

ゾウリムシにおける重力依存的推進力調節の可能性 ; 単一個体での解析

お茶の水女子大学 竹田明日香、最上善広、馬場昭次

Possibility of gravity-dependent modulation of propulsion in *Paramecium*; an assessment on the swimming activity of a single cell

Asuka Takeda¹, Yoshihiro Mogami², Shoji A. Baba¹

Graduate School of Humanities and Sciences¹ and Department of Biology², Ochanomizu University
Otsuka 2-1-1, Tokyo 112-8610

E-Mail: mogami@cc.ocha.ac.jp

Abstract: Gravitaxis of swimming microorganisms has so far been explained largely in terms of the physical properties of the microorganisms that are assumed not to have any speculative mechanisms of gravity sensation. However gravity-induced sensory input and the subsequent modulation of locomotor activity in *Paramecium* has been suggested by precise analyses of swimming velocity as a function of swimming direction with respect to the gravity vector (Ooya et al, 1992). As a result, *Paramecium* appears to modulate its propulsive effort depending on the swimming direction by increasing the propulsive speed in upward and decreasing it in downward directions. These results suggesting gravikinesis were obtained from the averaged measurement on a large number of the cell. In the present study we aimed to confirm the results on the basis of the measurement on the swimming of a single cell. Velocities of upward and downward swimming was measured from the single cell, and the velocity of sinking was measured on the same cell which was immobilized in Ni²⁺ containing medium. We did not find significant differences between the propulsive thrust to upward and downward directions which were calculated by the above motility parameters. It may be partly because of the disturbances to the cell in the course of the isolation, which is suggested by the straight swimming trajectories.

Key words; *Paramecium*, gravikinesis, single cell,

はじめに

ゾウリムシなどの水棲微小生物の示す重力走性行動に関して、これまでは主にその物理的特性によって説明されてきた。しかし、精密な遊泳行動の解析により、生理学的な調節機構の関与が議論されるようになってきた^{1,2}。Machemer等は走電性を組み合わせた実験により、ゾウリムシでは、上向きに泳ぐ時には推進力を増し、下向きに泳ぐ時には推進力を減少させる能力を持つことを報告し、このような生理機能に基づく推進力の調節を gravikinesis と名付けた³。は重力場内での遊泳方向と、推進速度の関係を詳細に調べ、このような生理活性に基づく調節の存在を確認するとともに、過重力と等密度溶液を用いた実験から、細胞内での重力関知のサイトとして、細胞膜による機械刺激受容が関与していることを示した⁴。

しかし、Ooya等の結果はランダムな方向に泳ぐ多数のゾウリムシの遊泳行動を平均したものであるため、集団の効果により個々のゾウリムシの特

性が隠れていた可能性がある。そこで、本研究では単離したゾウリムシ1個体だけの遊泳行動を解析し、gravikinesisの能力を検討することとした。

材料と方法

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) はワラ培地で飼育した。重力走性行動を利用して、実験液 (KCM 溶液; 1 mM K⁺, 1 mM Ca²⁺, 1 mM MOPS) で数回洗浄した後、1個体のみをブレーキング・ピペットで吸い上げ、KCM 溶液を入れた実験チャンバーに移した。扁平な実験チャンバー (20×20×1mm) を重力方向に平行に置き、そこでの遊泳を暗視野照明下で記録した⁴。数分間の遊泳記録の中から、鉛直上方±5°の方向に向かうときを上向き遊泳、鉛直下方±5°の方向に向かうときを下向き遊泳として選別し、それぞれ多数の測定値の平均をとって、上向き遊泳速度 (V_{up}) および下向き遊泳速度 (V_{dn}) とした。

