

Grassberger 法によるゾウリムシ膜電位変化の解析

麻布大・獣医 永井喜則

アドバンス自然研 原律雄，土屋尚

早大・理工 斎藤信彦

ゾウリムシは体長約 $100\mu\text{m} \sim 150\mu\text{m}$ の原生動物で、体表面に生えた約 2 万本の繊毛を動かして水中を泳ぎまわっている。この繊毛の運動は、膜電位変化と密接に関係しており、脱分極性の変化が起ると繊毛逆転打が生じ、ゾウリムシは後退する。これとは逆に、過分極性の変化に対しては前進運動が強化される。¹⁾

上記のことよりゾウリムシの行動はゾウリムシ膜電位の変化を通してうかがい知ることができる。また、適応温度の場所に戻ろうとする傾向を示した実験や、個体の密度が増えると方向変換頻度が増す事実を考えると、何らかの方法で膜電位を自己制御している可能性がある。ゾウリムシの方向変換頻度はほとんどの条件下で見かけ上でたらめである。このように乱雑に見える現象の原因として、現段階では 2 つが考えられる。一つは環境の熱ゆらぎを何らかの方法で増幅して直接利用しているという考え方で、もう一つはゾウリムシ自体がゆらぎを作り出す機構をもっているという考え方である。後者の場合はカオスのゆらぎであると考えるのが自然であろう。

ここではゾウリムシの膜電位ゆらぎが単に熱ゆらぎを増幅しただけのものなのか、あるいはカオスゆらぎであるかを検討するために Grassberger-Procaccia により提唱された相関積分、相関次元による解析方法²⁾（以後 G-P 法と略す）を用いた。以下実験方法及び解析の概略と結果を述べる。

ゾウリムシを 2 本の固定用ガラス針で動かないようにする。このとき、ガラス針がゾウリムシの細胞膜を貫通してない状態で固定される必要がある。この固定されたゾウリムシの体の中央部に膜を貫通させて測定用ガラス電極を刺入する。われわれの実験では、通常用いる刺激用電極はつけずに測定用電極一本だけを用いて細胞内電位が計測された。またアースは外液中にとられた。

ゾウリムシの膜電位変化は PC 9801 に組み込まれた A/D コンバータを経てディスク上に記録される。測定に使用したプログラムでは最大 16000 ポイントの記憶容量に制限せざるを得なかったため、測定時間は最大、4 msec のサンプリングタイムで約 1 分である。このような短時

間のデータではスパイク性の成分の解析はむづかしく、解析上はこれより小さな電位変化が対象となっている。

測定された膜電位変化の例が図1に示されている。このような電位ゆらぎの相関積分 $C(r)$ をG-P法で求めた。計算時間を短くするために、階段関数の性質

$$\theta(xy) = \theta(x)\theta(y) + \theta(-x)\theta(-y)$$

を利用して $C(r)$ を次のように計算した。

$$\begin{aligned} C(r) &\equiv N_{\text{ref}} \sum_{i=1}^{N_{\text{ref}}} \frac{1}{N_{\text{data}}} \sum_{j=1}^{N_{\text{data}}} \theta(r - |\vec{x}_i - \vec{x}_j|) \\ &= \frac{1}{N_{\text{ref}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{ref}}} \frac{1}{N_{\text{data}}} \sum_{j=1}^{N_{\text{data}}} \theta(r^2 - |\vec{x}_i - \vec{x}_j|^2) \equiv C'(r^2) \end{aligned}$$

ここで N_{ref} は相関積分を計算するサンプル点の数、 N_{data} は測定した全データ数を表わしている。 r の小さな値に対して

$$C(r) \propto r^{D_2}$$

の関係が成り立つので、相関次元 D_2

$$D_2 = \frac{\log C(r)}{\log r} = 2 \frac{\log C'(r^2)}{\log r^2}$$

として求まる。 r^2 を用いた相関積分の結果から求まる次元は、上記 D_2 の半分の値となる。

図1のデータの相関積分を求めた結果が図2に示されている。図2では埋め込み次元を変えて相関積分の変化を見ている。図2からわかるように、相関次元はある大きさの電位差(2乗値で約0.03V)を境にして相関積分の値が埋め込み次元に対して大きく変化するようになり、相関積分の折れ曲がりが見られる。このような相関積分の折れ曲がりにはHenon-mapにノイズを入れたA. Ben-Mizrachiらの数値実験に見られる³⁾。また図2の変化の小さな部分(電位差の二乗値で0.02V~0.2Vの範囲)は $d=2\sim7$ までほとんど相関次元の変化をもたらさないし、 $d=10, 15$ でもその変化は小さい。また高自由度力学系あるいは熱ゆらぎに対して、相関次元は埋め込み次元が大きくなるにつれて大きくなり、発散してゆくことも知られている⁴⁾。

