菌灯型番GL-15を20 cm離して15分間照射）、4) 化学刺激：基質の寒天ゲル内に0.1 Mの塩化カリウムまたは10 mMフェニルアラニンを溶かした、の4つの方法で行った。これらの刺激によって収縮リズムは、著しく減弱し、刺激を取り除くと約4時間ほどで元の状態に戻った。このリズムの回復発展過程を観察した。

異なる振動状態にある細胞の融合

上記のように刺激した粘菌の収縮リズムを調べ、振動状態が異なる個体を選びだして、基質の寒天ごと切り取り別のシャーレに図45aの様に移した。2~3 mm離れた変形体は、15分ほどして出会い融合した。図45aの破線に沿って収縮リズムの時間変化を測定した。

画像処理法による収縮リズムの測定

1-2、2-2節に従い収縮リズムを時間空間的に測定した。

原形質の混合程度の測定

餌のオーツフレークを筆記用の青インク（型番4001、ペリカン社、ドイツ）と共に乳鉢内ですり潰しながらよく練り合わせた。これを乾燥させた後、変形体に与えて、一晩おいた。染色された微少な餌粒を大量に取り込んだ変形体の一部（ $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ ）を、円形（直径2-3 cm）に拡がる別の変形体の端にのせた。約20分後、細胞が融合し原形質が混ざりあった。染色された餌粒の動きを実体顕微鏡で観察した。

4-4 結果

収縮リズムの発展過程における多重振動状態の出現と遷移

以下に示す結果は、刺激の種類、つまり機械的刺激、低温刺激、紫外線刺激、化学刺激によらず定性的に共通した。図40は、機械的刺激によって振動が停止した後に見られた収縮リズムの三つの典型的な時間変化を示す。即ち、様々な周期の振動が次々に現れる不規則な振動 (a)、ほぼ元の周期と同じ周期の安定した振動 (b)、一定した長い周期の振動 (c)であった。いずれの場合も刺激後4時間を過ぎて元の周期に戻った。各時間変化の刺激後6時間にわたる周期の出現頻度を、peak-to-peak時間より求め、それぞれ (d), (e), (f)に示した。(d), (f)は、二つのピークを示し、かつその比はいずれも2だった。同様な周期の出現頻度を、紫外線刺激後3時間にわたって求め、さらに48個の変形体で積算し図41に示した。元の振動周波数 ω_0 の半分の振動数 $\omega_0/2$ のところにピークが現れた。以上の様にちょうど二倍の関係にある二つの周波数状態が現れた。図42は、図41のデータより求めた、二つの振動状態の連続滞在時間の統計的頻度を示す。寿命15分まではどちらの状態も同様な一定確率で崩壊した。ゆえに、リズムの発展過程は、あたかも半分の周波数を持つ二つのリミットサイクルが互いにランダムに遷移しあう振動状態の様に見える。

図43は、収縮リズムの発展過程に見られた様々な特徴的な振動状態を示す。二つの振動状態 ω_0 と $\omega_0/2$ は、図40aの様に頻繁に遷移する他、30分毎に切り替わったり（図43a）、振動波形のスプリットにより振動数が倍化したり（図43b）、振動数が連続的に変化したりした（図43c）。以上の様に二つの振動状態が存在しても遷移のし方は様々であり、ゆえに個別的には多様な振動状態を表す。さらに、まれには、図43d, eの様に、倍の周波数が現れ1時間ほども続いたり、30分間も振動が止まったりした。以上の様に、多くの時間は ω_0 か $\omega_0/2$ の状態にあるが、時々 $2\omega_0$ や無振動状態に落ち込むことが分かった。

ω_0 と $\omega_0/2$ の状態の空間的共存

図44は、図43bの様に、 ω_0 から $\omega_0/2$ 状態へ周波数倍化が起きる過程の空間的な振動状態を表す。この移行は、必ずしも細胞内で同調して起こるのではなく、一部分が先に ω_0 状態になった（図中の矢印）。この ω_0 状態は徐々に広がっていき、やがて細胞全体に行き渡った。このように、二つの周波数モードは、空間的に分離する。

さらに二つの周波数モードの空間的な相互作用を検討するために、紫外線照射によって $\omega_0/2$ モードに誘導された変形体を、図45aの様に ω_0 モードの変形体と細胞融合させた。二つの変形体は、融合直後、一過的に乱れた振動状態を示したが、20~30分程して徐々に定常的な振動状態に落ち着いてきた。この定常状態には、図45b&cに示す様な二つの型があった。図45b, cは、図4aに示した点線に沿った空間1次元の時間変化を示す。一つは、変形体の二つの部分が元々のモード付近に戻り、相互引き込みを起こして周波数比を2に保ったまま1時間以上も継続した (b)。他方、変形体全体が、元の二つの周波数の中間的な周波数で同調した (c)。しかし、しばしば振動が乱れた。同調体になる時は、融合部分に太い変形体糸が形成され、原形質の細胞内混合がモードの分離に関係すると予想される。結局、収縮リズムの周波数は、空間的相互作用により、1対1もしくは1対2の引き込み状態になった。

変形体糸の網目構造の消失に伴う収縮リズムの変調

変形体は、容器の壁に接触して進行方向を変える時、または周りの温度が25℃から31℃に変わる時、もしくはフェニルアラニンを含んだ (10 mM) 寒天上を這う時に、図46aに示す様な変形体糸が曖昧な形状を時々見せた。この様な形状は、長い時には数時間も継続した。図46cは、円形に広がる変形体が容器の壁に接触した時に見せた振動リズムの空間1次元の時間変化を示す。実線の矢印で示す様に、振動が局所的に停止した。または、破線の矢印で示す様に、収縮リズムの位相の伝播速度が局所的に著しく低下した。これらの変調によって、空間二次元的な位相パターンは、図46dの様に、細かく分断化された領域(図の右下周辺)と揃った領域(内側中央部)、さらに止まった領域(左側周辺)に分かれた。このような時、位相波の伝播速度とその移動方向にみた位相波の幅とを図47aの様に求め(方法の節に詳述)、図47bに示した。様々な幅の位相波が現れたが、両者は、概して比例した。従って、変形体は、振動周期を細胞内で一定に保ちながら、位相関係のみをかなり自由に変動させる機構を持つといえる。

図48は、高濃度のフェニルアラニン環境により誘導された同様な形状の時に見られたさら

に複雑な振動状態を示す。収縮リズムは、もはや図46, 47で見られた様な定常な周波数を持たず、目まぐるしく変動し乱れた(図48a)。位相波は、極めて局所的にしかも不規則にしか現れず、決して大域的に伝播しなかった(図48b)。収縮リズムは、この様な乱雑な状態にも成り得る事が分かった。

様々な形状の粘菌における、原形質の細胞内混合の程度を調べた。図46bの様な通常の形状の時、ある局所に存在する原形質のゾルは、高々一回の収縮振動の間に細胞全体に散らばった。これは、原形質の細胞全体にわたる混合が効率よく行われることを示す。これに対し図46aの様な形状では、ある場所に局在した原形質は、局所的にしか混合されず、10周期を過ぎてもなかなか細胞全体に散らばらなかった。以上の様に、変形体糸の網目構造の消失に伴い、原形質の混合が局在化した。この事は、収縮リズムの空間同調性の局在化や位相波伝播速度の低下と対応した。

細胞形状における均一な網目構造の出現に伴う位相パターンの経巡り

図49Aaは、殺菌灯を照射した後、約12時間経った時の細胞形状を表す。ほぼ均一な太さでかつ方向性の無い網目構造を示した。一旦この様な構造になると殆ど形状の変化が見られなくなった。原形質を切り取って新たな寒天ゲルの上に置くと図46bの様に同心円状に広がることや、数時間後細胞縁の数箇所から一気に原形質が伸展する事(図49Ab)等から、原形質自体は正常であると考えられる。この時、原形質は、細胞内で混合されたが、細胞全体にわたる効率よい混合は見られなかった。にもかかわらず収縮リズムの位相波は、図49bに示す様にほぼ同一の速度でしばしば細胞全体を伝播した。この様な振動は、数回続くだけで消失し、一旦乱れて減衰した後、再び現れた。この様に間欠的に現れる様々な位相パターンを、図49c-fに示す。具体的には、a) 帯状の位相波が一方向に伝播した、b) 対流の様に位相ドメインが中央部で吹きあがり周辺部に沿って下りた、c) 周辺部の二ヶ所から位相波が湧きだし中央で衝突して消滅した、d) 二つ巴模様状になり反時計周りに回転した。総じていえば、位相の揃ったドメインが細胞全体の数分の一程度の大きさでありかつ概して左右対称的であった。これは、一見別々に見えるパターンが、何らかの共通した物理的拘束を受けていることを示唆する。以上の様に、粘菌は、細胞形状の変化に伴い、共通の特徴を有する様々な位相パターンを次々に経巡った。

4.4 考察

非線形動力学によれば、系の状態やパラメータの極僅かな違いが、異なる秩序状態に行き着く(Berge *et al.* 1984, Hilborn 1994; 北原&吉川 1994)。今回得られた一連の結果は、まさにこの様な機構によってもたらされた秩序選択現象だと思われる。粘菌変形体の収縮リズムは、同様な刺激に対して、周期や位相について空間的・時間的に様々な振動状態に分岐した。振動状態の違いは、変形体の刺激応答性の違いに結び付くと考えられるから、この様な分岐は、行動の非一様性を生み出す可能性がある。

