

# ゾンビ化実験で明らかになったボルボックス走光性機構

植木紀子<sup>1</sup>, 若林憲一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>法政大学自然科学センター 〒102-8160 東京都千代田区富士見 2-17-1

<sup>2</sup>東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所  
〒226-8503 神奈川県横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-7

Noriko Ueki<sup>1</sup>, Ken-ichi Wakabayashi<sup>2</sup>

**“Zombified *Volvox*” revealed the phototactic mechanism as an emergent phenomenon**

Keywords: calcium, demembrated cell model, flagella, phototaxis, *Volvox*

<sup>1</sup>Hosei University, Science Research Center, 2-17-1 Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8160,  
JAPAN

<sup>2</sup>Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute  
of Technology, Nagatsuta-cho 4259-R1-7, Midori-ku, Yokohama 226-8503, JAPAN

DOI: 10.24480/bsj-review.10c3.00163

## 1. はじめに

たった数千の細胞から成る小さな多細胞生物ボルボックスは、細胞どうしの情報伝達がないにも関わらず個体として調和のとれた環境応答行動を行うことができる。本稿では、ボルボックスのひとつひとつの細胞が環境の光にどのように反応するか、そして、そのような細胞が規則的に配置されてひとつの個体となったときに、どのようにして走光性という美しい機能が現れるかを説明する。また、その研究の手法や歴史、そして今後の展望についても述べる。

## 2. ボルボックスの走光性

### 2-1. ボルボックスのからだのつくり

ボルボックス（和名：オオヒゲマワリ）は、春から夏にかけて湖や田に現れる淡水性の多細胞緑藻である（図 1 A 左）。我々は、その最も大型のグループの 1 種ボルボックス・ルーセレティ（*Volvox rousseletii* strain MI01, NIES-4029）を用いている。1 つ 1 つの細胞の構造は近縁の単細胞緑藻クラミドモナス（図 1 B）によく似ており、各細胞は水を掻くための鞭毛を 2 本ずつ持っている（図 1 A 中）。ただし、単細胞性のクラミドモナスは 2 本を平泳ぎのように動かして前進するのに対し、ボルボックスの細胞は 2 本を鞭のように同じ方向へと打つ。そのため、ボルボックスから細胞一つだけを単離すると、その場で回転するだけで移動することができない。しかし実際のボルボックスは、約 5,000 の体細胞が球状の体の表面に一層に並ぶ形をした多細胞生物である。それぞれの鞭毛は球の外側に向かって生えている。この球状の体にははっきりとした前後軸があり、合計約 1 万本の鞭毛が全て前から後ろに向かって打つように細胞が配置されている。こうして全体として大きな水流が生じ、ボルボックスは

前へ向かってスイスイと泳ぐ(図1A右)。1つの細胞から生える2本の鞭毛が同じ方向へと打つのは、その細胞ひとつが移動するためではない。その細胞が属する個体全体が移動するためである。しばしば「クラミドモナスが集まるとボルボックスになる」、「ボルボックスがバラバラになるとクラミドモナスになる」という言説を聞くことがあるが、これが誤りであることは、この鞭毛による移動方法を考えるだけでも明らかであろう。両者は近縁ではあるが別の生物である。

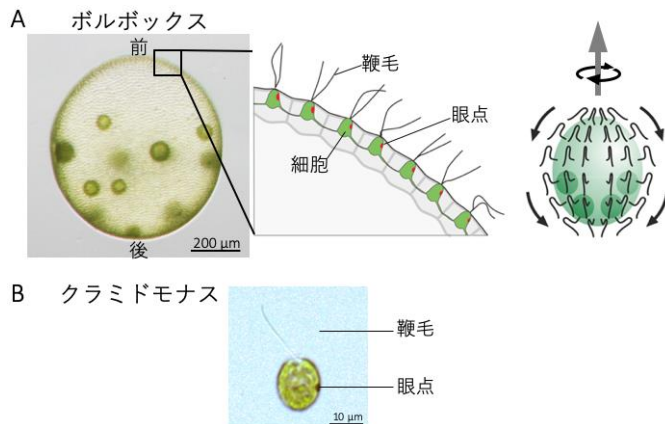


図1. ボルボックスとクラミドモナス。  
A. *Volvox rousseletii* の光学顕微鏡写真(左)と個体表面の体細胞の模式図(中)、鞭毛の打つ方向と個体の動きを示した模式図(右)。(Ueki et al. (2010)より引用して改変) B. *Chlamydomonas reinhardtii* の光学顕微鏡写真。

