

## クラミドモナスの生物対流パターンの形成および遷移に対する深さと細胞密度の影響

鹿毛あずさ<sup>1</sup>・細谷千春<sup>2</sup>・馬場昭次<sup>1</sup>・最上善広<sup>1\*</sup>

お茶の水女子大学 1. 大学院 ライフサイエンス専攻 生命科学コース, 2. 理学部生物学科

### Effects of Depth and Cell Density on Bioconvection Pattern Formation and Transition in Suspensions of *Chlamydomonas reinhardtii*

Azusa Kage<sup>1</sup>, Chiharu Hosoya<sup>2</sup>, Shoji A. Baba<sup>1</sup> and Yoshihiro Mogami<sup>1\*</sup>

1. Graduate School of Humanities and Sciences, Ochanomizu University

2. Department of Biology, Ochanomizu University

\* Corresponding author. E-mail: mogami.yoshihiro@ocha.ac.jp

Abstract: Bioconvection occurring in suspensions of the negatively-gravitactic unicellular protists can contribute to gravitational biology and future space research as an experimental tool for clarifying the possibility that gravity allows the emergence of novel properties of biological systems through collective interactions between the individual components. Although the suspension depth and the cell density are basic parameters for bioconvective pattern formation, the investigations of bioconvection of the flagellate *Chlamydomonas* have not so far fully described the effects of these parameters on the *pattern transition* phenomenon, i.e., a spontaneous and sudden decrease in pattern size of the steady-state bioconvection, which is peculiar to *Chlamydomonas* and has not been observed in other protists such as *Tetrahymena*. We study the depth- and the density-dependence of bioconvective behavior of *Chlamydomonas reinhardtii*, particularly of the pattern transition phenomenon. Striking differences in pattern size, morphology and stability were observed between the lower- ( $1 \times 10^6$  cells/ml) and the higher-density (5 and  $10 \times 10^6$  cells/ml) suspensions. The effects of depth still remain unclear and further analyses are required. In the shallow, lower-density suspensions (2 mm;  $1 \times 10^6$  cells/ml), a peculiar, sometimes non-uniform “pox” pattern was repeatedly observed, which we had not seen previously. The “pox” broke down to form ripple-like fronts, and then the star-shaped patterns followed. Preliminary measurements showed little difference in the aggregation size between the “pox” and the “stars.” This fact obliges us to reconsider what the pattern transition is: the essence might be the spontaneous breakdown and the subsequent reconstruction of the patterns, and not a mere decrease in pattern size.

*key words: bioconvection, Chlamydomonas, pattern formation, phase transition*

#### 序論

重力は地球上の生命活動を規定してきた。その影響は一方では拘束的なものであるが、他方で、重力の作用によって創出される新たな特性も存在する。個々の構成要素のレベルでは微弱な応答、たとえば原生生物の重力応答が、要素間の相互作用を通じて増幅され、集団として見た時に「思いもよらない特性」があらわれてくる可能性が指摘されてきた<sup>[1]</sup>。単細胞原生生物の負の重力走性によって駆動される生物対流は、重力生物学・宇宙生物学にとって、重要な研究ツールとなる可能性を秘めている。

鞭毛藻クラミドモナスの生物対流パターンが、い

ったん安定な状態（仮に Phase I と呼ぶ）に達した後、突然再構成されて急激に細かくなることがある。しばらく経つとパターンは新たな安定状態（Phase II）に至る。秋山らはこの現象を報告し、*pattern alteration response* と名付けた<sup>[2]</sup>。その後我々は、時間的特性を加味して、同じ現象をパターン遷移（*pattern transition*）と呼ぶことにした<sup>[3]</sup>。

生物対流現象の基礎的特性として、懸濁液の深さと細胞密度に対する依存性がある。クラミドモナスの生物対流パターンの深さ・細胞密度依存性を調べた既存の研究<sup>[4]</sup>は、パターン遷移現象に十分注意を払っていない。そのため、深さ・密度依存性を正し

く記載できていない可能性がある。一方で、パターン遷移の研究<sup>[2][3]</sup>は、それぞれほぼ一定の条件下で行われてきており、深さ・密度の影響は十分調べられていない。今回、我々はパターン遷移現象に注目し、対流パターンの時間発展、および Phase I, II のパターンサイズに対する深さと細胞密度の効果を調べた。

