

学位 (博士) 論文 要旨

広島大学大学院生物圏科学研究科

繊毛虫 *Spirostomum* における細胞運動の機構*

石田 秀樹**

広島大学大学院生物圏科学研究科

Mechanisms of cell motility of the ciliate, *Spirostomum*

Hideki ISHIDA

Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University,
Higashihiroshima 739, Japan

収縮性繊毛虫の中で典型的な細胞運動を示すものとしては、スピロストムム (*Spirostomum*)、ラッパムシ (*Stentor*)、ツリガネムシ (*Vorticella*) などが挙げられる。これらの中で細胞運動の機構が詳しく調べられているのはツリガネムシ類のみであって、他の繊毛虫を材料とした研究はほとんど見られない。そこで、本研究では、大型の繊毛虫 *Spirostomum* を材料とし、この繊毛虫の細胞運動、特に細胞体の収縮と伸長について、その運動機構を解明することを目的とした。なかでも、細胞の収縮力および伸長力を直接に発生する実体の解明と、細胞体の収縮運動を調節する因子の実体およびこの因子が実際にどのように働いているのかについてを重点において研究を進めた。

一般に、原生動物から後生動物にいたるまでの細胞運動には、さまざまな様式のものが見られるが、その代表的なものとしては、アクチン繊維の関与するアクチン・ミオシン系と微小管 (microtubule) の関与するチューブリン・ダイニン系またはチューブリン・キネシン系が挙げられる。本研究で取り上げた繊毛虫 *Spirostomum* は、細胞体の収縮運動が、上記の二つの系とは異なった収縮性タンパク質の系によるものであると考えられている。しかし、その収縮メカニズムはあきらかではない。

Spirostomum の収縮と伸長をつかさどると考えられる2種類の細胞内繊維系すなわち微小管系とマイオネーム系の両方について、主に超微形態学的な観点から、運動メカニズムとその制御機構について調べた。この際、2種類の固定液を使い分けながら細胞内の繊維系の微細構造を詳しく調べたところ、細胞の収縮に関与する類筋または糸筋とよばれるマイオネーム細繊維の直径が、収縮前では直径約4 nmであるのに対して、収縮後では細繊維の直径は約7 nmと変化することがわかった。また、マイオネームの繊維束の走行方向が細胞が伸長状態のときには細胞の長軸に比較的平行であるのに対して、収縮時には走行方向はランダムになっていた。このことは、細胞の収縮時のねじれの方がマイオネームの収縮にも関わっていることを示している。また、細胞内のもう一つの繊維系である微小管シートの構造とその周辺に付随する繊維性の構造を詳細に調べたところ、細胞の収縮時と伸長時で微小管シートに対する角度の変化する特殊な構造 (anterior fiber sheets) を発見した。この構造は、細胞の収縮時と伸長時で微小管シートに対する角度が変化しており、微小管シ-

広島大学総合科学部紀要Ⅳ理系編、第23巻 (1997)

* 広島大学審査学位論文

口頭発表日: 1996年2月6日、学位取得日 1996年3月4日

** 現在の所属: 島根大学生物資源科学部生物科学科細胞生物学講座

トの動きを制御する可能性がある。

Spirostomum の細胞体は、収縮時に細胞表面の繊毛列が著しくねじれるため、細胞は長軸方向に短縮するにもかかわらず、実際の繊毛列の長さ変化が起こっているかどうかはわかっていない。そこで、細胞表面の繊毛列の長さが、細胞体の収縮時と伸長時で変化するか否かを調べる必要があるが、ねじれが起こっている生きた細胞の繊毛列の長さを測定するのは困難である。そこで、本研究では特殊な固定法を開発し、臨界点乾燥を施した試料を走査型電子顕微鏡で観察し、繊毛間の距離を測ることによって、全体として繊毛列の長さに変化があるかどうかを検討した。その際、収縮した細胞と伸長した細胞のそれぞれについて、さまざまな大きさの細胞についてだけでなく、さまざまな細胞体部分を測定し、得られたデータを統計的に解析した。その結果、細胞の収縮前後で繊毛列の長さにはほとんど変化のないことがあきらかとなった。

また、*Spirostomum* の細胞運動の生理的機構について解明するためにセルモデルの作成を行った。このセルモデルは、外液のイオン等を変化させることによって収縮および伸長を実験的に繰り返すことができた。このモデルを使って2価および1価の各種イオンの効果を調べたところ、外液のカルシウムイオンの濃度が 10^{-6} M以上の濃度になると、セルモデルは濃度依存的に収縮した。しかも、その収縮にはアデノシン三リン酸(ATP)は必要なかった。さらに、いったん収縮したセルモデルではカルシウムイオンをキレート剤(EGTA)で取り除くとともに、ATPを加えるという操作によって伸長が誘導されることを発見した。このことは、細胞体の収縮が、細胞内の収縮要素であるマイオネームとカルシウムイオン(Ca^{2+})が直接的に結合して引きおこされているという可能性が高いことを示している。また、セルモデルの伸長は、 10^{-6} Mのパナジン酸で完全に押さえられる事や、ATPアナログに対する反応性などから、この伸長に関与すると思われるタンパク質は、繊毛・鞭毛に存在するダイニン ATPase に似通った性質を持っていると考えられる。

次に、繊毛虫 *Spirostomum* のセルモデルのカルシウム依存性収縮に対するマグネシウムイオン(Mg^{2+})の効果について調べたところ、マグネシウムイオンは、セルモデルの収縮を抑制することがわかった。マグネシウムイオン単独では、収縮も伸長も引き起こすことはなかった。その他の2価の陽イオンは、単独でセルモデルの収縮を引き起こすことはなく、また、セルモデルのカルシウム依存性収縮に対しても影響を及ぼさなかった。このことは、マグネシウムイオンが、細胞体の収縮要素であるマイオネーム構成タンパク質とカルシウムイオンの結合部位に対して競合的に結合することを示している。その結果としてマグネシウムイオンは濃度依存的にカルシウム依存性収縮を阻害すると考えられる。セルモデルのカルシウム依存性収縮のカルシウムイオンの閾値は 10^{-7} から 10^{-8} M程度であるが、生きた細胞の収縮の閾値は 10^{-6} である。しかし、細胞内にはマグネシウムイオンが存在し、このマグネシウムイオンの濃度を考えあわせると、実際に生体内で細胞体の収縮を誘導するカルシウムイオンの閾値とセルモデルにおけるそれとはほぼ一致する。

本研究によって、繊毛虫 *Spirostomum* における細胞の収縮はATPを必要としないカルシウム依存性の収縮であること、また、このカルシウム依存性収縮はとくにマグネシウムイオンの影響を受け、カリウムイオンやナトリウムイオンの影響を受けないことが明らかとなった。このことは、今後、ラッパムシヤツリガネムシなどを含む収縮性繊毛虫における細胞運動の研究において、新たな展開を導き出したものであるといえる。一方、微小管シートの滑り運動については、その運動に直接的に関与するATPaseがダイニン様のATPaseであること、その滑りは繊毛列の短縮・伸長などの変化を伴わないものであること、さらには細胞体の収縮時における微小管シートの受動的な滑りが回転性収縮に帰結することなどを明らかにしているが、これらの研究結果は、今後において、スピロストムム属を含む収縮性繊毛虫の細胞運動機構の解明に大きく貢献するものであると考えられる。

また、収縮した細胞体の伸長は、微小管の関与した運動系であり、本研究に使用した *Spirostomum* は、その微小管繊維の安定性や運動速度などの点で、今後、微小管の関与した一般的な運動系を解析するための良いモデルになると考えられる。