## 2-2. ボルボックスの光受容

ボルボックスの細胞は葉緑体を一つずつ有し、光合成によりエネルギーを得ている。ボルボックスが水中を泳ぐ大きな目的は、光合成に適した環境へと移動することだと考えられる。そのためには、周囲の光の強さと方向を捉えることが重要になる。これを担うのが細胞の表面に位置する光受容装置、眼点である(図2)。眼点の部分の細胞膜には、チャンネルロドプシンという光受容タンパク質が存在する。これは光を受容すると開く陽イオンチャンネルである(Kianianmomeni et al., 2009; Nagel et al., 2002; Nagel et al., 2003)。光受容タンパク質自体が検出するのは光の強さだけであり、光の方向は検出しない。ところが、これを裏打ちするように色素顆粒が積層して配置しているため、眼点は特定の方向からの光を強く感知する構造になっている。詳しく言うと、色素顆粒層は光をよく反射および遮蔽する性質を持つため、細胞の外側から来た光は反射されて増幅され、逆に細胞の内側を通過してきた光は色素顆粒層に遮蔽されて光受容タンパク質に届かない(Schaller and Uhl, 1997)。このように、眼点は指向性の高い光受容を行うのである。

ここで、ボルボックス全体の動きを考えてみる。それぞれの細胞の眼点は、大まかには球の外側を向いて位置している。そのため、球の表面に垂直に入射する光を最も強く捉える。各鞭毛は個体の前から後ろに向けて打つが、実は、その方向は個体の前後軸に対して少しだけ傾いている(図4A)。そのため、ボルボックスは遊泳する際にならざるに進行方向後方からみて反時計周りに自転する(図1A右)。例えば光がこの回転軸に対して右側から当たる状況を仮定すると、各細胞は右側を向いたときには光を感受し、個体が半回転して左側を向いたときには光を感受しなくなる。このように、高指向性光受容と自転遊泳を組み合わせることによって、ボルボックスはレーダーのように光源方向を正確に認識する。ボルボックスとい

う属名は「勢いよく回転するもの」という意味のラテン語に由来するが、この回転にはこのような重要な意味があるのである。

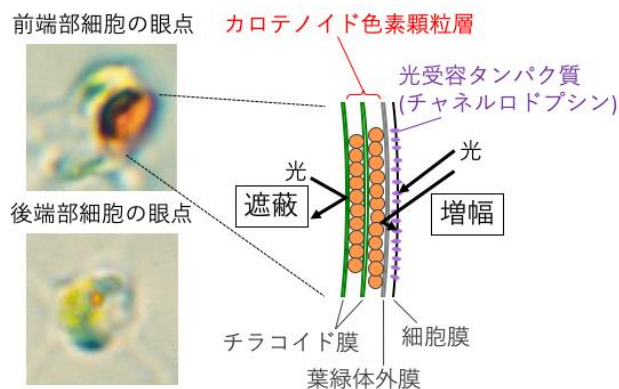


図2. ボルボックスの眼点。個体前端部付近と後端部付近の細胞の眼点の光学顕微鏡写真，眼点の模式図を示す。(Ueki et al. (2010) より引用して改変)

### 2-3. ボルボックスの走光性研究の歴史

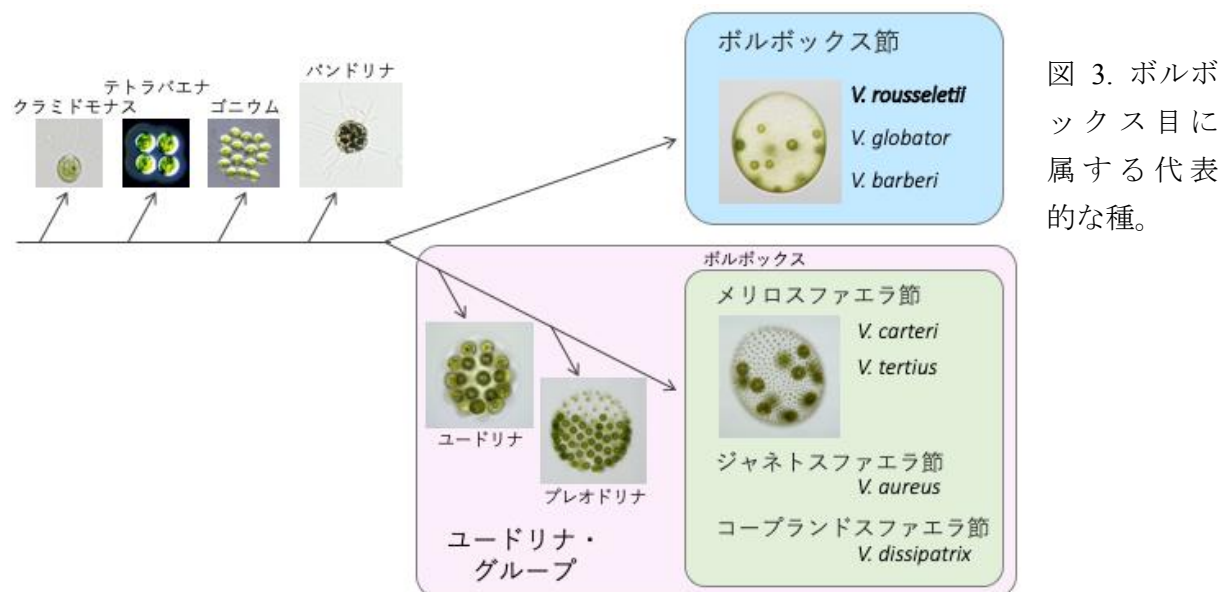
ボルボックスは各細胞の眼点で光を感受したのち，流入した陽イオンがもとなる反応経路によって鞭毛運動調節を行い，走光性行動を見せる。これは光源の方向に向かって，あるいは光源から逃げる方向に向かって遊泳する反応である。ボルボックスは，通常の条件下では主として光源に向かう正の走光性を行う。

