

## 細胞性粘菌リソースの研究への利用

上村陽一郎

理化学研究所 生命機能科学研究センター 細胞シグナル動態研究チーム  
〒565-0874 大阪府吹田市古江台 6-2-3

Yoichiro Kamimura

### *Dictyostelium discoideum* as a model organism for various research fields

Key words: *Dictyostelium discoideum*, eukaryote, model organism, NBRP, slime mold

RIKEN, Center for Biosystems Dynamics Research

6-2-3 Furuedai, Suita, Osaka, 565-0874, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.10c4.00164

### 1. はじめに

細胞性粘菌は土壌中に生息する真核微生物でモデル生物として利用されてきた。その生活環には、バクテリアを餌として過ごす単細胞期と、栄養飢餓によって引き起こされる多細胞期をもつユニークな生き物である。単細胞期には、アメーバ運動をしながら、さながら動物細胞のように振舞うが、多細胞体になるとまるで小さな植物様の子実体を形成する。これまで細胞性粘菌は細胞運動や、細胞増殖・分裂、バクテリアの貪食、細胞分化の研究に使われてきた。最近では、その特徴的な二次代謝産物を利用した創薬分野での利用なども始まっており、新しい分野での活用が期待されている。このような研究を支えるため、細胞性粘菌はNBRP事業の課題として採択され、日本独自のリソースを中心にそれらの収集、提供をおこなっている。

### 2. 細胞性粘菌とは

細胞性粘菌とは一体どのような生き物であろうか。細胞性粘菌の一種であるキイロタマホコリカビは高等学校の教科書にも記載があるが、すぐにわかる人は少ないのではなからうか。実は、細胞性粘菌は土壌に生息する微生物で、花壇の植え込みなどありふれた場所で見つかる大変身近な生き物である。粘菌として知られているものには、真性粘菌（あるいは変形菌）があり、日本のナチュラリストとして有名な南方熊楠がコレクションしたことで知られる。この生き物は変形体と呼ばれる時期に大きな多核の細胞体を形成し、多様な形や色で森のハイカーを楽しませてくれる。細胞性粘菌と真性粘菌の両者は名前が似ているものの、生物としては大きく離れており全く別ものである。

細胞性粘菌は、真核生物に属し、1869年のBrefeldによる発見以来これまでに110種類以上の報告がある（Brefeld 1869）。これらの和名に「カビ」という名称が含まれるものの、いわゆるカビである菌類ではなく、進化的により早い段階で分岐したアメーボゾーアに属する。これらはリボゾームの小サブユニットRNA遺伝子の塩基配列情報から、グループ1（Parvisporids）、グループ2（Heterostelids）、グループ3

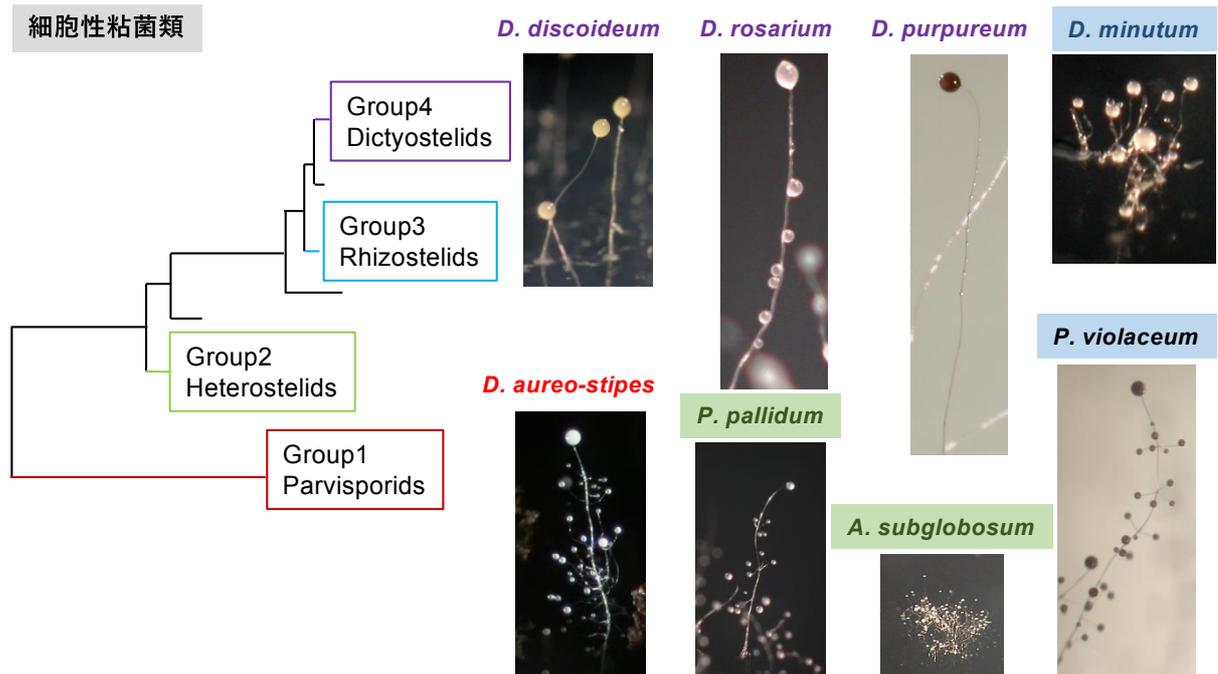


図 1. 異なる 4 つのグループに属する様々な細胞性粘菌の子実体。写真は井上敬博士のご厚意による。

(Rhizostelids) , グループ 4 (Dictyostelid) の 4 グループに大別される (図 1)

