

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月19日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22657049

研究課題名（和文） 繊毛のメタクロナルウェーブシステムの理解

研究課題名（英文） Metachronal wave of ciliary beats in a *Paramecium* cell.

研究代表者

岩楯 好昭 (IWADATE YOSHIAKI)

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：40298170

研究成果の概要（和文）：気管や胚、ゾウリムシ等単細胞生物は多数の繊毛を持つ。繊毛の屈曲は組織・細胞表面を波のように伝わる（メタクロナルウェーブ）。繊毛群が形成するメタクロナルウェーブは外液の粘性を介して伝播すると考えられてきたが、一部の繊毛の繊毛打を変化させ外液の流れを遮断しても伝播した。細胞を一定の遅い周波数で強制的に伸縮させると、メタクロナルウェーブの周波数はやがて伸縮の周波数に一致した。メタクロナルウェーブは、外液を介してだけでなく細胞膜の伸縮として伝播しているかもしれない。

研究成果の概要（英文）：Ciliary movements in protozoa show metachronal coordination so as to maintain a constant phase difference between adjacent cilia. This coordination is called as “metachronal wave”. It is now generally thought that metachronal waves arise from hydrodynamic coupling between adjacent cilia at extracellular fluid. To confirm this, we planned to breakdown the hydrodynamic coupling of ciliary movements at a restricted portion of a *Paramecium* cell and observe whether metachronal coordination collapses or not. We applied UV irradiation to several cilia of a *Paramecium* cell, which was loaded caged calcium beforehand, to induce the reversal of beat-direction of the restricted cilia. Metachronal waves passed over the portion where the direction of ciliary movements was artificially reversed, suggesting that metachronal wave is mediated by something other than extracellular fluid. To clarify the other mediator, we sucked both ends of a *Paramecium* cell by two micropipettes and applied a vibration with a certain frequency to the one of the micropipettes. This induced cyclic stretching of cell body. The frequency of metachronal wave became equal to that of the cyclic stretching. These results suggest that not only extracellular fluid but

also cell body can act as a coupling medium for propagation of metachronal waves.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	0	1,100,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	540,000	3,440,000

研究分野：生物物理学

科研費の分科・細目：生物科学、細胞生物学

キーワード：繊毛、鞭毛、メカノセンシング、ゾウリムシ、繊毛波、ケイジドカルシウム

1. 研究開始当初の背景

生物には自律的に“秩序”を作り出す能力がある。成体の形態の精巧な空間的秩序は、もとは単純な受精卵細胞からできあがるし、体内時計のような時間的秩序は、乱されても自然と元に戻る。この自律的に秩序を作り出す能力は生物の大きな特徴であり、もしこれをテクノロジーへ応用できれば、飛躍的な技術革新をもたらすだろう。しかし、実際にこのような生物の秩序形成能がテクノロジーに応用された例はまず無い。それは、生命現象を分子に還元して考えるこれまでの生物学の研究手法が生物の秩序形成能の理解になじまず、生物の秩序形成の理解が今もって進んでいないからである。秩序形成のようなマクロな生命現象は分子1つではなく、多くの分子・小器官の相互作用によって成り立つ。そのため現

象を分子同士の相互作用のシステムとしてとらえて初めて理解できるだろう。

2. 研究の目的

気管や胚、ゾウリムシなどの単細胞生物は多数の繊毛を持つ。繊毛は1本1本が独立して運動しているにも関わらず、集団として見ると全繊毛は一糸乱れぬ秩序を保ちながら同じ方向に動く（メタクロナルウェーブ）。この秩序形成には外部からの制御は不要で、繊毛同士の相互作用から自律的に形成されることが知られている。本研究では、繊毛集団がメタクロナルウェーブを形成するメカニズムを、ゾウリムシの生きた細胞を材料にして、顕微鏡観察と数値モデルのシミュレーションを用いて解明することを目的とした。

3. 研究の方法

メタクロナルウェーブには、隣り合う繊毛同士がぶつかり合う力学的な相互作用が繊毛間のシグナルとして機能していると示唆されている。

本研究では、以下の4つの研究項目を遂行した。すなわち、(1) 生きたゾウリムシ細胞でメタクロナルウェーブを観察する (2) 人為的に一部の繊毛の運動を変化させ、繊毛同士の力学的な相互作用を遮断させた時、メタクロナルウェーブの伝達がどのように変化するか観察する。(3) 細胞体を一定周波数で伸縮させこの周期にメタクロナルウェーブが同調するか確かめる。