ボルボックスが走光性を示すとき，約 5,000 もの細胞がどのように協調しているのか。そして，そのとき鞭毛はどのように動いているのか。これらの問題については 100 年以上も前から議論されてきた (Holmes, 1903; Mast, 1907, 1911, 1916)。細胞間の情報伝達が必要なのではないかと思われるが，細胞どうしが細胞間連絡という構造でつながっている種でもつながっていない種でも，同じように明確な走光性を示す。したがって，走光性のためには細胞どうしの情報のやり取りは必須ではないと考えられる。では細胞どうしの情報伝達がなくても，なぜ全体として調和のとれた動きをすることができるのだろうか。

走光性というのはつまり，光源の方向に向かって（もしくは光源とは逆方向に）進行方向を変えることである。進行方向が変わっているからには，鞭毛が生み出す力が球体の前後軸に対して非対称になっているはずである。このことを確かめるために，以下の一連の研究が行われた。まず，ボルボックスの周りの溶液にポリスチレンビーズを加えることで，鞭毛によって作られる水流をビーズの動きとして可視化する実験が行われた。ボルボックスをカバーガラスとスライドガラスで挟んで動かないようにし，周囲を前から後ろに流れる水流を観察したところ，光をあてると水流が一時的に停止するという報告がなされた (Hand and Haupt, 1971)。その反応は球の前端に近いほど起こりやすく，より長時間続いたという。このことは，球の前方の細胞ほどその眼点が大きいうちそれ以前の報告 (Fritsch, 1935) とも一致する (図 2)。Hand と Haupt は，光をあてる方向によって反応する範囲がわずかにずれることから走光性行動を説明しようとしたが，そのずれは個体の方向転換をもたらすにはあまりにも小さく，説得力のあるものではなかった。その後坂口らによって，球の前方の光源側でのみ水流が停止することで方向転換が起こるとする説が提唱された。個体は常に自転しているため，細胞一つ一つは光の増減を繰り返し感知して光源側では水流を停止させ，反対側では再開す

る。特に、反応性の高い球の前方でこの反応が起こる。その結果、光側の推進力の方が反対側より弱くなり、光源の方へと舵を切るという説明である (Sakaguchi and Tawada, 1977; Sakaguchi and Iwasa, 1979)。しかしこれを直接観察しようとする、水中を猛スピードで移動するボルボックス表面の一本一本の鞭毛の動きやそれによる水流の変化を捉えなければならず、これは非常に難しい。そこで我々は、自転を模した繰り返し増減する光を固定したボルボックスに照射することで、自転遊泳中にそれぞれの細胞が感知する増減光を再現した。その結果、光強度が増加した時は水流が停止し、減少した時は再開するということが見事に繰り返され、坂口らの説が実証された (Ueki et al., 2010)。

また、走光性を担う鞭毛運動の変化が具体的にどのような変化なのかについては、意見が真っ二つに分かれていた。一つは「頻度変化モデル」で、細胞が受容する光強度が増すと鞭毛の打つ頻度が低下する、もしくは停止するというモデルである (Holmes, 1903; Huth, 1970; Hand and Haupt, 1971; Sakaguchi and Tawada, 1977; Sakaguchi and Iwasa, 1979)。一方、光刺激に対して鞭毛の打つ方向がより水平方向へ 90 度ほど変化するという「方向変化モデル」も無視できないものであった (Mast, 1926)。これらの相反する 2 つのモデルの検証が行われ、間接的な証拠から頻度変化モデルが支持されたものの、方向変化モデルを完全に否定することはできなかった (Hoops et al., 1999)。このような状況で、我々は光刺激に対する鞭毛の反応を直接観察し、ボルボックス目のうちユードリナ・グループと呼ばれるグループに属する比較的小型の種を用いたこれまでの報告は「頻度変化モデル」と一致し、最も大型のグループであるボルボックス節に属する種を用いた報告は「方向変化モデル」に合うことを明らかにし、この論争に終止符を打った (Ueki et al., 2010) (図 3, 図 5 A)。ただし驚くべきことに、その方向変化は 90 度にとどまらず、およそ 180 度と、ほぼ逆転するほどの変化が観察された。



ここまでの発見をまとめると、ボルボックス節に属する種は、以下のように走光性を行うことがわかる。細胞が光強度の増加を感じると、鞭毛の打つ角度を変化させる。その角度変化の度合いは球体の前方ほど大きく、最大で約 180 度に達する (図 4 B)。進行方向の横から光が当たる場合、ボルボックス球体は自転しているので、細胞が光源側を向いた時にのみ光強度の増加を感知し、鞭毛の打つ方向を変化させることになる。全体として見ると、反応性

