

令和元年6月24日現在

機関番号：20103

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K13864

研究課題名（和文）三次元構造物内における巨大アメーバ様単細胞生物の細胞行動学

研究課題名（英文）Cell behavior in tree-dimensional object by large amoeboid unicellular organism

研究代表者

高木 清二（TAKAGI, Seiji）

公立ほこだて未来大学・システム情報科学部・准教授

研究者番号：80372259

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：真正粘菌は自然な状態では三次元的に入り組んだ場所に生息している。同じ現象でも空間次元数が異なるとその振る舞いが異なることが様々な現象で見つかっている様に、粘菌の行動も三次元空間内のもので従来の実験で行われてきた二次元平面上のものとは異なる可能性がある。そこで、本研究では三次元的な粘菌の行動実験手法と観察方法を開発することで、粘菌の管ネットワーク形成を調べた。その結果、粘菌が三次元空間に形成する管ネットワークは二次元と比してより多くの管を形成することで離れた管同士をつなぎ、その結果二次元空間では粘菌が形成し難いトポロジーのネットワークを形成することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物の実験はその簡便さから先ずは二次元的な平面状の実験系で行われ傾向にある。注目すべき成果を上げている真正粘菌の実験も二次元上で行われてきたが、その本来の生活環境は三次元的に入り組んだ場所である。より技術的に困難な三次元空間における実験方法および観察方法を開発することは、その生物の本来の能力を引き出し、明らかにする上で重要である。また、三次元における粘菌のネットワークデザインは二次元と比べより多少複雑であるが、全体のつながりはより強固になることが分かった。今後、三次元空間始めそれ以上の次元の空間におけるネットワーク形成への粘菌アルゴリズムの応用が考えられる。

研究成果の概要（英文）：In nature, true slime molds live in three-dimensionally intricate places. The behavior of the organism in the three-dimensional space may differ from that in the two-dimensional plane that has been employed in experiments so far. Here, we developed an experimental and observation method for the three-dimensional behavior of true slime mold and studied tubular network formations in three-dimensional space. We found that the organism in three-dimensional space tended to form more tubes and more branching points at the places other than the food source nodes, compared with the that in the two-dimensional space. As a result, some topologies of the tubular network formed in the tree-dimensional space were hard to be realized in two-dimensional space.

研究分野：生物物理

キーワード：真正粘菌 三次元 細胞行動 ネットワーク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳神経系の様な情報中枢をもたない巨大アメーバ様単細胞生物である真正粘菌の変形体は、近年、その特異な性質を活かして単細胞の情報処理能力に関する研究が盛んに行われている。例えば巨大細胞内に形成される管ネットワークの研究を通じて、空間情報に関する高度な情報処理を行うことが明らかにされている。しかしながら、これらを始め従来の実験は粘菌にとって特殊な状況である滑らかな二次元平面上で行われている。一方、粘菌が自然環境で通常生息する場所は朽木の内部や落ち葉が堆積した場所など三次元的に入り組んだ場所である。そのため、粘菌にとってより自然であり淘汰圧に晒されて進化してきた三次元的な環境における管ネットワーク形成を始めとした粘菌の行動観察を行う必要がある。特にネットワーク形成においては、例えば5つの接点からなる完全グラフが平面グラフでない様に、空間次元が一つ増えることにより二次元平面内では形成することが不可能なトポロジーのネットワークが三次元空間では粘菌によって形成される可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、粘菌の三次元行動を可能にする足場となる三次元構造物の作製方法と構造物内における粘菌の観察方法を確立させ、その行動として上記の様に三次元空間と二次元空間の違いが顕著に現れる管ネットワーク形成について実験的に調べることである。また、管形成の数理モデルを三次元に拡張し、実験結果と比較しその特徴を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 三次元構造物の作製

