

ゾウリムシの誘引物質に対する化学集合

梅澤明寛 (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】

単細胞生物ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は多細胞生物と比べて単純な体制だが、外界の環境情報を受容して、行動反応を起こす。例えば、遊泳中のゾウリムシが障害物にぶつかると、繊毛逆転による後退遊泳を伴う一連の行動反応を示し障害物を回避する (回避反応)。

私はゾウリムシの化学刺激に対する反応に興味を持った。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重要な環境要因であり、外液中の化学物質に対して敏感に反応する。水中を遊泳する生物が示す化学物質に対する行動反応には、化学走性や化学集合が知られている。対象とする化学物質を含む溶液にその生物がより多く分布する時、その物質は誘引物質と呼ばれ、逆に、その物質を含まない方に多く分布する時は忌避物質と呼ばれる。

Van Houten らのグループは三方コックを用いて様々な化学物質に対するゾウリムシの集合を調べ、誘引物質として NH_4Cl 、グルタミン酸、乳酸、ビオチン、忌避物質としてキニーネ、GTP、NBT などを明らかにしている (1992)。しかし、三方コックを用いた方法では、異なる溶液が接する場所でのゾウリムシの行動反応は観察できなかった。この後中里と内藤は、異なる実験系を用いて、ゾウリムシの運動活性と化学集合の関係を明らかにした。

この実験では、Nakazato & Naitoh (1993) の開発したアッセイ法を用いて、ゾウリムシの化学集合を明らかにすることを目的とした。実験には、主に、この方法ではこれまでほとんど検討されていない誘引物質を選んだ。

【方法】

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は麦わらの抽出液を用いて 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_2 , 1 mM Tris - HCl, pH7.4) で3回洗浄し、30分以上順応させた後、実験に用いた。

ゾウリムシの化学物質に対する遊泳行動は2種類の組成の異なる溶液が接するように作られた実験槽で調べた。この実験槽はスライドガラスとカバーガラスを用いて作成した 10 mm × 10 mm × 0.9 mm の2つの空間からできている (それぞれ、標準槽と試験槽と呼ぶ)。標準槽には200–300匹のゾウリムシを含む標準溶液を満たし、試験槽にはゾウリムシを含まない試験溶液を満たした。異なる溶液を満たした2つの槽は、はじめ離れた状態で用意し、実験開始時に結合した。実験開始後、ゾウリムシの遊泳、分布をビデオカメラで記録し、解析した。今回、実験には塩化ナトリウム、グルタミン酸、乳酸、ビオチンの4種類を用いた。

ゾウリムシの集合の程度は、試験槽中のゾウリムシの分布数から標準槽中のゾウリムシの分布数を引き、それを両液槽中のゾウリムシの総数で割った値、化学集合指数 (I_{che}) として表した。両液槽でのゾウリムシの分布が均一なときは I_{che} は0となり、標準槽に完全に偏った場合は-1、試験槽に完全に偏った場合+1の値をとる (マイナスの値の場合負の化学集合、プラスの時は正の化学集合)。

【結果】

ゾウリムシの化学集合反応

はじめにコントロール実験として、標準槽と試験槽に同じ標準溶液を満たして、ゾウリムシの分布を調べた。標準槽だけに入れたゾウリムシは、溶液の結合と共に両液槽内を移動し、1分以内に両液槽間で均一に分布した。この均一な分布は、記録を続けた4分後まで維持された。この状態では、ゾウリムシの分布が平衡にあると考えられる。

次に5 mM NH_4Cl を試験槽に満たし (標準溶液に5 mM NH_4Cl を溶解、以下同様)、ゾウリムシの分布を調べた。ゾウリムシは溶液を結合した後、両液槽内を移動し、約90秒で分布は一定値を示し、その後維持された (I_{che} ; 0.08)。この濃度の NH_4Cl に対して、ゾウリムシは有意な集合を示さないことを表す。次に、 NH_4Cl 濃度を高くして (10 mM) 同様の実験をおこなうと、ゾウリムシの分布は標準槽側に偏り (I_{che} ; -0.36)、 NH_4Cl に対して負の化学集合を示した。これは、今回の実験系では NH_4Cl はゾウリムシに対して忌避物質として働いていることを示す。

ゾウリムシの1 mM グルタミン酸溶液に対する分布を調べると、約60秒で平衡に達し (I_{che} ; 0.01)、集合は見られなかった。またグルタミン酸の濃度を5 mM にするとゾウリムシの分布は標準槽側に偏り (I_{che} ; -1)、グルタミン酸は忌避物質として働いていることを示す。

ゾウリムシは1 mM 乳酸溶液に対して、約60秒で一定の分布を示した (I_{che} ; 0.41)。従って、1 mM 乳酸に対して、ゾウリムシは正の化学集合を示している。一方、乳酸の濃度を高く (5 mM) するとゾウリムシの分布は標準槽側に偏った (I_{che} ; -0.5)。従って、ゾウリムシは低濃度の乳酸に対しては集合し、高濃度に対しては離散することが明らかとなった。

ゾウリムシのビオチン溶液 (100 μM ~ 1 mM) に対する分布を調べると、約20秒でいったん一定の値 (-0.8等) をとったが、その後 I_{che} は緩やかに上昇し続け0に近づいていった。ビオチンの濃度を5 mM にすると、約60秒でゾウリムシは一様に分布した。

【考察】

今回の実験から、Van Houten らのグループにより報告されているゾウリムシの誘引物質が、多くの場合、今回の実験系では誘引物質として作用していないことが明らかとなった。これは実験系の違いが主な原因であると考えられるが、より詳細な濃度範囲を検討したり、また、集合を生じる行動反応を解析するなどして、自然界でゾウリムシが誘引される物質であるかどうかについて、考察する必要がある。特に、濃度により忌避物質から誘引物質に切り替わる乳酸に関しては詳細な検討が必要である。

Van Houten, J.(1992). A.Rev.physiol. 639-663

Hiroyuki Nakazato, Yutaka Naitoh.(1993).exp.Biol.176, 1-10