ミニレビュー

原形質流動のカルシウムによる制御

菊山宗弘

原形質流動とは

細胞が生活を続ける上では、外界との間だけでなく細胞の内部においても各種の物質の輸送が円滑に行われることが不可欠である。植物細胞のようにしばしば $100\ \mu\text{m}$ あるいはそれ以上の大きさに達する場合には、細胞内で物質を有効に輸送するためには拡散にたよるだけでは不十分であって、これ以外の何らかの機構の存在が必要となってくる。原形質流動の意義はこのようなものであると考えられている。

車軸藻

淡水産の藻類である車軸藻の節間細胞は直径 $0.3\text{--}1\ \text{mm}$ 、長さ数 cm に達する円柱形の単細胞である。ただし細胞体積の 95% 程度は中央液胞によって占有されており、原形質は細胞表層部に非常に薄く存在しているにすぎない。この細胞は電気刺激などによって活動電位を発生することから電気生理の、毎秒 $60\text{--}100\ \mu\text{m}$ に達する顕著な原形質流動を行っていることから細胞運動の、それぞれ優れた研究材料として古くから用いられてきた。

節間細胞の中では常に活発な原形質流動が観察されるのであるが、細胞が活動電位を発生すると瞬間的に流動が停止する。これは、活動電位の際に外液からの Ca^{2+} の流入が増加して細胞質中の Ca^{2+} 濃度の増加が起こること、そして細胞質内 Ca^{2+} 濃度が高くなったことが流動の停止を引き起こさせる (Ca^{2+} 説) ということがわかっている。本稿においては若干古い話題ではあるが、これらのことがどのようにして明らかになってきたかを簡単に紹介したい。なお、これらに関する詳しい解説としては、神谷¹⁾ や新免²⁾ を参照されたい。

 Ca^{2+} 説の誕生

上記のように車軸藻節間細胞は円柱状の巨大細胞であるので、その両端を切って液胞空間を人工液で灌流・置換することができる。このとき人工液中に Ca^{2+} のキレート剤である EGTA

をいれておくとやがて液胞膜が崩壊し、液胞膜を持たない細胞モデル (液胞膜除去細胞) を作ることができる³⁾。液胞膜除去細胞であっても正常細胞と同じように電気刺激によって活動電位を発生するし、原形質流動も正常細胞と変わらない。しかし液胞膜除去細胞では活動電位の際の流動の停止はまったく観察されなかった。これを説明するものとして考えられたものが、上記の Ca^{2+} 説である。液胞膜除去細胞では活動電位の際に Ca^{2+} の流入が増加してもただちに EGTA によって捕獲されるであろうから、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇とそれに続くべき流動停止がみられないのであると考えられた (後になってこれは、モデル化の時点で Ca^{2+} 感受性が低下していたことが明らかになったのであるが)。

興奮時の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の証拠

羽山ら⁴⁾ は原形質膜から遠い場所ほど流動の停止が遅れることから、停止を引き起こす物質が外液から細胞内に流入することを示唆した。そこで彼らは節間細胞を ^{45}Ca を含む人工池水中にいれ、電気刺激によって活動電位を繰り返し発生させた。細胞内の ^{45}Ca の放射能は活動電位を発生させた群では対照群よりも顕著に増加していた⁴⁾。この測定はしかし、上の Ca^{2+} 説の証明のためには十分なものではなかった。 Ca^{2+} 説によれば、細胞質 Ca^{2+} 濃度の上昇 (とそれを引き起こす Ca^{2+} 流入の増加) は活動電位の瞬間に起こらなければならないが、この測定ではそこまでの時間分解能を期待することは不可能であったからである。活動電位発生の際に細胞質内 Ca^{2+} 濃度の上昇が起こることは、その後エクオリン (Ca^{2+} の存在下に発光する蛋白質) を注射した車軸藻細胞を用いて明確に示された⁵⁾。