の高い前方かつ光源側の鞭毛が打つ方向を変化させることで、球体の軸が光源方向へと傾く力が生じる (図 4 C)。

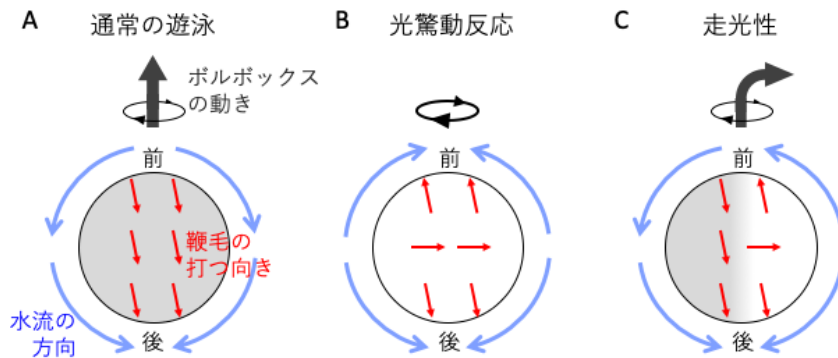


図 4. ボルボックス個体の各遊泳様式における鞭毛の打つ方向と周囲の水流の方向、個体の動きを示す模式図。

ここで強調しておきたいのは、「頻度変化モデル」でも、「方向変化モデル」でも、個体全体が光に向かって舵を切るために、一部の細胞が司令塔としてはたらく必要も、細胞どうしで情報伝達する必要もないという点である。一つ一つの細胞が決まった方法で光に反応しているだけである。このような意味で、ボルボックスの走光性は創発現象とみなすことができるだろう。この方法であれば、球を構成する細胞数が数十であろうが数千、数万であろうが走光性の方向転換は可能である。また、仮に球体の一部が欠けてしまったとしても走光性行動には何の影響もない。光から逃げたいときは、坂口らが示したように、それぞれの細胞が光強度の増加ではなく減少に対して反応するようになればよいだけである (Sakaguchi and Tawada, 1977)。なんとなくまくできたしくみだろうか。

光刺激に対して鞭毛の打つ方向が逆転する例は、植物細胞ではこれが初めての報告であった。では、眼点が光の変化をとらえ、鞭毛の打つ方向が逆転する際、細胞内で何が起きているのだろうか。それまでの個体レベル、細胞レベルの知見から分子レベルの知見へと進めるためには、ボルボックスを用いた新たな実験系を確立する必要があった。

### 3. ゾンビ・ボルボックス法

#### 3-1. 除膜細胞モデル実験の歴史

我々は、鞭毛が打つ方向の変化をもたらす調節因子を明らかにするため、ボルボックスを用いた除膜モデルの試験管内での運動再活性化実験、通称“ゾンビ・ボルボックス法”の確立を試みた。ここで、この実験法の歴史を簡単に紹介する。

除膜細胞モデルを用いた実験は、Szent-Györgyi によって行われたグリセリン筋の収縮実験に端を発する生物学の伝統的な手法である (Szent-Györgyi, 1949)。筋細胞をグリセリン処理すると、膜が溶け、細胞は死ぬ。しかし、運動のために本質的に必要な、アクチンとミオシンを含むサルコメア構造は保たれている。このグリセリン筋に ATP を添加すると、あたかも生きていたかのように筋肉は収縮する。これは生体の外で生体運動を再現させた最初の例であり、ATP が筋収縮のエネルギー源であることを直接示した重要な実験であった。

Hoffmann-Berling はすぐにこの手法を精子鞭毛に適用した (Hoffmann-Berling, 1954)。鞭毛を除膜しても、主として微小管とダイニンから成る鞭毛内部構造「9 + 2 構造」はやはり保たれている。ここに ATP を添加することで、試験管内で波打ち運動が生じるのである。その

後、鞭毛の除膜にはグリセリンよりも Triton X-100 などの非イオン性界面活性剤が適当であることが分かり、そのような除膜細胞はトリトンモデル、あるいは細胞モデル (cell model) と呼ばれるようになった (Gibbons and Gibbons, 1972; Naitoh and Kaneko, 1972)。細胞モデルは細胞の運動機構だけを残した抽出物であると考えられ、外液の条件を自由に変えられることから、運動の ATP 濃度依存性や  $\text{Ca}^{2+}$  などによる運動調節機構を調べる上での基礎的な研究手段として現在でも広く使われている。

### 3-2. クラミドモナスの除膜細胞モデル

クラミドモナスを用いた運動再活性化実験は、最初は細胞モデルをさらに解体した単離鞭毛を用いて行われた (Witman et al., 1978)。このときクラミドモナス鞭毛の除膜には界面活性剤として Nonidet P-40 が適していることが見出され、現在ではその同等品である Igepal CA-630 がよく用いられる。この単離鞭毛を用いた実験によって、クラミドモナスが光驚動反応によって後退遊泳を示す際の鞭毛波形変換が  $\text{Ca}^{2+}$  によって調節されていることが明らかにされた (Bessen et al., 1980)。外液の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が  $10^{-6}$  M よりも低いときには、単離鞭毛は非対称波形と呼ばれる波形で打つ。これは、クラミドモナスが鞭毛側を前にして平泳ぎのように鞭毛を動かして泳ぐときの波形である。一方、 $10^{-4}$  M になると、対称波形と呼ばれる波形で打つ。これはクラミドモナスが細胞側を前にして後退遊泳するときの波形である。その中間の  $10^{-5}$  M のときには ATP が存在していても鞭毛は静止しており、波形の切り替えの制御が行われる濃度であると考えられている (図 5 A)。

