

ミドリゾウリムシ共生藻の細胞分裂と原形質流動

細谷浩史 (広島大学大学院 理学研究科生物科学専攻 細胞生物学研究室)

Arrest of cytoplasmic streaming induces the proliferation of symbiotic algae
in green paramecium, *Paramecium bursaria*

Hiroshi HOSOYA

(Department of Biological Science, Graduate School of Science, Hiroshima University, JAPAN)

SUMMARY

A green ciliate *Paramecium bursaria*, having several hundreds of endosymbiotic algae, demonstrates rotational microtubule-based cytoplasmic streaming, in which cytoplasmic granules and endosymbiotic algae flow in a constant di-

rection in the cell (N. Nishihara, S. Horiike, Y. Oka, T. Takahashi, T. Kosaka and H. Hosoya, *Cell Motil. Cytoskeleton*, 43, 85-98, 1999). However, its physiological significance is still unknown. We investigated physiological roles of cytoplasmic streaming in *P. bursaria* through the host cell cycle using video-microscopy. Here, we found that, in dividing green paramecia, cytoplasmic streaming was arrested and the endosymbiotic algae proliferated only during the arrest of cytoplasmic streaming. Interestingly, arrest of cytoplasmic streaming with pressure or a microtubule drug, nocodazole, also induced the proliferation of endosymbiotic algae in interphase cells independently of host cell cycle. These results suggest that cytoplasmic streaming controls the algal proliferation in *P. bursaria*. Furthermore, confocal microscopic observation revealed that a division septum was formed in the constricted area of a dividing paramecium, producing arrest of cytoplasmic streaming. This is a first report to suggest that cytoplasmic streaming controls proliferation of eukaryotic cells. (T. Takahashi, Y. Shirai, T. Kosaka and H. Hosoya, *PLoS ONE*, 12, e1352, 2007)

[目的] ミドリゾウリムシの体内には、数百個のクロレラに類似の共生藻が共生している。これらの共生藻は、ミドリゾウリムシが二つに分裂した場合でもミドリゾウリムシの体内でその密度が半減する事はなく、ミドリゾウリムシの細胞周期を通じて常にほぼ一定の密度で共生が維持されている。しかし、ミドリゾウリムシの体内で共生藻の増殖を制御するメカニズムを始め、共生藻の増殖をホストの増殖と連動（同調）させるメカニズムなど、ミドリゾウリムシの体内で共生藻の密度を維持するメカニズムについて解明が進んでいないのが現状である。

ミドリゾウリムシの体内では、共生藻が一定の方向に流動する原形質流動と呼ばれる現象が観察されている。共生藻を除去した白いミドリゾウリムシでも、体内の顆粒が一定の方向に流動している様子が観察されている。最近我々は、ミドリゾウリムシが細胞分裂を行う直前に体内の共生藻が倍加し (T. Kado, *et al.*, 2004)、さらに共生藻の増加と同時に体内の原形質流動が停止する事 (T. Takahashi, *et al.*, 2007) を相次いで見いだした。これらの事実は、共生藻の増殖と原形質流動の間に密接な関係があることを意味している。本シンポジウムでは、原形質流動による共生藻の増殖制御機構に関し、現在までに明らかにされた事実について報告する。

[方法] ミドリゾウリムシ (BWK-4, mating type IV; KN-21, III) は、琵琶湖および紀ノ川 (和歌山) から採集されたものを使用した。培養は、明暗条件下 (12時間明・12時間暗) で1500 luxの白色蛍光灯照射下、23度で行なった。単離・クローン化された共生藻 (SA-1, SA-2) の培養は、CA培地中で同じく1500 luxの白色蛍光灯照射下、23度で行なった。ミドリゾウリムシの原形質流動は、アクチン系でなく微小管系の細胞骨格で制御されている事がすでに明らかにされている。従って、微小管重合阻害剤のノコダゾール (3 µg/mlまたは6 µg/ml) を間期のミドリゾウリムシに作用させ、原形質流動を停止させた (N. Nishihara, *et al.*, 1999)。また、カバースリップを用いてミドリゾウリムシをスライドガラスとの間で圧迫し、原形質流動を停止させる方法も併用した (N. Nishihara, *et al.*, 1999)。分裂中のミドリゾウリムシは、-20度に冷却したメタノールで固定し、

DAPIによるDNA染色を行なった後、共焦点レーザー走査顕微鏡 (Zeiss, LSM410) による断層撮影を行なって、共生藻 (赤い自家蛍光) および染色体 (青) の局在を観察した。LSMによる断層撮影を1 µmの厚さで連続的に行なうことによって、分裂中のミドリゾウリムシ体内における共生藻の分布を、ミドリゾウリムシ全体にわたって三次元的に明らかにした。

[結果と考察] 間期のミドリゾウリムシ体内において、共生藻が一定の方向に流動している様子はすでに観察されている。今回、原形質流動 (共生藻の流動) を、間期と分裂期それぞれのミドリゾウリムシにおいて観察した。その結果、細胞分裂直前のミドリゾウリムシ体内では、原形質流動が停止している事を明らかにした。我々はすでに、ミドリゾウリムシ体内の共生藻は、間期ではその密度は一定であるが、ミドリゾウリムシの細胞分裂直前に二倍に増加することを明らかにしている。原形質流動の停止が共生藻の増殖の引き金になっているのではと考えた。そこで、間期のミドリゾウリムシに圧力を加え、原形質流動を停止させたところ、間期にもかかわらずやはり共生藻の数が増加した。さらに、間期のミドリゾウリムシにノコダゾールを作用させて原形質流動を停止させたところ、やはり、ミドリゾウリムシ体内における共生藻数の増加が観察された。ミドリゾウリムシから単離された培養共生藻にノコダゾールを加え培養しても、共生藻の増殖に影響は見られなかった。ノコダゾールはミドリゾウリムシに作用し、ミドリゾウリムシ体内の共生藻を増殖させたものと考えられる。これらの事実から、ミドリゾウリムシ体内で観察される微小管依存性の原形質流動が、共生藻の増殖を制御する上で大きな役割を担っていることが初めて示された (T. Takahashi, *et al.*, 2007)。

また、微分干渉顕微鏡による観察で、分裂中のミドリゾウリムシ体内の共生藻が、ミドリゾウリムシのくびれの領域に局在していない様子が観察された。そのため、LSMによる連続断層撮影に行なって、くびれの領域における共生藻の局在を詳しく調べたところ、くびれの領域には共生藻が局在していない事が明らかになった。これらの事実は、ミドリ

ゾウリムシの分裂時に、くびれの領域にdisc状の構造が形成され、その為原形質流動が阻害される可能性が示唆された (T. Takahashi, *et al.*, 2007)。今後、このdisc状の構造の形成過程を明らかにし、原形質流動を阻害するメカニズムの解明を行なうことが急務である。

【文献】

- T. Kadono, T. Kawano, H. Hosoya and T. Kosaka, *Protoplasma*, 223, 133-141, 2004
N. Nishihara, S. Horiike, Y. Oka, T. Takahashi, T. Kosaka and H. Hosoya, *Cell Motil. Cytoskeleton*, 43, 85-98, 1999
T. Takahashi, Y. Shirai, T. Kosaka and H. Hosoya, *PLoS ONE*, 12, e1352, 2007