

イカダケイソウの滑走運動機構

園部 誠司*・山岡 望海

この生物を初めて見たのは大学一年生の時の講義であった。原形質流動の研究で有名な神谷宣郎先生の講義で、先生はこの生物の映画を見せながら「こんな不思議な運動をする生物もいるんですねー」とおっしゃっていた。確かに、細胞が横一列(実は縦一列なのだが)に並んで、まさしく南京玉すだれと同じ動きをしていた(図1)。一体、細胞同士はどのようにつながっているのだろう、動かす力はどのように出ているのだろう、このリズム的な動きは???さまざまな疑問で頭がいっぱいになったが、答えは何一つ出てこなかった。それから35年後……。2010年の3月末に山口県岩国市にあるミクロ生物館に臨海実験と称して遊びに行った。目の前の海で海水を採取し、メッシュで濃縮して顕微鏡で観察した。さまざまな生物、特に珪藻類が多数いて、その形態の多様さに驚いていた。その時、視界の隅で何かがゆっくり縮んでいくのが見えた。よく見るとそれはまさに35年前に映画で見たイカダケイソウであった。非常に懐かしい知人に会ったような気がした。目が慣れてくると、そこそこの数のイカダケイソウがシャーレの底に散在しているのが見えた。イカダケイソウとは異なり伸縮しない繊維状のケイソウもいたので、しばらく観察していないと間違ってしまう。十数匹(十数群体)を集め、持ち帰ることにした。帰りの車の中で隣に座っていた新4年生の山岡君にイカダケイソウの運動機構をやらいかと持ち掛け、彼の卒業研究のテーマが決まった。

ケイソウについて

ケイソウは不等毛植物門に属する藻類でケイ酸質の殻(細胞壁)に包まれている。ケイソウは地球上の炭酸同化量の4分の1を占めるといわれ、地球環境上非常に重要な生物である。ケイソウには大きく分けて、放射相称

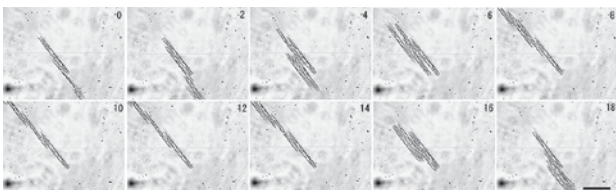


図1. イカダケイソウの滑走運動。2秒ごとに示した。スケールバーは50 μm 。

の形態を持つ中心目と左右相称の軸を持つ羽状目に分けられる。イカダケイソウ (*Bacillaria paxillifer*; 以前は *Bacillaria paradoxa* と呼ばれていた) は羽状目に属する。羽状目の一部は基質上を滑走運動する。運動は両方向に可能である。その速度は数十 μm /秒に達し、繊毛虫類の遊泳速度には遠く及ばないが、細胞内運動でもっとも高速の運動である原形質流動に匹敵する。イカダケイソウは細胞分裂後も分離せず群体を形成する。群体を形成する羽状目ケイソウは多数存在するがイカダケイソウは隣接する細胞間で往復の滑走運動を行う。その速度も数十 μm /秒である。

培 養

研究材料にするためには、まず培養・維持しなければならない。岩国の海で採集したものを研究室に持ち帰ると、多くが死んでおり、わずか5群体しか残っていなかった。これを増やすべく、初めは相生湾の天然の海水を汲んできて、人工気象器の中で12時間の明暗サイクルで培養した。すると意外によく増えた。さらに、いろいろな人工海水(熱帯魚用のものが多量販売されている)に窒素源(藻類培養用の人工培地; ダイゴMK培地)を加え、人工気象器や北側の窓際などに置いて培養した。その結果、富田製薬の試験研究用人工海水マリンアートSF-1がもっとも適していることがわかった¹⁾。意外であったが、イカダケイソウは非常に増殖が速く、ほぼ1日に1回くらいは分裂するようである。ただし、長期培養すると次第に細胞サイズが小さくなる。これは分裂の際、殻は二つに分かれて娘細胞の外殻となり、新しい殻は常に内殻として形成されるためである。2年ほど培養すると細胞サイズは半分ほどになる。元の細胞と比べると同じ種とは思えないほどである。このことはイカダケイソウだけでなく、単細胞性のケイソウも同様であり2-3年に1回は新しい大きな細胞を採集してくる必要がある。自然界では細胞サイズが小さくなると有性生殖を行い、増大胞子(殻がない、あるいは薄い細胞)を形成して大きくなるという過程を経て、細胞サイズを回復することが知られている。しかし、実験室で有性生殖を行わせることは難しく、いまだに成功していない(種によっては窒素源を除くと、有性生殖が誘発されるらしい)。

