

*Peranema trichophorum* が持つ収縮性細胞質と滑走運動との関連について

吉見 英明<sup>1</sup>, 齊藤 育<sup>2</sup>, 洲崎 敏伸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>神戸大・院理・生物, <sup>2</sup>関西医大・綜研)

Contractile cytoplasm of *Peranema trichophorum* and its possible involvement in gliding motility

Hideaki YOSHIMI<sup>1</sup>, Akira SAITO<sup>2</sup> and Toshinobu SUZAKI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ., <sup>2</sup>Cent. Res. Lab., Kansai Med. Univ.)

**SUMMARY**

*Peranema trichophorum*, a euglenoid flagellate, shows a unique unidirectional gliding locomotion on the substratum at speeds up to 30  $\mu\text{m/s}$ , which is the highest among all gliding microorganisms. When compressed and crushed between the slide and cover slip in a solution containing 0.1% Triton X-100 and 3 mM EGTA, a mass of elastic and fibrous cytoplasm was released from the anterior tip of the cell. The ejected cytoplasm was highly viscous and easily

stretched by water flow. It became vigorously contracted by adding  $> 5 \text{ mM Ca}^{2+}$  with a speed similar to that of the cell gliding. These findings suggest the possible involvement of the cytoplasmic contractility in gliding motion of *P. trichophorum*.

**【目的】**ペラネマ (*Peranema*) は単細胞生物の中で最も高速の滑走運動を示し、それは鞭毛上にあるマスティゴネマ (mastigoneme) と基底面との相互作用により生み出される。また、細胞外液にはカルシウムイオンが必要であることもわかっている。今回、EGTA を用いて 2 価陽イオンをキレートした溶液中にペラネマを浸すと、細胞の前端から極めて弾性の高い細胞質が流出する現象を見出した。またこの細胞質はカルシウムイオンに反応して収縮し、その速度はペラネマの滑走運動の速度に類似していた。そこでこの細胞質が流出する条件及び収縮する条件を調べた。

**【材料と方法】***P. trichophorum* は、市販牛乳を入れた培地にて *Chlorogonium* を餌として用い、無菌二者培養した。細胞を 400 g で 5 分間遠心分離した沈殿に洗浄液 (0.01% Knop, 5 mM Hepes-KOH at pH 7.0) を加え懸濁した。懸濁液をシャーレに移して 20 分間置いた後、400 g で 30 秒間遠心分離した。上清を除去した沈殿に弾性細胞質の流出誘導液 (0.1% Triton X-100, 3 mM EGTA, 0.14 mM  $\text{KNO}_3$ , 0.1 mM  $\text{MgSO}_4$ , 5 mM Hepes-KOH at pH 8.1) 及び Triton X-100 を含まないもの、EGTA を含まないもの、両方含まないものの 4 種類の溶液のいずれかを加えて 8 分間置いた後に光学顕微鏡で観察を行った。水流により流出した弾性細胞質には、収縮誘導液 ( $1.0 \times 10^{-6} \text{ M CaCl}_2$ , 0.14 mM  $\text{KNO}_3$ , 0.1 mM  $\text{MgSO}_4$ , 5 mM Hepes-KOH at pH 8.4) , あるいは収縮誘導液の  $\text{CaCl}_2$  濃度や pH をさまざまに変えたものを加えて、それぞれで弾性細胞質の収縮反応を観察した。また  $\text{Ca}^{2+}$  以外の陽イオンである  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  に対する反応性も調べた。

**【結果と考察】**弾性細胞質の流出誘導液を加えたものではほとんどのペラネマがきわめて弾性の高い細胞質を流出しており、それらが融合して大きなゲル状になったものも観察できた。Triton X-100 を含まない溶液では一部のペラネマからしか細胞質の流出は観察できなかった。EGTA を含まない溶液では細胞内容物の流出はあったものの、それは粘性や弾性を示さず、流出した細胞質は水流と共にばらばらになって流れ去った。この状態の細胞に EGTA を含む溶液を流したところ、一部のペラネマからは弾性細胞質の流出を観察できた。Triton X-100 も EGTA も含まない溶液ではペラネマから細胞内容物の流出は一切なく、実験前と同様に滑走運動を続ける個体も多数見られた。また、流出誘導液の pH は 8.0 以上である必要があった。このようにして流出させた粘性・弾性の高い細胞質に収縮誘導液を与えたところ、 $\text{CaCl}_2$  存在下で細胞質の収縮が観察された。また、この時の pH は 6.9 が最適であり、細胞質の流出に用いた pH 8.0 付近では細胞質はまったく収縮しなかった。収縮に必要な  $\text{CaCl}_2$  濃度は 5 mM-1 M であったことから  $\text{Ca}^{2+}$  に対する閾値は 5 mM 程度と考えられる。一方  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  に関しては、濃度を 1 M まで高くしても収縮反応は全く観察できなかった。以上の結果より、弾性細胞質が流出する条件は pH が 8.0 付近で  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が 5 mM 以下であると考えられる。また細胞質は  $\text{Ca}^{2+}$  に対してのみ特異的に反応することから、 $\text{Ca}^{2+}$  を必要とするペラネマの滑走運動になんらかの関係がある可能性がある。例えば鞭毛表層のマスティゴネマにこの弾性細胞質が薄く分泌されており、基底面への接地を補助している可能性等が考えられるが、その具体的な機構は不明であり、さらなる研究が必要である。