

イカダケイソウの滑走運動 山岡望海・園部誠司

はじめに

ケイソウとは光合成を行う微細藻類であり、珪酸質の被殻 (frustule) をもつ。ケイソウには被殻が放射状の形をした中心目と、左右相称の形をした羽状目の2つのタイプがあり、それぞれにおいて単細胞性の種と細胞群体を形成する種が存在する。一部の羽状目ケイソウは、岩などに付着して滑走運動を行うことが知られている。滑走運動とは、鞭毛や繊毛に依存しない運動で、主に細菌や真核微生物に見られる。この運動は、アメーバ運動のような細胞の変形を伴わない。見た目には地面の上を滑るように移動することから、滑走運動と呼ばれている。滑走運動を行う種々の生物において、異なる仕組みで運動を行っていると考えられており、非常に興味深い現象である。

ケイソウは、弁当箱の上蓋と下蓋のように珪酸質の被殻がかみ合わさり、細胞を包んでいる。走査型電子顕微鏡による細胞全体の観察から、滑走運動を行うケイソウの被殻には縦溝と呼ばれる細隙があることが分かっている。単細胞性のケイソウにおいて、縦溝は被殻の長軸に対して平行に存在しているが、中央部にある中心節という部位で区切られている。単細胞性のケイソウ *Navicula cuspidata* (Kützing) Kützing の細胞切片の観察において、粘液物質を内包する小胞が細胞膜近傍にあることと、粘液物質が縦溝を通過して細胞外にまで及ぶことから、粘液物質は小胞を介して細胞内から縦溝に分泌されることが示唆されている (Edgar & Pickett-Heaps 1983)。またケイソウが滑走運動した後に粘液状の物質の軌跡が残ることから、地面への付着にこの粘液物質が関わっていると考えられている (Drum & Hopkins 1966, Harper & Harper 1967, Edgar & Pickett-Heaps 1982, Edgar 1983, Edgar & Zavortink 1983, Webster *et al.* 1985)。単細胞性のケイソウ *Amphora coffeaeformis* (C. Agardh) Kützing において、 Ca^{2+} の結合阻害剤 (ルテニウムレッドなど) が滑走運動を阻害することがわかっているが、具体的な阻害機構は不明なままである (Cooksey & Cooksey 1980)。また単細胞性のケイソウの *Craspedostauros australis* E. J. Cox において、阻害剤を用いた研究から、アクチンおよびミオシンが滑走運動の駆動力へ関与していることが示唆されている。加えて、蛍光色素を用いた細胞内染色および透過型電子顕微鏡の細胞内観察から、2本のアクチン繊維束が縦溝に沿って局在していることが明らかになっている (Poulsen *et al.* 1999)。

これらの結果から、アクチンと相互作用するモータータンパク質であるミオシンと、アクチンとミオシンの複合体 (アクトミオシン) における細胞内由来の駆動力を細胞外の粘液物質に伝えるための細胞膜貫通タンパク質の存在が想定されている。小胞から縦溝を通過して分泌されることで地面に付着した粘液物質を、細胞内のアクトミオシンの作用により動か

そうとすることで、細胞が相対的に動くという滑走運動モデルが現在最も支持されている (Edgar & Pickett-Heaps 1984, Wetherbee *et al.* 1998)。しかしこのモデルには多くの未解明な部分が存在する。例えばアクチンと相互作用するとされるミオシンは同定されておらず、またその構造や作用機序も明らかではない。また細胞内のアクトミオシンが細胞外の粘液物質に作用する仕組みや、運動の速度及び方向性を制御する仕組みの詳細についても不明である。