(Schaap 2011, 川上 2012, Schilde 2019)。細胞性粘菌は、単細胞アメーバとして土壌中のバクテリアを貪食して分裂・増殖する。しかし、餌であるバクテリアが枯渇するとアクラシン (acrasin) と総称される化学物質を分泌し、周りの細胞を誘引する走化性応答を引き起こす。キイロタマホコリカビを含むグループ 4 ではアクラシンとして 3',5'環状 AMP (cAMP) を利用しているが、それ以外の種類では葉酸やジペプチドであるグルリンなどを用いている (川上 2012)。粘菌細胞はアクラシンを受け取ると、自身でもアクラシンを合成、分泌し、その情報は次々と伝搬していく。このようなシグナルリレーにより、細胞は効率的に集合することができる。多細胞からなる集合体は、一連の形態変化を経て、最終的に子実体 (fruiting body) を形成する。子実体は、孢子を含む孢子塊 (sorus) が柄の先端に形成されたもので、細胞性粘菌の種類によって多様な形態を示す (図 1)。例えば、キイロタマホコリカビでは、柄の上に黄色い孢子塊を 1 つ持ち、その大きさは 1 ~ 2 mm である。一方、ムラサキタマホコリカビではその名の通り孢子塊が紫色をしている。また、シロカビモドキは柄の上に周期的に輪生枝を形成し、小さな白い孢子塊を多数形成する。これらの細胞性粘菌は孢子塊を支える柄も細胞によって作られているが、アキトステリウム科に属する種では柄は非細胞性のセルロースでできており、細胞性のものと比較して短くなっている。孢子はアメーバ細胞がセルロースの細胞壁で覆われ休眠状態になっているが、周りの環境が好転すると発芽し、単細胞アメーバとしての生活環に戻る。このように細胞性粘菌は単細胞と多細胞期を行き来し、ある時は動物細胞のようにまたある時は植物様の振る舞いをする、不思議な生き物である。

### 3. モデル生物としての細胞性粘菌

細胞性粘菌の中で主にモデル生物として利用されてきたのはキイロタマホコリカビ (*Dictyostelium discoideum*) である。ここでは、その特徴をご紹介したい。キイロタマホコリカビは半数体のゲノムを持つ真核生物である。2005年にはその全ゲノムシーケンスが完了しており、6本の染色体の全長は約34 Mbpであった (Eichinger et al. 2005)。その(A+T)含有量は非常に高く、最終的に77.6%にも及ぶ。このゲノム中には約12,500の遺伝子が推定されている。2019年現在、キイロタマホコリカビ以外にも細胞性粘菌の各グループから *Acytostelium subglobosum*, *Dictyostelium fasciculatum*, *Dictyostelium purpureum*, *Polysphondylium pallidum* を含めた複数の全ゲノム配列が決定されており、比較進化という観点からの解析も可能になっている (Sucgang et al. 2011, Heidel et al. 2011, Urushihara et al. 2015, Hayakawa & Inouye 2018)。これらのゲノム情報はアメリカ NIH の基金により運営されている DictyBase (<http://dictybase.org/>) に整備されている。このデータベースには、各遺伝子についてタンパク質情報、変異株の表現型を含む注釈、参考文献に加えて、種々の条件で取得された遺伝子発現プロファイルが閲覧できるようになっている。

キイロタマホコリカビは22°C付近であれば、二酸化炭素培養器などの特殊な装置を必要とせず増殖する。この生き物の利用価値が高まった要因の一つは無菌的に培養可能な AX 株の分離が挙げられる。これにより、大量の細胞を調整できるようになり、生化学実験を含む多様な解析を容易にした。キイロタマホコリカビでは遺伝子導入が容易で、分子遺伝学的な解析のためのツールも揃っている。例えば遺伝子発現系としてキイロタマホコリカビのプラスミドを基本とした大腸菌とのシャトリングベクターが開発されており、細胞内でエピゾーマルに維持される (安川ほか 2012)。遺伝子導入細胞の選択には G418, Blasticidin S, hygromycin が用いられる (Knecht et al. 1986, Egelhoff et al. 1989, Sutoh 1993)。また、相同組換えに基づいた遺伝子破壊も可能であり、分子遺伝学的解析が精力的に実施されてきた。加えて、近年 CRSIPR/Cas9 によるゲノム改変技術も細胞性粘菌において確立された (Sekine et al. 2018)。さらに、ゲノムワイドなスクリーニングに適した方法も確立している。Restriction Enzyme-Mediated integration (REMI) 法では、薬剤耐性遺伝子カセットと制限酵素を同時に細胞に導入することで、ランダムに切断されたゲノム DNA 中に薬剤耐性遺伝子カセットが挿入された変異ライブラリーを作製できる (Kuspa 1992)。これまでにこの手法を用いて、細胞分裂や栄養飢餓応答など多数の変異株が分離されている。