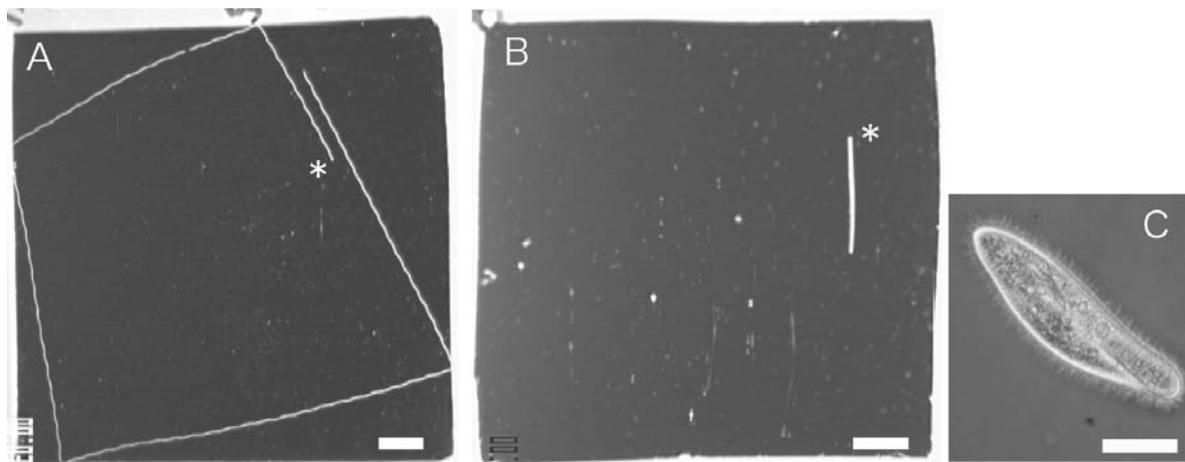


Fig 1. A and B, superimposed trajectories during swimming (A, for 30 s) and sinking (B, for 60 s) of a single *P. caudatum*. B was obtained from the same cell as in A after Ni^{2+} -immobilization. Asterisks in A and B indicate the start of the trajectories. C, micrograph of a Ni^{2+} -immobilized cell. Scale bars, 2 mm for A and B, and 50 μm for C.

遊泳を記録した後で、チャンバーを分解してゾウリムシを取りだし、 Ni^{2+} (10-18 mM) を含む KCM 溶液に入れた。溶液中で繊毛運動の停止が確認された細胞を同様のチャンバーに入れ、沈降速度 (V_s) を測定した。 Ni^{2+} で麻酔したゾウリムシを顕微鏡で観察し、細胞が変形していた場合は測定には用いないこととした

結果と考察

Fig 1A, B に単一細胞での遊泳の記録例 (イメージの重ね書きによる遊泳および沈降軌跡) を示す。単離したゾウリムシでの V_{up} および V_{dn} はそれぞれ、 1.64 ± 0.58 および $1.85 \pm 0.59 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ (N (測定細胞数) = 55) であり、従来の結果とほぼ同等であることから⁴、単離操作による細胞へのダメージは無かったと考えられる。また、Fig 1C に示したように、 Ni^{2+} 処理後の細胞にも形態的な異常は認められなかった。また、全ての処理細胞で収縮胞の活動が確認されている。 V_s は細胞の形や密度によって変化するが、上記の観察に基づき、今回の測定結果 $V_s = 0.10 \pm 0.03 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ (N = 55) は重力による沈降作用を正しく反映しているものと思われる。

これらの測定値に基づき、上向き推進速度 (P_{up}) と下向き推進速度 (P_{dn}) をそれぞれ、

$$P_{\text{up}} = V_{\text{up}} + V_s, \text{ および}$$

$$P_{\text{dn}} = V_{\text{dn}} - V_s,$$

として計算によって求めた。*gravikinesis* が成立するならば、 $P_{\text{up}} > P_{\text{dn}}$ となることが予想される。そこで、1 固体の遊泳について、上向き推進速度と下向き推進速度との比 (キネシス・インデックス) に基づく検証を試みたところ、その値は 1.00 ± 0.08 となり、有意な *gravikinesis* の証拠を見つけることができなかった。

Ooya 等は、ゾウリムシの細胞群には *gravikinesis* の特性が顕著に見られるものと、その特性がはっきり表れないものがあることを報告している⁴。前者は遊泳奇跡の曲率の高いもの (*curved swimmer*) で後者は曲率の低いもの (*straight swimmer*) として区別されている。本研究で、*gravikinesis* が明らかにならなかったのは、単離操作の過程で、細胞の特性が *straight swimmer* のものに変化してしまった可能性が考えられる。

文献

- Hemmersbach, R., Volkmann, D. and Haeder, D.-P. (1999) Graviorientation in protists and plants. *J. Plant Physiol.*, 154, 1-15.

2. Machemer, H. and Braeucker, R. (1992). Gravireception and graviresponses in ciliates, *Acta. Protozool.*, 31, 185-214 .
3. Machemer, H., Machemer-Roehnisch, S., Braeucker, R. and Takahashi, K. (1991) Gravikinesis in *Paramecium*: theory and isolation of a physiological response to the natural gravity vector. *J. Comp. Physiol. A*, 168, 1-12.
4. Ooya, M., Mogami, Y., Izumi-Kurotani, A. and Baba, S. A. (1992) Gravity-induced changes in propulsion of *Paramecium caudatum*: a possible role of gravireception in protozoan behaviour. *J. Exp. Biol.*, 163, 153-167.