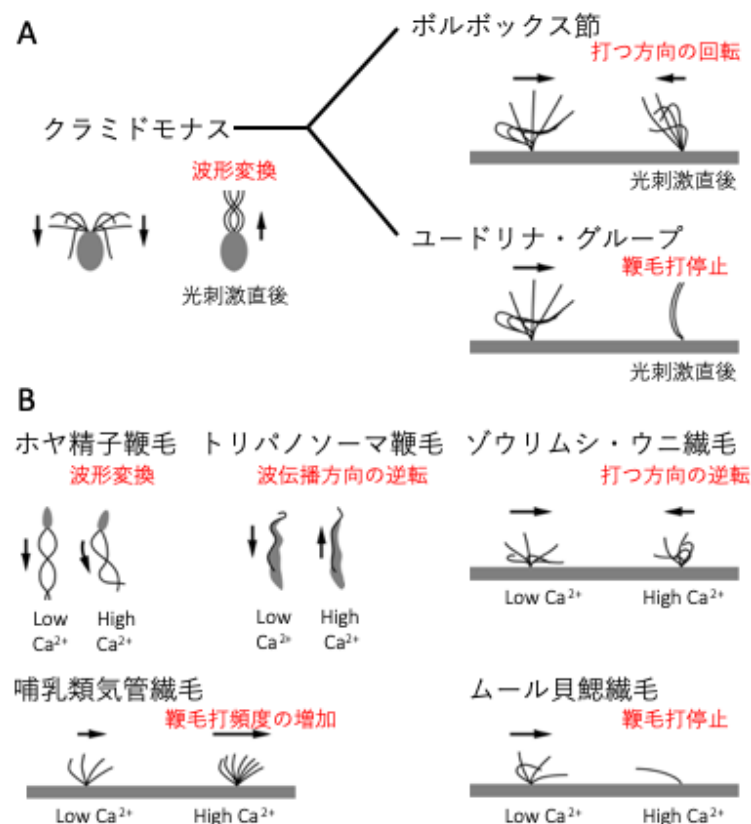


図 5. 多様な鞭毛運動変換パターン。A. ボルボックス目に属する種における光刺激に対する鞭毛の反応様式。B. 異なる種や組織における  $\text{Ca}^{2+}$  依存的に変化する鞭毛運動様式 (Ueki and Wakabayashi (2018) より引用して改変)。矢印はそれぞれの鞭毛・繊毛が周囲につくる流れの方向を示す。

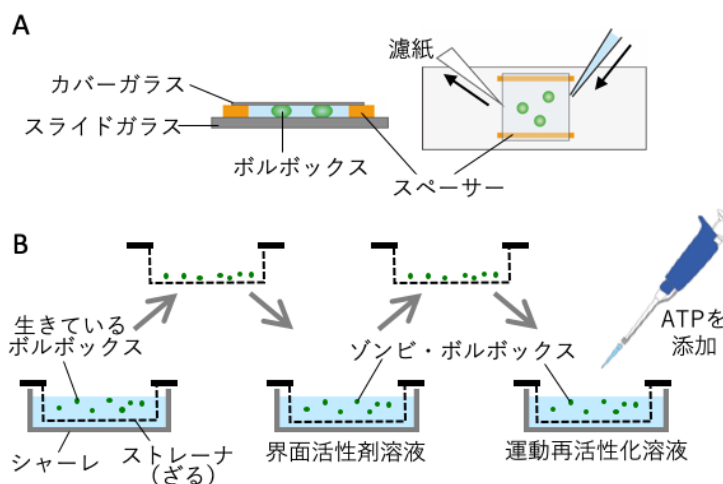
この鞭毛除膜条件を応用して細胞モデル調製法が確立された。細胞モデルに対する  $\text{Ca}^{2+}$  の効果を検証した実験の結果、クラミドモナスのもつ 2 本の鞭毛の違いが明らかになった

(Kamiya and Witman, 1984)。クラミドモナスの2本の鞭毛は、眼点に近い側がシス鞭毛、遠い側がトランス鞭毛と呼ばれる。 $10^{-8}$  M 程度の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を境にして、より低い濃度ではシス鞭毛が、より高い濃度ではトランス鞭毛がそれぞれ他方よりも強く打ち、細胞モデルがその場で回転するような運動を見せるのである。クラミドモナスの場合、この2本の鞭毛の  $\text{Ca}^{2+}$  への応答性の違いが走光性に重要だと考えられている。クラミドモナスは2本の鞭毛の打面がわずかにずれていることなどから、自転しながら遊泳する。遊泳中のクラミドモナスの眼点が光を受容すると、細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇する。眼点のカロテノイド色素層による光の反射を考慮すると、眼点が光を受容した瞬間とは、すなわち眼点が光源側を向いた瞬間である。このとき  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇すると、トランス鞭毛が強く打ち、細胞は光源側に傾く。細胞が半回転して光が遮蔽されると  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が低下し、シス鞭毛が強く打ち、細胞はさらに光源側に傾く。これを繰り返せば、細胞は正の走光性を示せるというわけである。