### 4. 細胞性粘菌コミュニティと NBRP 細胞性粘菌事業

細胞性粘菌研究の国内コミュニティを支える中心的な組織が日本細胞性粘菌学会である。本学会では毎年例会を開催し、国内研究の奨励に努めると同時に、ホームページ ([dicty.jp](http://dicty.jp)) では一般の方々を対象に細胞性粘菌の魅力を知っていただくため、興味深いムービーが見られるよう工夫されている。また、YouTube にも学会が管理する [dicty.jp](http://dicty.jp) 細胞性粘菌学会というチャンネルを持ち、多くのムービーが閲覧可能である。

細胞性粘菌の整備事業は国内の粘菌研究者からの要望を受ける形でナショナルバイオリソースプロジェクト

(NBRP) に応募し、第2期2007年に採択された(漆原2012)。現在は日本医療研究開発機構(AMED)の支援の下、2017年より第4期事業を継続している。これまでに日本国内でも幅広い研究分野で細胞性粘菌が用いられ、有用なリソースが多数作製されてきた。NBRP細胞性粘菌事業では、これら日本固有のリソースを喪失することなく収集し、利用者の依頼に応じて高度な品質管理のもと提供できる体制を整えている。現在、保存している細胞株は1,333株、プラスミドDNAは492

点に及ぶ。また、細胞株については実験株に加え、野外で採取された野外採取株200株以上を保有している。野外採取株は有用な生理活性物質を探索するための生物資源としての利用価値が期待される。NBRP細胞性粘菌へのリソースの寄託や提供依頼はホームページ(<https://nenkin.nbrp.jp>)からおこなえるようになっており、このホームページでは粘菌を研究に利用したい初心者向けの案内も掲載されている(図2)。

## 5. キイロタマホコリカビの生活環

キイロタマホコリカビは栄養増殖期には動物細胞のように増殖するが、栄養飢餓を契機に多細胞体化し子実体をわずか24時間で形成する。このような生活環には細胞生物学や発生学の基盤をなす多くの現象を含んでおり、これらの研究のモデル生物として広く利用されてきた。ここでは、キイロタマホコリカビの生活環を概観しながら、どのような研究と関連しているか見ていきたい(図3)。

前節で紹介したようにキイロタマホコリカビも土壌中の浅い部分でバクテリアを餌にして分裂・増殖している(図3中①②)。アメーバ細胞は、バクテリアから放出される葉酸を手掛かりに(葉酸に対する走化性)、その居場所を突き止めると、貪食により取り込み栄養とする。しかし、バクテリアを食べ尽くし飢餓状態になると、細胞はcAMPを細胞外に分泌し、周りの細胞を誘引する(cAMPに対する走化性)(図3中③)。

図2. NBRP細胞性粘菌のホームページのトップ画面。必要なりソースは検索機能を使って簡単に検索でき、カートに入れて注文できる。

cAMP 情報を受け取った細胞は自分でも cAMP を合成・分泌し、このシグナルリレーによって離散している約 10 万個の細胞が集合してくる。この間、細胞は様々な細胞間接着分子を発現しており、例えば細胞の運動方向に沿った前後には contact site A (CsA) タンパク質が、また、その側面には Dd-Cad1 タンパク質の局在が観察される (Muller & Gerisch 1978, Wong et al. 1986, Wong et al. 1996)。CsA, Dd-Cad1 は共に糖タンパク質であるがその性質は異なっており、CsA は EDTA/EGTA に抵抗性であるが、Dd-Cad1 は感受性を示す。これらの接着分子により、細胞は集合流あるいはストリームという構造 (図 3 中④) を示し、効率的に細胞の塊 (マウンド) を形成する。

次にマウンドは細胞から分泌されるセルロースや糖タンパク質を主成分とする粘液鞘 (slime sheath) で覆われることで、細胞間の結合が比較的ゆるいルースマウンド (loose mound, 図 3 中⑤) からしっかりとした組織であるタイトマウンド (tight mound, 図 3 中⑥) に変化する。この際、マウンド内では細胞の分化が始まり、後の子実体で各々柄細胞と孢子細胞になる予定柄細胞、予定孢子細胞の二種類に別れる (井上 2012)。また、マウンド内では空間的にダイナミックな細胞の移動が起こっており、予定柄細胞はマウンドの頂上部分に選別され突起を形成する (tipped mound, 図 3 中⑦)。