*著者紹介 兵庫県立大学大学院生命理学研究科生物科学専攻(准教授) E-mail: sonobe@sci.u-hyogo.ac.jp

イカダケイソウの運動

イカダケイソウは数十個の細胞が縦溝のある面であつて形成された群体で、細胞間で滑走運動する¹⁾。その結果、南京玉すだれのような運動になるのだが、滑走運動は全体として調和がとれているように見える。というのは、群体がしばしば細い繊維状になるからである。つまり、すべての細胞がそれぞれの細胞の端であつた状態になるのである。もしそれぞれの細胞間でランダムに滑走しているならランダムなジグザグの形になるはずで、直線状になる確率は非常に低いと考えられる。また、直線状になるということは一つの細胞で考えると、二つの隣接する細胞とはそれぞれ逆方向に滑走運動していることを示している。このような滑走運動の群体としての協調性がどのようにして生まれているのか非常に興味深い。滑走運動の分子機構を深く追求することで答えが得られることを期待している

細胞間のつながり

微細構造観察のために、通常通りグルタルアルデヒドと四酸化オスミウムで固定し、樹脂包埋して超薄切片を作製して電子顕微鏡で観察した。初期の試料における固定は散々で、細胞質はほとんど残っておらず殻のみが残っていた。そこで見えたのは、隣接する細胞間に何も無いということであった(図2)。つまり、殻同士が構造的にかみ合つて細胞同士が結合しているのではないということがわかったのである。その後、固定を氷温で行うことで細胞質が保持され、非常にきれいに見えるようになった¹⁾。このようなサンプルでは細胞間にもやもやした不定形の電子密度の低い物質が見えた。実は文献的にはこうした構造は報告されており²⁾、イカダケイソウの細胞同士は多糖類を主成分とする粘液繊維によってつながっていると考えられていた。粘液繊維の詳しい成分はまだわかっていない。群体中の1個の細胞を殺したらど

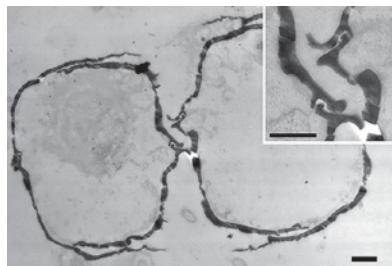


図2. イカダケイソウの電子顕微鏡写真。挿入図は細胞間の接合部の拡大。スケールバーは500 nm。

うなるだろうか。これは誰も考えることだろう。赤外レーザーを照射して群体中の1個の細胞を殺すと直ちに隣接する細胞が解離した。このことも殻がかみ合つて結合しているのではないことを示している。また、レーザーを照射すると細胞膜が急速に縮む様子が観察された。このことは細胞のつながりに細胞膜が重要な役割を果たしていることを示唆している。

アクチン繊維

細胞を界面活性剤で処理し、蛍光ファロイジン(ケイソウの細胞中央には巨大な葉緑体が存在し、これが緑色励起光下で赤い自家蛍光を発するため、Alexa488あるいはFITC標識のものが観察しやすい)で染めると非常に明瞭なアクチン繊維束が2本、縦溝に沿って観察される¹⁾(図3)。縦溝は上下の殻にそれぞれ1本ずつあるので、1細胞に4本のアクチン繊維束が存在することになる。一つの縦溝に沿って存在する2本のアクチン繊維束は非常に近接しており、1本に見えることもある。アクチン繊維束の両端はつながっていないようである。電子顕微鏡で観察すると、アクチン繊維と思われる細い繊維の束が、縦溝をまたいで存在する間板(fibula)と呼ばれる構造に囲まれた形で存在していた。また、アクチン繊維束が細胞膜と接する部位には電位密度の高い部域が存在し、その外側(細胞外)には電子密度の低い、不定形の物質が存在し、それは縦溝を通じて殻外へ出ていた。これはおそらく粘液繊維であろう。

