

タイヨウチュウ *Raphidiophrys contractilis* における急速な軸足収縮誘発後の
軸足伸長反応

榎本 淑恵¹, 洲崎 敏伸², 安藤 元紀¹
(¹岡山大・院教育・細胞生理, ²神戸大・院理・生物)

Re-elongation of axopodia after induction of rapid axopodial contraction in heliozoon
Raphidiophrys contractilis

Toshie ENOMOTO¹, Toshinobu SUZAKI² and Motonori ANDO¹
(¹Lab. Cell Physiol., Grad. Sch. Educ., Okayama Univ., ²Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

Heliozoons have numerous stiff and radiating axopodia, each containing a bundle of axonemal microtubules as a cytoskeleton. For this study, we investigated the axopodial re-elongation process in the centrohelid heliozoon *Raphidiophrys contractilis* and in the actinophryid heliozoon *Actinophrys sol* after induction of rapid axopodial contraction evoked by mechanical or electrical stimulation. Changes in the length of axopodia were analyzed using video microscopy at a frame rate of 30 Hz. The re-elongation velocity of an axopodium was defined as the maximal velocity estimated during the first 1 min after induction of axopodial contraction. The estimated velocity showed a 25-fold difference between *R. contractilis* ($3.8 \pm 0.18 \mu\text{m/s}$) and *A. sol* ($0.15 \pm 0.04 \mu\text{m/s}$). The elongation velocity in *A. sol* was in the reported range of elongation speeds of microtubules in animal and plant cells, both in vivo and in vitro. These results suggest that the mechanism of axopodial elongation in *R. contractilis* differs from that in *A. sol*, and that a novel mechanism in microtubule assembly might be involved in the axopodial elongation process in *R. contractilis*.

【目的】 太陽虫は主にアクチノフリソ目と有中心粒目に大別される。本研究では有中心粒目に分類される汽水域に生息する *Raphidiophrys contractilis* とアクチノフリソ目に分類される *Actinophrys sol* を用いて軸足収縮後の軸足伸長反応について調べた。太陽虫

は、球形の細胞体から多数の軸足と呼ばれる微小管の束を内包した仮足を放射状に伸ばした形をしており、この軸足の長さを変化させることにより、餌虫を捕獲したり細胞体自身を移動させることができる。アクチノフリソ目では、餌虫が軸足の先端に接

触すると軸足の急速な短縮が起こり、軸足内の微小管に平行して存在する収縮小管 (contractile tubules) がこの現象に関係すると考えられている¹⁾。しかし、*R. contractilis* において軸足の収縮・伸長反応のメカニズムは未だ解明されていない。本研究では、*R. contractilis* と *A. sol* の急速な軸足収縮後の再伸長速度を調べ比較し、軸足の伸長機構を探るため超微形態学的解析を試みた。

【材料と方法】 *R. contractilis* と *A. sol* は、10% 人工海水を基本とした培地中で *Chlorogonium euchlorum* を餌として室温で無菌二者培養したものを用いた。軸足の再伸長速度を求めるため、倒立顕微鏡下で機械刺激や電気刺激により急速な軸足の収縮を誘発させて再伸長過程をビデオレコーダで記録後、時間あたりの軸足長の変化を解析した。収縮誘発後 1 分間の最大値を軸足の再伸長速度とした。*R. contractilis* は細胞を遠心分離しシャーレに入れて 1 時間静置した場合と、静置後に機械刺激によって急速な軸足の収縮を誘発させ再伸長が始まった細胞群に分けて電子顕微鏡観察を行った。前固定液としてルテニウムレッドとタキソールを含む 3% グルタルアルデヒド、後固定液として 0.5% 四酸化オスミウムを用いた²⁾。

Spurr 樹脂に包埋し超薄切片を作成した。光学顕微鏡観察用に、*R. contractilis* の細胞を 4% パラホルムアルデヒドで固定後、組織包埋剤中で凍結させクリオスタットで厚さ 5 μm の凍結切片を作製した。DAPI 染色等を行い観察した。

【結果と考察】 *R. contractilis* を用いて急速な軸足の収縮を誘発すると、収縮後すぐに軸足の再伸長が始まった。*R. contractilis* と *A. sol* の再伸長速度を比較したところ、*R. contractilis* の伸長速度 ($3.8 \pm 0.18 \mu\text{m}/\text{sec}$) は *A. sol* ($0.15 \pm 0.04 \mu\text{m}/\text{sec}$) のそれに比べておよそ 25 倍速いことが判明した。一般的な微小管伸長速度³⁻⁵⁾は *A. sol* の値に近い。急速な軸足収縮を誘発した直後の *R. contractilis* では光学顕微鏡下で細胞体表面に収縮前には見られなかった一定の厚さの層構造が出現し、凍結切片でもそれに相当すると思われる構造が確認できた。*A. sol* では収縮後のこのような構造は観察されなかった。透過型電子顕微鏡観察では *R. contractilis* で上記の構造体は観察できなかったことから、今後固定方法を検討する必要がある。また、過去の報告²⁾と同様に *R. contractilis* の軸足内にはアクチノフィリス目で報告されている収縮小管様の構造物は認められなかった。以上の結果から、*R. contractilis* の軸足伸長機構は *A. sol* とは異なっており今までに知られていない微小管伸長のメカニズムを有する可能性が示唆された。今後は、急速な軸足収縮を誘発した直後の細胞の形態変化を保持できる固定法を検討し、*R. contractilis* の軸足伸長機構の解明に向けて検討を重ねていく必要がある。

【文献】

- 1) Shigenaka et al. (1979) Annot. Zool. Jpn., 52, 28-39.
- 2) Khan et al. (2003) Zool. Sci., 20, 1367-1372.
- 3) Vorobjev et al. (1999) J. Cell Sci., 112, 2277-2289.
- 4) Wilde et al. (2001) Nat. Cell Biol., 3, 221-227.
- 5) Stepanova et al. (2003) J. Neurosci., 23, 2655-2664.