この突起が上に伸びるとその形態は長細くなり、やがて地面に横倒しになると這いずり回るようになる。このような状態は移動体 (slug) と呼ばれ、明確な前後軸を持っており、移動方向の先端側を予定柄細胞が占め、それ以外はほぼ予定孢子細胞である (図 3 中⑧)。また、興味深いことに移動体内での予定柄細胞と予定孢子細胞の比率は概ね決まっており、1 : 4 である。このような分化比率の調節には、cAMP, アンモニア, DIF-1 といった要素が重要であると考えられる。移動体の先端から出ている cAMP の信号は予定柄細胞へ細胞の分化を抑制すると共に、予定孢子細胞の分化状態の維持に必要とされる (Wang et al. 1988, 井上 2012)。アンモニアは予定柄細胞の分化を阻害すると考えられている。飢餓状態にある移動体内で細胞は自らのタンパク質や RNA を代謝し

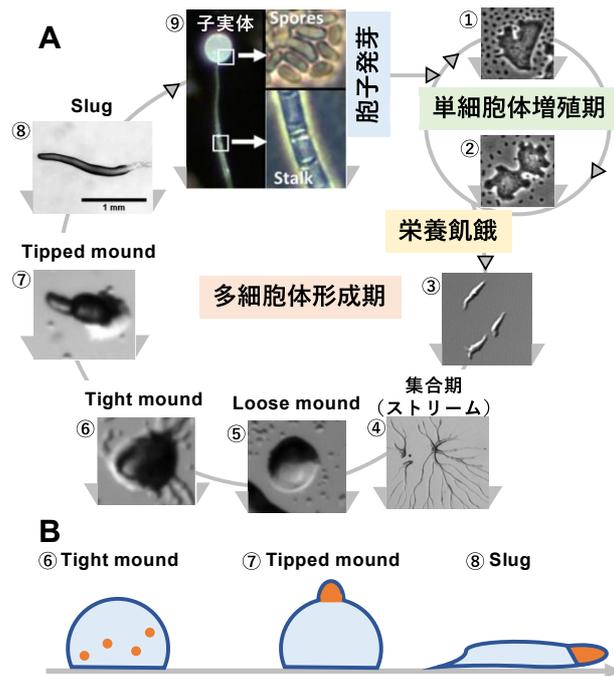


図 3. キイロタマホコリカビの生活環。A. 詳細は本文参照。B. 多細胞体の構造を模式的に表示。オレンジ色は予定柄細胞を、そのほかの水色部分には予定孢子細胞の存在を示している。Tight mound 内で予定柄細胞は上側に移動し、Tipped mound となる。Slug 内では移動方向の前端に予定柄細胞が局在する。写真は井上敬博士、橋村秀典博士のご厚意による。

てエネルギーを獲得しており、その際にアンモニアを生成する (Scindler & Sussman 1977)。特に予定柄細胞ではエネルギー消費が高く、アンモニアを多く発生する

(Walsh & Wright 1978, Cotter et al. 1992)。DIF-1 (differentiation-inducing factor 1) は予定柄細胞の分化を促進する因子として発見された分子量 307 のポリペプチドの一種である (Town et al. 1976, Morris et al. 1987)。DIF-1 は予定胞子細胞によって合成・分泌されることから、移動体内で予定柄細胞が予定胞子細胞に分化することを阻害すると推測される (Brookman et al. 1987)。

移動体は外的な刺激がない条件でも自律的に極性運動をしているが、光や温度といった外的条件によって影響を受けることが知られている。光に対する運動性は走光性として知られており、青 (ピーク波長 420 nm, 440 nm) や緑 (ピーク波長 560 nm) の光に強く反応する (Francis 1964, Poff & Hader)。移動体は側面から光を受けると空気との屈折率の違いから透明な組織体がレンズの効果を果たし、照光面と反対側で集光する。このようなレンズ効果が走光性を引き起こすと考えられている (Francis 1964)。温度に対しても鋭敏に反応し、移動体はわずか 0.05°C/cm の差を検出することができる。これまでの研究から、光や温度は異なるメカニズムで感知されると考えられているが、両者ともその実態は明らかでない。いずれにせよ、このような走光性、走温性は最終的な子実体形成を地表付近でおこない、胞子を効率よく拡散するための生存戦略の一つと考えられる (Whitaker & Poff 1980)。

移動体は適当な場所に移動すると動きを止め、団子状の上に突起を持った形態に変化する。突起部分には予定柄細胞が位置しており、その内部でセルロースを主成分とする柄が作られる (Raper & Fennell 1952)。この柄は予定胞子領域を貫通して下向きに伸びながらその中に予定柄細胞が入り細胞内の液胞化を特徴とした柄細胞に分化する。柄は底に到達すると、次に頂上に残されている予定柄細胞が柄に積み重なり上方向に伸長する。これに伴い、予定胞子細胞も上側に持ち上げられる。この上昇中に予定胞子細胞はセルロースの細胞壁で囲まれることで、物理的、化学的に抵抗性の胞子細胞に分化する (図 3 中⑨)。