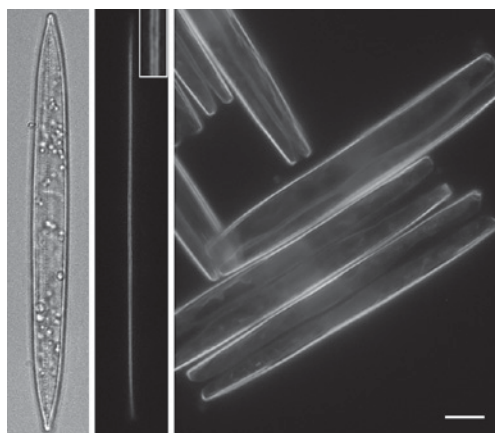


図3. イカダケイソウのアクチン繊維束。左二枚は同じ細胞の位相差像と蛍光像。挿入図は中央部の拡大写真。群体から解離した細胞だと思われる。右端は群体の蛍光像。隣接する細胞との接合部にアクチン繊維が見られる。スケールバーは10 μm。

アクトミオシン系の関与

培地中にアクチン阻害剤であるラトランキュリンBを添加すると、数秒以内に運動が停止する。この時の細胞を蛍光ファロイジンで染色するとアクチン繊維束の蛍光はまったく見られない。ところが走査型電子顕微鏡で観察すると間板内部に崩れた繊維束が観察された。このことは、ラトランキュリンBによってアクチン繊維が完全に脱重合したのではなく、F-アクチンに何らかの構造変化が生じ、ファロイジンが結合できなくなったことを示唆している。また、ラトランキュリンBを除去すると、数秒以内に非常に素早く回復する。このこともラトランキュリンBがアクチン繊維の脱重合ではなく、F-アクチン内での可逆的な構造変化を引き起こしていることを示唆している。一方、ミオシンの阻害剤であるBDM (2,3-butanedione monoxime) もイカダケイソウの運動を阻害した。しかし、ラトランキュリンBの場合とは異なり、運動停止まで数分かかり、また不可逆であった。これらの結果から、イカダケイソウの運動がアクトミオシン系によるものであることが強く示唆された。

滑走運動の力

イカダケイソウを強く懸濁すると簡単にばらばらになる。これは細胞同士の結合がそれほど強いものではないことを示している。ばらばらになった細胞同士が再結合することはなさそうである。明確に述べられないのは、このことを実証するためには1細胞の長時間連続観察を行わなければならない。観察対象となっていないものは分裂によって2細胞になった可能性を否定できないからである。ところで、こうしてばらばらにした細胞を観察していると基質上で動く細胞がしばしば見られる。連続観察すると細胞のどこか1点で基質に結合して前後に動いていた。その一点は縦溝上にあった。さらにある時、細胞上に付着したゴミが前後に活発に運動しているのを発見した。これらの観察は細胞外に物を動かす力が存在することを示しており、動いているのは粘液繊維ではないかと考えられた。そこで、群体を軽く懸濁したのちポリスチレンビーズを添加してみた。すると細胞表面にビーズが付着し動いていた(図4)。複数付着する場合もあり、その場合はビーズが並んで、各ビーズ間の距離を広げたり縮めたりしながら前後に動いているのが見られた。細胞の端に集まった時にビーズ間の距離は最小で、細胞中央付近にある時にそれは最大であった。まるで細胞表面のゴム紐にビーズが付着し、そのゴム紐が伸縮しているかのような動きであった。こうしたことから、細胞内の

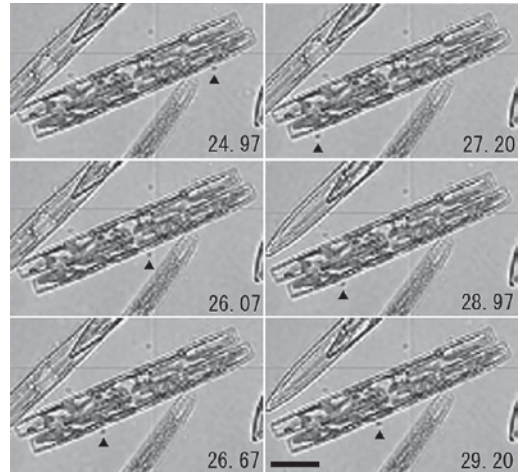


図4. 細胞表面を動くビーズ。矢じりはビーズを示している。左下の数字は時間経過を示す(秒)。スケールバーは20 μm 。

アクトミオシンの滑りによって生じた力が粘液繊維を伝わって細胞外の物を動かしている可能性が強く示唆された。イカダケイソウの群体中では隣接する細胞から伸びた粘液繊維が結合しており、そのことが細胞同士を滑らせる力になっていると考えられる。

