

---

## Review

---

### 太陽虫のエクストルソームの構造と機能

坂口 美亜子

神戸大学大学教育研究センター 〒 657-8501 神戸市灘区神戸市灘区鶴甲 1-2-1

#### Structure and function of extrusomes in Heliozoa – prey adhesion and uptake in actinophryid and centrohelid heliozoans

Miako SAKAGUCHI

Research Institute for Higher Education, Kobe University, Kobe 657-8501, Japan

#### 1. はじめに

太陽虫 (Heliozoa) は、一般的に球形の細胞体から軸足とよばれる針状仮足を放射状に伸張させた形態をしている。ほとんどの種は単核であるが大型で多核の種も存在し、また被殻を持つものや柄を持つ種も見られる。しかし、このような太陽虫で共通して見られる特徴の一つは、軸足を用いて餌である他の原生動物を捕食することである。餌が太陽虫の軸足に触れると、餌は軸足に接着し、太陽虫は軸足を収縮させたり、軸足に沿った輸送運動を行うことによって細胞体へと引き寄せられ、食胞に取り込まれる。また、他の重要な共通点として、エクストルソームとよばれる細胞放出器官を持っていることがあげられる。太陽虫の持つエクストルソームは、dense granulesやkinetocysts, mucocystsが含まれ (Febvre-Chevalier 1990)、これらは捕食の際に細胞外に放出されることがわかっている。エクストルソームはそれぞれの種類によって異なる構造をしており、捕食におけるエクストルソームの役割を特徴づけると考えられる。

太陽虫は主に、アクティノフリシ目と有中心粒目に大別される。これらは軸足内の微小管の配列とその形成中心の構造が異なるものの、細胞の形態や捕食行動、軸足の収縮性などの点で類似している。しかし、我々の最近の研究結果から、これらの太陽虫が餌を捕獲する戦略としていくつかの大きな相違点があることが明らかとなった。本稿では、これら二種の太陽虫を中心に、太陽虫のエクストルソームの構造や機能、

捕食における役割について得られた知見をまとめて紹介したい。

#### 2. アクティノフリシ目のエクストルソームの構造

アクティノフリシ目的一种であるタイヨウチュウ (*Actinophrys*) は、dense granulesとよばれる電子密度の高い顆粒を含んでいるエクストルソームを持つ (図 1a)。捕食前の細胞では、このオルガネラの直径は約 0.3 μm であるが、捕食中は直径約 0.5 μm と大きくなり、その内容物は放出されている場合が多い (Hausmann and Patterson 1982)。同じアクティノフリシ目的一种である多核の大型太陽虫オオタイヨウチュウ (*Echinosphaerium*) には、二種類のエクストルソームが見られる。一つはcondensed dense granulesで、アクティノフリシと同様電子密度の高い顆粒を含んでおり、直径65~380 nmのオルガネラである。もう一つはmottled dense granulesとよばれ、直径200~600 nmで電子密度がより低い顆粒を含んでいる (Suzaki et al. 1980)。これら二種類のエクストルソームの形態の違いが、内容物の生化学的性質の相違なのか、またオルガネラの発生過程による相違なのかはまだ明らかではない。

アクティノフリシのdense granulesの内容物は、放出後不定形のふわふわとした直径約10~30 nmフィラメント状物質へと形態変化する (図 1b)。このフィラメント状物質は捕食中のアクティノフリシの周りによく観察され、餌を捕らえるために網目構造を形成する

