

試験管内再構築系を用いたブレブ駆動型アメーバ運動機構の研究

西上 幸範, 伊藤 弘明, 市川 正敏
 京都大学大学院理学研究科
 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

Yukinori Nishigami, Hiroaki Ito, & Masatoshi Ichikawa

Studies of bleb-driven cell locomotion using reconstituted systems

Key words: actomyosin, amoeba, bleb, cortex, locomotion

Department of Physics, Graduate School of Science, Kyoto University

Kitashirakawa-Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

1. はじめに

アメーバ運動は接着性真核細胞が一般に行う運動様式であり様々な生命現象において重要であることが分かっている。実際, 原生動物アメーバの移動だけでなく, 多細胞生物の発生過程(Jaglarz & Howard 1995, Blaser et al. 2006, Terayama et al. 2013)や, 外傷の修復(Nuccitelli 2003, McCaig et al. 2009, Zhao 2009), 免疫細胞の移動(Lin et al. 1998, Loosley et al. 2015), 癌の転移(Friedl & Wolf 2003, Sahai & Matshall 2003, Wolf et al. 2003, Pinner & Sahai 2008)などでこの運動が観察されている。これまで, アメーバ運動の駆動力は伸長中の仮足前端でのアクチン重合による(アクチン重合駆動型アメーバ運動)と考えられてきた(図 1A: Mitchison & Cramer 1996, Ridley et al. 2003, Parent 2004, Pollard & Borisy 2003)。しかしながら近年, アクチンダイナミクスに依らない運動様式が発見された(図 1B: Charras et al. 2008, Fackler & Grosse 2008, Paluch & Raz 2013)。この運動様式はブレブ駆動型アメーバ運動といわれ, 三次元マトリックスや組織中を移動する細胞でしばしば観察され, 好中球(Mandeville et al, 1997) や癌細胞(Sahai & Mashall 2003, Wolf et al. 2003), 始原生殖細胞(Blaser et al. 2006)等の移動において重要であるという報告がなされている。本稿ではこのブレブ駆動型アメーバ運動機構メカニズムに関して近年, 我々が開発した試験管内再構築系の話題も含めて説明する。

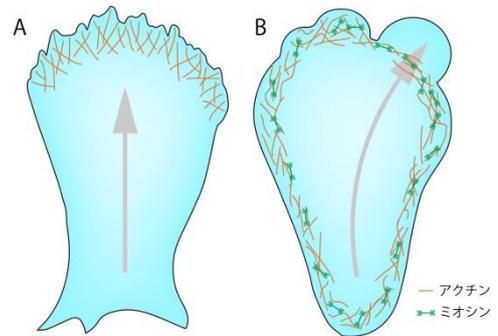


図 1. 二つのアメーバ運動機構
 アクチン重合駆動型アメーバ運動(A)の駆動力はアクチン重合である。一方でブレブ駆動型アメーバ運動(B)の駆動力はアクチンとミオシンの収縮である。細胞運動の方向を矢印で示した。

2. ブレブ形成と細胞機能

ブレブとは細胞表層部のアクチンとミオシンの収縮力によって形成される, “細胞膜の球形の突出”を指す。現在, ブレブ形成の機構は下記の様に考えられている(図 2: Charras & Paluch 2008, Fackler & Grosse 2008)。(1)細胞表層部分に存在するアクチンとミオシン(アクチンミオシンコーテ

ックス)が収縮することで細胞内静水圧を上昇させる。(2)予定突出部位でアクトミオシンコーテックスが細胞膜から乖離する(Cunningham 1995)。もしくはアクトミオシンコーテックスの一部が破壊される(Keller & Egli 1998, Paluch et al. 2005)。(3)(2)により強度が低下した部分に(1)の静水圧によって細胞質が流入し、細胞膜が押し延ばされ細胞膜が突出する。(4)突出後の細胞膜にアクトミオシンコーテックスを再構築後、突出が縮退する。このようにブレブは葉状仮足や糸状仮足(アクチン重合により駆動される)などのよく知られた細胞膜突出構造とは異なる形成機構を持つ。

ブレブ形成は細胞分裂(Tokumitsu & Maramorosch 1967, Fishking et al. 1991, Hickson et al.