変形体における収縮リズムの秩序形成機構について考察する。収縮リズムの空間的な位相

差は、原形質流動の駆動力を生み出す。駆動力が大域的に発生すれば変形体は決まった方向に移動できる。このようにして生じる原形質の流動は変形体系の形成を誘導すると予想される。なぜなら、1) 細胞の融合や部分的分離の際に二つの部分が反対位相で15分程振動すると、その間に太い変形体系が形成される、2) 複室法にてダンベル型の変形体を調製すると、中央部の原形質ははじめ幾筋もの蛇行した細い流れを示すが、流動が盛んになるに連れて統合され太くて真直な流れになる、3) 位相パターンが安定している時は、大抵位相勾配に沿って変形体系が形成されている、からである。本章の結果によれば、変形体系の網目構造は原形質の混合様式を規定した。以上の点を、結合振動子モデルになぞらえて整理してみよう。結合振動子系の集団的挙動は、一般に振動子の性質、振動子間の結合様式、境界条件初期条件等に依存する。原形質の交換による相互作用は、振動子間の主要な結合要因だから、結合様式自体が振動子の集団的挙動に依存して数周期の時間後れを伴って影響される。境界条件は、原形質の大域的流動によって変形体が変形・移動する事から、やはり集団的挙動に依存して変更される。わずかな変形は一回の収縮振動でも起こるが、大きい変形は変形体系の形成を伴うので数周期かかり、従って、大きい変更と小さい変更がそれぞれ長短の時間スケールでもたらされる。このように、変形体の収縮リズムパターンは、パターン形成の要因がパターン自身に依存して次々に更新されるという特徴を持つ。この様な機構は、系の発展を複雑にすることも考えられるが、むしろ集団パターンを通じたフィードバックが拘束条件としてはたらき系の発展を巧みに制御するのではないかと予想される。

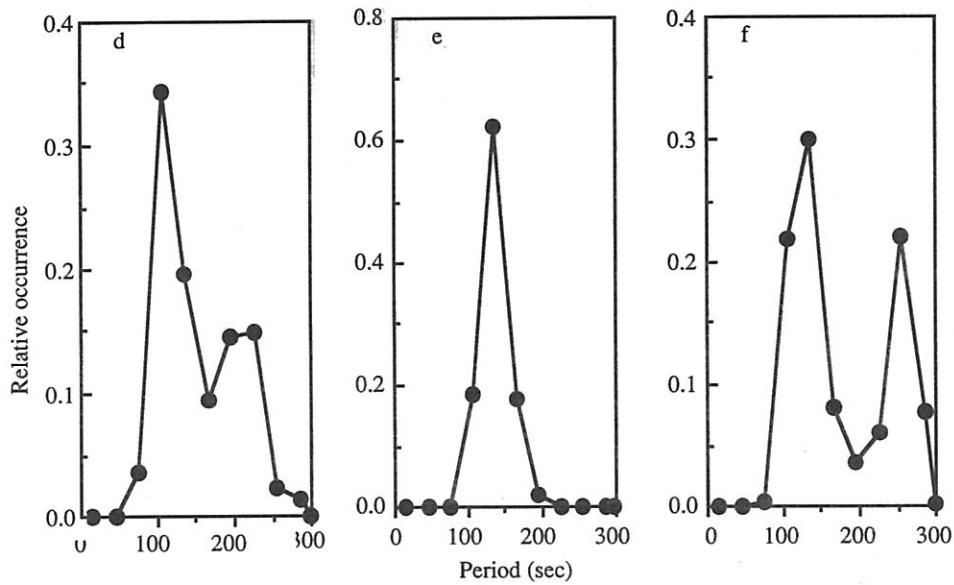
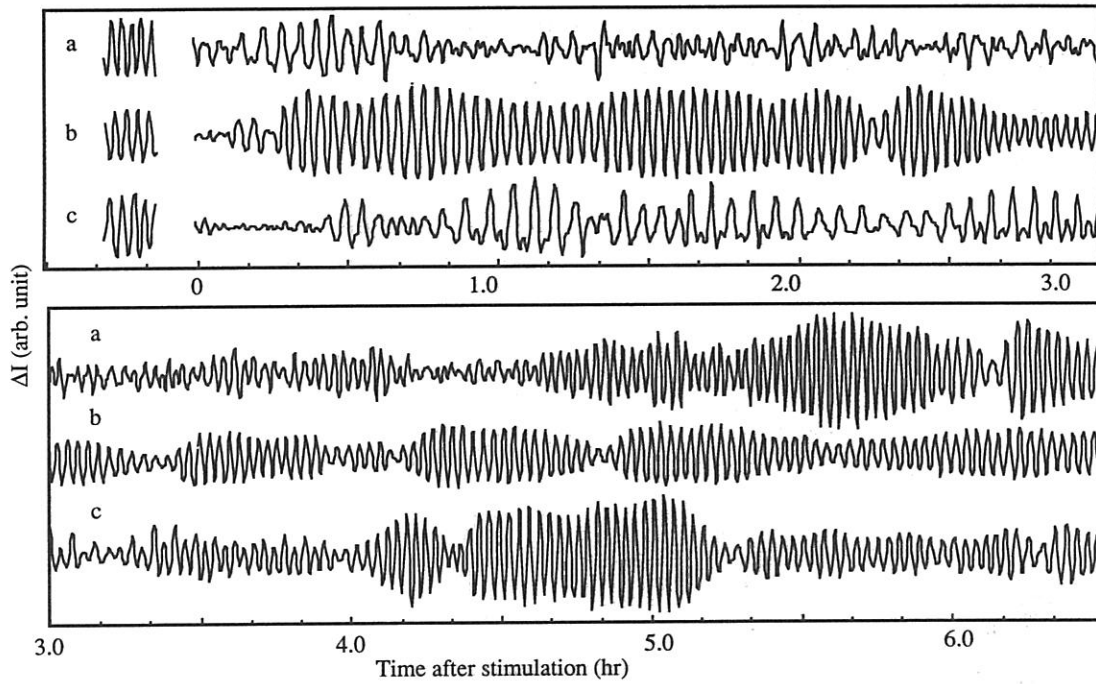


図40. 機械的な刺激によって振動が停止した後に見られた収縮リズムの三つの典型的な時間変化
 (a) 様々な周期の振動が次々に現れる不規則な振動。(b) ほぼ元の周期と同じ周期の振動。
 (c) ほぼ一定の長い周期が続く振動。いずれの場合も、刺激後4時間を過ぎた頃には元の周期の振動に戻った。(d), (e), (f) は、(a), (b), (c) の peak-to-peak 時間の出現頻度を、それぞれ示す。(d) と (f) に二つのピークが現れた。二つのピークの周期は、ちょうど二倍の関係にあった。

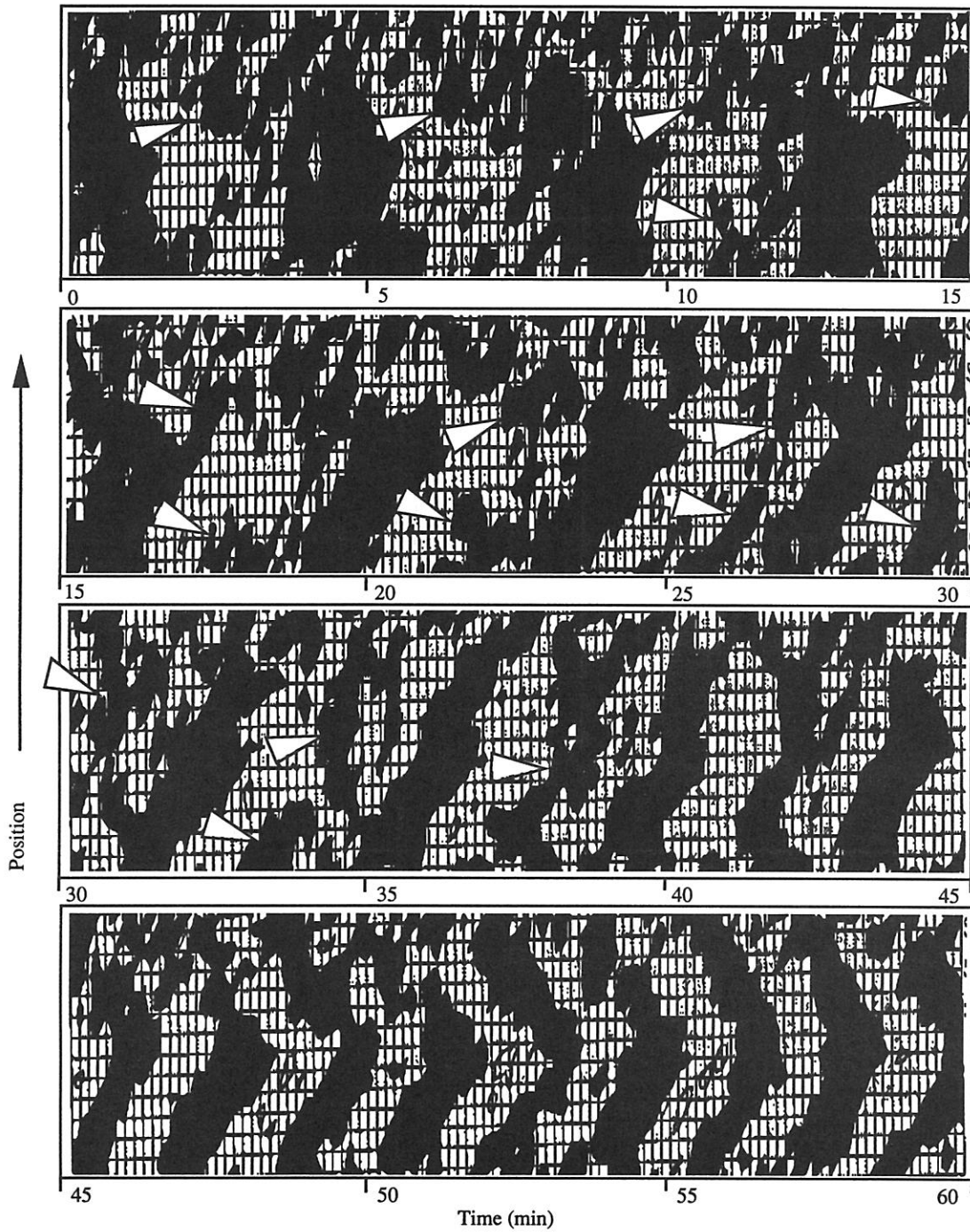


図44. $\omega_0/2$ から ω_0 状態への周波数倍化過程に見られる空間的な周波数分離
 図43bの場合における収縮リズムの空間一次元の時間変化を示す。初め、 ω_0 状態が、局所的にあらわれ(矢印)、やがて細胞全体に拡がった。