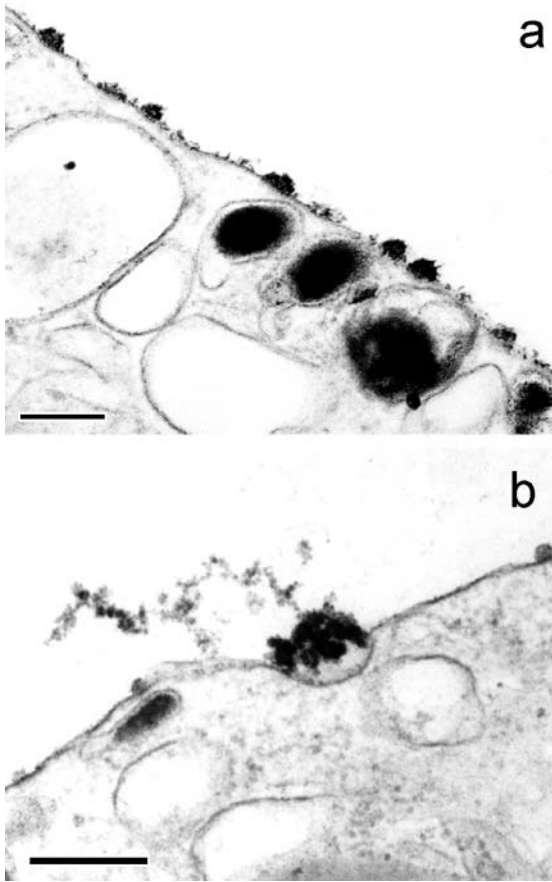


図1 アクティノフリスのエクストルソーム, dense granules. a: 放出前のdense granules. b: 放出後のdense granules. Bars: 0.2  $\mu\text{m}$  (Sakaguchi et al. 1998)

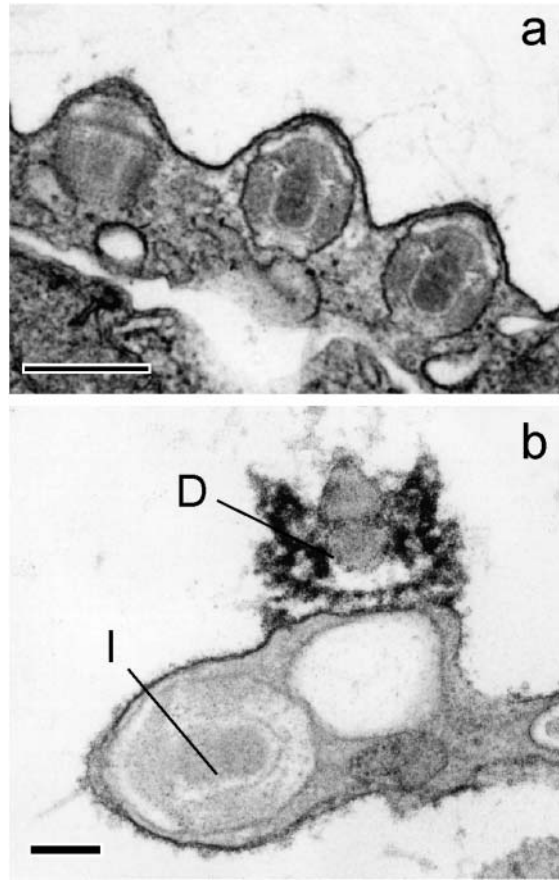


図2 ラフィディオフリスのエクストルソーム, kinetocysts. a: 放出前のkinetocysts. Bar: 0.3  $\mu\text{m}$  b: 放出前 (I) および放出後 (D) の kinetocysts. Bar: 0.1  $\mu\text{m}$  (Sakaguchi et al. 2001b)

と考えられる (Sakaguchi et al. 1998)。エキノスフェリウムでは、捕食中mottled dense granulesの内容物が放出され、アクティノフリスと同様に不定形のフィラメント状物質へと変化するが、より電子密度の高い顆粒を含むcondensed dense granulesは放出される様子はこれまでのところ観察されていない (Suzaki et al. 1980)。

### 3. 有中心粒目のエクストルソームの構造

有中心粒目の太陽虫は、キネトシスト (kinetocyst) とよばれるエクストルソームを持つ (図2a)。キネトシストは高さ約380 nm, 幅約300 nmの大きさで、dense granulesよりも複雑な構造をしており、極性を持っている。coreとよばれる中心構造は三角錐と球形体の二