2006, Sedzinski et al. 2011) や細胞伸展(Erickson & Trinkaus 1976, Bereiter-Hahn et al. 1990), ウイルスに感染した細胞(Mercer & Helenius 2008), アポトーシスの execution phase(Robertson et al. 1978), 高浸透圧ショックを与えた細胞(Ruan et al. 2015), 一様な化学誘引物質溶液中の細胞性粘菌(Langridge & Kay 2006)など様々な細胞で確認されており, いくつかの過程では重要な役割を果たしている事が分かっている。例えば, 細胞分裂においてはブレブ形成によって, 細胞表面の収縮力を弱めることで分裂装置を赤道面に保持する事に役立っている(Sedzinski et al. 2011)。また, 高浸透圧ショックを受けた際には, ブレブ形成を起こすことで細胞の浸透圧耐性を上昇させる(Ruan et al. 2015)。

3. ブレブ駆動型アメーバ運動

3-1. 運動機構

ブレブ形成と同様の機構で細胞の重心が移動する場合をブレブ駆動型アメーバ運動と呼ぶ(通常のブレブ形成と異なり, 上述の過程(4)膜突出縮退過程はない)。このような機構は原生生物アメーバの運動機構として 20 世紀初頭から提唱されてきた。Mast (1926) は大型の自由生活型アメーバである *Amoeba proteus* (~500 μm) や *Chaos carolinense* (~5000 μm) を用いて, その細胞内流動の観察や仮足形成部位での細胞表面構造(プラズマゲルシート)の崩壊と再構築を観察し, ブレブ駆動型アメーバ運動と同様の機構でアメーバが動いている事を提唱している。電子顕微鏡 (Stockem et al. 1982) や蛍光修飾アクチンを用いた研究 (Pomorski et al. 2007) から同様の事が示唆されており, 運動が細胞内静水圧によって駆動されている事も示されている(Kamiya 1964, Yanai et al. 1996)。また, ヒトに対して病原性を持つアメーバ *Entamoeba histolytica* (Maugis et al. 2010) や, アクチン駆動型アメーバ運動研究のモデル生物として用いられてきた細胞性粘菌においても, ブレブ駆動型のアメーバ運動機構の存在が知られている(Yoshida & Soldati 2006)。

この運動機構は単細胞生物のアメーバ運動だけでなく, 多細胞生物における細胞運動でも

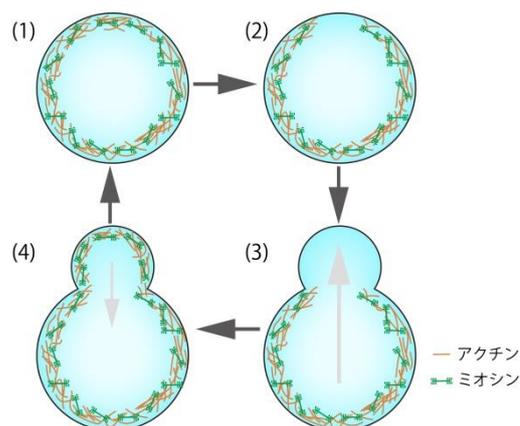


図2. ブレブ形成の過程
(1)細胞表面部のアクトミオシンコーテックスが収縮し細胞内静水圧が上昇する。(2)予定突出部位でアクトミオシンコーテックスが局所的に破壊される。(3)強度が低下した部分に(1)の静水圧で細胞質が流入し, 細胞膜が伸長する。(4)アクトミオシンコーテックスが再生し突出が縮退する。

観察される。発生において始原生殖細胞が生殖腺へ移動する事はよく知られているが、この細胞を単離するとブレブ駆動型の仮足形成をみせる(Terayama et al. 2013)。また、胚における始原生殖細胞の動きをライブ観察することで、生体内でもこの機構が重要である事が示されている(Blaser et al. 2006)。ショウジョウバエを用いた実験でも良く似た結果が得られている(Jaglarz & Howard 1995)。この過程では、ブレブ駆動型アメーバ運動に加えアクチン重合駆動型の運動も確認されており(Trinkaus 1973, Diz-Muñoz et al. 2010)、発生段階ではこれら二つの機構を使いながら細胞の移動は起こっていると考えられている(Paluch et al. 2013)。