## 材料と方法

対数増殖期後期から定常期初期の *Chlamydomonas reinhardtii* strain 137c mt<sup>-</sup> を使用した。培養および実験法は文献[2] に、2D-FFT によるパターンサイズの解析法は文献[5] に準じた。以下、主要な相違点を記す。

懸濁液の深さは 2, 4, 6 [mm]；細胞密度は 1, 5, 10 [ $10^6$ /ml]とした。実験はおよそ 23-25°Cの暗所で行った。透過照明を用い、シャープカット・フィルター

で波長 640 nm 以下の光をカットした。ハンディカム (Sony HDR-HC1) で 10 秒ごとに、1080 x 1920 [px] の静止画を取得した。照明系からの熱発生を抑えるために、照明は画像取り込みの前後、計 3.3 秒のみ点灯するように設定した。2D-FFT には原則として 1024 x 1024 [px] の範囲を用いた。

パターンの形態、および、FFT 解析から算出した dominant wave number (DWN) の時間変化より、Phase I, II を特定した (Fig. 1)。各サンプルの Phase I, II について、任意の範囲の DWN の時間平均値を代表値として用いた。また、Phase I の持続時間を見積もり、Phase I の安定性の指標とした。

以下、「パターンサイズ」と言った時は、DWN から見積もられる繰り返しの周期を指す。これは、クラミドモナスの凝集ドメインの大きさと、それらの間隔の両方をあわせた周期性を反映したものである。

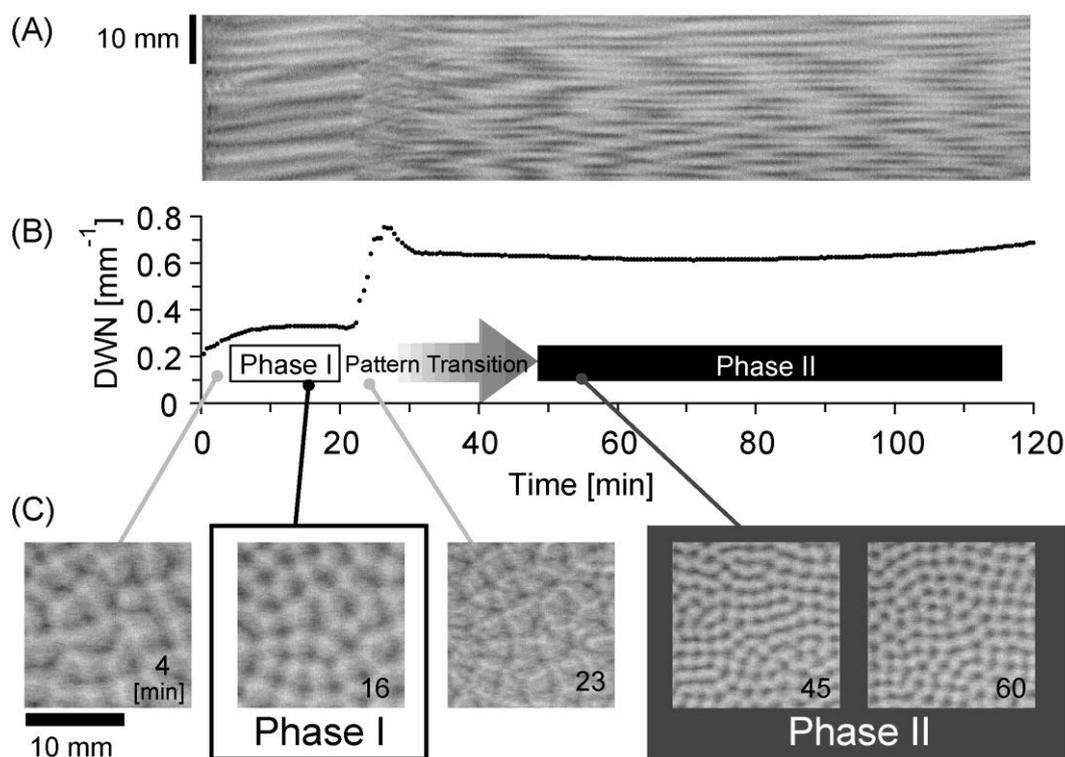


Fig. 1. Analysis of pattern transition. Time course of changes in bioconvective patterns is shown as the space-time plot (A) and dominant wavenumber obtained by the 2D-FFT analysis (B). Periods of Phases I and II were determined by the changes in the dominant wavenumber (B) as well as the morphology of the patterns (C). Suspension depth: 4 mm; cell density:  $10 \times 10^6$  cells/ml.