胞子は外環境が整うとアメーバ細胞が細胞壁を破り発芽し、新たな増殖サイクルを開始する。子実体の胞子嚢のような高浸透圧下や発芽阻害因子であるディスカデニン

(discadenine) は胞子内のプロテインキナーゼ A (PKA) 活性を高く維持し、発芽を抑制する。ディスカデニンは植物ホルモンであるサイトカイニンの一つ *zeatin* と構造上の類似性を持ち、ヒスチジンキナーゼである DhkB を介した過程が関与する。また、新たな増殖サイクルの開始という観点から大変興味深い発見があった。野外からキイロタマホコリカビを採取すると、そのいくつかの株では胞子嚢に餌であるバクテリアを持ち運んでおり、胞子が発芽した際に餌であるバクテリアも増えるようになっているというのである。このような現象は原始的な農業として紹介された (Brock et al. 2011)。

## 6. 細胞性粘菌を用いた走化性応答の仕組み

ここでは、細胞性粘菌の研究例として筆者が専門としている走化性について紹介したい。細胞は様々な環境の状態を認識し、適切に応答する仕組みを備えている。走化性では化学物質の濃度勾配を入力とし、その出力として誘引あるいは忌避運動を示し、初期発生や免疫応答など多くの場面で重要な役割を果たす (Servant et al. 2000, Trepap et al. 2012, Kolaczowska et al. 2013, Artemenko et al. 2014)。すでに説明したようにキイロタマホコリカビは葉酸や cAMP に対して顕著な走化性を示し、わずか 1–2% の濃度勾配を約 10 万倍以上の広い濃度範囲にわたって認識できる (Fisher et al. 1989, Song et al. 2006)。しかし、このような特性がどのような分子機構によって構築されているかは不明であった。

走化性物質である cAMP は粘菌の G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である cAR1 に結合し、下流の三量体 G タンパク質を活性化する (Devreotes et al. 2017)。我々は最近、三量体 G タンパク質シャトリングと名付けた空間制御が走化性応答のダイナミックレンジ拡張に関与することを見出した (図 4 A)。この制御の中心となるタンパク質が三量体 G タンパク質結合因子 (trimeric G protein interacting protein 1) Gip1 である (Kamimura et al. 2016)。三量体 G タンパク質は脂質修飾を受けることで細胞膜に係留され受容体からのシグナルを効率よく受け取るが、Gip1 との結合によりその一部は細胞質にも局在することがわかった (図 4 B)。また、この細胞質 G タンパク質

は cAMP 刺激により細胞膜へと移行した (図 4 B)。このような三量体 G タンパク質シャトリング機構が破綻している Gip1 欠損株では cAMP の勾配情報を特に高濃度側で識別できなかった。次に、G タンパク質シャトリング機構の分子基盤を理解するため Gip1 の構造解析をおこなった。その結果、Gip1 は 6 つの  $\alpha$  ヘリックスがカゴ状の構造を構築

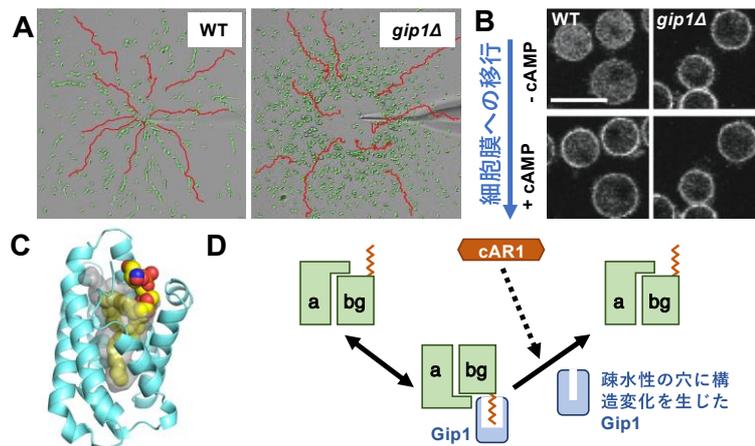


図 4. 走化性応答に関与する三量体 G タンパク質シャトリング。A. ピペットの先端から走化性物質である cAMP を拡散することで濃度勾配を形成。細胞は緑色の擬似カラーで表示。赤色の線は細胞の典型的な運動の軌跡。野生株 (WT) はピペットの先端まで集合するが、Gip1 欠損株 (*gip1Δ*) その途中で運動を止める。この結果は、Gip1 欠損株が cAMP の濃度勾配の高い領域で走化性能が低下していることを示す。B. 三量体 G タンパク質の局在を観察。WT では細胞膜に加えて細胞質にもシグナルが観察されるが、Gip1 欠損株では細胞質のシグナルが特異的に喪失している。これは、三量体 G タンパク質が Gip1 と複合体を形成し細胞質に係留されていることを示す。C. Gip1 の立体構造、疎水性の穴に大腸菌由来の脂質 (黄色) がはまっている。D. Gip1 による三量体 G タンパク質シャトリングのモデル。詳細は本文参照。