癌の浸潤や転移には癌細胞の運動能力が重要である。癌細胞は細胞外マトリクス中をアメーバ運動で移動することが分かっている(Friedl & Wolf 2003)が、その運動様式はアクチン重合によるもの(Cramer 1999, Rohatgi et al. 1999)とブレブ駆動によるもの(Sahai & Marshall 2003, Wolf et al. 2003, Pinner & Sahai 2008)の二つが存在している。特にこの癌細胞におけるブレブ駆動型アメーバ運動は抗がん剤処理した細胞で確認されている(Friedl & Wolf 2003, Sahai & Marshall 2003, Wolf et al. 2003, Pinner & Sahai 2008)。また、一部の細胞では基質との結合に接着斑を持たず細胞膜全体で接着しているものも確認されている(Bergert et al. 2015)。

上述したように単純なブレブ形成とブレブ駆動型アメーバ運動の違いは、後者には膜突出後の縮退過程がなく、そのまま重心の移動が起こるという点である。このような事が起こるためには突出した細胞膜にアクトミオシンコーテックスが再構築されない。もしくは再構築されても一度破壊されると再破壊が繰り返しやすいという性質を持つ必要がある(Charras & Paluch 2008, Paluch & Raz 2013)。この原因となる細胞内の不均一性因子としてはこれまでに細胞外からのカルシウムイオンの部分的な流入(Blaser et al. 2006)や細胞内のERMタンパク質(ezrin, radixin, moesin)等のアクチンと細胞膜を結合させるタンパク質の局在(Rossy et al. 2007, Martinelli et al. 2013)などが報告されている。

3-2. 試験管内再構築系を用いた研究

3-2-1. 細胞膜を持たない試験管内再構築系

上述のようにブレブ駆動型アメーバ運動は様々な細胞で観察され、多くの生命現象において重要であることが分かっているが、その機構の詳細に関しては不明な点が多い。この理由としてはこの運動が細胞全体の関与する複雑な運動であるという事が挙げられる。この複雑なブレブ駆動型アメーバ運動の本質を取り出して、その機構を理解することを目的に、筆者らはこの運動を試験管内で再構築することを試みた。これまでに、ブレブ駆動型アメーバ運動の駆動力源であるアクトミオシン系を脂質二重層(リポソーム)に封入した系は存在するが(Takiguchi et al. 2008, 2011, Tsai et al. 2011, Carvalho et al. 2013)、これらの系は活発に変形する事はなかった。我々は常にブレブ駆動型アメーバ運動で移動する自由生活型アメーバ *Amoeba proteus* 由来のミオシンを用いることで、アクトミオシン系で活発に運動する試験管内再構築系を初めて作製する事に成功した(Nishigami et al. 2013)。この系ではアクトミオシン懸濁液を細胞抽出液中に注入することでアクトミオシン懸濁液がアメーバ様の運動を行った(図3)。電子顕微鏡観察、アクチンの蛍光観察の結果、アクトミオシン懸濁液と細胞抽出液の界面にアクトミオシンが高密度に凝集・収縮し、この構造の破壊によって仮足様構造の形成が誘導さ

れ、重心移動が起こることが分かった。このような事から、この再構築系は前述のブレブ駆動型アメーバ運動とよく似た機構で動いているという事が分かった。

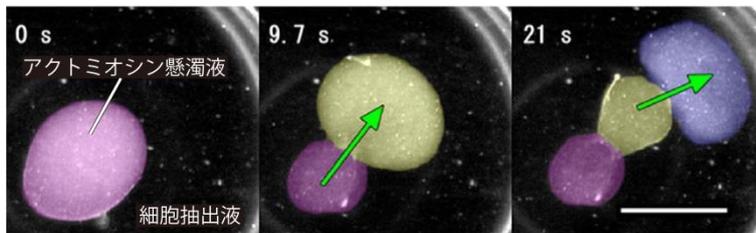


図3. 細胞膜を持たない再構築系
アクトミオシン懸濁液を細胞抽出液中
に注入するとアクトミオシン懸濁液が
アメーバ様の運動を行う。赤・黄・青は
この順番で形成された仮足様構造を色
付けして示したものである。Bar = 1
mm. Nishigami et al. (2013) より改変し
て転載。