イカダケイソウ (*Bacillaria paxillifer* O. F. Müller) は線形または披針形の被殻をもつ細胞が幾重にも連結して、名前の通り『筏』のような細胞群体を形成する羽状目ケイソウである。イカダケイソウが特徴的なのは、隣り合った細胞がお互いに滑りあうことで細胞群体全体が伸縮し、まるで南京玉簾のような機械的な動きをする点である。この運動は他の単細胞性のケイソウの運動と異なり、地面ではなく隣接した細胞を土台として動く点や細胞群体を構成する細胞で動きが同調している点において非常に興味深い現象である。しかしこの滑走運動の機構はよくわかっていない。本稿では、筆者らのこれまでの研究で明らかになった、イカダケイソウの滑走運動の分子機構について紹介する。本稿では特に、薬剤による滑走運動の阻害および電子顕微鏡を用いた細胞内観察、そして蛍光染色による細胞外の粘液物質の動態観察が焦点となる。そしてこれらの結果をもとに、単細胞性のケイソウの滑走運動機構と比較することで、滑走運動の仕組みと意義について考察する。

アクトミオシンの関与

イカダケイソウのアクチンを蛍光ファロイジン染色すると、上下の縦溝に沿ってそれぞれ2本のアクチン線維が並んでいた。この2本のアクチン線維は非常に近接していて、部分的に接着しているようにも見えた。そして末端部分では、殻帯片に沿って湾曲していた。細胞群体を横から観察すると2本のアクチン線維が細胞の上下の殻に沿って並んでいるが、上下のアクチン線維は繋がっていなかった。またアクチンとミオシンの阻害剤により滑走運動が阻害された。以上の点はすべて、単細胞性のケイソウと同様である。イカダケイソウの滑走運動におけるアクチンの重要性を確認するため、アクチン重合阻害剤 (latrunculin B) で処理すると、滑走運動が直ちに阻害された。また阻害剤を洗い流すと、滑走運動も回復した。阻害剤処理したイカダケイソウをアクチン染色しても、アクチンは観察されなかった。阻害剤を洗い流し、滑走運動が回復した固体では、処理前と同様にアクチンが染色された。ミオシン阻害剤 (BDM) でも同じように滑走運動を阻害したが、アクチン重合阻害剤に比べ遅効的であった。つまりイカダケイソウの滑走運動は、単細胞性のケイソウと同様に、ア

クトミオシン系の作用により駆動されていることがわかる。

細胞内構造

イカダケイソウは単細胞性のケイソウと異なり、被殻上の縦溝が中心節によって区切られていない。また被殻の内側には縦溝をまたぐ形で、間板 (fibula) と呼ばれるアーチ状構造が、いくつも細胞内部に向かってせり出していることがわかっている (Jahn & Schmid 2007)。更に細胞群体の縦断面の電子顕微鏡観察から、細胞同士は珪酸質の殻の構造で連結しているのではなく、細胞から分泌された電子密度の低い物質によって連結していることがわかっている (Schmid 2007)。しかしイカダケイソウの詳細な細胞内構造は不明であった。

筆者の電子顕微鏡観察により、これまで不明だったイカダケイソウ細胞内の構造を明らかにした。まずアクチン染色の結果と同様に、アクチン様線維束が縦溝に沿って並んでいた。細胞の横断面像からも、複数のアクチン様線維からなる束が2本ずつ上殻と下殻の縦溝に沿って細胞膜近傍に並んでいることが明らかになった。また細胞内側にせり出したアーチ状構造物は細胞内を貫通していた。そしてアクチン様線維束は、このアーチ状構造の下を通るように局在していた。つまりイカダケイソウのアクチン様線維束は縦溝近傍の細胞内に局在しており、アーチ状構造と細胞膜の間の空間に詰まっている。

イカダケイソウの細胞内の電子顕微鏡観察で新たに観察されたのが、アクチン様線維束近傍の細胞膜上に存在する、電子密度の高い構造体である。縦断面像から、この構造体はアクチン様線維束に沿って不連続に複数存在していることが示唆されている。この電子密度の高い構造体は、細胞内のアクチン様線維束と粘液物質と思われる電子密度の低い構造体にそれぞれ連結している。このことから電子密度の高い構造体は、アクチンと相互作用するモータータンパク質と発生した力を細胞外に伝える膜貫通タンパク質の複合体かもしれない。しかし、この構造体の機能は未知であり、今後の研究による解明が期待される。