粘菌の足場となる三次元構造物の3Dモデリングはプログラミングにより行い、三次元空間内に多数の点を配置し、最隣接点同士をある太さの棒でつなぎ四面体メッシュの組み合わせとして構造物を生成した(図1A内写真)。プログラミングにより生成したCADデータから光重合型3Dプリンタ(Form2, Formlabs)を用いて数cmサイズの三次元構造物を空間解像度0.025mmで作製した。構造物は粘菌が這って移動することができ、かつ、構造物の内部まで観察できる様にその三次元メッシュを設計した。作製した三次元構造物の表面は粘菌との親和性を高くするため、寒天ゲル(2.0wt%, s-7伊那寒天)で表面をコーティングした。

(2) 観察方法

構造物内を三次元的に広がった粘菌の観察は次の様に行った。ステッピングモーターを取り付けたターンテーブルにサンプルを乗せて、異なる高さに2台のカメラを設置し(図1A)、ステッピングモーターの回転と2台のカメラのシャッターをマイコンボードで同期させることで、様々な角度からの三次元構造物内の粘菌を観察した。撮影方向は 18° および 21° の整数倍の方向、つまり 3° の角度差の画像対を20方向から撮影した。その後背景除去し粘菌部分のみを抽出し(図1B)、 3° 差の画像の対について $n \times n$ ブロックの相互相関係数で粘菌部分のマッチングを行い、視差から構造物内における粘菌の位置推定を行った(図1B,C)。

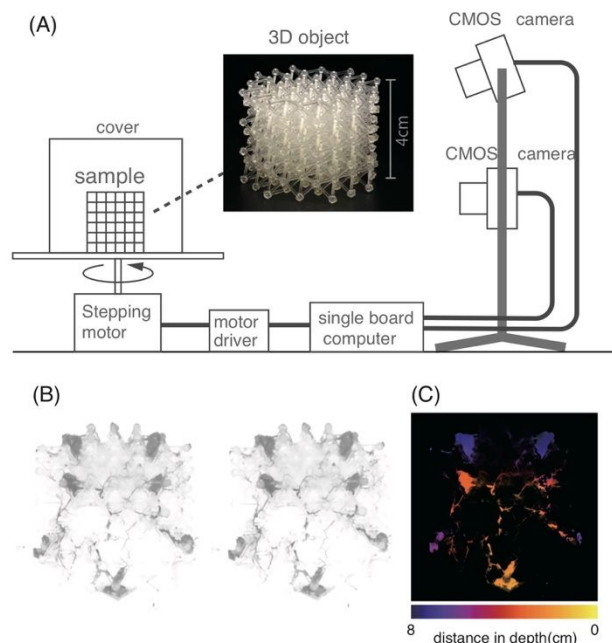


図1 三次元観察方法と解析。(A)実験および観察機器構成。(B) 仰角 21° のカメラから垂直軸周りの回転角 3° 異なる構造物内の粘菌画像。(C)視差から推定した奥行き方向の距離情報。構造物の最もカメラ側が距離の原点。

(3) 管ネットワーク形成実験と評価方法

三次元構造物に1.5gの粘菌変形体をのせ構造物全体に広がらせた後、構造物内の6点(正8面体の頂点に相当する位置)および8点(図2B)にオートミールで作製した餌場を置き、管ネットワークを形成させた。サンプルは透明な容器内に設置し湿度を約90%に保った。二次元平面上の実験も同様に寒天ゲル上に粘菌を広がせた後、餌場を設置して管ネットワークを形成させた。管ネットワークの評価は、管の本数、閉路、行き止まりとなる餌場(次数1の節点)、餌場以外にできた分岐点、餌場から伸びる管、これらの数値の比較により行った。ここで閉路の数については複数の閉路の組み合わせにより作られる閉路は除外する。基準となる最小全域木(MST)は閉路の無い連結グラフで最低コストである一方、完全グラフはすべての餌ノード間に辺が存在するネットワークである。MSTより管の多いネットワークは閉路が存在し、閉路の多いネット