クラミドモナスの細胞モデル実験ではその後他の調節因子の効果も確かめられ、cAMP も2本の鞭毛打のバランス制御に寄与すること、 $\text{Ca}^{2+}$  や酸化還元電位が鞭毛打頻度調節をするなどが明らかにされた (Saegusa and Yoshimura, 2015; Wakabayashi and King, 2006; Wakabayashi et al., 2009)。

### 3-3. ボルボックスの除膜モデル実験系の確立

クラミドモナスの鞭毛波形変換や二本の鞭毛のバランス調節に  $\text{Ca}^{2+}$  が関与することから、ボルボックスの鞭毛運動調節因子の第一候補は  $\text{Ca}^{2+}$  であり、除膜モデル運動再活性化実験系が確立できればそれを直接確かめることができる。ボルボックスはクラミドモナスと近縁であるものの、全く同じ手順では成功せず、以下のような幾つもの修正や工夫をする必要があった。(1)ボルボックスは遠心によって藻体を集めることができないため、還流で、もしくはストレーナー（ざる）を用いて溶液交換を行った。(2)クラミドモナス細胞の除膜に使われる界面活性剤の濃度ではボルボックスの鞭毛が抜け落ちてしまうため、最適濃度を検討する必要があった。(3)再活性化率を上げるために添加するポリエチレングリコール (PEG) によってボルボックス球体が大きく凹んでしまうことがわかり、PEG 無添加とした。(4)一般に鞭毛運動観察に用いられる暗視野顕微鏡では球体のハレーションにより鞭毛の根元を観察できないため、位相差顕微鏡を用いた。このような修正の結果、界面活性剤処理で死んだボルボックスが、添加した ATP によって動く“ゾンビ・ボルボックス法”が確立した。



いたため、位相差顕微鏡を用いた。このような修正の結果、界面活性剤処理で死んだボルボックスが、添加した ATP によって動く“ゾンビ・ボルボックス法”が確立した。

図6. ゾンビ・ボルボックス法の二つの様式。A. トラップ法, B. ざるすくい法。(Ueki and Wakabayashi (2018)より引用して改変)

このために、次の二つの方法で実験を行なった。一つはスライドガラスとカバーガラスでボルボックス個体を挟んでトラップし鞭毛（軸糸）運動を観察する方法（トラップ法；図6A），もう一つは自由遊泳するボルボックスを丸ごと用いる方法（ざるすくい法；図6B）である。

まずトラップ法で、鞭毛運動を観察しながら界面活性剤を還流して除膜する。鞭毛がやや細くなり、そして全く動かなくなったことを確認してから、ATPを含む溶液に入れ替える。すると再び除膜前とよく似た波形で鞭毛軸糸が動き出した（図7）。そして次にこれを $\text{Ca}^{2+}$ 存在下で行うのである。 $10^{-6}\text{M}$ 程度の $\text{Ca}^{2+}$ 存在下で運動を再活性化させたところ、鞭毛軸糸の打つ方向が逆転していることを観察できた（図7）。これは生きているボルボックスが光強度の増加を感知した時の反応に相当する。つまり、これまで観察されていた鞭毛の打つ方向の逆転は $\text{Ca}^{2+}$ によることが明確に示されたのだ。さらに興味深いことに、この変化の大きさは球の前後で大きく違い、前端付近ではほぼ180度の逆転、赤道面付近は約90度で、後端付近では変化が見られなかった。これは生きているボルボックスで見られる前後の差と同じであるが、この差はこれまで光を受容する眼点の大きさの差を反映したものだと考えられてきた。ところが今回、鞭毛軸糸そのものの性質にも前後にかけて差があることが初めて明らかになった。実際それに加えて、界面活性剤で除膜される感度は前方の方が高いことや、生きているボルボックスにおいてもゾンビ・ボルボックスにおいても鞭毛打頻度は球の前方の方が後方よりも高いこともわかり、一見全く同じに見えるボルボックスの鞭毛は、予想以上に分化していることが判明した。

