

## ゾウリムシの繊毛再生とそれに伴う行動反応の変化

鈴木 菖平 (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

動物は、発達した運動性に依存して生きている。単細胞生物であるゾウリムシは、体表にある多数の繊毛によって水中を活発に遊泳する。ゾウリムシは様々な外界の刺激を受容し、その結果、遊泳を変化させることが知られている。ゾウリムシは、通常、直線的に前進遊泳するが、前方の障害物にぶつかると、繊毛逆転が生じ一時的に後退遊泳を行う。その後、ゾウリムシは一カ所で頭を回す動きをとり、再び前進遊泳に戻る。このような一連の行動反応により、ゾウリムシは障害物を回避することができ、結果的に、生存に適した環境を選択することが可能となる。

ゾウリムシの運動活性をになう体表の繊毛はエタノールを含む溶液中で振盪すると脱落することが知られている。脱繊毛のあと、ゾウリムシは比較的速やかに繊毛を再生する。

私は脱繊毛したゾウリムシが繊毛を再生する過程において、行動反応にどのような変化が起こるのか、また、各種外界の刺激に対する反応がどのように回復してゆくのかについて興味を持った。この実験では、はじめに、ゾウリムシが脱繊毛する条件を詳細に検討し、次に、脱繊毛後の繊毛再生に伴う行動反応や刺激応答性の変化を解明することを目的とした。

## 材料・方法

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は麦藁の抽出液を用いて 20°C で培養した。培養したゾウリムシは標準溶液 (1 mM KCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM Tris - HCl, pH7.4) で 4 回洗い、30 分以上順応させた後、実験に用いた。

ゾウリムシの脱繊毛処理は、エタノール (5%、7%、10%) を含む標準溶液とゾウリムシを試験管に入れ、ボルテックスミキサー (2500 rpm) を用いて攪拌して行った。攪拌後、ゾウリムシはすみやかに標準溶液へ戻した。脱繊毛処理の後、ゾウリムシの遊泳活性、化学刺激に対する反応性を時間を追って調べた。

脱繊毛前後のゾウリムシの繊毛の様子は光学顕微鏡 (400 倍) 下で観察した。今回の実験では、化学刺激として、標準溶液中の KCl 濃度を上げた溶液を使用した。ゾウリムシの行動は実体顕微鏡で観察、もしくは暗視野照明下でビデオテープへ記録し、解析した。

## 結果

## (1) 脱繊毛の条件

はじめに、5%エタノールを含む標準溶液で 10 秒間攪拌しゾウリムシに脱繊毛処理を行った。およそ 8 割の個体は遊泳を停止したが、残りの個体は遊泳行動を続けていた。攪拌する時間を長くしても遊泳を停止する個体の割合はほとんど変らなかった。

次に、10%エタノールを含む標準液で脱繊毛処理を行った。攪拌する時間に関わらず、ほとんどの細胞が膨張して死亡した。

7%エタノールを含む標準溶液を用いて脱繊毛処理を行うと、全ての個体で遊泳行動の停止が観察されたが、攪拌する時間を長くするほど、膨張して死亡する個体が増えた。脱繊毛処理直後に

は、ゾウリムシの繊毛は顕微鏡下で確認できなかった。脱繊毛後、1 時間程すると、短い繊毛の再生が確認できた。脱繊毛後 6 時間程すると、再生した繊毛は未処理の繊毛と同等の長さになった。この後の実験では 7%エタノールで 4 秒間攪拌という条件で脱繊毛処理を行った。

## (2) 遊泳行動を再開する個体の割合

脱繊毛処理後、遊泳行動を再開したゾウリムシの割合を時間を追って調べた。脱繊毛した直後は全ての個体が遊泳行動を停止していた。脱繊毛後 1 時間ほどで 3 割程度の個体が遊泳行動を再開した。遊泳を再開する個体数は時間とともに増え、脱繊毛後 3 時間でおおよそ 6~7 割の個体が遊泳行動を再開した。残りの細胞は膨張して死亡していた。

## (3) 脱繊毛後の遊泳速度の変化

脱繊毛処理をしたゾウリムシの遊泳速度が時間経過に伴ってどのように変化するかを計測した。脱繊毛処理をしないゾウリムシの遊泳速度は約 2.4 mm/s であった。ゾウリムシの遊泳速度は脱繊毛後 1 時間で 0.02 mm/s、2 時間で 0.03 mm/s となり、脱繊毛処理をしない個体の遊泳速度と比べると非常に遅い結果であった。ゾウリムシの遊泳速度は時間とともに回復し、3 時間後には 0.2 mm/s、6 時間後には 0.7 mm/s であった。遊泳速度は 6 時間後以降ほぼ一定の値を示した。

## (4) 脱繊毛後の化学刺激に対する反応行動

脱繊毛後のゾウリムシの化学刺激に対する反応行動は、現在、調べているところである。

## 考察

これまでの実験では、ゾウリムシの脱繊毛は 5%エタノールを用いているが、今回の実験条件では、この濃度では完全な脱繊毛はできなかった。脱繊毛後、回復する個体の割合は若干悪くなるが、今回の実験では、7%エタノールによる脱繊毛が最適であると判断した。

脱繊毛後の繊毛の再生の時間経過を調べると、およそ 1 時間ですでに再生が始まっており、約 6 時間まで再生が進んでゆることが明らかとなった。一方、細胞の運動活性の回復過程を調べると、脱繊毛後停止した遊泳行動は、約 1 時間後に再開した。繊毛再生直後の遊泳速度は非常に低いが、脱繊毛後およそ 6 時間まで増加し、一定となった。これらの事実は、繊毛はその全長が再生しなくても、運動を再開することが可能であり、長さの回復と、ゾウリムシの運動活性にある程度の相関がみられることを示している。

今後、繊毛の再生と運動活性を更に詳しく調べるとともに、繊毛の再生と刺激に対する応答の関係性を調べる予定である。