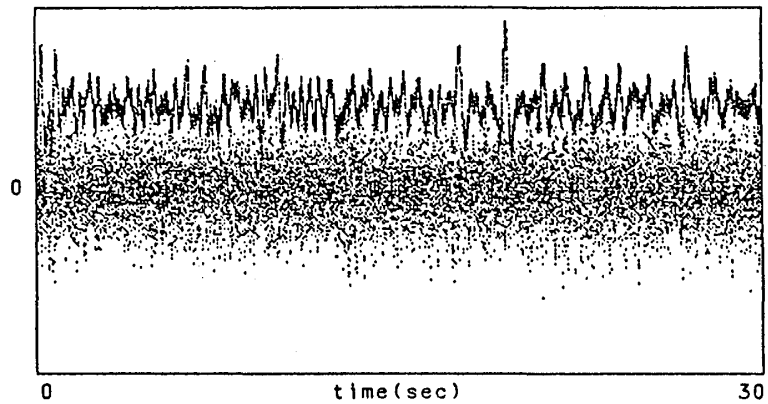


図1. ゴウリムシ膜電位ゆらぎの測定例
上側がゴウリムシ膜電位、下側は微分回路を通した微分波形である。サンプリング間隔2 m sec, 15000 サンプルポイント, サンプリング時間30 sec, 外液は標準液(1 mM KCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM Tris-HCl, pH7.0, 液温22℃)である。

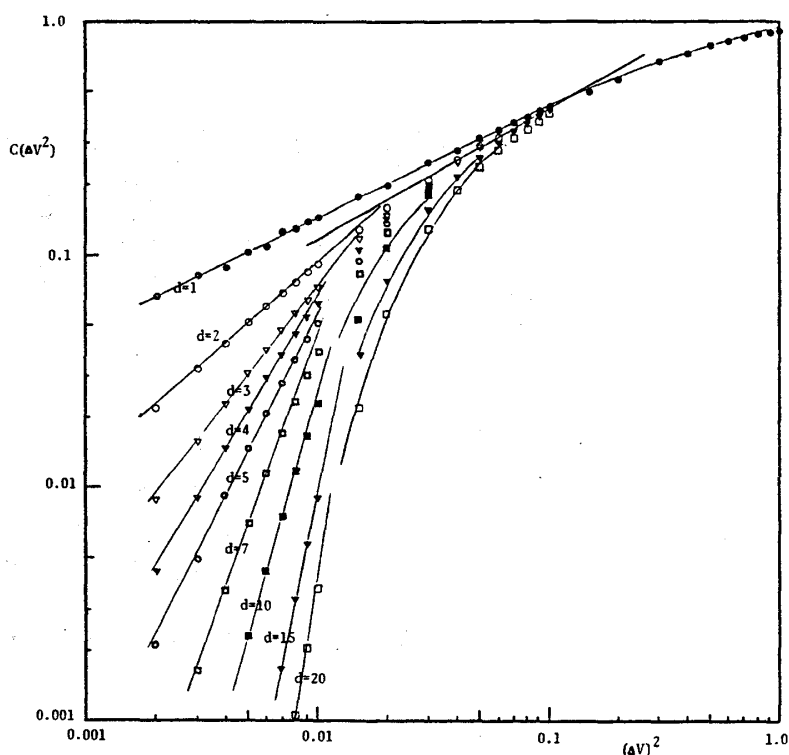


図2. ゾウリムシ膜電位ゆらぎの相関積分
縦軸が相関積分の値，横軸は電位差の二乗値である。図中に現れる
 d の値は埋め込み次元を表わす。

電位ゆらぎの小さな部分の相関次元が埋め込み次元に対して発散していることを見たのが図3である。図3の中には自由度の小さな部分の相関次元の変化も併せて示されている。

前述の A. Ben-Mizrachi らの結果を傍証として，われわれは図1に示されたゾウリムシ膜電位ゆらぎを次のように解釈した。

“観測されたゾウリムシの膜電位ゆらぎは自由度2の力学系と熱ゆらぎ又は非常に多数の自由度をもつ力学系により生み出されたゆらぎの重ね合わせである。”