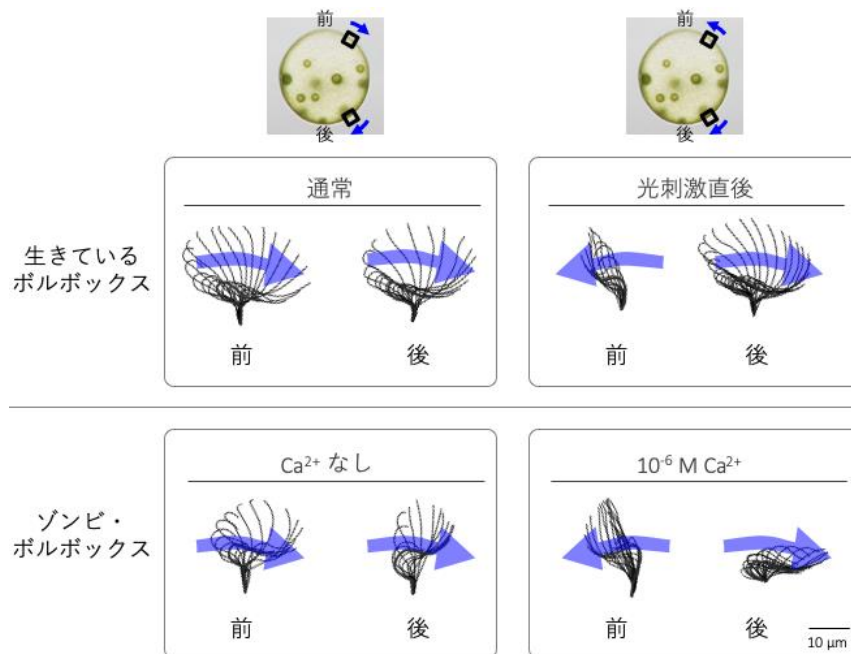


図7. 生きているボルボックスとゾンビ・ボルボックスにおける鞭毛運動の比較。1/500秒ごとにトレースした鞭毛波形を示す。青矢印は鞭毛の打つ方向を示す。光刺激直後のボルボックスと $\text{Ca}^{2+}$ 存在下のゾンビ・ボルボックスでは、個体前方の細胞で鞭毛の打つ向きが異なる。

トラップ法で鞭毛運動の再活性化に成功した我々は、この運動によってゾンビ・ボルボックスは泳ぐことができるのではないかと考え、ざるすくい法によってできるだけ温和に除膜と運動再活性化の作業を行なった（図6B）。すなわち、ストレイナー（ざる）の上でボルボックスを泳がせた後、ざるを持ち上げ、界面活性剤溶液に浸して除膜する。これでボルボックスは死に、鞭毛は運動を停止し、個体は全く動かなくなる。再びざるを持ち上げて界面活



性剤のない溶液にそっと浸し、ATP を加えたところ、これらの除膜ボルボックスは死んでいるにも関わらず、まるで生きていたかのように泳ぎだしたのだ。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$ 存在下で同じ実験をしたところ、遊泳速度が半分程度に減少していた。生きていたボルボックスに急に強い光を当てると、全ての細胞が鞭毛の打つ方向を一時的に変化させ、数秒間だけ遊泳速度を半分程度に落とす（光驚動反応，図4B）。それと同じ変化がこの $\text{Ca}^{2+}$ 存在下で自由遊泳するゾンビ・ボルボックスでも起きていると考えられる。

#### 4. おわりに

ボルボックスの走光性においては、数千もの細胞が、特に細胞間の連絡はなくとも個体として調和のとれた行動を行う。一つ一つの細胞はそれぞれ眼点で受容した光に反応して鞭毛を打つ方向を回転させているだけである。しかし、そこに球体前後軸にそった勾配があることで、個体全体が光に向かって効率よく舵を切ることにつながる。その勾配は、ボルボックスの細胞の、第一に眼点の大きさ、第二に鞭毛の $\text{Ca}^{2+}$ 応答性という二つの前後方向の分化によって実現している。この前後分化により、前方の細胞ほど周囲の環境変化に対応して舵取りやブレーキを行う機能が高くなり、後方の細胞ほど環境変化にかかわらず前へ進む推進力に特化していると言える。ボルボックスの前後分化は、多細胞化によって巨大化した体で高い推進力を得ると同時に、単細胞緑藻のように機敏な光行動を行うために獲得した重要な機能であると言える。

ボルボックス目にはより少ない細胞数のさまざまな近縁種が存在する（図3）。この“ゾンビ・ボルボックス法”をそれらに適用できれば、多細胞生物の成立において光行動システムがどのように変遷したのかを探ることが可能になる。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$ による鞭毛運動調節は、ヒトを含む多様な生物で見られる（Inaba, 2015; 図5B）。ヒトの体内には、脳室、気管上皮、輸卵管上皮、精子など、さまざまな器官に鞭毛（繊毛）が生えている。これらの器官で鞭毛運動調節に異常が起きると、慢性呼吸器疾患や不妊症などの疾患につながる。今後、我々の開発した温和な除膜法を用いて多様な生物における鞭毛運動調節の分子機構をさらに詳しく研究することで、鞭毛運動不全によるヒトの疾患の理解に貢献することも期待できる。

#### 謝辞

本研究は、科学研究費補助金（15H01206, 15H01314, 16K14752）、東洋紡バイオテクノロジー研究財団長期研究助成、日本学術振興会海外特別研究員制度、日本分子生物学会若手研究助成富澤純一・桂子基金、日本動物学会女性研究者奨励 OM 賞、大隅基礎科学創成財団の支援を得て行われた。

#### 引用文献

Bessen M, Fay RB, Witman GB (1980) Calcium control of waveform in isolated flagellar axonemes of *Chlamydomonas*. *J Cell Biol* 86: 446–455.

