

## *Bacillaria paradoxa* (イカダケイソウ) の滑走運動機構について

山岡 望海<sup>1</sup>, 末友 靖隆<sup>2</sup>, 新免 輝男<sup>1</sup>, 園部 誠司<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>兵庫県立大・理・生命科学, <sup>2</sup>岩国市立ミクロ生物館)

### Gliding mechanism of *Bacillaria paradoxa*

Nozomi YAMAOKA<sup>1</sup>, Yasutaka SUETOMO<sup>2</sup>, Teruo SHIMMEN<sup>1</sup> and Seiji SONOBE<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept. Life Sci., Fac. Sci., Univ. Hyogo, <sup>2</sup>Iwakuni City Microlife Museum)

#### SUMMARY

*Bacillaria paradoxa* belongs to pinnate diatom and forms a colony consisting of 2–30 cells. Adjacent cells show active mutual sliding, but its mechanism and physiological meanings are not understood. We established a culture system of *B. paradoxa* with artificial seawater in our laboratory. Electron microscopy revealed the connection between cells along with the raphe, an elongated slit in the frustule. Two actin fibers a cell along the raphe were observed by staining with Alexa 488-phalloidin. Latrunculin B, an inhibitor for actin, completely inhibited sliding. These results suggest an important role of actin in sliding and the presence of a similar mechanism postulated in other pinnate diatoms.

**[目的]** *Bacillaria paradoxa* は細胞群体を形成し、隣接した細胞同士が滑走運動を行うが、その機構及び生理的意味は分かっていない。*B. paradoxa* を含む羽状目のケイソウには、殻に縦溝と呼ばれる細隙がある。縦溝に接する細胞膜直下にはアクチン纖維が存在しており、縦溝から分泌される粘液物質とアクチン纖維の相互作用により滑走運動をしていると考えられている。私は *B. paradoxa* の滑走運動の仕組みを解明するため、採取してきた *B. paradoxa* を培養し、殻の構造、アクチン纖維の分布と機能を調べた。

**[材料と方法]** 実験には、2010年4月に山口県岩国市由宇町の海岸において、採取した *B. paradoxa* を実験室に持ち帰り、培養したものを用いた。培養にはダイゴ人工海水 SP 36.0 g/l に、ダイゴ IMK 培地 0.252 g/l, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>O 0.284 g/l を加えた培地を用いて、人工気象器内で培養した。人工気象器には白色蛍光灯を用いて、温度は 25°C に設定し、明暗周期は 18L : 6D (明期は 6:00-24:00)とした。*B. paradoxa* は分裂周期が短く、1 日で 2, 3 回分裂を行う。*B. paradoxa* は群体数が増えると絡まり合い、そのまま放って置くと動かなくなってしまうため、目視できるほど増殖したら新しい培地に植え継いだ。

*B. paradoxa* を 2.5% グルタールアルデヒド、0.04 M Sodium cacodylate buffer (pH 7.0) で 90 分間固定した後、2% オスマニウムで 60 分間固定し、樹脂に包埋して超薄切片を作成した。その後、ウランで染色し、TEM による観察を行った。

*B. paradoxa* のケイ酸質の被殻の部分だけを取り出すため、市販のパイプ洗浄剤を用いてクリーニングを行った。クリーニング後、白金コートを 2 分間行

い、SEM による観察を行った。

3.6% ホルムアルデヒド (PBS) で *B. paradoxa* を 60 分間固定した後、PBS で洗浄した。その後、0.02% Triton X-100 (PBS) で処理し、33 mM Alexa Fluor® 488-phalloidin で染色し、蛍光観察を行った。

Latrunculin B はアクチン重合阻害剤であり、滑走運動への作用を調べた。アクチンの状態を観察するために、*B. paradoxa* を Latrunculin (5 μM) で処理したのち、3.6% ホルムアルデヒド (PBS) で *B. paradoxa* を 60 分間固定し、PBS で洗浄した。その後、0.02% Triton X-100 (PBS) で処理し、33 nM Alexa Fluor® 488-phalloidin で染色し、蛍光観察を行った。

**[結果と考察]** TEM による観察では、*B. paradoxa* が他の羽状目のケイソウと同様に、2 枚のケイ酸質の被殻に包まれていること、縦溝があること、縦溝が存在する面で他の細胞と連結していることが確認できた。しかし縦溝同士には隙間があった。つまり細胞同士は縦溝の面で結合していても、縦溝同士は特に噛み合う構造を持たないため、被殻自体に滑走運動を発生する構造物はないと考えられる。SEM による観察では、*B. paradoxa* の被殻の詳細な構造と、縦溝の配置が確認できた。また *B. paradoxa* には中心節がなく、一本の長い縦溝のみが存在することが確認できた。

Alex488-phalloidin による染色によって、縦溝に沿ってアクチン纖維が並んでおり、*B. paradoxa* がアクチン纖維のある面、つまり縦溝で連結している様子が確認できた。中心節がないことを考えると *B. paradoxa* の縦溝には、アクチン纖維が端から端まで途切れることなく分布していることが示唆される。また Latrunculin B は、*B. paradoxa* の滑走運動を阻害

した。蛍光顕微鏡による観察からも、アクチン繊維が脱重合したのが確認された。以上のことから、*B. paradoxa* の滑走運動にはアクチン繊維が関与すると示唆された。

#### 【文献】

1) Edgar and Pickett-Heaps (1982) Protoplasma, 113, 10-

22.

2) Lind et al. (1997) Planta, 203, 213-221.

3) Nicole et al. (1999) Cell Motil. Cytoskeleton, 44, 23-33.

4) Suzuki et al. (2005) J. Grad. Sch. Biosp. Sci., Hiroshima Univ., 44, 31-38.