3-2-2. 細胞質ゾル-ゲル分布機構

ブレブ駆動型アメーバ運動に伴い、細胞は新たに伸長する仮足に細胞質を流動させる必要がある。したがって細胞質ゲルは部分的にゾル化する必要がある。大型の原生生物アメーバでは運動に伴い明確な細胞質内のゾル-ゲル分布が確認される(Mast 1926, Allen 1973, Bovee & Jahn 1973)。この細胞の細胞質ゲルは細胞表層部分に分布し、その内部を細胞質ゾルが仮足伸長方向へ活発に流動する(図4)。流動したゾルは仮足前端部分においてはゲルに変換される。このように、ブレブ駆動型アメーバ運動においては細胞質ゾルとゲルの分布が移動方向や外部の環境等に応じて時空間的に正確な制御を受けていることが重要である。もし細胞質が均質であれば細胞はアメーバ運動を行うことができない。さらに、細胞質のゾル-ゲル状態はカルシウムイオンによって担われている事が試験管内の実験より明らかになっている(Janson & Taylor 1993)。これらのことから、生体内においてもこの制御機構にはカルシウムイオンが重要であると考えられてきた。しかしながら、大型アメーバの生体内におけるカルシウムイオンの分布に関しては統一した見解が得られていない。実際、細胞後端部分でカルシウムイオン濃度が高いという報告(Gollnick et al.

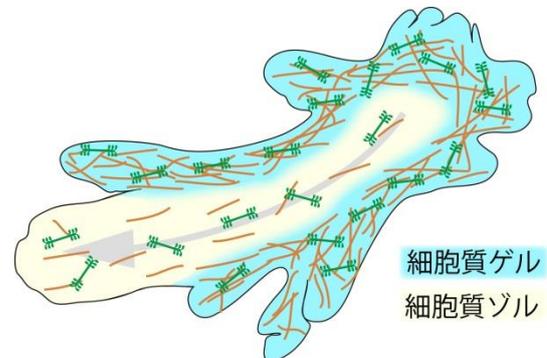


図4. 大型アメーバの細胞質ゾル-ゲル分布
細胞表層部に細胞質ゲルが分布し、その内部
を細胞質ゾルが運動方向へ流動していく。

1991, Kuroda et al. 1998, Taylor et al. 1980), や
前端部分で高いという報告 (Taylor et al.
1980), 細胞全体で低濃度である (Cobbold,
1980) といった種々の報告がある。そこで、
我々はゾル-ゲル変換の制御に関して、上述
の試験管内再構築系を用いてタンパク質物
性という異なる側面からの解明を試みた。

細胞を模したサブミリメートルオーダー
の細い流路中で再構築系の運動を制御し、
その際のアクトミオシン懸濁液の動きを
解析した。その結果、一様なアクトミオ
シン懸濁液を流動させているにも関わらず、

Y. Nishigami, H.

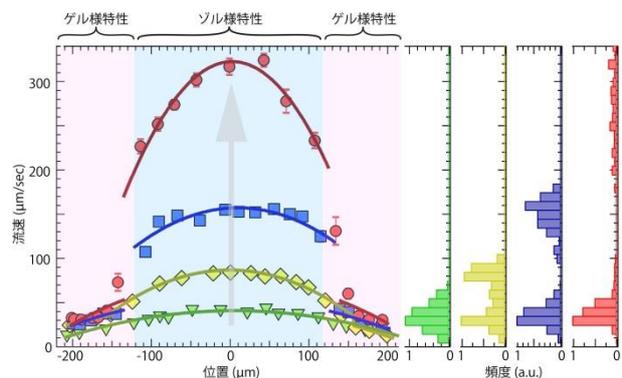


図5. 流路中でのアクトミオシン懸濁液の流動
アクトミオシン懸濁液を様々な速度で流路中に流す
と、低速ではハーゲンポアズイユ流に近い性質を示す
(緑)。一方、流速が早くなってくると(黄・青・赤)流路
の壁より少し離れた部分に滑り面ができ、中心部分の
流速が上昇する事が分かった。図中の矢印はアクトミ
オシン懸濁液の移動方向を示し、横軸は流路の中心部
分からの距離を示した。この分布は、生細胞における
細胞質ゾル-ゲル分布と類似している。Nishigami et al.
(2013) より改変して転載。

流路の中心部分のみがゾルとして流動し、流路の壁近傍付近はゲル様の振る舞いをみせるという事がわかった(図 5)。つまりアクトミオシン懸濁液におけるゾル-ゲルの分布は、カルシウムイオン濃度が一樣であっても、そこにかかるずり応力だけで細胞様に自律制御されることが示唆された。また、細胞内においても同様に流動特性を測定すると、モデル系と相似な流動パターンがみられ、さらにゾル化が起こる部分のずり歪の値も再構築系より測定された値に近いものが得られた。従って、生体内においても、“応力によるゾル化”というゾル-ゲル変換が起こっていることが示唆された。この仮説は従来の細胞内シグナリングを介した細胞質のゾル-ゲル変換という概念とは異なり、細胞に加わる局所的な応力に対して、タンパク質構造体の物理化学的な応答を利用してゾル-ゲル変換を行うという新しい概念である。