ワークは移動効率や断線事故に対する耐性が強くなる一方、閉路の少ないネットワークは管の少ない低コストのネットワークとなる。粘菌の場合、管が途中で枝分かれすることでネットワークの分岐点が餌ノード以外にも作られることがあり、その際分岐点はシュタイナー点となり得る。管の数が増えたとしても、餌場ノード以外に分岐点を作る場合、餌場ノードは次数1のノードの行き止まりとなる。これらのネットワークを特徴付ける量を二次元、三次元および数値シミュレーションで比較する。

(4) 数値シミュレーション

管形成の数値シミュレーションは多数の餌場が存在する場合のモデルを三次元に拡張して行った。球を三次元ランダムメッシュ（要素数 600）で分割し、隣接要素間は管で繋がれており圧力差に応じて流れが生じる。その流れと流れによる管の成長は文献 [1] に従う。また、餌場ノードの中から湧き出し/吸い込みに選ばれる餌場は二つのユークリッド距離の 乗に比例した確率で選ばれ、時間ステップ毎にその対は変更される。管の成長指数 α と湧き出し吸い込みの流量 I の様々な組み合わせについて湧き出し吸い込みノード（餌ノード）が粘菌の実験と同様 6, 8 の場合の数値実験を行った。

4. 研究成果

本研究の結果、三次元空間内に粘菌が形成する管ネットワークは、従来の実験で行われていた二次元平面内のものとは比べ、ネットワークのつながりと複雑さに関する性質が異なることが明らかとなった。以下に、項目別に順に説明を行う。

(1) 三次元管ネットワークの形成

粘菌は三次元構造物全体に広がった後に設置された餌場が集まり、徐々に管が成長するとともにそのネットワークはおよそ 12 時間程度で態変化がほぼ無くなる定常状態に至る（図 2A）。定常状態における管ネットワークの一例を図 2B に示す。また、それを二次元に埋め込んだネットワークを図 2C に示す。2 次元への埋め込みはノードの配置に任意性があるが、図 2B の結果の場合、図 2C の様な 2 次元への展開方法ではいずれの場合も管が重なり図 2C 右に示すようにいくつかのエッジを引き延ばさないと平面グラフにならない。つまり、最短に近い経路で餌場をつなぐ性質をもつ粘菌の管では、この三次元空間内に形成されたネットワークトポロジーは二次元平面上では形成され難い、この空間次元ならではのものであることを示している。

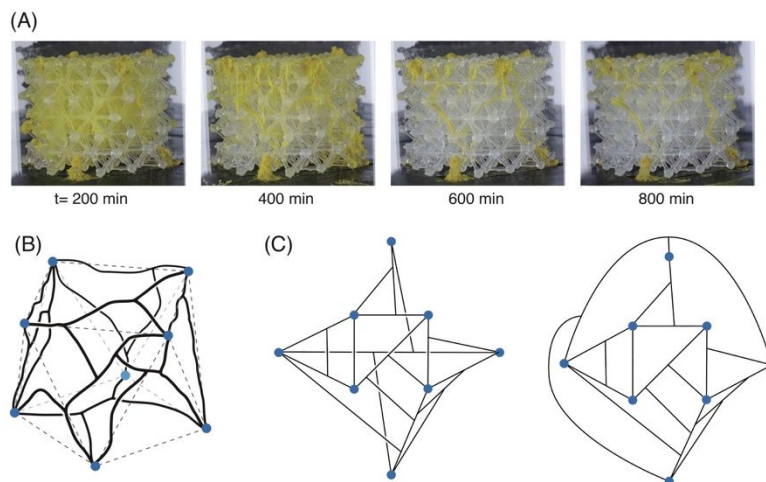


図 2 三次元構造物内に形成された管ネットワーク。(A)管ネットワークの経時変化。(B)解析結果から再構成された管ネットワーク。(C)二次元平面に埋め込まれた管ネットワーク。最短のエッジで繋いだものといくつかのエッジを引き延ばして平面グラフにしたもの。

