

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32606

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20661

研究課題名(和文) 群体性ボルボックス目緑藻精子束から解き明かす多数の真核生物鞭毛の協調運動

研究課題名(英文) Coordinated motion of multiple eukaryotic flagella revealed from sperm packets of the colonial volvocine alga

研究代表者

鹿毛 あずさ (Kage, Azusa)

学習院大学・理学部・助教

研究者番号：10748809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：多数の鞭毛・繊毛の運動と個々の鞭毛運動の関係を明らかにするため、群体性ボルボックス目緑藻 *Pleodorina starrii* の精子束を材料として、遊泳と鞭毛運動の可視化を行った。自由遊泳の可視化には暗視野顕微鏡とハイスピードカメラを用い、さらに鞭毛運動の詳細な可視化のために微細なガラスピペットで精子束を捕まえる系を構築した。精子束は同じ雄株の無性群体の約1.4倍速く泳いだ。無性群体は繊毛打タイプの鞭毛運動を示し、精子束も繊毛打タイプの鞭毛運動を示したが、精子束が分解した単体精子は鞭毛打タイプの鞭毛運動を示した。精子束が単体精子に分解する過程で、鞭毛運動が切り替わることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は群体性ボルボックス目緑藻精子束の運動を初めて定量的に解明した。その結果、無性群体と精子束では鞭毛の分布が異なること、精子束と分解した単体精子では鞭毛運動のパターンが異なることを明らかにした。群体性ボルボックス目緑藻の有性生殖の過程における鞭毛運動の意義を明らかにすることができ、鞭毛・繊毛運動と藻類学にまたがる学術的意義を持つ。さらに、低レイノルズ数環境中で動作するマイクロロボットの開発などの応用にもつながる成果である。

研究成果の概要(英文)：To clarify the relationship between the movement of a number of flagella/cilia and that of individual flagellum/cilium, we visualized swimming and flagellar motion of sperm packets of the volvocine green alga *Pleodorina starrii*. A dark-field microscope and a high-speed camera were equipped to visualize free swimming. For detailed visualization of flagellar motion, a system was constructed to capture sperm packets with a glass micropipette. Sperm packets swam approximately 1.4 times faster than asexual colonies of the same male strain. Asexual colonies and sperm packets showed ciliary-type flagellar movement, while dissociated single sperm showed flagellar-type movement. The switching mechanism of the flagellar movement during the process of sperm packet disassembly into single sperm was suggested.

研究分野：生物物理学

キーワード：真核生物鞭毛 可視化 メタクロナルウェーブ 集団運動

1. 研究開始当初の背景

多数の鞭毛・繊毛の協調運動は真核微生物の遊泳のみならず、ヒトの気管や卵管、脳室など、多細胞生物の生理機能にとって重要な生体流れの発生に必要不可欠である。協調運動している時、隣り合った鞭毛どうしは互いにランダムに動くのではなく一定の位相差を保って打ち、全体として推進力や水流を発生する。このような協調運動は神経系の支配がなくても起こり、報告者の研究してきた生物対流 (Kage & Mogami, 2015, Zool. Sci. など) にもみられるような、自発的な集団運動の一種ととらえることができる。集団運動はどのように個々の運動から創発し、生命体の中でどのような機能を果たすのか? 個々の運動と集団運動の関係を明らかにするためには構成要素が均質であり、分解できることが望ましいが、鞭毛・繊毛の協調運動における実験の先行研究では明らかな不均一性の含まれる系、単細胞であって分解が難しい系が用いられ、個々の運動と集団運動の関係は必ずしも明確ではない。比較的少数の均質な要素が結合して鞭毛の協調運動を生み出し、重要な生理機能を果たす例として、本研究では群体性ボルボックス目緑藻の精子束 (sperm packet; 図1) を取り上げた。

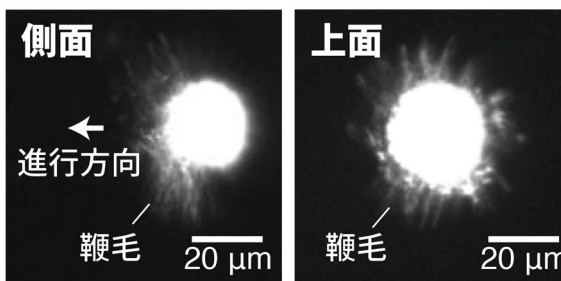


図1: 精子束

群体性ボルボックス目緑藻のうち、ユードリナやプレオドリナでは卵と精子の分化が起こっている。有性生殖に際して、雄群体は精子束を放出する。この精子束は形状の均質な2本鞭毛の精子の集合体として構成され、束として泳ぐ。つまり精子束では同じ構成要素の足し合わせとしての協調運動が達成されていると考えられる。

群体性ボルボックス目緑藻のうち、ユードリナやプレオドリナでは卵と精子の分化が起こっている。有性生殖に際して、雄群体は精子束を放出する。この精子束は形状の均質な2本鞭毛の精子の集合体として構成され、束として泳ぐ。つまり精子束では同じ構成要素の足し合わせとしての協調運動が達成されていると考えられる。