し、その中央に疎水的な穴が空いていることがわかった (図 4 C) (Miyagawa et al. 2018)。穴に立体障害をもたらす変異を導入すると G タンパク質との結合が起こらなくなった。一方、G タンパク質は  $\beta$  ャサブユニット上の脂質修飾部位であるゲラニルゲラニル基を介して Gip1 と結合していた。これらの事実より、脂質修飾部位で細胞膜に局在している三量体 G タンパク質が膜から解離すると、このゲラニルゲラニル基が Gip1 の疎水性の穴に刺さることで細胞質でも安定して複合体形成できることがわかった。また、Gip1 は疎水性の穴の大きさを変化させることで三量体 G タンパク質との相互作用を調節し、細胞膜への局在量、すなわち G タンパク質シャトリングを制御していると考えられた (図 4 D)。GPCR シグナリングは動物植物を問わず真核生物で広く利用されており、今回我々が発見した三量体 G タンパク質の細胞内空間制御機構が他の細胞でも保存されている可能性が示唆される。

## 7. おわりに

本稿では細胞性粘菌を紹介し、モデル生物としての利点を概観した。これまでに細胞性粘菌は細胞生物学、発生学、生物物理学など幅広い分野で利用されており、関連する有用なリソースは NBRP 細胞性粘菌事業によっていつでも利用できるように整備されている。細胞性粘菌は土壤中でバクテリアを餌に生息しており、バイオマスのホメオスタシスにとって重要な寄与が考えられる。また、細胞性粘菌は多様な生理活性物質を持つことも明らかになってきており、これらを応用した技術の開発なども期待される。実際、次項の上智大学・齊藤先生のネコブセンチュウの駆除はその好例である (Saito et al. 2018)。今後は、これまでにあまり利用されてこなかった分野でも是非細胞性粘菌を活用した研究が広がるよう、NBRP 細胞性粘菌事業として尽力していきたい。

## 謝辞

本稿に掲載した写真の利用をご許可いただいた井上敬博士と橋村秀典博士に感謝いたします。また、お二人には本稿に対して貴重なご意見を賜りここに深謝いたします。NBRP 細胞性粘菌事業は日本医療研究開発機構 (AMED) の助成を受けて実施 (19km0210120j0003)。

## 8. 引用文献

- Artemenko, Y., Lampert, T.J. & Devreotes, P.N. 2014. Moving towards a paradigm: Common mechanism of chemotactic signaling in *Dictyostelium* and mammalian leukocytes. *Cell Mol. Life Sci.* 71: 3711-3747.
- Brefeld, O. 1869. *Dictyostelium mucoroides*. Ein neuer Organismus und der Verwandtschaft der Myxomyceten. *Abh. Senckenberg Naturf. Ges.* 7: 85-107.
- Brock, D.A., Douglas, T.E., Queller, D.C., & Strassmann, J.E. 2011. Primitive agriculture in a social amoeba. *Nature.* 469: 393-396.