つの部分から成り、jacketとよばれる電子密度の低い物質によって取り囲まれている (Bardele 1976)。ラフィディオフリスの一種*Raphidiophrys contractilis*のキネトシストは、jacketの部分は何層か重なったディスク状の構造として観察され、coreとjacketはマッシュルーム型のcapで覆われている (Sakaguchi et al. 2001b)。ルテニウムレッド染色を使った電子顕微鏡観察により、*Heterophrys marina*や*Raphidiophrys contractilis*の持つキネトシストにはantennaeとよばれるフィラメント状構造が確認できる (Davidson 1976, Sakaguchi et al. 2001b)。このantennaeはキネトシストから細胞の原形質膜の外側へ突き出した状態で伸びており、捕食の際の餌との接触における機械的刺激を感じる働きがあるのではないかと考えられる。

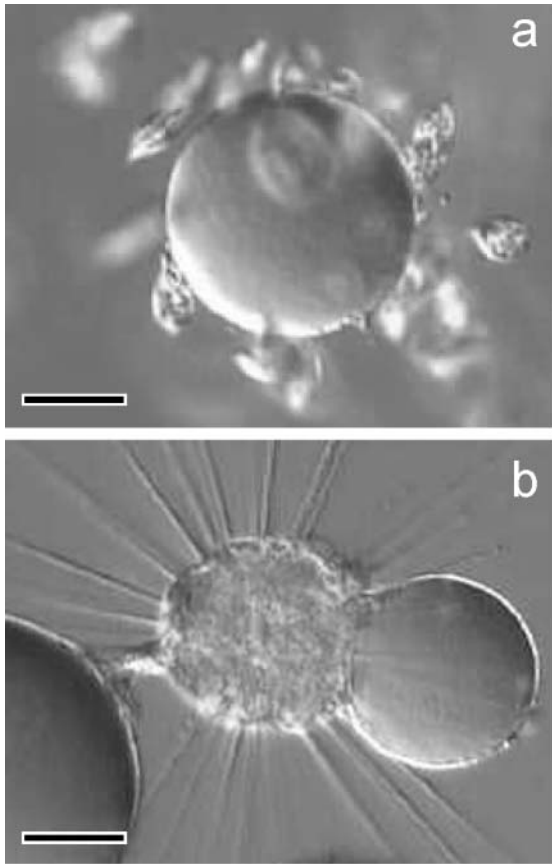


図3 クロロゴニウムおよびアクティノフリシに対する、gp40を吸着させたCon Aアガロースビーズの影響。a: ビーズ表面に接着するクロロゴニウム。b: ビーズを食胞の中に取り込むアクティノフリシ。Bars: 20  $\mu\text{m}$