2. 研究の目的

集団運動の観点から鞭毛の協調運動メカニズムを解明するため、均質な精子の集合体である群体性ボルボックス目緑藻の精子束の運動を可視化・定量化し、さらに有性生殖の過程における鞭毛の協調の意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

暗視野顕微鏡とハイスピードカメラを用いて、群体性ボルボックス目緑藻 *Pleodorina starrii* の精子束および無性群体の遊泳と鞭毛運動を可視化した。

動きの速い精子束の鞭毛運動をより詳細に可視化するため、微小なガラスピペットを用いて精子束を捕まえる系 (図2) を構築した。

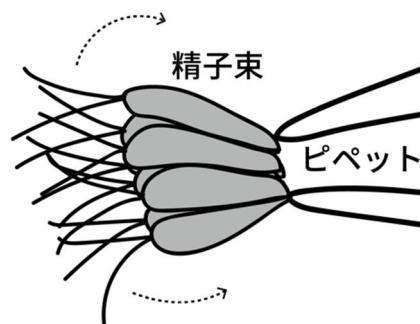


図2: ピペットによる精子束の固定

精子束と無性群体の速さの違いの原因を明らかにするため、免疫蛍光染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて鞭毛の分布を可視化した。

4. 研究成果

精子束と同じ雄株の無性群体の遊泳を比較すると、精子束は無性群体より遊泳が速く、体のサイズは小さかった。

鞭毛運動を解析した結果、無性群体は近縁のボルボックス等と同様、繊毛打タイプの運動を示した。精子束の鞭毛運動も繊毛打タイプであった。これに対して精子束が分解した単体精子の鞭毛は鞭毛打タイプの運動を示した。単体精子は2本の鞭毛を互い違いに打ち、ほとんど遊泳できないことが観察された。精子束から単体精子になる際に、鞭毛運動の切り替わりのメカニズムがあることが示唆された。精子束の鞭毛は無性群体より短く、鞭毛運動の周期は長かった。

無性群体と精子束はともに多数の鞭毛を協調させて泳ぐが、キモグラフによる解析の結果、いずれも波の伝播の方向が鞭毛の有効打の方向と等しい symplectic なメタクロナルウェーブであることがわかった。無性群体についてはボルボックスについて報告されているのと同様の結果

であった。精子束では、横から観察すると、体の前側・中央部分から発した波が両側に伝播することがわかった。

鞭毛の分布を免疫蛍光染色によって可視化したところ、精子束の鞭毛は体の前側に集中しているのに対し、無性群体の鞭毛は体の全体に均一に分布していた。

先行研究の球体に繊毛を生やした数値シミュレーション (Omori et al., 2020, PNAS) と遊泳・鞭毛運動のデータを比較した。鞭毛長で規格化した体長は精子束と無性群体とでほとんど変わらなかった一方、鞭毛長と鞭毛運動の周期で規格化した遊泳速さは精子束で 1.8、無性群体で 0.3 であった。いずれの値もおおむね Omori et al. (2020) のシミュレーションから導かれる値の範囲内であったが、6 倍の差があった。この大きな差は精子束と無性群体における鞭毛の分布の違いによると考えられた。精子束の鞭毛打の周期は無性群体より長い、それでも無性群体より速く泳げる理由として、精子束と無性群体との絶対的なサイズの差、さらには個々の鞭毛運動および鞭毛の協調における違いが考えられる。

本研究では有性生殖を誘導した雌群体と精子束の遊泳を比較していないが、雌群体には無性群体と比べて顕著な形態変化が見られないことから、本研究の無性群体の結果を適用可能であると考えている。すなわち、精子束の遊泳が無性群体よりも速かったことから、精子束は雌群体よりも速いと考えられる。小さく鞭毛が前側に集中した形態をとることで、精子束は卵を持った雌群体に追いつきやすいと考えられる。

以上の成果を 2023 年 5 月 31 日に学術雑誌に投稿済み、2023 年 6 月 8 日にプレプリント (<https://doi.org/10.1101/2023.06.08.544266>) 公開済みである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田悠作, 西坂崇之, 鹿毛あずさ
2. 発表標題 深層学習によるクラミドモナスuni1-1変異株の鞭毛運動自動解析
3. 学会等名 第16回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 高橋昂平, 野崎久義, 東山哲也, 西坂崇之
2. 発表標題 群体性ボルボックス目緑藻Pleodorina starrii精子束の遊泳
3. 学会等名 日本動物学会第92回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 高橋昂平, 野崎久義, 東山哲也, 馬場昭次, 西坂崇之
2. 発表標題 群体性ボルボックス目緑藻プレオドリナ精子束の運動
3. 学会等名 2022年生体運動研究合同班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鹿毛あずさ, 高橋昂平, 野崎久義, 東山哲也, 馬場昭次, 西坂崇之
2. 発表標題 群体性ボルボックス目緑藻Pleodorina starrii精子束の運動
3. 学会等名 第15回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

プレプリント (2023年6月8日公開) <https://doi.org/10.1101/2023.06.08.544266>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------