- Brookman, J.J., Jermyn, K.A., Queller, D.C., & Kay, R.R. 1987. Nature and distribution of the morphogen DIF in the *Dictyostelium discoideum* slug. *Development*. 100: 119-124.
- Cotter, D.A., Sands, T.W., Viridy, K.J., North, M.J., Klein, G., & Satre, M. Patterning of development in *Dictyostelium discoideum*-Factors regulating growth, differentiation, spore dormancy, and germination. *Biochem. Cell Biol.* 70: 892-919.
- Devreotes, P. N., Bhattacharya, S., Edwards, M., Iglesias, P. A., Lampert, T. & Miao, Y. 2017. Excitable signal transduction networks in directed cell migration. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 33: 103-125.
- Eichinger, L., Pachebat, J.A., Glöckner, G., Rajandream, M.A., Sucgang, R., Berriman, M., Song, J., Olsen, R., Szafranski, K., Xu, Q., Tunggal, B., Kummerfeld, S., Madera, M., Konfortov, B.A., Rivero, F., Bankier, A.T., Lehmann, R., Hamlin, N., Davies, R., Gaudet, P., Fey, P., Pilcher, K., Chen, G., Saunders, D., Sodergren, E., Davis, P., Kerhornou, A., Nie, X., Hall, N., Anjard, C., Hemphill, L., Bason, N., Farbrother, P., Desany, B., Just, E., Morio, T., Rost, R., Churcher, C., Cooper, J., Haydock, S., van Driessche, N., Cronin, A., Goodhead, I., Muzny, D., Mourier, T., Pain, A., Lu, M., Harper, D., Lindsay, R., Hauser, H., James, K., Quiles, M., Madan Babu, M., Saito, T., Buchrieser, C., Wardroper, A., Felder, M., Thangavelu, M., Johnson, D., Knights, A., Louseged, H., Mungall, K., Oliver, K., Price, C., Quail, M.A., Urushihara, H., Hernandez, J., Rabinowitsch, E., Steffen, D., Sanders, M., Ma, J., Kohara, Y., Sharp, S., Simmonds, M., Spiegler, S., Tivey, A., Sugano, S., White, B., Walker, D., Woodward, J., Winckler, T., Tanaka, Y., Shaulsky, G., Schleicher, M., Weinstock, G., Rosenthal, A., Cox, E.C., Chisholm, R.L., Gibbs, R., Loomis, W.F., Platzer, M., Kay, R.R., Williams, J., Dear, P.H., Noegel, A.A., Barrell, B., & Kuspa, A. 2005. The genome of the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Nature*. 435: 43-57.
- Egelhoff, T.T., Brown, S.S., Manstein, D.J., & Spudich, J.A. 1989. Hygromycin resistance as a selectable marker in *Dictyostelium discoideum*. *Mol. Cell. Biol.* 9: 1965-1968.
- Fisher, P.R., Merkl, R., & Gerisch, G. 1989. Quantitative analysis of cell motility and chemotaxis in *Dictyostelium discoideum* by using an image processing system and a novel chemotaxis chamber providing stationary chemical gradients. *J. Cell Biol.* 108: 973-984.
- Francis, D.W. 1964. Some studies on phototaxis of *Dictyostelium*. *J. Cell. Compar. Physiol.* 64: 131-138.
- Hayakawa, I.S., & Inouye, K. 2018. Species recognition in social amoebae. *J. Biosci.* 43: 1025-1036.
- Heidel, A.J., Lawal, H.M., Felder, M., Schilde, C., Helps, N.R., Tunggal, B., Rivero, F., John, U., Schleicher, M., Eichinger, L., Platzer, M., Noegel, A.A., Schaap, P., & Glöckner, G. 2011. Phylogeny-wide analysis of social amoeba genomes highlights ancient origins for complex intercellular communication. *Genome Res.* 21: 1882-1891.
- 井上敬 2012. 多細胞体における分化・パターン形成のしくみ. 阿部知顕・前田靖男 (編) 細胞性粘菌: 研究の新展開~モデル生物・創薬資源・バイオ~. pp. 273-316. アイピーシー. 東京.

- Kamimura, Y., Miyanaga, Y., & Ueda, M. 2016. Heterotrimeric G-protein shuttling via Gip1 extends the dynamic range of eukaryotic chemotaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 113: 4356-4361.
- 川上新一 2012. 細胞性粘菌の生きざまと系統・進化. 阿部知顕・前田靖男 (編) 細胞性粘菌: 研究の新展開〜モデル生物・創薬資源・バイオ〜. pp. 1-10. アイピーシー. 東京.
- Knecht, D.A., Cohen, S.M., Loomis, W.F., & Lodish, H.F. 1986. Developmental regulation of *Dictyostelium discoideum* actin gene fusion carried on low-copy and high-copy transformation vectors. *Mol. Cell. Biol.* 6: 3973-3983.
- Kolaczowska, E. & Kubes, P. 2013. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 13: 159-175.
- Kuspa, A., & Loomis, W.F. 1992. Tagging developmental gene in *Dictyostelium* by restriction enzyme-mediated integration of plasmid DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 89: 8803-8807.
- Miyagawa, T., Koteishi, H., Kamimura, Y., Miyanaga, Y., Takeshita, K., Nakagawa, A., & Ueda, M. 2018. Structural basis of Gip1 for cytosolic sequestration of G protein in wide-range chemotaxis. *Nat. Commun.* 9: 4635.
- Morris, H.R., Taylor, G.W., Masento, M.S., Jermyn, K.A., & Kay, R.R. 1987. Chemical structure of the morphogen differentiation inducing factor from *Dictyostelium discoideum*. *Nature.* 328: 811-814.
- Muller, K., & Gerisch, G. 1978. A specific glycoprotein as the target site of adhesion blocking Fab in aggregation *Dictyostelium* cells. *Nature.* 274: 445-449.
- Poff, K.L., & Hader, D.P. 1984. An action spectrum for phototaxis by pseudoplasmodia of *Dictyostelium discoideum*. *Phytochem. Photobiol.* 39: 433-436.
- Raper, K.B., & Fennell, D.I. 1952. Stalk formation *Dictyostelium*. *Bull. Torrey Bot. Club.* 79: 25-51.
- Saito, Y.F., Miyazaki, S.H., Bartlem, D.G., Nagamatsu, Y., & Saito, T. 2018. Chemical compounds from *Dictyostelium discoideum* repel a plant-parasitic nematode and can protect roots. *PLoS. One.* 13: e0204671.
- Schaap, P. 2011. Evolution of developmental cyclic adenosine monophosphate signaling in the Dictyostelia from an amoebozoan stress response. *Dev. Growth. Differ.* 53: 452-462.
- Schilde, C., Lawal, H. M., Kin, K., Shibano-Hayakawa, I., Inouye, K., & Schaap, P. (2019). A well supported multi gene phylogeny of 52 dictyostelia. *Molecular phylogenetics and evolution*, 134: 66-73.
- Schindler, J., & Sussman, M. 1977. Ammonia determines the choice of morphogenetic pathways in *Dictyostelium discoideum*. *J. Mol. Biol.* 116: 161-169.
- Sekine, R., Kawata, T., & Muramoto, T. 2018. CRISPR/Cas9 mediated targeting of multiple genes in *Dictyostelium*. *Sci. Rep.* 8: 8471.
- Servant, G., Weiner, O.D., Herzmark, P., Balla, T., Sedat, J.W. & Bourne, H.R. 2000. Polarization of chemoattractant receptor signaling during neutrophil chemotaxis. *Science.* 287: 1037-1040.