流動が Ca^{2+} によって制御されることの証拠

液胞膜除去細胞においても原形質流動が続いていることから、流動は少なくとも Ca^{2+} の除去によっては阻害されない。Williamson⁶⁾ は彼の独自の開発による液胞膜除去細胞を用いて、流動が高濃度の Ca^{2+} によって阻害されることを見いだした。その後富永ら⁷⁾ は液胞膜除去細胞や原形質膜の透過性を著しく高めた細胞モデル (permeabilized cell) を用い、流動速度と Ca^{2+} 濃度の関係を明らかにした。また、 Ca^{2+} を細胞質に直接注射することによって、注射された部域での流動が止まることも見いだ

図1 活動電位とそれに伴う Ca^{2+} の増加および流動の停止
測定は 5°C で行われたために活動電位の時間経過は非常に長くなっているし、流動速度もきわめて遅い。

された^{8),9)}。

高い時間分解能を得るための試み

活動電位を発生したときに細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加があること、高い Ca^{2+} 濃度のもとでは原形質流動が止まることのそれぞれについてはすでに疑問の余地はない。しかしこれらのことだけでは、活動電位発生時の流動停止機構の Ca^{2+} 説を完全に証明したことにはならない。なぜなら Ca^{2+} 説は、最初に活動電位の発生と Ca^{2+} 濃度の増加が起これ、その結果として流動が停止するという順序をも要求しているからである。車軸藻の活動電位の時間経過は1秒程度であり、動物のそれよりも圧倒的にゆっくりとしている。しかし Ca^{2+} の細胞質内での拡散に要する時間までも考慮するとき、この短い時間内での膜電位変化、 Ca^{2+} 濃度変化、流動速度変化の関係を高い時間分解能のもとで測定することは必ずしも容易ではなかった。最近われわれは低温下では活動電位の時間経過が著しくのびることを利用し、活動電位の際の Ca^{2+} などの挙動を正確に測定した¹⁰⁾。図に見るように明らかに、膜が脱分極を開始すると同時に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が始まり、 Ca^{2+} 濃度がある程度増えた時点で初めて流動速度が低下し始めた。

放射性同位元素を用いた測定のもつ高い検出能は魅力的なものではあるが、使用設備の制約

と必ずしも高いとはいえない時間分解能とを考えると、残念ながら決して最上の測定法ではない。エクオリンには各種の感度のものがつくられている^{11),12)} ので、適当なものを選ぶことにより十分な検出能と時間分解能とが得られる。しかし、細胞内に導入するには顕微注射によるか、エクオリン遺伝子の導入と細胞内での発現による方法しかないため

に、必ずしも広く用いられてはいないことは残念である。

Key Words : action potential, aequorin, calcium(2+), Characeae, cytoplasmic streaming

文 献

- 1) Kamiya, N. : *Bot. Mag. Tokyo*, **99**, 441-467 (1986)
- 2) Shimmen, T. : *ibid.*, **101**, 533-544 (1988)
- 3) Tazawa, M., Kikuyama, M. et al. : *Cell Struct. Funct.*, **1**, 165-176 (1976)
- 4) Hayama, M., Shimmen, T. et al. : *Protoplasma*, **99**, 305-321 (1979)
- 5) Williamson, R. E. and Ashley, C. C. : *Nature*, **296**, 647-651 (1982)
- 6) Williamson, R. E. : *J. Cell Sci.*, **17**, 655-668 (1975)
- 7) Tominaga, Y., Shimmen, T. et al. : *Protoplasma*, **116**, 75-77 (1983)
- 8) Hayama, M. and Tazawa, M. : *ibid.*, **102**, 1-9 (1979)
- 9) Kikuyama, M. and Tazawa, M. : *ibid.*, **117**, 62-67 (1982)
- 10) Kikuyama, M., Shimada, K. et al. : *ibid.*, **174**, 142-146 (1993)
- 11) Shimomura, O., Musicki, B. et al. : *Biochem. J.*, **251**, 405-410 (1988)
- 12) Shimomura, O., Inouye, S. et al. : *ibid.*, **270**, 309-312 (1990)

(放送大学生物学研究室)