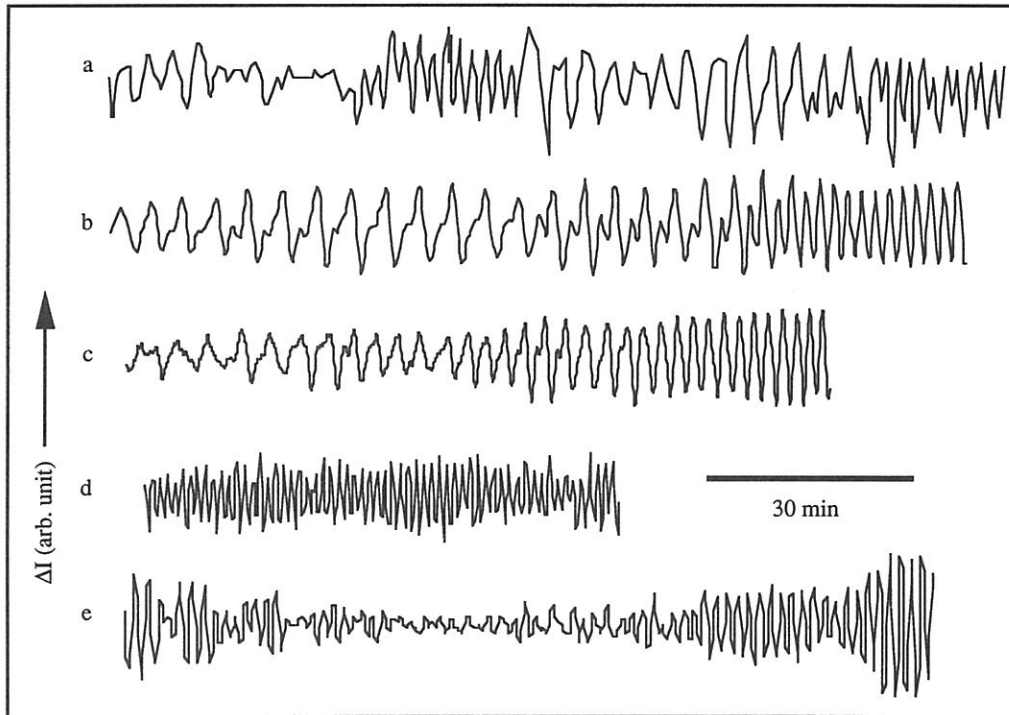


図43. 収縮リズムの発展過程に現れたさまざまな振動状態

- (a) $\omega_0/2$ 状態と ω_0 状態切り替わり。(b) $\omega_0/2$ 振動のスプリットによる振動数倍化。
(c) $\omega_0/2$ 振動から ω_0 振動への連続的な遷移。(d) $2\omega_0$ 振動。(e) リズムの消失。

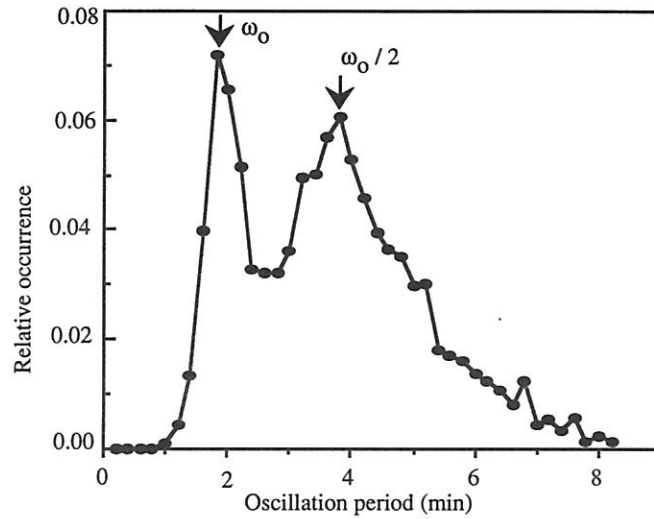


図41. 収縮リズムの発展過程に見られる振動周期の出現頻度
 紫外線照射によって収縮リズムが停止した後3時間にわたって peak-to-peak 時間を測定した。48個の変形体のデータ（振動回数にして2183回）を積算して、相対頻度を求めた。2倍周期 ($\omega_0/2$) のところにもピークが見られた。

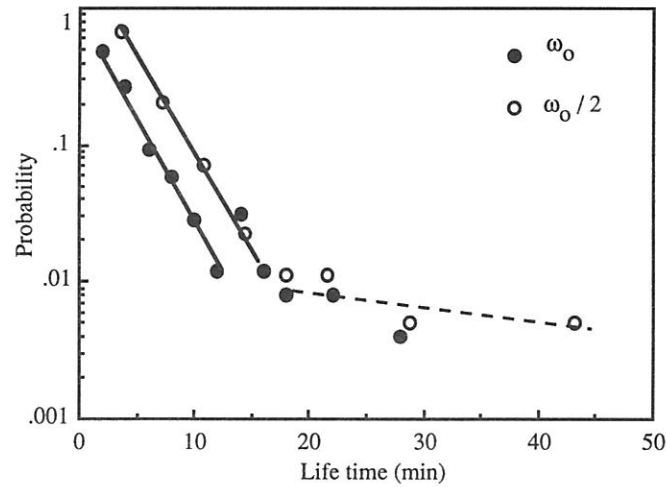


図42. 二つの振動状態の連続滞在時間の統計
 図41で用いたデータにおいて、 ω_0 状態と $\omega_0/2$ 状態がどれほど持続したかを調べ、それぞれの状態で相対頻度を求めた。15分程までは、どちらの状態も同じ一定の確率で崩壊した。