(4) 細胞の伸縮がメタクロナルウェーブの原因になりうるか理論的に考察する。

また、実験でゾウリムシに薬剤を導入するには、これまで、一般的に困難な顕微注射の方法しか無かった。そこで、上記(1)～(4)の研究項目を遂行すると同時に、顕微鏡下で細胞を観察しつつ薬剤を簡便に導入できる方法を、エレクトロポレーションの方法を応用して、開発することを目指した。

4. 研究成果

上記の研究項目(1)～(4)に対して、(1) 高速ビデオカメラを用いてゾウリムシのメタクロナルウェーブを観察できた。これにより、ゾウリムシがメタクロナルウェーブの実験材料として使用可能であることがはっきりした。ゾウリムシの繊毛運動は繊毛内部のカルシウムイオン濃度やcAMP濃度で制御されることが古くから知られており、繊毛運動を人為的に制御しやすいので、もし、ゾウリムシでメタクロナルウェーブが明瞭に観察出来れば、良い実験材料になると期待できる。

(2) ケイジドカルシウムを用いて一部の繊毛打方向を逆転させてみると、その箇所

を超えてメタクロナルウェーブが伝播した。一部の繊毛を逆転させても、その箇所での流体を介した繊毛同士の力学的な相互作用を完全には遮断することはできないが、この事実は、流体を介した繊毛同士の力学的な相互作用だけではなく、別の要因でもメタクロナルウェーブが伝達する可能性を示している。

(3) 細胞の弾性を使ってメタクロナルウェーブが伝播するか検討するために、細胞をウェーブよりも遅い周波数で伸縮させた。するとウェーブの周波数は伸縮の周波数に近づいていった。さらに、様々な周波数で細胞伸縮を試みる必要があるが、この結果は細胞の伸縮がメタクロナルウェーブ伝播に貢献していることを示唆している。

(4) 細胞の伸縮がメタクロナルウェーブの伝播に貢献できるかどうか、簡単な数理モデルで検討すると、伸縮の度合いが小さければ、ウェーブの伝達に貢献しそうだという結果を得た。

(1)～(4)の結果を現在、論文投稿予定である。

今後、完全に外液によるウェーブの伝播を遮断した時のウェーブの様子や、細胞伸縮の周波数を様々に調整した時のウェーブの周波数の変化を検討したい。また、細胞表層の伸縮を媒介としてメタクロナルウェーブが伝達するとしても、その分子メカニズムについては全くわからない。ゾウリムシの細胞表層にはセントリンと呼ばれるタンパク質から成る収縮性の繊維が網の目のようになって存在することが知られている。さらに、セントリン細胞骨格がメタクロナルウェーブの伝達に伴って伸縮しているか、GFPなどを用いて蛍光染色し観察し、分子メカニズムを明らかにしたい。

研究の過程で、顕微鏡下で細胞を観察しつつ薬剤を簡便に導入できるエレクトロポレーションの方法(マイクロポレーション

装置)を開発した(特許出願中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計4件)

①岩楯好昭。自分自身の“力”による遊走細胞の前後極性形成。第9回バイオオプティクス研究会(招待講演)。2012.12.7。山口大学(山口市)。

②継山晴進、岩楯好昭。顕微鏡ステージ上で実行可能なエレクトロポレーション装置の開発。第4回日本生物物理学会中国四国支部大会。2012.6.2。山口大学(山口市)。

③馴松直紀、岩楯好昭。人為的な細胞伸縮によるゾウリムシ繊毛のメタクロナルウェーブ周波数の制御。生体運動合同班会議。2012.1.6。筑波大学(つくば市)。

④馴松直紀、岩楯好昭。メタクロナルウェーブは細胞膜の伸縮として伝播する。第44回原生動物学会大会。2011.11.11。奈良女子大学(奈良市)。

[産業財産権]

○出願状況(計1件)

名称: マイクロポレーション装置

発明者: 岩楯好昭、継山晴進

権利者: 国立大学法人山口大学

種類: 特許

番号: 特願2012-077178

出願年月日: 2012.3.29

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://cellsystem.sci.yamaguchi-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩楯 好昭 (IWADATE YOSHIAKI)

山口大学・大学院医学系研究所・准教授

研究者番号: 40298170

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: