

令和 2 年 7 月 5 日現在

機関番号：13904

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15154

研究課題名（和文）遊泳微細藻の重力・流れ・光応答の解明に向けた数理と実験の循環的アプローチ

研究課題名（英文）Mathematical and experimental approach toward the elucidation of gravi-, rheo- and photoresponses of swimming microalgae

研究代表者

鹿毛 あずさ (Kage, Azusa)

豊橋技術科学大学・工学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：10748809

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は遊泳微細藻クラミドモナスの重力応答を中心に、流れ応答・光応答との相互作用の解明を目指した。負の重力走性について、実験とシミュレーションの両面から、その基本メカニズムは細胞の形態非対称性であることを明らかにし、鞭毛の波形転換もしくは2本の鞭毛間の同期特性の変化による急激な方向転換が負の重力走性を強めるはたらきを示唆した。走光性・走流性については研究の進展が不十分にとどまったものの、走流性についてはマイクロ流体デバイスを用いたアプローチの有効性を示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遊泳微細藻類は自然界において赤潮を発生させるなど、人類の生活との関わりも大きい。本研究ではモデル微細藻クラミドモナスの負の重力走性に着目し、実験とシミュレーションの両面からその力学的メカニズムを明らかにした。さらに、負の重力走性が力学的に起こるだけでなく、生理的に調節されていることを示唆した。負の重力走性については流体力学の分野で理論研究が多数行われていたものの、メカニズムは実験的に明らかになっていなかった。本研究の成果は流体力学と生理学の両方の発展に貢献するものである。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the interplay of gravi-, rheo- and photoresponses of swimming microalgae, particularly Chlamydomonas. Combining the experimental and the numerical approaches, we revealed that the mechanism of negative gravitaxis in Chlamydomonas reinhardtii can mainly be attributed to the shape asymmetry of the cell. The steep turning suggested that flagellar waveform conversion such as avoiding response or asynchrony between the two flagella could reinforce negative gravitaxis. We also showed the usefulness of microfluidic approach in studying rheotaxis.

研究分野：重力生物学

キーワード：重力走性 低レイノルズ数 マイクロスイマー 原生生物 遊泳 gyrotaxis

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

重力は地球生命を支配する。低レイノルズ数環境下 ($Re = vL/\mu \ll 1$) に生きる微生物も例外ではない。この低レイノルズ数領域では、慣性が粘性に比べて無視できる程度に小さく、泳がない微生物は基本的に沈む。その多くが水よりも重い遊泳微生物にとって、「上に偏って泳ぐ」ことはそれ自体が適応的意義を持っている。

単に「沈まないために上に泳ぐ」だけでなく、実験室環境下では、多くの微生物が積極的に上方に偏る。これはクラミドモナスやミドリムシなど光感受性の生物の場合、走光性で説明されがちであるが、暗所に置いても上方に偏る。酸素走化性で説明されることも多いが、上記に加え、テトラヒメナ、ゾウリムシなど多くの遊泳原生物は容器の上方を塞いでも上に集まる。この現象は負の重力走性とよばれる。プロセスのほとんどが分子の活性化・不活性化・シグナル伝達で記述できる走光性と異なり、重力走性においては生理学だけでなく流体力学の役割が本質的に非常に大きい。

2. 研究の目的

本研究は微細藻クラミドモナスの生理的重力応答機構および重力応答と光応答・流れ応答の相互作用の解明を目指した。走光性や重力走性は低レイノルズ数環境下で生きる原生物にとって非常に重要性を持っている。しかし走光性に比べて重力走性の研究は大きく立ち遅れている。重力走性の場合、生理的要因だけではなく、流体力学的要因の理解が不可欠であることが一因と考えられる。本研究では細胞生理学と流体力学・数理と実験を行き来して重力応答のメカニズムの解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) 負の重力走性の力学メカニズム

クラミドモナスの重力走性の力学メカニズムとして、細胞の密度非対称性と形態非対称性の寄与を測る実験を行った。動きを止めたクラミドモナスを溶液中で落下させ、細胞の回転角速度を計測した。この時、鞭毛が生えたままの群と脱鞭毛した群を準備した。さらに鞭毛の変異株を用いて同様の計測を行った。細胞の角度の可視化は葉緑体の自家蛍光と水平顕微鏡によって行った。

(2) 負の重力走性の生理的メカニズム

負の重力走性の生理的メカニズムについて検討するため、実験で得られた鞭毛波形から、力学メカニズムのみと仮定した場合の垂直遊泳のシミュレーションを境界要素法によって行った。このシミュレーション結果を、生理的メカニズムも寄与していると考えられる実際の垂直遊泳の軌跡と比較した。