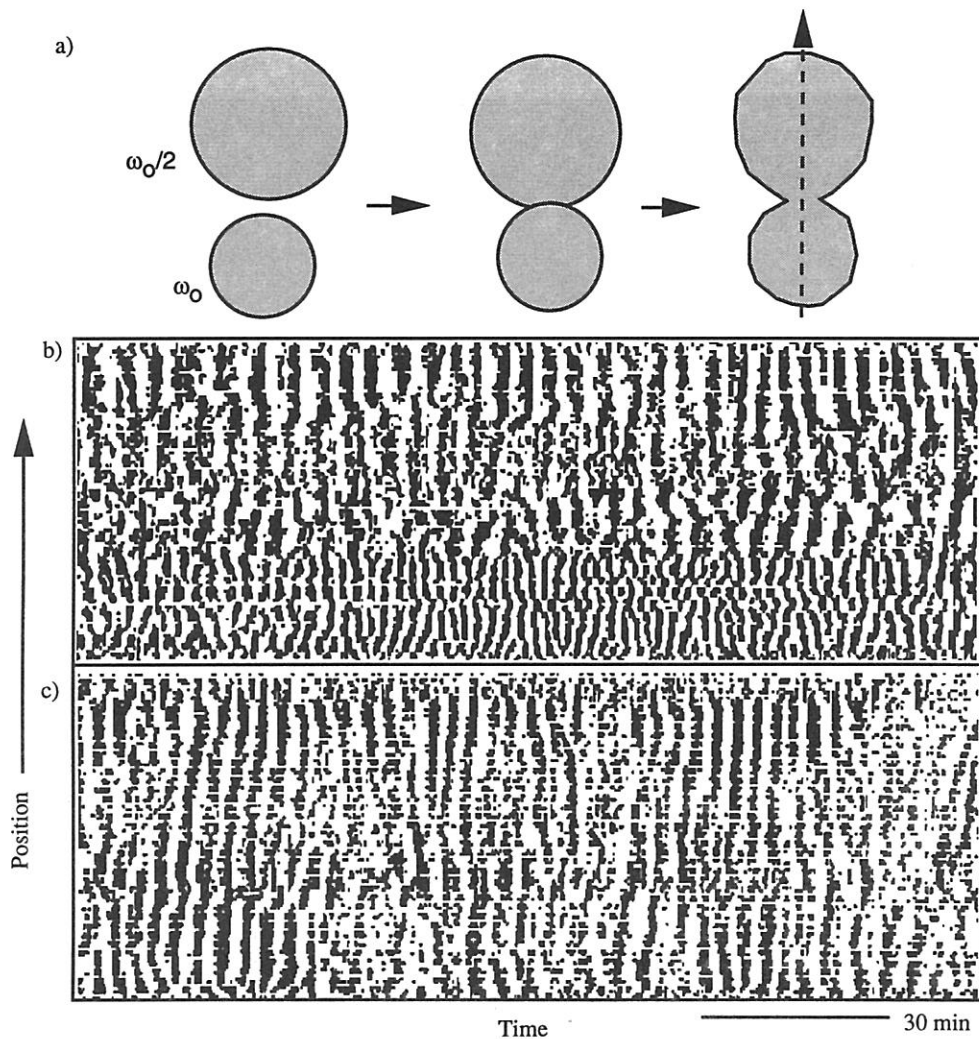
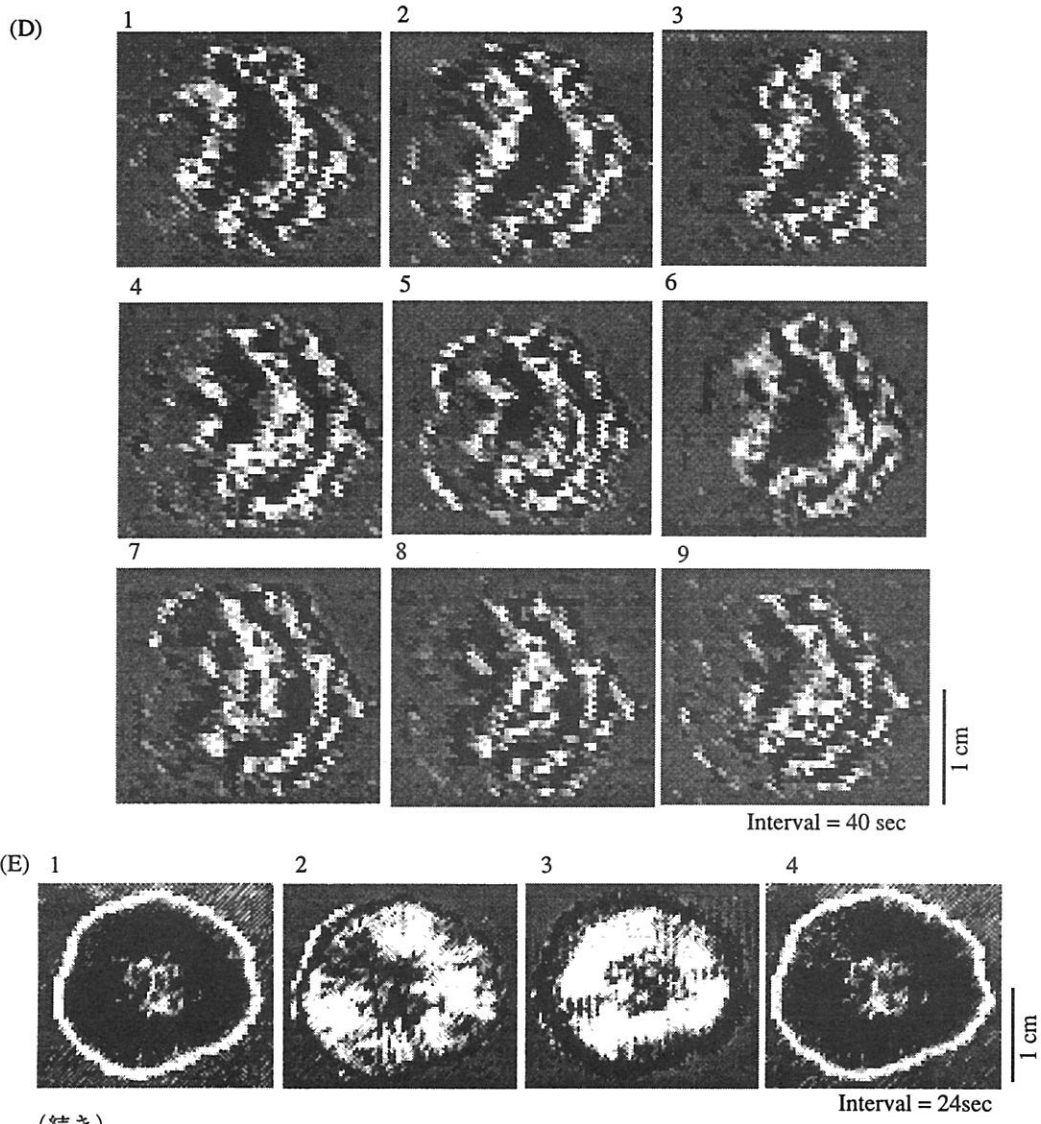


図45. $\omega_0/2$ と ω_0 状態にある変形体の融合後の収縮リズムの時間的空間的变化

(a) 実験方法の模式図。 $\omega_0/2$ と ω_0 状態にある二つの変形体を離しておいた。 ω_0 状態の変形体が主に拡がって接触し、融合した。破線にそった位相分布の時間変化を接触後約15分してから測定した。(b) $\omega_0/2$ と ω_0 状態の空間的な分離。時間が経つにつれて、下側の振動数が徐々に高くなり、図中の後半部では上と下の振動数比はほぼ2になった。(c) 二つの振動状態の同調化。二つの振動状態が互いに近寄って同調したが、しばしば振動が乱れた。



(続き)
 図46. 円形に広がる変形体が容器の壁に接触した時に見せた複雑な振動リズム
 (D) 収縮リズムの空間二次元パターンのスナップショット。位相のそろった領域が分断化された。(E) 図Bのような形状時の収縮リズムの空間二次元パターン。

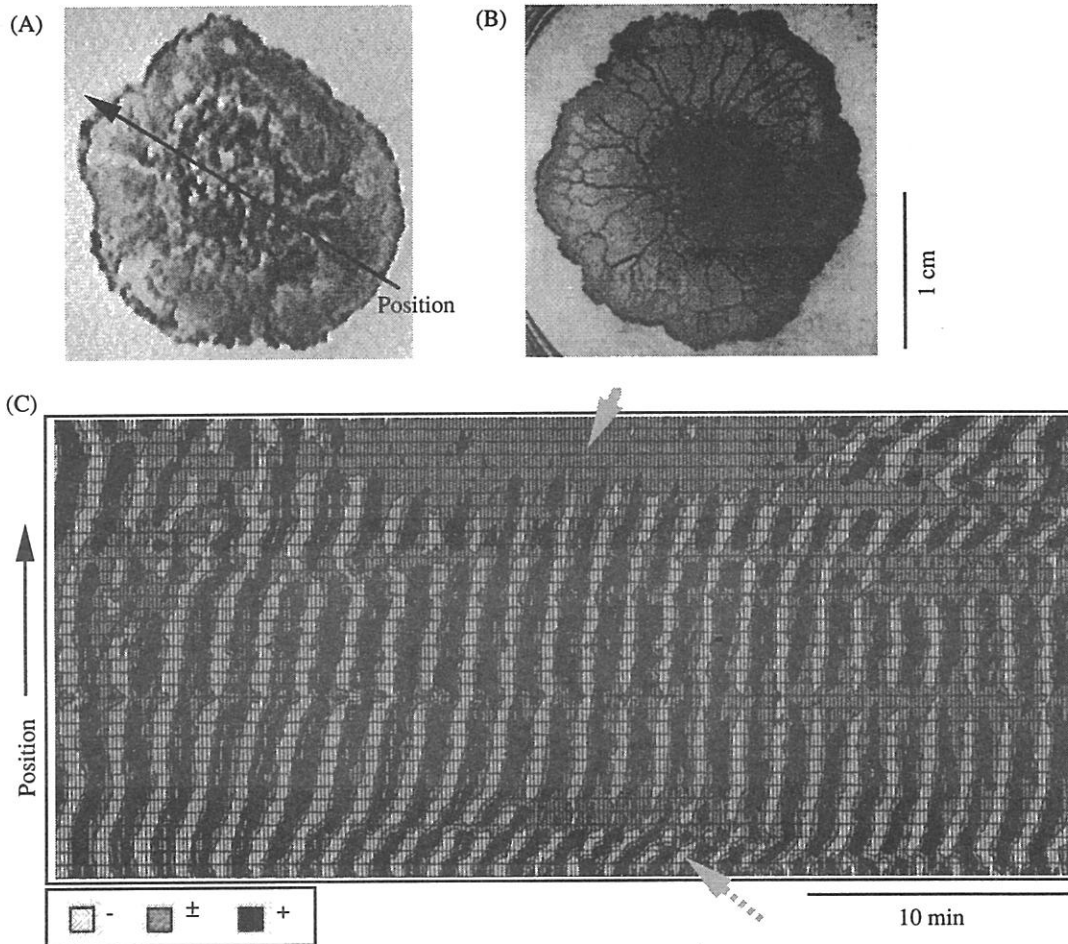


図46. 円形に広がる変形体が容器の壁に接触した時に見せた複雑な振動リズム

(A) 壁に接触したときの変形体の写真。変形体系の網目構造が曖昧になった。図中の矢印に沿った空間一次元の時間変化を図Cに示した。

(B) 自由に広がる変形体の写真。変形体系の網目構造が発達している。

(C) 収縮リズムにおける空間一次元の時間変化。位相波の伝播速度が遅い領域（破線矢印で示した）や、振動が停止した領域（実線矢印で示した）が混在した。

(続く)