粘液物質

単細胞性のケイソウにおいて、滑走運動のための粘液物質はプロテオグリカンもしくはグリコプロテインと考えられている。また蛍光抗体を用いた観察からも縦溝から分泌された粘液物質と滑走面に付着している物質が同じであり、固定された粘液物質を押し動かすことが運動の推進力になるということが示されている (McConville *et al.* 1999, Lind *et al.* 1997)。しかし、いずれのケイソウにおいても運動中における粘液物質の動態については報告されていない。特定の糖類に対して特異的に結合する蛍光標識レクチンを用いて、イカダケイソウを染色すると、隣接した細胞間が染まる。このことはイカダケイソウの細胞群体を構成する細胞同士が、粘液物質によって連結していることを示した電子顕微鏡観察と一致する (Schmid 2007)。興味深いのは、滑走運動の際に、単細胞性のケイソウが粘液物質を絶えず分泌し細胞外に捨ててい

ると考えられているのに対し、イカダケイソウは粘液物質を隣接する細胞間で保持し続けている点である。単細胞性のケイソウにおいて観察されたような粘液物質を内包した小胞は、イカダケイソウの細胞内観察では観察されなかった。このことからイカダケイソウは、大量の粘液物質を随時生産しているわけではないと考えられる。また単細胞性のケイソウとは異なる蛍光標識レクチンによりイカダケイソウが染色されたことから、イカダケイソウの粘液物質は、単細胞性のケイソウの粘液物質とは異なる成分から構成されていることがわかった。ただし、この違いが滑走運動の機能的な違いにどのようにして結びつくかは依然不明のままである。

さらに、粘液物質の動く方向についても単細胞性のケイソウとイカダケイソウで異なる。単細胞性のケイソウでは、背側と腹側で粘液物質の動く向きが同じであるとされるが (Drum & Hopkins 1966, Edgar 1979)、イカダケイソウでは粘液物質は背側と腹側で逆方向に動く。単細胞性のケイソウもイカダケイソウも滑走運動をするためにはアクトミオシンによる細胞外の粘液物質の駆動が共通しているが、実際の動きや粘液物質に注目すると、両者の滑走運動の仕組みには上述したような一定の違いが見受けられる。

考察

単細胞性のケイソウは粘液物質を細胞外に押し出し続けることにより、細胞長以上の距離を前進することができる。このためには粘液物質を動かすモータータンパク質が常に供給され続けるか、アクチン線維束の末端に到達したモータータンパク質が再利用される必要がある。再利用の仕組みとして可能性があるのは、極性の向きが異なるアクチン線維への乗り換えである。アクチン染色の結果が示すように、単細胞性のケイソウの縦溝に沿って並んでいる2本のアクチン線維束もしくは束を構成するアクチン線維における極性の向きが異なっている場合、モータータンパク質の乗り換えにより再利用が可能になる。極性の向きが揃っている場合は、原形質流動によるモータータンパク質の拡散や他のモータータンパク質の存在を考えなければならない。

単細胞性のケイソウと異なり、イカダケイソウは隣接する細胞が伸びきると逆方向に進むため、細胞長以上の運動はできない。このことは単細胞性のケイソウよりイカダケイソウは頻繁に方向転換を行うことを意味する。この運動は周期性を持っており、群体内でも方向転換のタイミングが揃うことから隣接する細胞同士が互いにタイミングを知らせるメカニズムがあるように見える。またイカダケイソウには細胞内に、高電子密度の構造体がある。この構造体は細胞内から細胞外にアクチンの力を伝達するためのモータータンパク質と膜貫通タンパク質を含むと考えられる (Yamaoka *et al.* 2016)。この場合、縦溝に沿った2本のアクチン線維束における極性の向きが異なると、電子密度の高い構造体はアクチン様線維束の近くに存在するのでモータータンパク質の乗り換えは比較的容易である。2つのアクチン線維束の極性が同じ向きであるな