(2) 数値シミュレーション

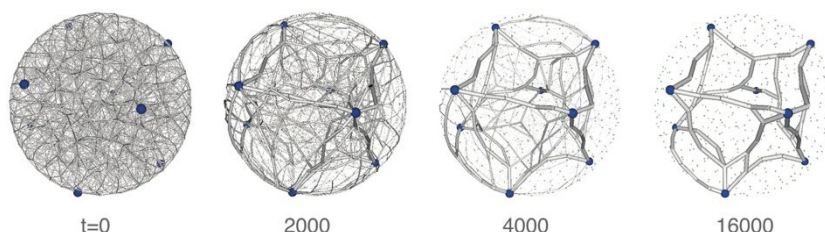


図 3 三次元空間における管ネットワーク形成の数値シミュレーション。 t は時間ステップ数。 $I=0.2$, $\alpha=1.1$ 。

数値シミュレーションによる三次元空間における管の発展過程を図 3 に示す．初期状態の球状の空間全体に張り巡らされた細い管の中から餌ノード間を結ぶ少数の管が成長し残る．管ネットワークの特徴は餌ノードにおける流量 l と成長指数 e に依存する．いずれも管の形成に関わり，湧き出し吸い込みの流量 l が大きくなるネットワーク全体の流量が増えるため管は多く形成され， e が大きくなると流量による管の成長の非線形性が高まることで管の選択性が明確になるため，管の数は少なくなる． l が小さいまたは e が大きいと最小全域木(MST)を形成し，それらの逆では管の数が増えサイクルの多いネットワークとなる．ネットワークの性質はこれらの組み合わせで決まるが，餌ノード以外に作られる分岐点の数などのネットワークの複雑さは e に大きく依存する．

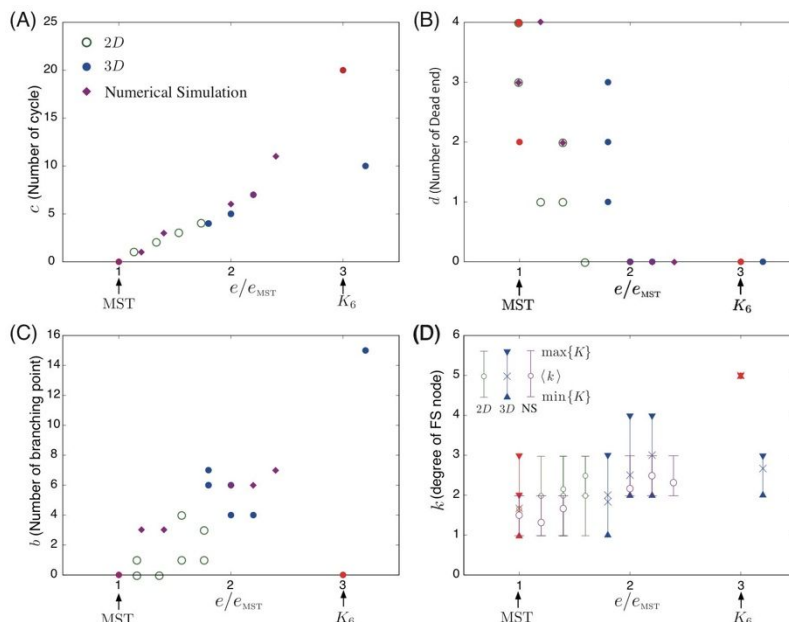


図 4 餌ノード数 6 における管ネットワークの各性質．エッジ数 (MST で規格化) に対して (A) 閉路, (B) 行き止まり数, (C) 分岐点数, (D) 餌ノードの次数．青：三次元実験 (3D), 緑白抜き：二次元実験 (2D), 紫：数値シミュレーション (NS)．