3-2-3. 脂質一重膜を持つ試験管内再構築系

上述の系では細胞膜非存在下でブレブ駆動型アメーバ運動様の動きを誘導することに成功した。この運動はアクトミオシン懸濁液の表面に高濃度のアクチンフィラメントが集積し実現したと考えられるが、実際の細胞では細胞膜に結合するアクチンコーテックスがこの役割を果たしていると考えられる。そこで細胞サイズの脂質一重層(ドロップレット)にアクトミオシンを封入した。条件検討の結果、脂質一重層が収縮と緩和を繰り返す(振動モード)系を作製することに成功した(図 6: Nishigami et al. 2015)。

揺らぎ解析よりこの膜変形は熱揺らぎとは著しく異なる性質を持っていた。振動モードは 10 秒程度の短い時間スケールで起こる現象である一方で、この系

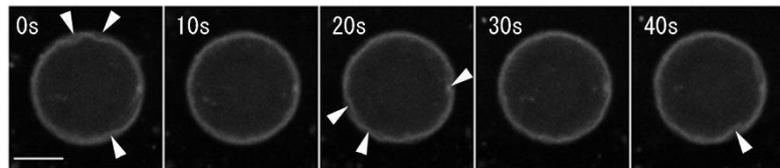


図 6. アクトミオシンドロップレットの振動モード運動(アクチン染色) 脂質一重層にアクトミオシンを封入すると界面が振動し変形する現象が見られた(矢じり)。この運動は 10 秒程度の時間スケールの現象である。Bar = 10 μ m.

を 10 分程度の長い時間スケールでみると、振動モードとは異なる、脂質一重層のしわ構造が成長するモードが存在する事が分かった。この変形モードは脂質一重層の表層と結合したコーテックスの収縮によって駆動されており、ブレブ駆動型アメーバ運動とよく似た駆動力発生機構を持っている。このしわ構造と脂質一重層ドロップレットのサイズを比較すると、その凹み幅はドロップレットのサイズに正の相関があり、凹み深さは負の相関がある事が分かった(図 7: Ito et al. 2015)。この変形は、コーテックスの弾性と収縮性を考慮した物理モデルを用いて説明する事が出来た。以上の結果は、膜直下でアクトミオシンコーテックスが収縮した場合、その構造が置かれた場の形状に応じて、最終的に発現する形状が変化する事を示している。つまり、細胞で考えると、コーテックスの物理的性質として、細胞の局所形状に応答して収縮形状が決まっていく可能性が示唆される。このことは、従来の細胞内シグナリングに

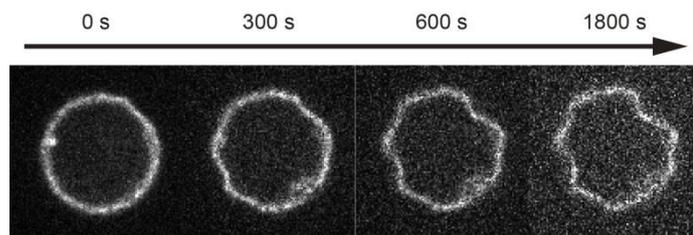


図 7. アクトミオシンドロップレットのしわ振動モード運動 脂質一重層にアクトミオシンを封入すると 10 分程度の長い時間スケールでは、界面に凹凸が出来る現象が見られた。Bar = 10 μ m. Ito et al. (2015) より改変して転載。

よる運動制御に加えて、細胞の曲率や形状といった物理的なパラメータが運動性という機能に直接かかわっている可能性を示しており、まったく新しい切り口と言えるだろう。

4. おわりに

ブレブ駆動型アメーバ運動は様々な細胞で行われており、多くの生命現象において重要であることが分かってきた。しかしながらこの機構が複雑であるために、依然不明な点が多い。我々はこの運動の試験管内再構築系を作製し、運動の本質を取り出した単純な系を用いてこの運動機構の理解を深めることに成功した。また、これらの系の解析から新規のゾル-ゲル変換機構やアクトミオシン系が場の形状依存的に変形を起こすことが明らかにした。今後は、実際の生細胞の細胞形状とその時間発展を詳細に調べることで、これらの実験から得られた物理モデルが生細胞に如何に寄与しうるかを検証する必要がある。本稿で紹介した試験管内再構築系を用いたアプローチを通じて、細胞が不定形の不可思議な形をしながらその形状を外的・内的環境に応じて変化させ、さらに一つの生命として統合され生きている原理を知ることが出来ると期待している。