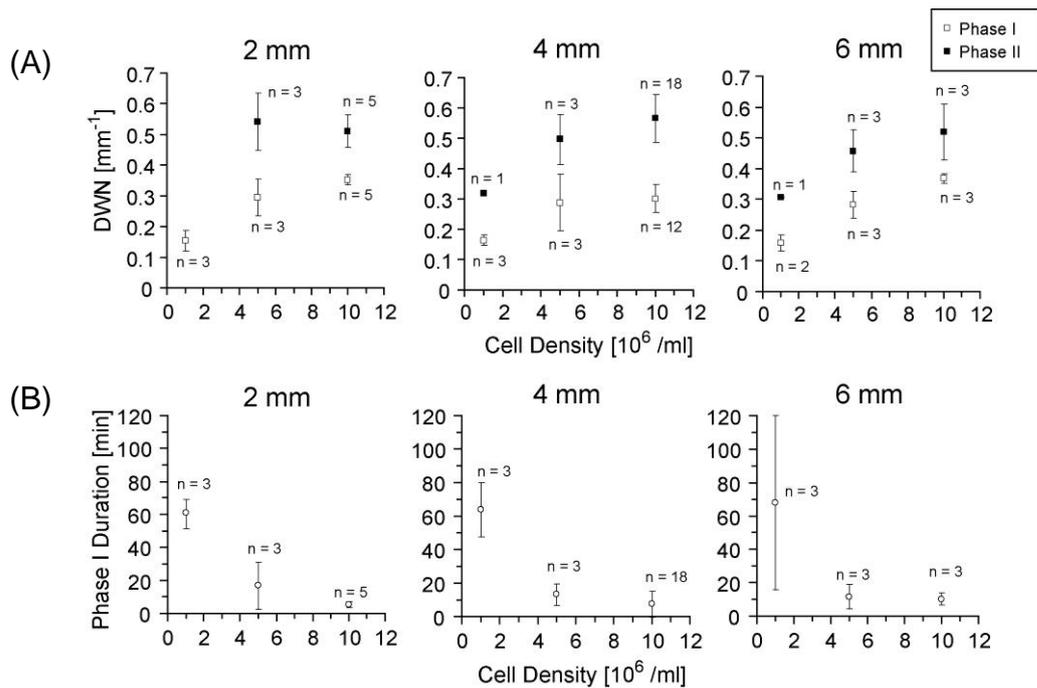


Fig. 2. Dominant wavenumber of Phases I and II (A) and the duration of Phase I (B) of the bioconvection patterns plotted against cell density. The duration is used as an index of the pattern stability.

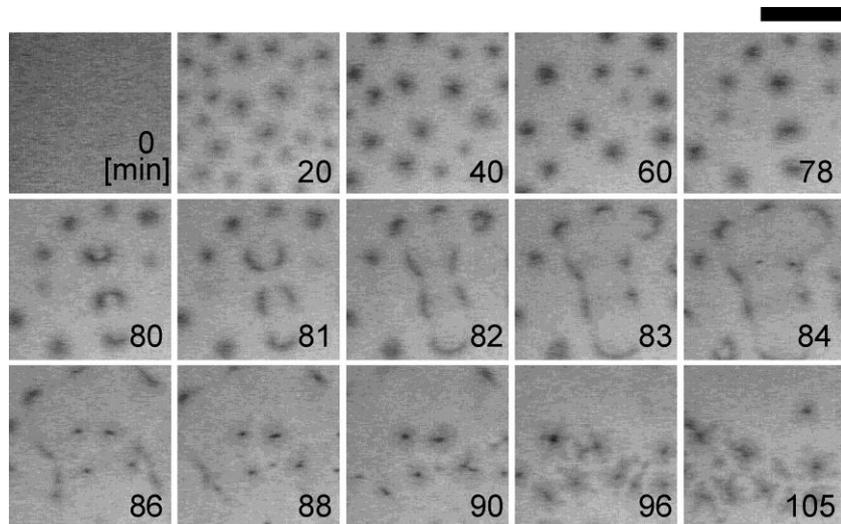


Fig. 3. A representative sample of the bioconvection pattern transition which shows the breakdown of the “pox” pattern. Suspension depth: 2 mm; cell density:  $1 \times 10^6$  cells/ml; scale bar: 10 mm.

### 結果と考察

DWN と Phase I の持続時間を、細胞密度に対してプロットした (Fig. 2). 密度が大きくなるにつれて、DWN は小さくなり、Phase I の持続時間は短くなった. 特に、 $1 \times 10^6$  と  $5, 10 \times 10^6$  cells/ml の違いは顕著だった. 深さ単独の影響は明らかではなかった.