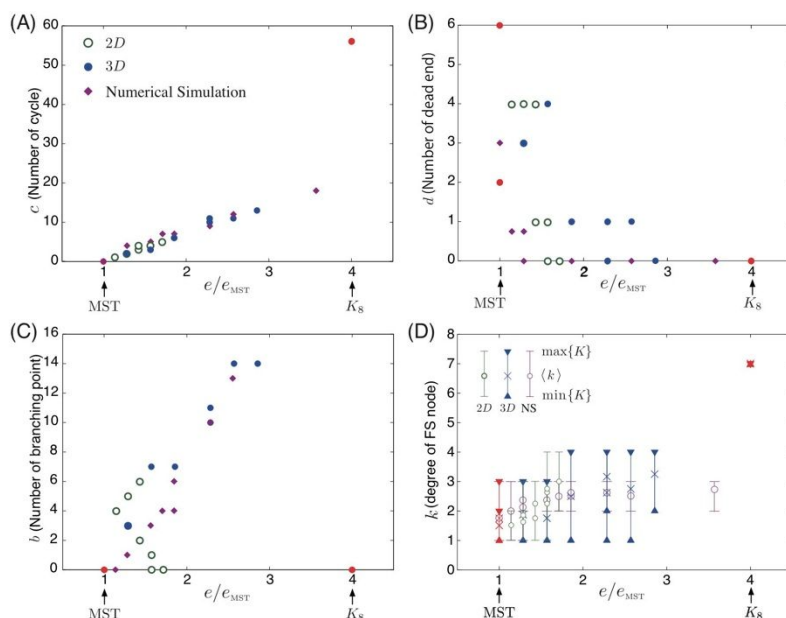


図 5 餌ノード数 8 における管ネットワークの各性質．エッジ数 (MST で規格化) に対して (A) 閉路, (B) 行き止まり数, (C) 分岐点数, (D) 餌ノードの次数．青：三次元実験 (3D), 緑白抜き：二次元実験 (2D), 紫：数値シミュレーション (NS)．

(3) 二次元, 三次元の管ネットワークおよび数値実験結果

図 4, 5 に餌ノード数がそれぞれ 6 および 8 の場合について閉路数, 行き止まり数, 分岐点数,

餌ノードの次数を示す．横軸は MST の管数 (e_{MST} , ノード数 6,8 それぞれについて 5, 7) で規格化した管の数であり, これらの結果から二次元ネットワーク (緑) よりも三次元ネットワーク (青) の方が管の数が増える傾向にあることが分かる．これは, 図 2 に見られるように, 三次元空間においては二次元空間では作られ難い配置の管が形成されることによると考えられる．また, 行き止まりノード, 分岐点, 餌ノードの次数から, 二次元に比して三次元の方が餌ノード以外の場所に分岐点を作りやすく, 離れた管同士をつなぐ管が成長し残りやすい傾向にあることが分かる．餌ノード数 8 の場合と餌ノード 6 の場合の結果を比較すると, 餌ノード 8 の場合の方がこれらの傾向がより顕著である．

数値シミュレーションは閉路のできるパラメータ領域では分岐点は餌ノードにできやすい傾向にあるものの, 概ねの傾向は再現できている．数理モデルのパラメータである流量 I は粘菌の量を, 成長指数 λ は粘菌の管形成に関する性質であり, 粘菌に固有のものであると考えられるため, ネットワークの違いは粘菌の量の違いと考えられる．一方, 実験では電子天秤で秤量し, 毎回同一量の粘菌で実験を行なっているが, 図 4, 5 に示すように実験毎にネットワークの性質は MST に近いものから, 管が多く複雑なものまで様々なネットワークを形成する．このことから管ネットワークの多様さは粘菌の量の違いだけではなく, 実験毎の粘菌の内部状態に依存する可能性もあると考えられる．

< 引用文献 >

A.Tero, et al., Science vol.327, p.439 (2010)

5 . 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

高木清二, Tubular network formation in three dimensional space by true slime mold, 第 56 回日本生物物理学会年会, 2018 年 9 月 18 日, 岡山大学

科研費による研究は, 研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため, 研究の実施や研究成果の公表等については, 国の要請等に基づくものではなく, その研究成果に関する見解や責任は, 研究者個人に帰属されます。