われわれはゾウリムシ膜電位ゆらぎの中に小数自由度で記述できる力学系があることを知った。この力学系の自由度は，ミクロなイオンチャネルの開閉による電位変化を粗視化した結果であると考えられる。このような観点に立つと，関与するイオンチャネルの種類あるいは数が変われば巨視力学系の自由度も変わることが期待される。ゾウリムシの膜電位変化を担うイオンチャネルにはカルシウムチャネルとカリウムチャネルの二種類があり，また外液

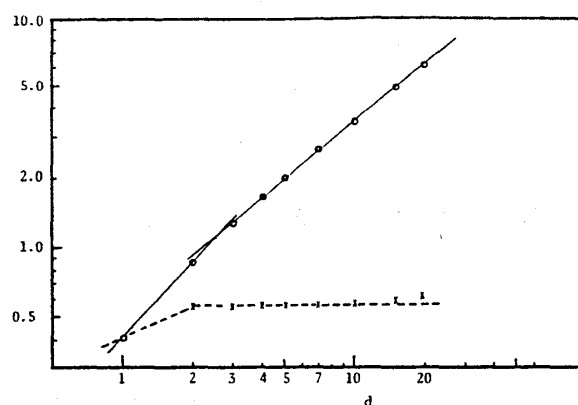


図3. 相関次元の埋め込み次元に対する変化
発散しているのが小さな電位差部分の相関次元，またほとんど変化しないのが小数自由度に対応する相関次元である。

中のカルシウムイオン濃度が変わると電位ゆらぎが変化することが知られている。われわれは外液のカルシウムイオン濃度を低くすれば相対的にカルシウムチャンネルの寄与が変わるので、ゆらぎの巨視的自由度も変化することを期待して1/16に外液のカルシウム濃度を下げた電位ゆらぎを更に解析した。

われわれの実験結果のいくつかをまとめた表1からわかるように、ゾウリムシの膜電位ゆらぎを記述する自由度の成分は外液のカルシウム濃度を下げたときに自由度2から1へと減っていることがわかる。

表1 Grassberger-Procaccia法によるゾウリムシ膜電位ゆらぎの解析結果

Data	Sampling interval	Condition	高自由度領域			低自由度領域		
			自由度	領域	divergence	自由度	領域	相関次元
5/29 '86 No. 5	2 msec	標準液 pH7.0, 22°C	∞	$\Delta V < \sim \sqrt{0.03}$	$d^{0.823}$	2	$\sim \sqrt{0.02} < \Delta V < \sqrt{0.2}$	1.18
						1	$\Delta V > \sim \sqrt{0.2}$	0.880
11/21 '86 No. 5	4 msec	標準液 pH7.0, 19.6°C	∞	$\Delta V < \sim \sqrt{0.008}$	$d^{0.533}$	2	$\sim \sqrt{0.007} < \Delta V < \sqrt{0.02}$	0.896
						1	$\Delta V > \sim \sqrt{0.02}$	0.696
11/21 '86 No. 7	4 msec	$[\text{Ca}^{2+}] : [\text{K}^{+}]$ = 1/16 : 1 pH7.0, 19.6°C	∞	$\Delta V < \sim \sqrt{0.02}$	$d^{0.498}$	1	$\Delta V > \sim \sqrt{0.02}$	0.900

更に多くの実験的検証を必要とするが、ゾウリムシの行動を支配する電位変化の巨視的自由度は環境によって変化することが期待される。

参 考 文 献

- 1) 内藤 豊：蛋白質・核酸・酵素 28 (1983) 567—583
 - 2) P. Grassberger and I. Procaccia: Phys. Rev. Lett. 50 (1983) 346—349
 - 3) A. Ben-Mizrachi, I. Procaccia and P. Grassberger: Phys. Rev. 29A (1984) 975—
 - 4) J. Holzfuss and G. Mayer-Kress: *Dimensions and Entropies in Chaotic Systems* (1986) Springer-Verlag pp. 114—122
- P. Grassberger and I. Procaccia: Physica 13D (1984) 34—54