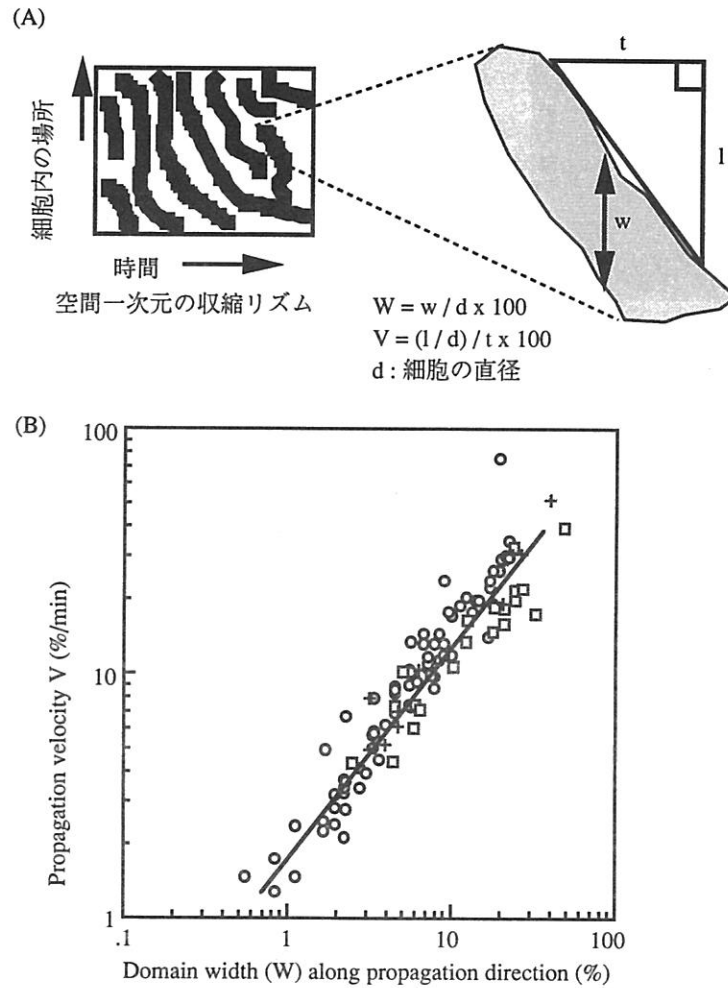


図47. 位相波の伝播速度と移動方向に見た位相波の幅との関係

(A) 位相は速度と位相波の幅の測定法。変形体の直径 d で位相波の幅 w を除し相対サイズ W を求めた。同様に速度 V も粘菌サイズで規格化した。(B) 位相波の速度と幅の直線関係。これは、変形体の直径が 30 mm でも 3 mm でも成立した。

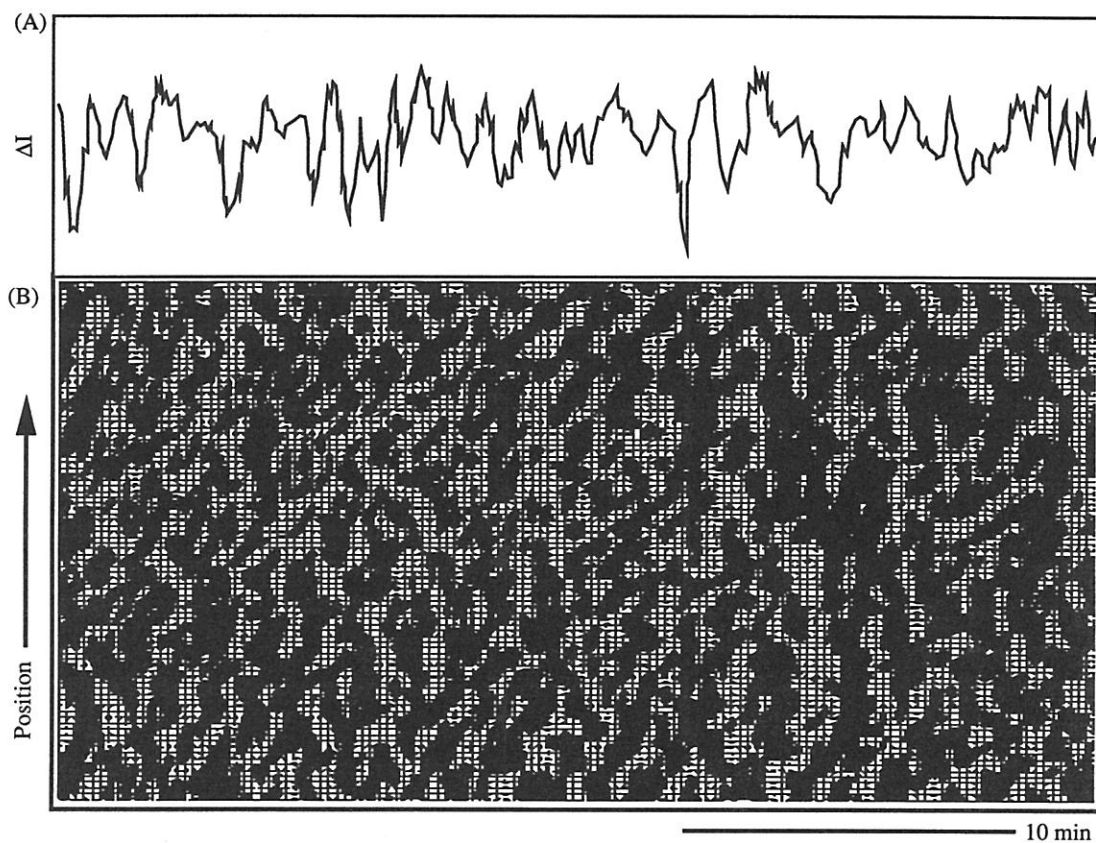


図48. 高フェニルアラニン環境により誘導された複雑な収縮リズム

(A) 収縮リズムの時間変化。不規則な振動を示した。

(B) 収縮リズムの空間一次元的にみた時間変化。位相波は、局所的かつ不規則に現れ、細胞全体に伝播しなかった。

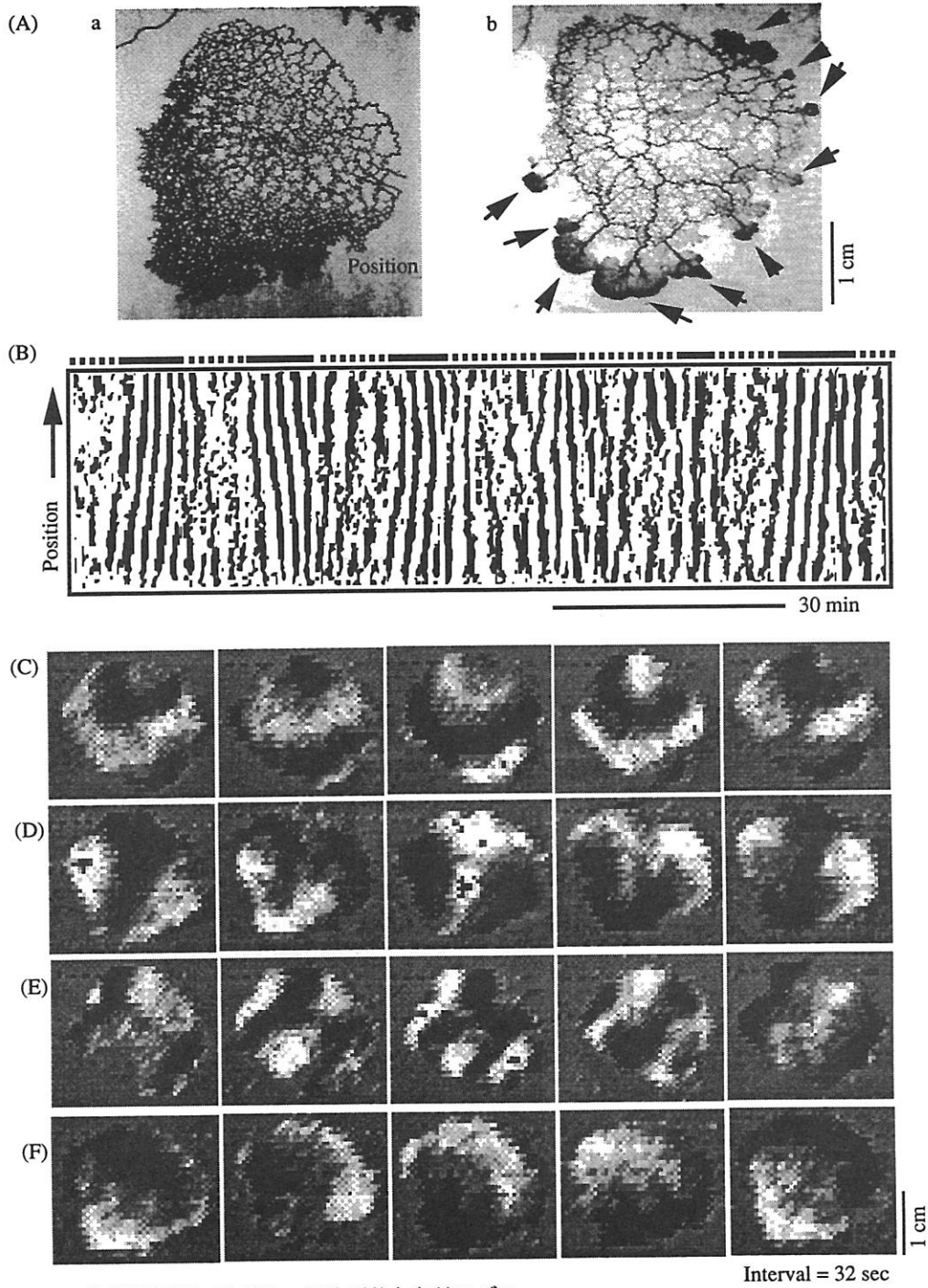


図49. 紫外線照射12時間後の細胞形状と収縮リズム

(A) 細胞形状。均一な太さの網目構造を呈した(a)。この形状はしばらく固定されていたが、数時間後、端の数箇所(矢印)から一気に拡がり出した(b)。(B) 収縮リズムの空間一次元的な時間変動。振動は、しばしば乱れ減衰した。(C-F) 様々な空間二次元パターンのスナップショット。このような振動パターンが次々に現れては消滅した。

