

ゾウリムシのイオン刺激受容機構に関する行動学的研究

佐賀 友則 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 大網 一則 (筑波大学 生命環境系)

<導入>

単細胞生物のゾウリムシは体表に多数存在する繊毛により活発な遊泳行動をする。ゾウリムシの遊泳行動は様々な外界の刺激により変化することが知られている。例えば、前進遊泳中のゾウリムシが障害物にぶつかり細胞前端部分に機械刺激を受けると活動電位によって仲介された繊毛逆転が生じ、後退遊泳を行う。このような行動反応により、ゾウリムシは生存に適した環境を選択することが可能になる。淡水に生息するゾウリムシにとって外液中の化学環境はきわめて重要な環境要因である。ゾウリムシは K^+ や Ca^{2+} などをはじめとする外液イオン、とりわけ陽イオン濃度の変化に対して顕著な行動反応を示すことが知られており、それらの反応は生理的な受容機構を介して生じている。

私は水棲の単純な生き物が外界の環境として重要な各種イオンをどのようにして受容して反応するかについて興味を持った。これまでに各種陽イオンに対する検討に比べ、陰イオンの効果に関する記載は少ない。この実験では、初めに外界の化学環境としての陰イオンの効果について検証し、さらに、複雑な構造をもつイオン種やその他各種イオンがゾウリムシのどのような行動反応を引き起こすかについて検討した。

<方法>

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) はライ麦の抽出液を用いて培養した。実験に用いた標準溶液の組成は 1 mM KCl, 1 mM $CaCl_2$, 1 mM Tris-HCl (pH 7.4) である。ゾウリムシは4°Cの標準溶液で4回洗い、30分以上放置した後、実験に用いた。ゾウリムシの行動反応は実体顕微鏡下で観察した。

今回用いた陽イオンは K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} の4種類である。それぞれ塩化物と硝酸物を用意し、その効果を比較した。

他に NH_4Cl 、 K_2HPO_4 、比較的複雑な有機イオンとして塩化コリンを選びゾウリムシの行動に対する効果を調べた。

<結果>

これまでに、ゾウリムシは外液中の陽イオンに対して様々な行動反応を示すことが知られている。実験的には、各種陽イオンは刺激を与える溶液に塩の形で溶解するため、陽イオンの濃度を単独で変えることはできず、対になる陰イオンの濃度も変化させていることになる。外液中のCl⁻の効果を調べるため、刺激液中のCl⁻を NO_3^- で置換してその効果を調べた。

ゾウリムシを標準溶液 (1mM KCl) から 20mM KCl を含む刺激液に移すと、持続的な後退遊泳が速やかに生じた。この後退遊泳はおおよそ 30 秒続き、ゾウリムシは移動を伴わない回転運動に移行した。さらに時間が経つと、ゾウリムシは緩やかに前進遊泳に戻っていった。刺激液中の 20mM KCl を 20mM KNO_3 に変えて同様の実験を行うと、ゾウリムシは KCl を用いた場合とほぼ同様の行動反応を示した。後退遊泳の持続時間はおよそ 30 秒であった。後退遊泳速度、回転運動の持続時間についても、大きく変わらなかった。

ゾウリムシを標準溶液から 20mM NaCl を含む刺激液に移すと、前進遊泳中に繰り返し方向転換する行動反応が生じた。ゾウ

リムシの Na^+ に対する行動反応は Na^+ をNaClの形で与えた時でも、 KNO_3 の形で与えた時でも同様であった。

ゾウリムシを 5 mM $BaCl_2$ を含む刺激液に入れると、くり返し後退遊泳を行った。この反応は一過性ではなく、長時間持続した。くり返し生じる後退遊泳の頻度や持続時間は、 $BaCl_2$ を $Ba(NO_3)_2$ に置き換えて実験しても変化しなかった。

ゾウリムシを標準溶液から 20mM $CaCl_2$ を含む刺激液に移すと前進遊泳速度の増加が見られた。刺激液中の $CaCl_2$ を同濃度の $Ca(NO_3)_2$ で置き換えると、ゾウリムシの行動反応は、 $CaCl_2$ 中で見られたものとはほとんど変わらなかった。

以上、行動反応の特徴が異なる数種類の無機陽イオンに対するゾウリムシの行動反応は対になる陰イオンとして、Cl⁻を用いた時と、 NO_3^- を用いた時で、大きな違いがなかった。この結果は、ゾウリムシの行動反応に対して、陰イオンは大きな影響をもたないというこれまでの定説を支持している。今後さらに、異なる陰イオン種についても検討し、その効果を調べる必要がある。

次に、膜を透過しない有機イオンとして知られる塩化コリンに対するゾウリムシの行動反応を検討した。ゾウリムシを標準溶液から塩化コリン (10 mM, 20 mM) を含む刺激液に移した。ゾウリムシは刺激液中で顕著な後退遊泳は示さなかったが、10 秒に1回程度の方向転換を示した。

また、 NH_4Cl を含む溶液にゾウリムシを入れ、行動反応を見た。ゾウリムシは NH_4Cl を含む刺激液中で標準溶液中と同様の前進遊泳を続けた。

同様にゾウリムシを K_2HPO_4 を含む刺激液に入れた時の行動反応を調べた。ここでは、刺激に伴い K^+ に対する行動反応が生じるため、20 mM KCl の場合をコントロールとして、10 mM K_2HPO_4 を含む刺激液での反応と比較した。ゾウリムシは K_2HPO_4 を含む刺激液に移すと、持続的な後退遊泳のあと回転運動をし、その後、前進遊泳に戻った。これらの行動反応は KCl の場合と同様だが、後退遊泳の持続時間は若干短い傾向があった。

<考察>

今回の実験から、ゾウリムシは敏感に応答する陽イオンに比べ、陰イオンに対してはほとんど応答しないことがわかった。ゾウリムシの遊泳行動は膜電位により制御されていることがわかっており、膜電位は膜を介したイオンの濃度勾配と各種イオンチャンネルのゲーティングにより制御されている。これまでに知られている膜電位発生に関わるイオン種はほとんどが陽イオンである。このように、ゾウリムシの行動制御に重要な無機陽イオンに対して、ゾウリムシが敏感な受容系をもつことはゾウリムシの生存のために合目的である。一方で、ゾウリムシが陰イオンに対して顕著な反応を示さない事実は、陰イオンが膜電気現象に関わっていない事実に起因するかもしれない。

さらに多様なイオン種に対する行動反応を調べ、ゾウリムシがもつイオン受容系の実態を解明する必要がある。