5. 引用文献

- Allen, R.D. 1973. Biophysical aspects of pseudopodium formation and retraction. In: Jeon, K.E. (eds.) *The biology of amoeba*. pp. 201-247. Academic Press, New York & London.
- Bereiter-Hahn, J., Luck, M., Miebach, T., Stelzer, H.K., & Voth, M. 1990. Spreading of trypsinized cells: cytoskeletal dynamics and energy requirements. *J. Cell Sci.* 96: 171-188.
- Bergert, M., Erzberger, A., Desai, R.A., Aspalter, I.M., Oates, A.C., Charras, G., Salbreux, G., & Paluch, E.K. 2015. Force transmission during adhesion-independent migration. *Nat Cell Biol.* 17: 524-529.
- Blaser, H., Reichman-Fried, M., Castanon, I., Dumstrei, K., Marlow, F.L., Kawakami, K., Solnica-Krezel, L., Heisenberg, C.P., & Raz, E. 2006 Migration of zebrafish primordial germ cells: a role for myosin contraction and cytoplasmic flow. *Dev. Cell* 11: 613-627.
- Bovee, E.C., & Jahn, T.L. 1973. Locomotion and behavior. In: Jeon, K.E. (eds.) *The biology of amoeba*. pp. 249-290. Academic Press, New York & London.
- Carvalho, K., Tsai, F.C., Lees, E., Voituriez, R., Koenderink, G.H., & Sykes, C. 2013. Cell-sized liposomes reveal how actomyosin cortical tension drives shape change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110: 16456-16461.
- Charras, G.T., & Paluch, E. 2008. Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 9: 730-736.
- Cobbold, P. 1980. Cytoplasmic free calcium and amoeboid movement. *Nature* 285: 441-446.
- Cramer, L.P. 1999. Organization and polarity of actin filament networks in cells: implications for the mechanism of myosin-based cell motility. *Biochem. Soc. Symp.* 65: 173-205.
- Cunningham, C.C. 1995. Actin polymerization and intracellular solvent flow in cell surface blebbing. *J. Cell Biol.* 129: 1589-1599.

- Diz-Muñoz, A., Krieg, M., Bergert, M., Ibarlucea-Benitez, I., Muller, D.J., Paluch, E., & Heisenberg, C.P. 2010. Control of Directed Cell Migration In Vivo by Membrane-to-Cortex Attachment. *PLoS Biol.* 8: e1000544.
- Erickson, C.A., & Trinkaus, J.P. 1976. Microvilli and blebs as sources of reserve surface membrane during cell spreading. *Exp. Cell Res.* 99: 375–384.
- Fackler, O.T., & Grosse, R. 2008. Cell motility through plasma membrane blebbing. *J. Cell Biol.* 181: 879–884.
- Fishkind, D.J., Cao, L.G., & Wang, Y.L. 1991. Microinjection of the catalytic fragment of myosin light chain kinase into dividing cells: effects on mitosis and cytokinesis. *J. Cell Biol.* 114: 967–975.
- Friedl, P., & Wolf, K. 2003. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Rev. Cancer* 3: 362–374.
- Gollnick, F., Meyer, R., & Stockem, W. 1991. Visualization and measurement of calcium transients in *Amoeba proteus* by fura-2 fluorescence. *Eur. J. Cell Biol.* 55: 262–271.
- Hickson, G.R., Echard, A., & O’Farrell, P.H. 2006. Rho-kinase controls cell shape changes during cytokinesis. *Curr. Biol.* 16: 359–370.
- Ito, H, Nishigami, Y., Sonobe, S., & Ichikawa, M. 2015. Wrinkling of a lipid interface induced by actomyosin cortex. *arXiv*: 1505.04371.
- Jaglarz, M.K., & Howard, K.R. 1995. The active migration of *Drosophila* primordial germ cells. *Development.* 121: 3495–3503.
- Janson, L., & Taylor, T.D. 1993. *In vitro* models of tail contraction and cytoplasmic streaming in amoeboid cells. *J. Cell Biol.* 123: 345–356.
- Kamiya, N. 1964. The motive force of endoplasmic streaming in the amoeba. In: Allen, R.D., & Kamiya, N. (eds.) *Primitive Motile Systems in Cell Biology*. pp. 257–277. Academic Press, New York & London.
- Keller, H., & Eggli, P. 1998. Protrusive activity, cytoplasmic compartmentalization, and restriction rings in locomoting blebbing Walker carcinosarcoma cells are related to detachment of cortical actin from the plasma membrane. *Cell. Motil. Cytoskeleton* 41: 181–193.
- Kuroda, K., Yoshimoto, Y., & Hiramoto, Y. 1998. Temporal and spatial localization of Ca²⁺ in moving *Amoeba proteus* visualized with aequorin. *Protoplasma* 144: 64–67.
- Langridge, P.D., & Kay, R.R. 2006. Blebbing of Dictyostelium cells in response to chemoattractant. *Exp. Cell Res.* 312: 2009–2017.
- Lin, C.L., Suri, R.M., Rahdon, R.A., Austyn, J.M., & Roake, J.A. 1998. Dendritic cell chemotaxis and transendothelial migration are induced by distinct chemokines and are regulated on maturation. *Eur. J. Immunol.* 28: 4114–4122.
- Loosley, A.J., O’Brien, X.M., Reichner, J.S., & Tang, J.X. 2015. Describing Directional Cell Migration with a Characteristic Directionality Time. *PLoS ONE* 10: e0127425.
- Martinelli, S., Chen, E.J., Clarke, F., Lyck, R., Affentranger, S., Burkhardt, J.K., & Niggli, V. 2013. Ezrin/radixin/moesin proteins and flotillins cooperate to promote uropod formation in T cells.