(3) 走流性

走流性解析用のマイクロ流体デバイスを開発した。流れをかけた状況でのクラミドモナスの遊泳の記録・画像解析を行った。

4. 研究成果

(1) 負の重力走性の力学メカニズム

野生型の鞭毛がある群と脱鞭毛した群を比較した場合、脱鞭毛した群の回転角速度は鞭毛が

ある群のおよそ 1/3 となった。この結果は形態非対称性の寄与が密度非対称性の寄与より強いことを示している。実験結果より、密度非対称性の程度を示す重心と凶心のずれを計算すると 30 nm となり、先行の理論研究の仮定 (100 nm) の 1/3 程度となった。このことから、クラミドモナスの負の重力走性の力学メカニズムは主に形態非対称性によると結論された。鞭毛変異株 (単鞭毛変異体 *uni1-1*、鞭毛が短い株 *shfl-277*) を用いた実験では、回転角速度のばらつきが大きく、野生型の脱鞭毛した群と鞭毛がある群の範囲にわたっていた。これは変異体では鞭毛をほとんど欠いている場合があるためだと考えられる。今回調べた範囲では、鞭毛長および鞭毛数の影響は小さいと考えられた。

(2) 負の重力走性の生理的メカニズム

シミュレーション結果より、クラミドモナスが鞭毛波形を変えずに遊泳した場合、真下向きから真上向きへの方向転換には 47 秒かかることがわかった。一方で、実験の垂直遊泳軌跡を解析すると、実際のクラミドモナスの方向転換は多くの場合、数秒から 10 秒程度で急激に起こっていた。このことから、負の重力走性には細胞の形態非対称性に加えて、方向転換を通じた生理的メカニズムが寄与していると考えられた。急激な方向転換には、2 本の鞭毛の非同期や波形転換が関わっていると考えられる。以上(1)(2)の結果を論文として出版した (Kage et al., J. Exp. Biol., 2020)。垂直遊泳中の鞭毛の非同期や波形転換を実際に可視化し、シグナル伝達等のプロセスを推定するのは今後の課題となる。

(3) 走流性

マイクロ流体デバイスを用いた解析により、クラミドモナスが流れに逆らって泳ぐ正の走流性を示すことが示唆された。条件にまだ検証の余地があるものの、マイクロ流体デバイスを用いたアプローチの有効性を示すことができた。走流性・走光性と重力走性との関わりについては研究が不十分にとどまり、今後の課題となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Azusa Kage, Toshihiro Omori, Kenji Kikuchi, Takuji Ishikawa	4. 巻 223
2. 論文標題 The shape effect of flagella is more important than bottom-heaviness on passive gravitactic orientation in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb205989
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1242/jeb.205989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 6件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 鹿毛 あずさ, 鳥澤 嵩征, 目戸 綾乃, 永井 健
2. 発表標題 Collective swimming of living spinners
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鹿毛 あずさ, 大森 俊宏
2. 発表標題 Mechanisms of negative gravitaxis in free-swimming <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鹿毛 あずさ, 大森 俊宏
2. 発表標題 クラミドモナスの負の重力走性における方向転換の役割
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鹿毛 あずさ, 大森 俊宏
2. 発表標題 方向転換からみたクラミドモナスの負の重力走性
3. 学会等名 第13回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鹿毛 あずさ, 大森 俊宏
2. 発表標題 クラミドモナスの重力走性行動における方向転換
3. 学会等名 第9回分子モーター討論会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鹿毛あずさ
2. 発表標題 単細胞緑藻クラミドモナスの集団運動
3. 学会等名 日本分子生物学会第41回年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 鳥澤嵩征, 目戸綾乃, 永井健
2. 発表標題 生きた回転子の集団運動
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Azusa Kage
2. 発表標題 Dynamic structural changes in collective motion of the microalga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> : connecting individual and collective behavior
3. 学会等名 Micro and Nanoengineering Conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鹿毛あずさ
2. 発表標題 Gravitaxis of " <i>Chlamydomonas model species</i> " in hydrodynamics
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鹿毛あずさ
2. 発表標題 クラミドモナスida変異株の重力走性
3. 学会等名 2019年生体運動研究合同班会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Azusa Kage
2. 発表標題 The role of inner dynein arm components in collective swimming of <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 Dynein 2017 International Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 鳥澤嵩征, 永井健
2. 発表標題 Emergent collective motion of the unicellular green alga Chlamydomonas: 2-body swimming and beyond
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 菊地謙次, 石川拓司
2. 発表標題 クラミドモナス細胞壁欠損株の遊泳特性
3. 学会等名 日本動物学会 第88回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 目戸綾乃, 永井健, 鳥澤嵩征
2. 発表標題 クラミドモナス単鞭毛変異体の集団運動
3. 学会等名 2018年生体運動研究合同班会議
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----