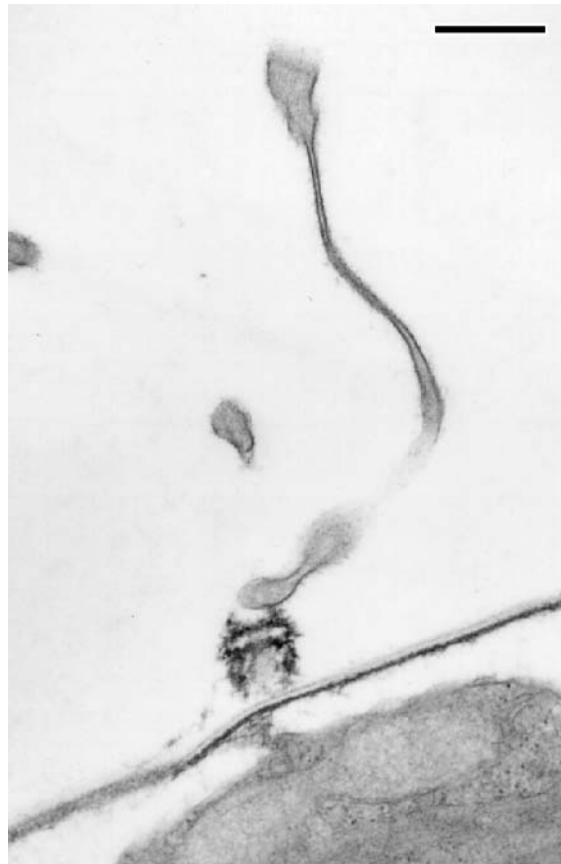


図4 ラフィディオフリシの仮足上に結合している、放出されたkinetocysts。Bar: 0.5  $\mu\text{m}$  (Sakaguchi et al. 2001b)

キネトシストの放出後の形態は、最近我々の観察結果によって明らかにされた (Sakaguchi et al. 2001b)。Coreは放出後、形態変化が見られないが、jacketはディスク状の層がくずれて不定形のフィラメント状物質に変化する (図2b)。

#### 4. アクティノフリシの捕食におけるdense granulesの役割

タイヨウチュウのエクストルソームは捕食中、10,000個以上消費されることがわかっている (Patterson and Hausmann 1981)。捕食前のタイヨウチュウの表面積は約14,500  $\mu\text{m}^2$ と推定されるが、捕食中の場合は軸足が餌を捕獲して収縮するために、表面

積は約12,500  $\mu\text{m}^2$ となる。しかし、例えば餌となる小型繊毛虫コルピディウムを1個体食胞に取り込むためには、約8,000  $\mu\text{m}^2$ の細胞膜が必要とされるため、このようなエクストルソームの消費は仮足の形成や伸張、そして食胞の形成に関係していると考えられる (Patterson and Hausmann 1981, Hausmann and Patterson 1982)。

タイヨウチュウの捕食の場合、餌は軸足に触れると軸足表面に接着して逃れられなくなるが、遊泳運動が停止することはない。食胞に取り込まれた後でさえ、逃れようともぐ様子が観察される。このことは、タイヨウチュウが捕食の際、主に餌に対して麻酔や毒効果でなく、接着効果をもたらすことを意味している。タイヨウチュウのdense granulesには、分子量約40 kD

のConA結合性の糖タンパク質 (gp40) が含まれている (Sakaguchi et al. 2001a)。Con Aを用いた光学・電子顕微鏡観察の結果、gp40がタイヨウチュウのホモジネートによって凝集した餌の接着部分やエクストロソームの内容物に局在することが明らかとなっている。Gp40をCon Aアガロースビーズに吸着させた後、餌である小型緑色鞭毛虫クロロゴニウムに与えると、クロロゴニウムはそのビーズの表面に接着し、逃れられなくなる (図 3a)。同様のビーズをアクティノプリスに与えると、アクティノプリスは細胞体から仮足を伸ばしてビーズを食胞の中に取り込むといった捕食行動を示す (図 3b)。また、通常アクティノプリスはシャーレなどの基底面上で規則的な配置パターンを示すが (Sakaguchi et al. 1997)、精製したgp40をアクティノプリスに与えると、アクティノプリスは隣り合う細胞と融合し、コロニーを形成する。このような太陽虫のコロニー形成は、ラフィディオプリスを含め他の種においてもよく観察される (Wetzel 1926, Sakaguchi et al. 2001a)。太陽虫が大型の原生動物を捕食する場合、近接した太陽虫が融合して大型の餌を取り囲み、一つの大きな食胞を形成して共有する。太陽虫にとって、エクストロソームの放出はこのような細胞融合やコロニー形成と深く関与しているのかもしれない。

以上のように、タイヨウチュウの持つgp40は、1) 餌の接着、2) 仮足伸張や食胞形成の誘導、3) 細胞融合やコロニー形成の誘導という働きを持っている。タイヨウチュウのdense granulesにgp40のみ含まれているのか、またこのgp40が他種の太陽虫にも存在するのかはまだ明らかではない。