深さ 2 mm, 細胞密度  $1 \times 10^6$  /ml の懸濁液において、痘状の凝集ドメイン (pox pattern<sup>[6]</sup>) の“破裂”が観察された (Fig. 3). この現象はパターン遷移に相当すると考えられるが、そのふるまいは他の条件下とは異なっている. “破裂”後、クラミドモナスの

凝集部分は波紋状のフロントとして広がり、やがて星状のパターンに落ち着いた。“破裂”前後で、凝集ドメインのサイズに大きな違いはなかった。DWNが小さくなることは、他の条件ではおおむね凝集ドメインのサイズが大きくなることを意味しているが、深さ 2 mm, 密度  $1 \times 10^6$  cells/ml の条件で形成されるパターンにおいては、凝集ドメインの間隔が広がったことを反映していると考えられる。

Noeverらは *Polytomella parva* の懸濁液(深さ 4 mm, 細胞密度  $1 \times 10^6$  /ml) において、パターン遷移に似た現象を観察し、topological solidification と呼んだ<sup>[6]</sup>。彼らの得た結果は、「小さい痘状のパターンが大きい網状のパターンに遷移する」という点で秋山ら (*C. reinhardtii*, 深さ 5 mm, 細胞密度  $10 \times 10^6$  /ml) と逆であり、遷移に要した時間も秋山らに比べてかなり長い。*P. parva* と *C. reinhardtii* は鞭毛数や光に対する応答性が異なるものの、ともに緑藻に属し、サイズや遊泳速度もほぼ等しい。したがって、これら2種の生物対流の挙動はある程度類似していると考えられる。今回の我々のデータは、矛盾しているように見える秋山らと Noever らの報告を統一的に理解するための糸口になると期待される。

## 結論

Phase I, II のパターンサイズは、それぞれ細胞密度が大きくなるにつれて小さくなる傾向を示した。Phase I の持続時間も、細胞密度が大きくなるにつれて短くなる傾向にあった。深さ単独の影響は明確ではなく、さらなる解析を要する。また、今後はパターンの形態を評価することも必要である。

従来、パターン遷移現象は“突然起こるパターンサイズの減少”としてとらえられてきた<sup>[2] [3]</sup>。しかし、今回我々が得たデータは、パターンサイズの変化は必ずしもパターン遷移現象の本質ではないという可能性を示している。パターンの自発的な崩壊と再構成という観点から、パターン遷移現象をとらえなおす必要がある。

## 付記

本研究は、宇宙環境利用科学委員会研究班「生体要素間の共同作用に基づく重力効果の増幅発現機構解明への研究展開」ワーキンググループの研究成果の一部として発表された。2009年度WGメンバー(所属)は以下の通り。最上善広, 馬場昭次, 宮本泰則, 清本正人, 河村哲也, 奥村 剛, 森 義仁, 近藤るみ(以上, お茶の水女子大学), 奥野 誠(東京大学), 岩本裕之(スプリング8), 狐崎 創(奈良女子大学)。

## 参考文献

- [1] 最上善広, 大木田明代, 馬場昭次 (2005). 重力生物学の研究モデルとしての生物対流. *Space Utiliz Res*, **21**, 213-215.
- [2] Akiyama, A., Ookida, A., Mogami, Y. and Baba, S.A. (2005). Spontaneous alteration of the pattern formation in the bioconvection of *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Jpn. Soc. Microgravity Appl.*, **22**, 210-215.
- [3] 鹿毛あずさ, 細谷千春, 馬場昭次, 最上善広 (2009). クラミドモナスの生物対流が示すパターン遷移現象の特性. *J. Jpn. Soc. Microgravity Appl.*, **26**, 403.
- [4] Bees, M.A. and Hill, N.A. (1997). Wavelengths of bioconvection patterns. *J. Exp. Biol.*, **200**, 1515-1526.
- [5] Mogami, Y., Yamane, A., Gino, A. and Baba, S.A. (2004). Bioconvective pattern formation of *Tetrahymena* under altered gravity. *J. Exp. Biol.*, **207**, 3349-3359.
- [6] Noever, D.A., Matsos, H.C. and Cronise, R.J. (1994). Bioconvective patterns, topological phase transitions and evidence of self-organized critical states. *Phys. Lett. A*, **194**, 295-299.