過去の研究

これまで筆者らのイカダケイソウに関する研究について述べてきたが、実は単細胞性のケイソウの運動については過去の研究がいくつかあり、運動モデルも提唱されている。DrumとHopkinsはケイソウが移動した基質上に多糖類を含む物質が筋状に残されていることを報告した³⁾。EdgarとPickett-Heapsはムコ多糖と思われる物質が縦溝内に存在することを示した[余談であるが、彼(Pickett-Heaps)の美しい電顕写真(有名なのは分裂期の写真である)は、おそらく多くの人が目にしたことがあるのではなからうか。彼は電顕用の試料の固定はケイソウを採集したその場で行ったそうである]。彼らは縦溝に沿って2本のアクチン繊維束とその近傍に多数の分泌顆粒が存在することを示した⁴⁾。アクチン繊維束の存在はNBD-phalloidinによる染色でも確認されている⁵⁾。これらの結果からアクチンとアクチン付随タンパク質(ミオシンと思われる)の相互作用で発生する力が細胞膜貫通タンパク質を通して細胞外の粘液繊維を動かす、というモデルが提唱されている⁶⁾。アクトミオシン系の関与は阻害剤を用いた研究で示されている⁷⁾。イカダケイソウにおいてもこのモデルは適用できる。ただ粘液繊維が基質ではなく、隣接する細胞の粘液繊維とつながっている点が異なるだけである(図5)。現在もこのモデル

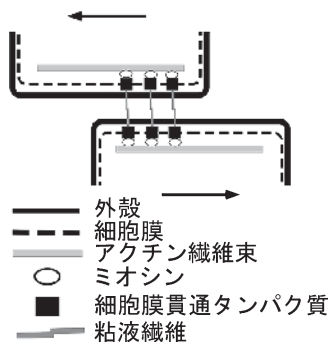


図5. イカダケイソウの滑走運動機構

がもっとも支持されているが、ミオシンや細胞膜貫通タンパク質の実態はまったくわかっていない。

今後の問題

イカダケイソウと単細胞性のケイソウの運動は粘液繊維が隣の細胞と結合しているか基質に結合しているかという違いはあるが、力発生機構は同じと考えられる。今後の研究の焦点はミオシンの実体や力を細胞外の粘液繊維に伝える機構を明らかにすることである。一方、アクチンについても明らかにしなければならない重要な問題がある。それはアクチン繊維の極性である。先に述べたようにアクチン繊維束は縦溝に沿って2本存在する。これらの繊維束を形成するアクチン繊維がどのような極性を持っているかは運動機構を考えるうえで重要である。単細胞性のケイソウ、イカダケイソウいずれも両方向に運動する。2本のアクチン繊維束の極性が逆方向であれば両方向性の運動はミオシンの乗り換えで説明できる。しかし、同方向であればアクチン繊維のマイナス端に向かうミオシンを想定しなければならない。運動方向の切

替機構は非常に興味深い問題であるが、まずアクチン繊維の極性が決定されなければ議論できない。

最後にイカダケイソウの運動の意味について考えてみたい。イカダケイソウをインキュベータ内に置き1週間ほど放置すると細胞が縦一列に並んで繊維状になる。つまり、この時細胞同士がそれぞれの細胞端でつながった状態になる。ケイソウの細胞分裂は細胞の厚み方向に起こるので分裂を重ねると群体は細胞が積み重なったものとなるはずである。繊維状になるということは分裂後に滑走運動して細胞端に達したところで停止しているということになる。この現象を見るとイカダケイソウは自らのテリトリーを広げるために滑走運動しているように見える。ただ、直線状になった群体に少しでも機械刺激(観察のために容器を持ち上げて移動させる)を与えると連続的な滑走運動が始まる。こうした連続した滑走運動はテリトリーを広げる、という目的にかなっていないように思われる。また、自然界でまったく機械的刺激を受けない状態というのは考えにくいので、常に連続した滑走運動を行っていると考えられる。やはり謎である。

文 献

- 1) Yamaoka, N. *et al.*: *Microscopy*, **65**, 211 (2016).
- 2) Schmid, A. M.: *J. Phycol.*, **43**, 139 (2007).
- 3) Drum, R. W. and Hopkins, J. T.: *Protoplasma*, **62**, 1 (1966).
- 4) Edgar, L. A. and Pickett-Heaps, J. D.: *Proc. R. Soc. Lond., B. Biol. Sci.*, **218**, 331 (1983).
- 5) Edgar, L. A. and Zavortink, M.: *Proc. R. Soc. Lond., B. Biol. Sci.*, **218**, 345 (1983).
- 6) Wetherbee, R. *et al.*: *J. Phycol.*, **34**, 9 (1998).
- 7) Poulsen, N. C. *et al.*: *Cell Motil. Cytoskeleton*, **44**, 23 (1999).