

下毛類繊毛虫ミズヒラタムシ (*Euplotes aediculatus*) が示す 飢餓状態における集合反応

洲崎 敏伸 (神戸大・院理・生物)

Cell aggregation of the ciliate *Euplotes aediculatus* in a starved condition

Toshinobu SUZAKI (Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

Euplotes aediculatus in Petri dish cultures was found to show cell clustering in starved conditions. During the initial stage of cell clustering, cells became excluded from patches of small “windows”, with dead *Euplotes* cells frequently located in the center. Cell clusters were finally formed by enlargement and integration of the cell-free windows, enclosing cells into small areas. In fact, *E. aediculatus* cells that had been killed by freezing induced avoidance responses of the same species. The factor was water-soluble and heat-resistant. A similar avoidance response was also induced by dead cells of some other protozoan species such as other ciliates and *Peranema*, but not by *Amoeba*, *Euglena*, or a species of fungi.

【目的】 ミズヒラタムシ (*Euplotes aediculatus*) を飢餓状態に置くと、シャーレの底面の一ヶ所に集合することを見出した。類似した細胞の集合化現象は *Chilomonas*, *Spirostomum*, *Lacrymaria* などの原生生物でも観察されることがあるが、*E. aediculatus* の集合化現象はそれらに比べて反応が顕著であった。いずれの場合にも細胞集合の仕組みはわかっていないが、何らかのフェロモンを介した細胞間相互作用が関与していると思われる。そこで、*E. aediculatus* の細胞集合を引き起こす要因について探索した。

【方法】 実験に用いた *E. aediculatus* は、Carolina Biological Supply Co. (USA) より購入した。細胞の培養液には Volvic を用い、餌として無菌的に培養した *Chlorogonium capillatum* を毎日 1 回与え、シャーレで培養した。観察は、透過照明装置付きの実体顕微鏡 (Olympus SZ61) にビデオカメラを装着して行った。なお、*Euplotes* の和名はこれまで一般的に使用されているものがなく、今回「ミズヒラタムシ」を *Euplotes* 属の和名として提唱した。この名称は兵庫県立神戸高校 1 年生の榊井啓貴氏の発案によるものである。

【結果と考察】 *E. aediculatus* を餌のない条件で 1 日以上放置すると、遊泳速度が低下した。餌を与えている状態 (対数増殖期) の細胞の遊泳速度は、 $0.161 \pm 0.166 \text{ mm s}^{-1}$ であったが、飢餓状態では $0.025 \pm 0.072 \text{ mm s}^{-1}$ となった。飢餓状態では、多くの個体がシャーレの底面でほとんど静止し、シャーレのごく一部の場所に集合していた。集合する場所は一定しておらず、様々なパターンを形成した。形成される細胞の集団は多くの場合は一個であったが、複数の集合もあった。

細胞の集団化の様子を実体顕微鏡下で径時的に観察した。細胞の集合化が観察されているシャーレを揺り動かして細胞を均一化した後に放置すると、数時間で細胞は再集合し、新たなパターンが形成された。細胞を均一に分散させた後、約 5 分で細胞の存在しない円形の「窓」のような場所がシャーレの底面に形成された。「窓」はその後、次第に拡大し、最終的にはいくつかの「窓」が融合し、結果的に細胞は一定の領域に集まっていくことがわかった。形成初期の「窓」の中心には、必ず *E. aediculatus* 細胞の死骸のような物体が観察された。そこで、 -20°C で冷凍して殺した *E. aediculatus* 細胞を、細胞を均一化したシャーレに加えてみた。すると、生きた細胞はそこから遠ざかる反応を示し、「窓」が形成された。「窓」の辺縁部では、細胞の遊泳速度が上昇し、「窓」の中心から遠ざかる方向への遊泳を示した。このような反応は、1 個体の細胞の死骸によっても引き起こされたが、死骸の数が多いほど反応は長時間持続し、大きな「窓」が形成された。死骸の懸濁液を $0.22 \mu\text{m}$ のフィルターでろ過したろ液にも、細胞を集合させる活性が存在した。また、 95°C 30 分の熱処理によりこの反応は阻害されなかった。これらより、*E. aediculatus* 細胞が集団化する要因の少なくとも一つは、何らかの理由で死んだ細胞から滲出した何らかの物質による忌避反応である可能性が示された。

次に、様々な原生生物の死骸が *E. aediculatus* 細胞に対する忌避反応を引き起こす可能性を検証した。用いた原生生物種は、繊毛虫 (*Stylonychia mytilus*, *Blepharisma japonicum*, *Tetrahymena pyriformis*, *Paramecium bursaria*, *Paramecium multimicronucleatum*)、アメーバゾア (*Amoeba proteus*)、エクスカバータ (*Euglena gracilis*, *Peranema trichophorum*)、ストラメ

ノパイル (*Echinosphaerium akamae*)、アーケプラスチダ (*Chlorogonium euchlorum*, *C. capillatum*)、オピストコンタ (*Pichia capsulata*) である。これらの細胞を -20°C で冷凍して殺した後、均一に分散させ *E. aediculatus* 細胞の入ったシャーレに入れた。すると、すべての繊毛虫が忌避反応活性を示した。また、それ以外では無色ユーグレナ類 *Peranema trichophorum* と太陽虫類 *Echinosphaerium akamae* が *E. aediculatus* に対する弱い忌避反応を誘導した。その他の原生生物は、忌避反応は引き起こさなかったが、反対に *E. aediculatus* が死骸に集合し、それを摂食する行動が誘発された。

さらに、*E. aediculatus* に対する忌避反応のシャーレ底面における拡散速度を測定した。*E. aediculatus* の死骸によって形成される「窓」は、時間とともに拡大するので、「窓」のサイズを測定し、経過時間との関係を調べたところ、「窓」の半径の二乗が経過時間に比例して増加することがわかった。これより、3次元の物質拡散を仮定した場合の拡散定数を求めたところ、 $1.48 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ であった。これは、自由水の拡散定数の10倍近く大きな数値であり、*E. aediculatus* の忌避反応の広がり速度は、死骸から滲出する忌避物質の単純な拡散では説明のできない現象であることが示された。