Fritsch FE (1935) Introduction. *The Structure and Reproduction of the Algae* (Cambridge Univ Press,

- Cambridge, UK), Vol 1, pp 1–59.
- Gibbons BH, Gibbons IR (1972) Flagellar movement and adenosine triphosphatase activity in sea urchin sperm extracted with triton X-100. *J Cell Biol* 54: 75–97.
- Hand WG, Haupt W (1971) Flagellar activity of the colony members of *Volvox aureus* Ehrbg. during light stimulation. *J Eukaryot Microbiol* 18: 361–364.
- Hoffman-Berling H (1954) Adenosintri-phosphat als betriebsstoff von zellbewegungen. *Bio-chimica et Biophysica Acta* 14: 182-194.
- Holmes SJ (1903) Phototaxis in *Volvox*. *Biol Bull.* 4: 319–326.
- Hoops HJ, Brighton MC, Stickles SM, Clement PR (1999) A test of two possible mechanisms for phototactic steering in *Volvox carteri* (Chlorophyceae). *J Phycol.* 35: 539-547.
- Huth K (1970) Bewegung und Orientierung bei *Volvox aureus* Ehrb. I. Mechanismus der phototaktischen Reaktion. *Z Pflanzenphysiol.* 62: 436–450.
- Inaba K (2015) Calcium sensors of ciliary outer arm dynein: Functions and phylogenetic considerations for eukaryotic evolution. *Cilia* 4: 6.
- Kamiya R, Witman GB (1984) Submicromolar levels of calcium control the balance of beating between the two flagella in demembrated models of *Chlamydomonas*. *J Cell Biol* 98: 97–107.
- Kianianmomeni A, Stehfest K, Nematollahi G, Hegemann P, Hallmann A (2009) Channelrhodopsins of *Volvox carteri* are photochromic proteins that are specifically expressed in somatic cells under control of light, temperature, and the sex inducer. *Plant Physiol.* 151: 347–366.
- Mast SO (1907) Light reactions in lower organisms. II. *Volvox globator*. *J Comp Neurol Psychol.* 17: 99–180.
- Mast SO (1911) Light and the behavior of organisms. New York: J. Wiley & Sons, 1
- Mast SO (1916) The process of orientation in the colonial organism, *Gonium pectorale*, and a study of the structure and function of the eye-spot. *J Exp Zool.* 20: 1–17.
- Nagel G, Ollig D, Fuhrmann M, Kateriya S, Musti AM, Bamberg E, Hegemann P (2002) Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science* 296: 2395–2398.
- Nagel G, Szellas T, Huhn W, Kateriya S, Adeishvili N, Berthold P, Ollig D, Hegemann P, Bamberg E (2003) Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 13940–13945.
- Naito Y, Kaneko H (1972) Reactivated triton-extracted models of paramecium: Modification of ciliary movement by calcium ions. *Science* 176: 523–524.
- Saegusa U, Yoshimura K (2015) cAMP controls the balance of the propulsive forces generated by the two flagella of *Chlamydomonas*. *Cytoskeleton* 72: 412–421.
- Sakaguchi H, Tawada K (1977) Temperature effect on the photo-accumulation and phobic response of *Volvox aureus*. *J Protozool* 24: 284–288.
- Sakaguchi H, Iwasa K (1979) Two photophobic responses in *Volvox carteri*. *Plant Cell Physiol* 20: 909–916.
- Schaller K, Uhl R (1997) A microspectrophotometric study of the shielding properties of eyespot and cell body in *Chlamydomonas*. *Biophys J* 73(3): 1573–1578.

- Solari CA, Drescher K, Goldstein RE (2011) The flagellar photoresponse in *Volvox* species (Volvocaceae, Chlorophyceae). *J Phycol* 47: 580–583.
- Szent-Györgyi, A (1949) Free-energy relations and contraction of actomyosin. *Biological Bulletin* 96: 140–161.
- Ueki N, Matsunaga S, Inouye I, Hallmann A (2010) How 5000 independent rowers coordinate their strokes in order to row into the sunlight: Phototaxis in the multicellular green alga *Volvox*. *BMC Biol* 8: 103.
- Ueki N, Wakabayashi K (2018) Detergent-Extracted *Volvox* model exhibits an anterior-posterior gradient in flagellar Ca<sup>2+</sup> sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 115: E1061–E1068.
- Wakabayashi K, King SM (2006) Modulation of *Chlamydomonas reinhardtii* flagellar motility by redox poise. *J Cell Biol* 173(5): 743-54.
- Wakabayashi K, Ide T, Kamiya R (2009) Calcium-dependent flagellar motility activation in *Chlamydomonas reinhardtii* in response to mechanical agitation. *Cell Motil Cytoskeleton* 66(9):736–42.
- Witman GB, Plummer J, Sander G (1978) *Chlamydomonas* flagellar mutants lacking radial spokes and central tubules. Structure, composition, and function of specific axonemal components. *J Cell Biol* 76: 729–747.