終章 終わりに

本研究により、粘菌の行動や情報処理は、要素と全体の巧みな協調性によって作られる動的な大域的秩序形成に基づくことが、実験的に解明された。第一章では、粘菌が、同じ応答を繰り返すだけの単純な行動を示すのではなく、複雑な状況では粘菌なりの計算原理にしたがって適切な行動をとることがわかった。第二章では、細胞行動に伴って、ATPの化学パターンが形成されることを示した。さらに、化学パターンは、収縮リズムの位相パターンと対応した。これは、二つのパターンが互いに影響し合うことを示唆する。図50は、この様なパターン形成が、どのような機構で起こり、またどのように生理機能と関連するかを模式的に示す。粘菌の収縮リズムにおける多様な位相パターンは、結合振動子モデルに基づいて説明できた。原形質の交換程度は振動子間の主要な結合要因であり、その強度や範囲、方向性が更新されることでパターンは作り替えられた。原形質流動は、収縮リズムの空間的な位相差によって生じたので、従って、大域的秩序は、振動子間の結合様式に依存して形成される一方で、結合様式自体は、大域的秩序に依存した。この様な機構によるパターン選択が、第三章で示した様に、位相スイッチング現象による細胞行動とアメーバ体制の調節機能をもたらした。粘菌という機能システムにおける要素と全体との関係が具体的に解明できた(第四章)。粘菌の情報処理機能は、パターン選択の過程そのものだと考えられる。生物システムにおける機能創発の仕組みを、粘菌を材料にして解明することは、極めて有効な方法である(上田&中垣 1996, 中垣&上田 1997)。

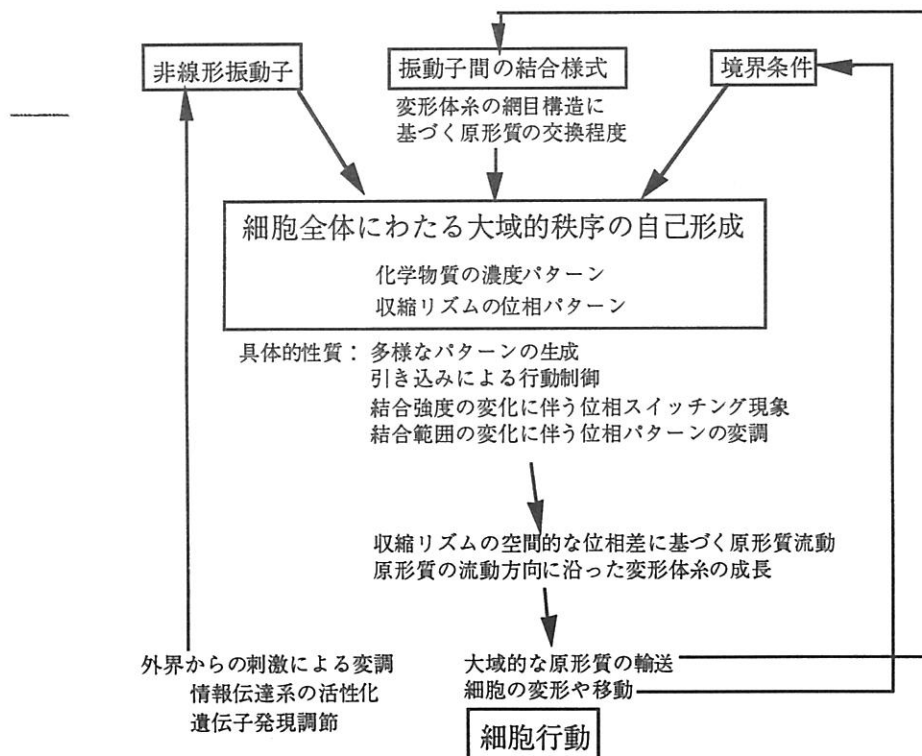


図50 結合非線形振動子系の自己組織化に基づく粘菌行動の発現

参考文献

- Abe, S., Nakajima, H., and Kamiya, N. (1958) Simultaneous measurement of respiration and the motive force of protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodium. IV. The effect of monoiodoacetic acid. Proc Japan Acad 34, 697-699.
- Abe, S., Nakajima, H., and Kamiya, N. (1959) Simultaneous measurement of respiration and the motive force of protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodium. V. The effect of carbon monoxide. Proc Japan Acad 35, 603-606.
- Achenbach, F., and Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1986a) Reactivation of cell-free models of endoplasmic drops from *Physarum polycephalum* after glycerol extraction at low ionic strength. Eur J Cell Biol 40, 135-138.
- Achenbach, F., and Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1986b) Successive contraction-relaxation cycles experimentally induced in cell-free models of *Physarum polycephalum*. 42, 111-117.
- Ahmad, M. and Cashmore, R.C. (1993) HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. Nature 366, 162-166.
- Akitaya, T., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1985) Oscillations in intracellular ATP, cAMP and cGMP concentration in relation to rhythmical sporulation under continuous light in the myxomycete *Physarum polycephalum*. J Gen Microbiol 131, 195-200.
- Alexopoulos, C. J., and Mims, C. W. (1979) *Introductory Mycology*. Third edition. pp. 61-99. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Baranowski, Z. (1985) Consequences of impeding in mitochondrial functions in *Physarum polycephalum*. III. Reversible cessation of the contraction-relaxation cycle and temperature sensitivity of alternate respiratory pathway. Eur J Cell Biol 39, 283-289.
- Berge, P., Pomeau, Y., and Vidal, Ch. (1984) カオスのなかの秩序 -乱流の理解に向けて- 産業図書、東京
- Beutler, E., and Baluda, M. (1964) Simplified determination of blood adenosine triphosphate using the firefly system. Blood 23, 688-698
- Brodhun, B. and Haeder, D.P. (1990) Photoreceptor proteins and pigments in the paraflagellar body of the flagellate *Euglena gracilis*. Photochem. Photobiol. 52, 865-871.
- Camp, W. G. (1936) A method of cultivating myxomycete plasmodia. Bull Trrey Bot Club 63, 205-210.
- Castets, V., Dulos, E., Boissonade, J., and DeKepper, P. (1990) Experimental evidence of a sustained standing Turing type non-equilibrium chemical pattern. Phys Rev Lett 64, 2953-2956.
- Cooke, D. J., and Dee, J. (1975) Methods for the isolation and analysis of plasmodial mutants in *Physarum polycephalum*. Genetic Res. 24, 175-187.
- Chay, T. R. (1981) A model for biological oscillations. Proc Natl Acad Sci USA 78, 2204-2207
- Daniel, J. W., and Rush, H. P. (1962) Method for inducing sporulation of pure cultures of the myxomycete *Physarum polycephalum*. J. Bacteriol. 83, 234-240.
- 福井義夫 (1987) 非筋細胞の運動メカニズム -非筋骨格構築の新概念- 科学 57, 553-562.
- Galland, P., Keiner, P., Dornemann, D., Senger, H., Brodhun, B., and Haeder, D. P. (1990) Pterin- and flavin-like fluorescence associated with isolated flagella of *Euglena gracilis*. Photochem. Photobiol. 51, 675-680.
- Glass, L., & Mackey, M. C. (1988) *From Clocks to Chaos: Rhythms of Life*. Princeton University Press, Princeton.

- Goldbeter, A. (1996) *Biochemical Oscillations and Cellular Rhythms*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Grebecki, A., & Cieslawsaka, M. (1978) Plasmodium of *Physarum polycephalum* as a synchronous contractile system. *Cytobiologie* 17, 335-342.
- Gray, W. D. (1938) The effect of light on the fruiting of Myxomycetes. *Am J Bot* 25, 511-522.
- Gray, W. D., & Alexopoulos, C. J. (1968) *Biology of Myxomycetes*. Pp. 92-212. The Ronald Press Company. New York.
- Guevara, M. R., Glass, L., and Shrier (1981) Phase locking, period-doubling bifurcations and irregular dynamics in periodically stimulated cardiac cells. *Science* 214, 1350-1353.
- Haeder, D. P., & Tevini, M. (1987) *General Photobiology*. Pp. 83-274. Pergamon Press. Oxford, England.
- Hayashi, H., Ishizuka, S., and Hirakawa, K. (1983) Transition to chaos via intermittency in the *onchidium* pacemaker neuron. *Phys Lett* 98A, 474-476.
- Hess B. (1983) Non-equilibrium dynamics of biological processes. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 364, 1-20
- Hilborn, R. C. (1994) *Chaos and nonlinear dynamics -An introduction for scientists and engineers-* Oxford University Press, New York
- Holmuhamedov, E.L. (1986) Oscillating dissipative structures in mitochondrial suspensions. *Eur J Biochem* 158, 543-546
- Hartmann, K.M. (1983) Action spectroscopy. *Biophysics*. Edited by W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl and H. Ziegler, pp.115-144. Springer-Verlag, Berlin.
- Isenberg, G., and Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1976) Transformation of cytoplasmic actin importance for the organization of contractile gel reticulum and contraction-relaxation cycle of cytoplasmic actomyosin. *Cell Tiss Res* 173, 495-528.
- Ishigami, M., and Hatano, S. (1986) Dynamic aspects of the contractile system in *Physarum plasmodium*. II. Contractility of Triton cell models in accordance with the contraction and relaxation phase of the plasmodia. *Cell motility and the cytoskeleton*. 6, 448-457.
- Ishigami M. (1986) Dynamic aspects of the contraction system in *Physarum plasmodium*; I. Change in spatial organization of the cytoplasmic fibrils according to the contraction-relaxation cycle. *Cell Motility and Cytoskeleton* 6, 439-447
- Ishigami, M., Kuroda, K., and Hatano, S. (1987) Dynamic aspects of contractile system in *Physarum plasmodium*. III. Cyclic contraction-relaxation of the plasmodial fragment in accordance with the generation-degeneration of cytoplasmic actomyosin fibers. *J Cell Biol* 105, 381-386.
- Ishigami, M. (1990) Dynamic aspects of the contractile system in *Physarum plasmodium*, IV. Local asynchronism in the generation cycle of actomyosin fibrils and its relationship to the shuttle streaming. *Proc Japan Acad* 66, 105-109.
- Jouaville, L. S., Ichas, F., Holmuhamedov, E. L., Camacho, P., and Lechleiter, J. D. (1995) Synchronization of calcium waves by mitochondrial substrates in *Xenopus laevis* oocytes. *Nature* 377,438-441.
- Kamiya N. (1940) The control of protoplasmic streaming. *Science* 92, 463.
- Kamiya, N., Abe, S., and Nakajima, H. (1957a) Simultaneous measurement of respiration and the motive force of protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodium. I. Outline of the method. *Proc Japan Acad* 33, 206-210.
- Kamiya, N., Abe, S., and Nakajima, H. (1957b) Simultaneous measurement of respiration and the