らば、電子密度の高い構造体には逆方向の運動を起こすために双方方向性のモータータンパク質もしくは2種類以上の一方方向性のモータータンパク質を含んでいる可能性がある。いずれにせよアクチン線維束における極性の向きの解明が、ケイソウの滑走運動機構解明の重要なステップとなる。

引用文献

- Cooksey, B. & Cooksey, K. E. 1980. Calcium is necessary for motility in the diatom *Amphora coffeaeformis*. *Plant Physiol.* 65: 129-131.
- Drum, R. W. & Hopkins, J. T. 1966. Diatom locomotion: An explanation. *Protoplasma* 62: 1-33.
- Edgar, L. A. 1979. Diatom locomotion: computer assisted analysis of cine film. *Br. phycol. J.* 14: 83-101.
- Edgar, L. A. & Pickett-Heaps, J. D. 1982. Ultrastructural localization of polysaccharides in the motile diatom *Navicula cuspidata*. *Protoplasma* 113: 10-22.
- Edgar, L. A. 1983. Mucilage secretions of moving diatom. *Protoplasma* 118: 44-48.
- Edgar, L. A. & Pickett-Heaps, J. D. 1983. The mechanism of diatom locomotion. I. An ultrastructural study of the motility apparatus. *Proc. R. Soc. Lond. B* 218: 331-343.
- Edgar, L. A. & Zavortink, M. 1983. The mechanism of diatom locomotion. II. Identification of actin. *Proc. R. Soc. Lond. B* 218: 345-348.
- Edgar, L. A. & Pickett-Heaps, J. D. 1984. Diatom locomotion. *Prog Phycol Res* 3: 47-88.
- Harper, M. A. & Harper J. F. 1967. Measurements of diatom adhesion and their relationship with movement. *Br. Phycol. Bull.* 3: 195-207.
- Jahn, R. & Schmid, A. M. 2007. Revision of the brackish-freshwater diatom genus *Bacillaria* Gmelin (Bacillariophyta) with the description of a new variety and two new species. *Eur. J. Phycol.* 42: 295-312.
- Lind, J. L., Heimann, K., Miller, E. A., Vliet, C. V., Hoogenraad, N. J. & Wetherbee, R. 1997. Substratum adhesion and gliding in a diatom are mediated by extracellular proteoglycans. *Planta* 203: 213-221.
- McConville, M. J., Wetherbee, R. & Bacic, A. 1999. Subcellular location and composition of the wall and secreted extracellular sulphated polysaccharides/proteoglycans of the diatom. *Protoplasma* 206: 188-200.
- Poulsen, N. C., Spector, I., Spurck, T. P., Schultz, T. F. & Wetherbee, R. 1999. Diatom gliding is the result of an actin-myosin motility system. *Cell Motil. Cytoskel.* 44: 23-33.
- Schmid, A. M. 2007. The “paradox” diatom *Bacillaria paxillifer* (Bacillariophyta) revisited. *J. Phycol.* 43: 139-155.
- Yamaoka, N., Suetomo Y., Yoshihisa T. & Sonobe S. 2016. Motion analysis and ultrastructural study of a colonial diatom, *Bacillaria paxillifer*. *Microscopy* 65: 211-221.
- Webster, D. R., Cooksey, K. E. & Rubin, R. W. 1985. An investigation of the involvement of cytoskeletal structures and secretion in gliding motility of the marine diatom, *Amphora coffeaeformis*. *Cell Motil.* 5: 103-122.
- Wetherbee, R., Lind, J. L., Burke, J. & Quatrano, R. S. 1998. The first kiss: establishment and control of initial adhesion by raphid diatoms. *J. Phycol.* 34: 9-15.

(兵庫県立大学大学院生命理学研究科)