Front. Immunol. 4: 84.

- Mandeville, J.T., Lawson, M.A., & Maxfield, F.R. 1997. Dynamic imaging of neutrophil migration in three dimensions: mechanical interactions between cells and matrix. *J. Leukoc. Biol.* 61: 188-200.
- Mast, S.O. 1926. Structure, movement, locomotion, and stimulation in amoeba. *J. Morphol. Physiol.* 41: 347-425.
- Maugis, B., Brugues, J., Nassoy, P., Guillen, N., Sens, P., & Amblard, F. 2010. Dynamic instability of the intracellular pressure drives bleb-based motility. *J. Cell Sci.* 123: 3884-3892.
- McCaig, C.D., Song, B., & Rajnicek, A.M. 2009. Electrical dimensions in cell science. *J. Cell Sci.* 122: 4267-4276.
- Mercer, J., & Helenius, A. 2008. Vaccinia virus uses macropinocytosis and apoptotic mimicry to enter host cells. *Science* 320: 531-535.
- Mitchison, T.J. & Cramer, L.P. 1996. Actin-based cell motility and cell locomotion. *Cell* 84: 371-379.
- Nishigami, Y., Ichikawa, M., Kazama, T., Kobayashi, R., Shimmen, T., Yoshikawa, K., & Sonobe, S. 2013. Reconstruction of Active Regular Motion in Amoeba Extract: Dynamic Cooperation between Sol and Gel States. *PLoS ONE* 8: e70317.
- Nishigami, Y., Ito, H., Sonobe, S., & Ichikawa, M. 2015. Non-periodic oscillatory deformation of an actomyosin microdroplet encapsulated within a lipid interface. *Sci. Rep.*
- Nuccitelli, R. 2003. A role for endogenous electric fields in woundhealing. *Curr Top Dev Biol* 58: 1-26.
- Paluch, E., Piel, M., Prost, J., Bornens, M., & Sykes, C. 2005. Cortical actomyosin breakage triggers shape oscillations in cells and cell fragments. *Biophys. J.* 89: 724-733.
- Paluch, E.K., & Raz, E. The role and regulation of blebs in cell migration. 2013. *Curr Opin Cell Biol* 25: 582-590.
- Parent, C.A. 2004. Making all the right moves: chemotaxis in neutrophils and Dictyostelium. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 16: 4-13.
- Pinner, S., & Sahai, E. 2008. PDK1 regulates cancer cell motility by antagonising inhibition of ROCK1 by RhoE. *Nature Cell Biol.* 10: 127-137.
- Pomorski, P., Krzemiński, P., Wasik, A., Wierzbicka, K., Barańska, J. & Kłopočka, W. 2007. Actin dynamics in Amoeba proteus motility. *Protoplasma* 231: 31-41.
- Pollard, T.D., & Borisy, G.G. 2003. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell* 112: 453-465.
- Ridley, A.J., Schwartz, M.A., Burridge, K., Firtel, R.A., Ginsberg, M.H., Borisy, G., Parsons, J.T., & Horwitz, A.R. 2003. Cell migration: integrating signals from front to back. *Science* 302: 1704-1709.
- Rohatgi, R., Ma, L., Miki, H., Lopez, M., Kirchhausen, T., Takenawa, T., & Kirschner, M.W. 1999. The interaction between N-WASP and the Arp2/3 complex links Cdc42-dependent signals to actin assembly. *Cell* 97: 221-231.
- Robertson, A.M., Bird, C.C., Waddell, A.W., & Currie, A.R. 1978. Morphological aspects of