### 5. ラフィディオプリスの捕食におけるkinetocystsの役割

ラフィディオプリスの捕食において特徴的な点は、餌である鞭毛虫や繊毛虫の遊泳運動の阻害である (Sakaguchi et al. 2001b)。小型鞭毛虫クロロゴニウムがラフィディオプリスの軸足に触れると、クロロゴニウムは鞭毛を切り離し、身動きが取れなくなる。このような自切行動は他種の太陽虫の捕食では観察されない。また、餌が繊毛虫の場合、ラフィディオプリスによって攻撃されている部分の繊毛運動は完全に停止しているが、ラフィディオプリスが触れていない部分では繊毛運動は正常のままである。これらのことから、捕食中ラフィディオプリスが餌の遊泳運動を阻害するための何らかの麻酔・毒物質を放出していると考えられる。

キネトシストは放出後、ラフィディオプリスの仮足表面に接着している様子がよく観察される (Sakaguchi

et al. 2001b)。その際、放出された内容物の基底面はラフィディオプリスの仮足上に、先端部は餌の方を向いている。また、まさに餌を捕らえている状態では、キネトシストのcoreの先端部が餌の表面に結合している様子が見られ、coreの周りのjacketはふわふわとしたフィラメント状に広がり、餌に接着している (図 4)。このことは、キネトシストが捕食の際、餌が逃げられないように動きを固定してしまうような錨の役割を果たしていることを示唆している。キネトシストの形態に類似したエクストロソームであるハプトシストを持つ吸管虫は、太陽虫の捕食と同様に餌を接着させて捕らえるが、この場合ハプトシストが餌の細胞膜と融合して強固に結合し動きを封じると考えられている (Bardele and Grell 1967)。このように、エクストロソームとしてキネトシストの形態を持つ原生動物にとって、捕食の際そのエクストロソームを仮足伸張の足場として使用する捕食方法は、共通してみられるのかもしれない。

### 6. エクストロソームの軸足内運動

太陽虫のエクストロソームは、軸足内で跳躍運動 (saltatory movement) と呼ばれる移動運動を行うことが知られている (Edds 1975, Troyer 1975, Bardele 1976, Suzaki and Shigenaka 1982)。運動の方向性は決まっておらず、軸足先端部に向かったり、突然方向を変えて軸足基部へと移動したりを繰り返す。オオタイヨウチュウの一種*Echinospaerium akamae*の場合、軸足内運動は最速約1.5  $\mu\text{m}/\text{sec}$ であり、エクストロソームの密度と運動性は全長約230  $\mu\text{m}$ の軸足のうち、基部から40~80  $\mu\text{m}$ のレベルでピークを示す (Suzaki and Shigenaka 1982)。*Echinospaerium nucleofilum*の場合、軸足内運動は平均0.66  $\pm$  0.32  $\mu\text{m}/\text{sec}$ であり、さらにこの軸足内運動は、軸糸微小管の代わりにガラス製マイクロニードルが挿入された人工軸足の中でも観察される (Edds 1975)。コルヒチンやサイトカラシンBによってもこのような軸足内運動が阻害されないことから (Edds 1975, Suzaki and Shigenaka 1982)、軸足内運動が軸糸微小管やアクトミオシン系によって生じるものではないことを示唆している。高倍率の電子顕微鏡観察によると、エクストロソームは通常およそ5~10  $\mu\text{m}$ の間隔で細胞膜直下に存在し、非常に近接している (Suzaki and Shigenaka 1982)。しかし、完全な軸足内運動の停止を引き起こすchloral hydrate処理後では、エクストロソームと細胞膜との間隔がおおよそ20~30  $\mu\text{m}$ と広がる。このことから、軸足内運動がエクストロソームと細胞膜との相互作用によって引き起こされているのではないかと考えられる。