- motive force of protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodium. II. The effect of cyanide. Proc Japan Acad 33,407-409.
- Kamiya, N., Abe, S., and Nakajima, H. (1958) Simultaneous measurement of respiration and the motive force of protoplasmic streaming in the myxomycete plasmodium. III. The effect of oxygen tension. Proc Japan Acad 34, 530-532.
- Kamiya N. (1959) Protoplasmic streaming. Protoplasmatologia 8, 1-199
- Kamiya, N, Allen, R.D., and Zeh, R. (1972) Contractile properties of the slime mold strand. Acta Protozool. 11, 113-123.
- Kaneko, K. (1993) The coupled map lattice: introduction, phenomenology, Lyapunov analysis, thermodynamics and applications. *Theory and applications of coupled map lattice*. Ed. K. Kaneko, pp. 1-49, John Wiley & Sons Ltd
- Kaneko, K. (1990) Clustering, coding, switching, hierarchical ordering, and control in a network of chaotic elements. Physica D 41, 137-172.
- Kaneko, K, & Tsuda, I (1994) Constructive complexity and artificial reality: an introduction. Physica D 75, 1-10
- 金子邦彦・津田一郎 (1996) 複雑系のカオスのシナリオ 朝倉書店、東京
- 金子邦彦ら (1996) 特集複雑系-生成と崩壊のダイナミクス- 数理科学 6/1996, 5-25
- 北原和夫・吉川研一 (1994) 非平衡系の科学-反応・拡散・対流の現象論- 講談社、東京
- Koestler, A. (1957) *The ghost in the Machine*. Hutchinson & CO LTD, London.
- Kondo, S., & Asai, R. (1995) A reaction-diffusion wave on the skin of the marine angelfish *Pomacanthus*. Nature 376, 765-768
- Kuramoto, Y. (1984) *Chemical Oscillations, Waves, and Turbulence*. Springer-Verlag, Berlin.
- 蔵本由紀 (1991) 引き込み現象の数理 パターン形成 (蔵本・川崎・山田・甲斐・篠本著), pp. 149-196 朝倉書店、東京
- 蔵本由紀・森肇 (1994) 散逸構造とカオス 岩波書店、東京
- Lin, C., Robertson, D. E., Ahmad, M., Raibekas, A. A., Jorns, Dutton, P. L. and Cashmore, A. R. (1995a) Association of flavin adenine dinucleotide with the *Arabidopsis* blue light receptor CRY-1. Science 269, 968-970.
- Lin, C., Ahmad, M., Gordon, D. and Cashmore, A. R. (1995b) Expression of an *Arabidopsis* cryptochrome gene in transgenic tobacco results in hypersensitivity to blue, UV-A, and green light. Proc Natl Acad Sci USA 92, 8423-8427.
- Marek, M., & Schreiber, I. (1991) *Chaotic behavior of deterministic dissipative system*. Academia, Praha
- Matsumoto, K., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1986) Propagation of phase wave in relation to tactic responses by the plasmodium of *Physarum polycephalum*. J Theor Biol 122, 339-345
- Matsumoto, K., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1988) Reversal of thermotaxis with oscillatory stimulation in the plasmodium of *Physarum polycephalum*. J Theor Biol. 131, 175-182
- Meinhardt, H. (1982) *Models of Biological Pattern Formation*. Academic, London.
- Meinhardt, H. (1995) *The algorithmic beauty of sea shells*. Springer-verlag, New York
- Miyake, Y., Yano, M. & Shimizu, H. (1991) Relationship between endoplasmic and ectoplasmic oscillations during chemotaxis of *Physarum polycephalum*. Protoplasma. 162, 175-181.
- Miyake, Y., Yano, M., Tanaka, H., & Shimizu, H. (1992) Entrainment to external Ca^{2+} oscillation in ionophore-treated *Physarum* plasmodium. Cell Struct Funct 17, 371-375.
- Miyake, Y., Yamaguchi, Y., Yano, M., & Shimizu, H. (1993) Environment-dependent

- self-organization of positional information in coupled nonlinear oscillator system. -A new principle of real-time coordinative control in biological distributed system- IEICE Trans Fundamentals E76-A, 780-785.
- Miyake, Y., Tabata, S., Murakami, H., Yano, M., and Shimizu, H. (1996) Environment-dependent self organization of positional information field in chemotaxis of *Physarum plasmodium*. J Theor Biol 178, 341-353.
- Mori, Y., Matsumoto, K., Ueda, T. and Kobatake, Y. (1986) Spatio-temporal organization of intracellular ATP content and oscillation patterns in response to blue light by *Physarum polycephalum*. Protoplasma 135, 31-37
- Mori, Y., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1987) NAD(P)H oscillation in relation to the rhythmic contraction in *Physarum polycephalum*. Protoplasma 139, 141-144.
- Muller, S.C., Plesser, T., and Hess, B. (1986) Two-dimensional spectroscopy and pseudo-color representation of chemical reaction patterns. Naturwissenschaften 73, 165-176
- Muller, S. C., Plesser, Th., & Hess, B. (1987) Biophys Chem 26, 357-
- Murray, J. D. (1989) *Mathematical Biology*. 2nd edn. Springer-Verlag, Berlin.
- Nakagaki, T., and Ueda, T. (1996) Phase switching of oscillatory contraction in relation to the regulation of amoeboid behavior by the plasmodium of *Physarum polycephalum*. J Theor Biol 179, 261-267
- Nakagaki, T., Umemura, S., Kakiuchi, Y., and Ueda, T. (1996) Action spectrum for sporulation and photoavoidance in the plasmodium of *Physarum polycephalum*, as modified differentially by temperature and starvation. Photochem Photobiol 64 859-862
- 中垣俊之、上田哲男 (1997) 細胞に心はあるか：細胞行動の心理生理学の試み 脳と心のバイオフィジクス (松本修文編著) シリーズニューバイオフィジクス 9巻、共立出版 東京。印刷中。
- Nakamura, S., Yoshimoto, Y., and Kamiya, N. (1982) Oscillation in surface pH of the *Physarum plasmodium*. Proc Japan Acad 58, 270-273.
- Nakamura, S, and Kamiya, N. (1985) Regional difference in oscillatory characteristics of *Physarum plasmodium* as revealed by surface pH. Cell Struct Funct 10, 173-176
- Naib-Majani, W., Stockem, W., and Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1982) Immunocytochemistry of acellular slime mold *Physarum polycephalum*. II. Spatial organization of cytoplasmic actin. Eur J Cell Biol 28, 103-114.
- Nicolis, G. & Prigogine, I. (1977) *Self-organization in Non-equilibrium system*. John Wiley and Sons, New York
- Ogihara, S., & Kuroda, K. (1979) Identification of a birefringent structure which appears and disappears in accordance with the shuttle streaming in *Physarum polycephalum*. Protoplasma. 100, 167-177.
- Ogihara, S. (1982) Calcium and ATP regulation of the oscillatory torsional movement in a triton model of *Physarum plasmodial* strands. Exp Cell Res 138,377-384.
- Ouyang, Q., & Swinney, H. L. (1991) Transition from a unique state to hexagonal and striped Turing patterns. Nature 352, 610-612.
- Pies, N. J., and Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1986) Reactivation of a cell-free model from *Physarum polycephalum*: studies on cryosections indicate an inhibitory effect of Ca^{2+} on cytoplasmic actomyosin contraction. Eur J Cell Biol 40, 139-149.
- Rakoczy, L. (1980) Effect of blue light on metabolic process, development and movement in true slime molds. *Blue light syndrome*. Edited by H. Senger, pp. 570-583, Springer-Verlag, Berlin

Heidelberg, New York.