- glucocorticoid- induced cell death in human lymphoblastoid cells. *J. Pathol.* 126: 181–187.
- Rossy, J., Gutjahr, M.C., Blaser, N., Schlicht, D., & Niggli, V. 2007. Ezrin/moesin in motile Walker 256 carcinosarcoma cells: signal-dependent relocalization and role in migration. *Exp. Cell Res.* 313: 1106–1120.
- Ruan, R., Zou, L., Sun, S., Liu, J., Wen, L., Gao, D., & Ding W. 2015. Cell Blebbing upon Addition of Cryoprotectants: A Self-Protection Mechanism. *PLoS ONE* 10: e0125746.
- Sahai, E., & Marshall, C.j. 2003. Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis, *Nat. Cell Biol.* 5: 711–719.
- Sedzinski, J., Biro, M., Oswald, A., Tinevez, J.Y., Salbreux, G., & Paluch, E. 2011. Polar actomyosin contractility destabilizes the position of the cytokinetic furrow. *Nature* 476: 462–466.
- Stockem, W., Hoffmann, H.U., & Gawlitta, W. 1982. Spatial organization and fine structure of the cortical filament layer in normal locomoting *Amoeba proteus*. *Cell Tissue Res.* 221: 505–519.
- Takiguchi, K., Yamada, A., Negishi, M., Tanaka-Takiguchi, Y., & Yoshikawa, K. 2008. Entrapping Desired Amounts of Actin Filaments and Molecular Motor Proteins in Giant Liposomes. *Langmuir* 24: 11323–11326.
- Takiguchi, K., Negishi, M., Tanaka-Takiguchi, Y., Homma, M., & Yoshikawa, K. 2011. Transformation of ActoHMM Assembly Confined in Cell-Sized Liposome. *Langmuir* 27: 11528–11535.
- Taylor, D.T., Blinks, J., & Reynolds, G. 1980. Contractile basis of amoeboid movement. VII. Aequorin luminescence during amoeboid movement, endocytosis, and capping. *J. Cell Biol.* 86: 599–607.
- Terayama K., Kataoka K., Morichika K., Orii H., Watanabe K., & Mochii M. 2013 Developmental regulation of locomotive activity in *Xenopus* primordial germ cells. *Dev. Growth Differ.* 55: 217–228.
- Tokumitsu, T., & Maramorosch, K. 1967. Cytoplasmic protrusions in insect cells during mitosis *in vitro*. *J. Cell Biol.* 34: 677–683.
- Trinkaus, J.P. 1973. Surface activity and locomotion of *Fundulus* deep cells during blastula and gastrula stages. *Dev. Biol.* 30: 69–103.
- Tsai, F.C., Stuhmann, B., & Koenderink, G.H. 2011. Encapsulation of active cytoskeletal protein networks in cell-sized liposomes. *Langmuir* 27: 10061–10071.
- Wolf, K., Mazo, I., Leung, H., Engelke, K., von Andrian, U.H., Deryugina, E.I., Strongin, A.Y., Bocker, E.B., & Friedl, P. 2003. Compensation mechanism in tumor cell migration: mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis. *J. Cell Biol.* 160: 267–277.
- Yanai, M., Kenyon, C.M., Butler, J.P., Macklem, P.T., & Kelly, S.M. 1996. Intracellular pressure is a motive force for cell motion in *Amoeba proteus*. *Cell Motil. Cytoskeleton* 33: 22–29.
- Yoshida, K., & Soldati, T. 2006. Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. *J. Cell Sci.* 119: 3833–3844.
- Zhao, M. 2009. Electrical fields in wound healing—An overriding signal that directs cell migration.

Semin. Cell Dev. Biol. 20: 674-682.