- Song, L., Nadkarni, S.M., Bödeker, H.U., Beta, C., Bae, A., Franck, C., Rappel, W.J., Loomis, W.F., & Bodenschatz, E. 2006. *Dictyostelium* by restriction chemotaxis: threshold for direct motion. *Eur. J. Cell Biol.* 85: 981-989.
- Sucgang, R., Kuo, A., Tian, X., Salerno, W., Parikh, A., Feasley, C.L., Dalin, E., Tu, H., Huang, E., Barry, K., Lindquist, E., Shapiro, H., Bruce, D., Schmutz, J., Salamov, A., Fey, P., Gaudet, P., Anjard, C., Babu, M.M., Basu, S., Bushmanova, Y., van der Wel, H., Katoh-Kurasawa, M., Dinh, C., Coutinho, P.M., Saito, T., Elias, M., Schaap, P., Kay, R.R., Henrissat, B., Eichinger, L., Rivero, F., Putnam, N.H., West, C.M., Loomis, W.F., Chisholm, R.L., Shaulsky, G., Strassmann, J.E., Queller, D.C., Kuspa, A., & Grigoriev, I.V. 2011. Comparative genomics of the social amoebae *Dictyostelium discoideum* and *Dictyostelium purpureum*. *Genom Biol.* 12: R20.
- Sutoh, K. 1993. A transformation vector for *Dictyostelium discoideum* with a new selectable marker bsr. *Plasmid.* 30: 150-154.
- Town, C.D., Gross, J.D., & Kay, R.R. 1976. Cell differentiation without morphogenesis in *Dictyostelium discoideum*. *Nature.* 262: 717-719.
- Trepat, X., Chen, Z. & Jacobson, K. 2012. Cell migration. *Compr. Physiol.* 2: 2369-2392.
- 漆原秀子 2012. ゲノム情報とリソース提供. 阿部知顕・前田靖男 (編) 細胞性粘菌: 研究の新展開〜モデル生物・創薬資源・バイオ〜. pp. 91-104. アイピーシー. 東京.
- Urushihara, H., Kuwayama, H., Fukuhara, K., Itoh, T., Kagoshima, H., Shin-I T, Toyoda, A., Ohishi, K., Taniguchi, T., Noguchi, H., Kuroki, Y., Hata, T., Uchi, K., Mohri, K., King, J.S., Insall, R.H., Kohara, Y., & Fujiyama, A. 2015. Comparative genome and transcriptome analyses of the social amoeba *Acytostelium subglolosum* that accomplishes multicellular development without germ-soma differentiation. *BMC Genomics.* 16: 80.
- Walsh, J., & Wright, B.E. 1978. Kinetics of net degradation during development in *Dictyostelium discoideum*. *J. Gen. Microbiol.* 108: 57-62.
- Wang, M., van Driel, R., & Schaap, P. 1988. Cyclic AMP-phosphodiesterase induces dedifferentiation of prespore cells in *Dictyostelium discoideum* slugs: evidence that cyclic AMP is the morphogenetic signal for prespore differentiation. *Development.* 103: 611-618.
- Whitaker, B.D., & Poff, K.L. 1980. Thermal adaptation of thermosensing and negative thermotaxis in *Dictyostelium*. *Exp. Cell Res.* 128: 87-93.
- Wong, E.F., Brar, S.K., Sesaki, H., Yang, C., & Siu, C.H. 1996. Molecular cloning and characterization of DdCAD-1, a Ca<sup>2+</sup>-dependent cell-cell adhesion molecule, in *Dictyostelium discoideum*. *J. Biol. Chem.* 271: 16399-16408.
- Wong, L.M., & Siu, C.H. 1996. Cloning of cDNA for the contact site A glycoprotein of *Dictyostelium discoideum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 83: 4248-4252.
- 安川洋生, 足立博之, 桑山秀一. 2012. 解析手法にみる材料としても有用性. 阿部知顕・前田靖男 (編) 細胞性粘菌: 研究の新展開〜モデル生物・創薬資源・バイオ〜. pp. 11-35. アイピーシー. 東京.