## 7. おわりに

太陽虫におけるエクストルソームの研究は、これまで主に形態学的手法を用いてなされており、生化学的手法によるアプローチはごく最近である。今後の課題として、アクティノプリスに存在するgp40が太陽虫の種間に共通して見られるファゴサイトーシスに広く関与しているのか、またラフィディオプリスの捕食中に存在すると思われる麻酔・毒物質はどのような化学物質であるのかを解明し、他の原生動物との比較・検討を行うことがあげられる。

### 参考文献

- Bardele, C.F. (1976) Particle movement in heliozoan axopods associated with lateral displacement of highly ordered membrane domains. *Z. Naturforsch.*, 31c, 190-194.
- Bardele, C.F. and Grell, K.G. (1967) Electron microscopic observations on the uptake of food in the suctorian *Acineta tuberosa Ehrenberg*. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 80, 108-123.
- Davidson, L.A. (1976) Ultrastructure of the membrane attachment sites of the extrusomes of *Ciliophrys marina* and *Heteophrys marina* (Actinopoda). *Cell tiss. res.*, 170, 353-365.
- Edds, K.T. (1975) Motility in *Echinospaerium nucleofilum* I. An analysis of particle motions in the axopodia and a direct test of the involvement of the axoneme. *J. Cell Biol.*, 66, 145-155.
- Febvre-Chevalier, C. (1990) Phylum Actinopoda, Class Heliozoa. In: Handbook of protoctista. Margulis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M. and Chapman, D. (ed.). Jones and Bartlett Publishers, Boston, pp. 347-362.
- Hausmann, K. and Patterson, D.J. (1982) Pseudopod formation and membrane production during prey capture by a heliozoan (Feeding by *Actinophrys*, II). *Cell Motil.*, 2, 9-24.
- Patterson, D.J. and Hausmann, K. (1981): Feeding by *Actinophrys sol* (Protista, Heliozoa): 1. Light microscopy. *Microbios*, 31, 39-55.
- Sakaguchi, M., Hausmann, K. and Suzaki, T. (1998) Food capture and adhesion by the heliozoan *Actinophrys sol*. *Protoplasma*, 203, 130-137.
- Sakaguchi, M., Murakami, H. and Suzaki, T. (2001a) Involvement of a 40-kDa glycoproteins in food recognition, prey capture, and induction of phagocytosis in the protozoan *Actinophrys sol*. *Protist*, 152, 33-41.
- Sakaguchi, M., Suzaki, T., Khan, S.M.M.K. and Klaus Hausmann (2001b) Food capture by kinetocysts in the heliozoan *Raphidiophrys contractilis*. *Eur. J. Protistol.*, 37, 453-458.
- Sakaguchi, M., Suzaki, T. and Shigenaka, Y. (1997) Statistical analysis of spatial patterns of the heliozoan *Actinophrys sol*. *Protoplasma*, 196, 117-122.
- Suzaki, T., Shigenaka, Y., Watanabe, S. and Toyohara, A. (1980) Food capture and ingestion in the large heliozoan *Echinospaerium nucleofilum*. *J. Cell Sci.*, 42, 61-79.
- Suzaki, T. and Shigenaka, Y. (1982) Intra-axopodial particle movement and axopodial surface motility in *Echinospaerium akamae*. In: Biological function of microtubules and related structures. Sakai, H., Mohri, H. and Borisy, G.G. (ed.). Academic Press, Tokyo, pp. 91-103.
- Troyer, D. (1975) Possible involvement of the plasma membrane in salutatory particle movement in heliozoan axopods. *Nature*, 254, 696-698.
- Wetzel, A. (1926) Zur Morphologie und Biologie von *Raphidocystis infestans n. sp.*, einem temporaer auf Ciliaten parasitierenden Heliozoon. *Arch. Protistenk.*, 53, 135-182.