- Rakoczy, L. (1962) The effect of light on the fructification of the slime mold *Physarum nudum* Macbride as influenced by the age of the culture. *Acta Soc Bot Polon* 31, 651-665.
- Rakoczy, L. (1963) Application of crossed light and humidity gradients for the investigation of slime-molds. *Acta Soc Bot Polon* 32, 393-403.
- Rakoczy, L. (1965) Action spectrum in sporulation of the myxomycete *Physarum nudum*. *Acta Soc Bot Polon* 34, 153-159.
- Rakoczy, L. (1966) Further studies on the physiology of the sporulation of the myxomycete *Physarum nudum*. *Acta Soc Bot Polon* 36, 315-324.
- Rakoczy, L. (1971) Studies on pigments of the myxomycete *Physarum nudum*. *Acta Soc Bot Polon* 40, 483-497.
- Rakoczy, L. (1973) The myxomycete *Physarum nudum* as a model organism for photobiological studies. *Ber Deutsch Bot Ges Bd* 86, 141-164.
- Ridgway, E. B. & Durham, A. C. H. (1976) Oscillations of calcium ion concentration in *Physarum* plasmodia. *Protoplasma* 100, 167-177
- Romanovsky, Yu.M., & Teplov, V.A. (1988) Autowave mechanochemical model for *Physarum* shuttle streaming. *Thermodynamics and Pattern Formation in Biology*. Edited by Ramprecht I., and Zotin A.I. pp. 395-414, Walter de Gruyter & Co., Berlin & New York
- Satoh, H., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1982) Primary oscillator of contractional rhythm in the plasmodium of *Physarum polycephalum*: Role of mitochondria. *Cell Struct Funct* 7, 275-283.
- Satoh, H., Ueda, T., and Kobatake, Y. (1984) Rhythmic concentration in the plasmodium of the myxomycete *Physarum polycephalum* in relation to the mitochondrial function. *Cell Struct Funct* 9, 37-44.
- Schmidt, W., Galland, P., Senger, H., and Furuya, M. (1990) Microspectrophotometry of *Euglena gracilis*. Pterin- and flavin-like fluorescence in the paraflagellar body. *Planta* 182, 375-381.
- Schreckenbach, T. (1984) Phototaxis and photomorphogenesis in *Physarum polycephalum* plasmodia. *Blue light effects in Biological systems*. Edited by H. Senger. pp.463-475. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Segel, L. A., & Jager, E. (1994) Reverse engineering: A model for T-cell vaccination. *Bul Math Biol* 56, 687-722
- Segel, L. A., Jager, E., Elis, Dana and Cohen, I. R. (1995) A quantitative model of autoimmune disease and T-cell vaccination: does more mean less? *Immunology Today* 16, 80-84
- Singer, W. (1993) Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu Rev Physiol* 55, 349-374.
- Shinjo, T., Nakagawa, Y. & Ueda, T. (1995) Hierarchic spatio-temporal dynamics in glycolysis. *Physica D* 84, 212-219.
- Sineshchekov, V.A., Geib, D., Sineshchekov, O.A., Galland, P., and Senger, H. (1994) Fluorometric characterization of pigments associated with isolated flagella of *Euglena gracilis*: evidence for energy migration. *J Photochem Photobiol B: Biol.* 23, 225-237.
- Skarda, C. A., & Freeman, W. J. (1987) How brains make chaos in order to make sense of the world. *Behavioral and Brain Sciences* 10, 161-195.
- Snita, D., & Marek, M. (1994) Transport and reaction in ionic chemical systems. *Physica* 75 D, 521-540.
- Sugai, M. and Furuya, M. (1990) Photo-inhibition of red-light-induced spore germination in *Pteris*

- vittata*: Cyanide, azide and ethanol counteracts restorable inhibitory action of near UV and blue-light but not that of far UV. *Plant Cell Physiol.* 31, 415-418.
- Takeuchi, Y., and Yoneda, M. (1977) Synchrony in the rhythm of the contraction-relaxation cycle in two plasmodial strands of *Physarum polycephalum*. *J. Cell Sci.* 26, 151-160.
- Tasaki, I., and Kamiya, N. (1964) A study on electrophysiological properties of carnivorous amoeba. *J Cell Comp Physiol* 63, 365-380
- Teplov, V. A. (1988) Autooscillations in *Physarum polycephalum* I. Correlation between force generation and viscoelasticity during rhythmical contractions of protoplasmic strand. *Protoplasma* [Suppl 1], 81-88.
- Teplov, V.A., Romanovsky, Yu. M., and Latushkin, O.A. (1991) A continuum model of contraction waves and protoplasm streaming in strands of *Physarum polycephalum*. *Biosystems* 24, 269-289
- Turing, A. M.(1952) The chemical basis of morphogenesis. *Phil Trans Roy Soc London B237*, 37-72
- Ueda, T. & Gotz von Olenhusen, K. (1978) Replacement of endoplasm with artificial media in plasmodial strands of *Physarum polycephalum*. *Exp Cell Res* 116, 55-62
- Ueda, T., Matsumoto, K., Akitaya, T., and Kobatake, Y. (1986) Spatial and temporal organization of intracellular adenosine nucleotide and cyclic nucleotides in relation to rhythmic motility in *Physarum polycephalum*. *Exp Cell Res* 162, 486-494
- Ueda T., Mori, Y., and Kobatake, Y. (1987) Patterns in distribution of intracellular ATP concentration in relation to coordination of amoeboid cell behavior in *Physarum polycephalum*. *Exp Cell Res* 169, 191-201
- Ueda, T., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988a) Patterns in intracellular ATP distribution and rhythmic contraction in relation to amoeboid locomotion in the plasmodium of *Physarum polycephalum*. *Protoplasma Suppl* 1, 51-56.
- Ueda, T., Mori, Y., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988b) Changes in cAMP and cGMP concentration, birefringent fibrils and contractile activity accompanying UV and blue light photoavoidance in plasmodia of an albino strain of *Physarum polycephalum*. *Photochem Photobiol* 47, 271-275
- Ueda, T., Mori, Y., Nakagaki, T., and Kobatake, Y. (1988c) Action spectra for superoxide generation and UV and visible photoavoidance in plasmodium of *Physarum polycephalum*. *Photochem Photobiol* 48, 705-709
- Ueda, T., Nakagaki, T., and Yamada, T. (1990) Dynamic organization of ATP and birefringent fibrils during free locomotion and galvanotaxis in the plasmodium of *Physarum polycephalum*. *J Cell Biol* 110, 1197-1102.
- Ueda, T. (1993) Pattern dynamics in cellular perception. *Phase Transitions* 45, 93-104
- Ueda, T. (1995) Spatio-temporaldynamics of glycolysis and cellular metabolism: Toward intelligence by nonlinear chemical processes. *Sensors & Materials* 7, 147-157
- 上田哲男、中垣俊之 (1996) 粘菌行動の自己組織化—Phase Locking と情報制御— 自己組織化—生物に見る複雑多様性と情報処理— 都甲潔、松本元編著, pp. 86-102, 朝倉書店 東京
- Watanabe, M., Furuya, M., Miyoshi, Y., Inoue, Y., Iwahashi, I., and Matsumoto, K. (1982) Design and performance of the Okazaki Large Spectrograph for photobiological research. *Photochem. Photobiol.* 36, 491-498.
- Watanabe, M. (1995) Action spectroscopy: Photomovement and photomorphogenesis spectra. *CRC Handbook of Organic Photochemistry Photobiology*. Edited by W. Horsapool and P.-S. Song, pp. 1260-1269, CRC Press, Boca Raton.

- Winfree, A. T. (1967) Biological rhythms and the behavior of populations of coupled oscillators. *J Theor Biol*, 16, 15-42
- Winfree, A. T. (1980) *The Geometry of Biological Time*. Springer-Verlag, Berlin.
- Yoshimoto, M., Yoshikawa, K., and Mori, Y. (1993) Coupling among three chemical oscillators: Synchronization, phase death, and frustration. *Phys Rev E* 47, 864-874.
- Yoshimoto, Y., & Kamiya, N. (1978a) Studies on contraction rhythm of the plasmodial strand III. Role of endoplasmic streaming in synchronization of local rhythms. *Protoplasma* 95, 111-121.
- Yoshimoto Y., & Kamiya N. (1978b) Studies on contraction rhythm of the plasmodial strand I. Synchronization of local rhythms. *Protoplasm* 95, 89-99
- Yoshimoto, Y., Sakai, T., and Kamiya, N. (1981a) ATP oscillation in *Physarum plasmodium*. *Protoplasm*. 109, 159-168
- Yoshimoto, Y., Matsumura, F., and Kamiya, N. (1981b) Simultaneous oscillations of Ca^{2+} efflux and tension generation in the permeabilized plasmodial strand of *Physarum*. *Cell Motility* 1, 433-443.
- Yoshinaga, T., Kawakami, H., and Yoshikawa, K. (1991) Mode bifurcations in diffusively coupled Van der Pol equations. *IEICE Trans.* 74E, 1420-1427

謝辞

本研究を遂行するにあたり、絶えざるご指導を賜りました名古屋大学人間情報学研究科上田哲男教授に心より感謝いたします。有益な議論や示唆をしていただきました多くの方々、とりわけ、北海道大学理学部数学科松本健司助教授、北海道大学薬学部生物物理学講座元教授故小嶋陽之助先生、名古屋工業大学助手森義仁博士、基礎生物学研究所渡辺正勝助教授、名古屋大学情報文化学部手塚修文教授、名古屋大学人間情報学研究科吉川研一教授、プラハ化学工科大学Milos Marek教授、ロシア科学アカデミー理論および実験生物物理学研究所Rubin R. Aliev博士、大阪大学理学部荻原哲助教授、東京大学総合文化研究科柴田達夫氏、尾道市メイプルクリニック藤原敏浩先生、京都大学瀬戸臨海実験所浅井理人氏、に感謝いたします。また、名古屋大学助手青木撰之博士をはじめとした名古屋大学人間情報学研究科生物情報論講座上田研究室の皆様感謝します。