

## ゾウリムシの刺激応答性に対する膜流動性修飾物質の効果

李 倩 (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

淡水に生息する単細胞生物ゾウリムシは、一つの細胞が一つの生き物として機能している。そのため、外界の様々な刺激を受容し、速やかに適切な反応を示すことで、生存している。外界の刺激に反応するためには細胞膜の存在が不可欠であり、様々な刺激は受容体と呼ばれるタンパク質を介して受容される。細胞膜には受容体やイオンチャネルなどのタンパク質だけでなく、その二重層を構成している脂質も重要な要素として存在する。私は、細胞膜を構成している脂質の性質、状態の変化が生き物に与える影響に興味を持った。

今回の実験では、膜の脂質により生じる膜の特性である流動性に着目し、流動性修飾物質を用いてゾウリムシの刺激応答性に対する効果を調べた。

## 材料・方法

今回の実験で使用したゾウリムシ(*Paramecium caudatum*)は麦わらの抽出液を用いて、20°Cで培養した。実験に用いた膜流動性修飾物質はコレステロールである。コレステロールは脂溶性のため3%のエタノールを溶媒として標準溶液(1 mM CaCl<sub>2</sub>、1 mM KCl、1mM Tris-HCl、pH 7.4)に溶かした。この溶液にゾウリムシを1時間順応させた後、コレステロールを含まない標準溶液で3回洗い、その後30分間順応させ、遊泳速度や化学刺激に対する行動反応を調べた。

ゾウリムシの刺激応答性を調べるためには、標準溶液中のKCl濃度を高くした溶液を用いた(K刺激溶液)。これまでの研究から、ゾウリムシはK刺激溶液中で一過性の比較的長く続く後退遊泳を示すことが知られている。

膜流動性に変化を与えると、1-2時間で元の値への回復が生じる場合が報告されているため、実験はゾウリムシをコレステロール溶液から取り出してから、1時間以内に行った。また、実験データは30個体分のゾウリムシの平均値を用いている。

## 結果

## 1、コレステロール溶液中のゾウリムシの生存率

はじめに、コレステロール溶液がゾウリムシに与える影響を見るため、コレステロール溶液中でのゾウリムシの生存率を時間とともに計測した。ゾウリムシの生存率は時間とともに減少したが、コントロールとして用いたエタノールのみを含む標準溶液とコレステロールを含む溶液では、コレステロールを含む溶液の方が減少率がやや大きかった。しかし、0.01mMのコレステロールでの生存率はコントロールの90%ほどであり、低濃度のコレステロールは、ゾウリムシの生存に大きな影響を与えないと考えられる。

## 2、ゾウリムシの刺激応答性に対するコレステロールの効果

次に、ゾウリムシの刺激受容系に対するコレステロールの効果

を調べた。K刺激溶液のKCl濃度は、5mM、10mM、20mM、40mMとした。エタノール処理だけのコントロールでは、20mM以上の濃度でゾウリムシは持続性の後退遊泳を行なった。即ち、ゾウリムシはしばらく後退遊泳した後、その場にとどまり回転し、回転が終わると、再びゆっくり前進し始め、徐々に通常の前進遊泳に戻った。後退遊泳の持続時間、回転の持続時間はKCl濃度が高いほど長かった。同様に、コレステロール溶液で処理したゾウリムシにK刺激を与えると、コントロールと同様に20mM以上のKCl濃度で後退遊泳が生じた。後退遊泳の持続時間を比較すると、20mM KCl、40mM KClともに、コレステロール濃度が高くなるに伴い短くなった。40mM KClで比較した値は、コントロール;131.3s、0.01mM コレステロール;121.2s、0.05mM コレステロール;110.1s、0.1mM コレステロール;97.4sであった。

## 考察

高等動物では、コレステロールは細胞膜の脂質に入り込み、その流動性を下げる効果が知られている。今回、コレステロールを投与するとゾウリムシのK刺激に対する後退遊泳時間が短くなる結果が得られた。この結果は、膜の脂質流動性の変化が、ゾウリムシの刺激応答性に影響を与えたことを示唆している。

今回用いた化学刺激はKCl濃度の増加であったが、反応自体のK濃度依存性はほとんど変わらなかった。これに対し、反応(後退遊泳と回転運動)の持続時間は、コレステロール処理により、濃度依存的に減少した。K刺激により生じる後退遊泳の持続時間は、イオン刺激により活性化するCaチャンネルの不活性化の速度が主に決めていると考えられている。したがって、コレステロールはイオン刺激に対応するCsチャンネルの動態に影響している可能性が示唆される。

これまでに、ゾウリムシの細胞膜の流動性がeuplotin Cという物質の投与により低下し、その時に後退遊泳時間は約30%長くなったという結果が報告されている。今回の実験で用いたコレステロールの効果は膜の流動性を減少させるものと予想されるので、膜の流動性に着目すると、今回得られたコレステロールの効果は、euplotin Cで得られたものと逆の現象である。今後、実際に膜の流動性がどのように変化しているかを確認する必要がある。

ゾウリムシの細胞膜流動性を変化させる要因には、コレステロール等の膜修飾物質以外に、温度変化や外気圧の変化等も存在する。今後、このような環境要因がゾウリムシの刺激応答反応にどのような影響を与えるのかを調べ、ゾウリムシの環境要因への順応、特に膜の流動性を介した効果、を明らかにしてゆきたいと考えている。