

ミドリムシ生物対流の局在構造ダイナミクスの解析

広島大学大学院理学研究科

庄司 江梨花、泉 俊輔、西森 拓、栗津 暁紀、飯間 信

Erika Shoji, Shunsuke Izumi, Hikaru Nishimori, Akinori Awazu, Makoto Iima

Graduate School of Science, Hiroshima University

1. はじめに

流体中の微生物懸濁液は生物対流と呼ばれる秩序パターンを形成することがある。その際、熱対流と同じような複雑なセル状パターンが観察される。熱対流とは異なり、生物対流は微生物個々の様々な走性と周りの流体効果により発生する。形成されるパターンは単位容積あたりの微生物数の平均値や容器の深さによって異なってくることが様々な生物で知られている。本研究では走光性を示すミドリムシの生物対流を取り扱う。

ミドリムシは幅 $10\mu\text{m}$ 、長さ $50\mu\text{m}$ 程度の感光性鞭毛虫である。 $200\text{W}/\text{m}^2$ よりも弱い光に対して正の走光性、強い光に対して負の走光性を示す。ミドリムシは鞭毛運動とユーグレナ運動というミドリムシ特有の収縮運動の二種類の運動を行う。

ミドリムシ懸濁液に下から強い光をあてるとミドリムシ個体は負の走光性を示し界面付近に集まる。ミドリムシ個体の比重は水より大きいいため界面付近の領域は密度不安定（レイリーテイラー不安定）によりミドリムシ集団の一部は下に落ちる。落ちた領域のミドリムシは走光性により再び界面付近に泳ぎだす。このようにして対流は形成される。ミドリムシ生物対流は局在したパターン(図 1)を示すことが末松らによりはじめて報告された[1]。

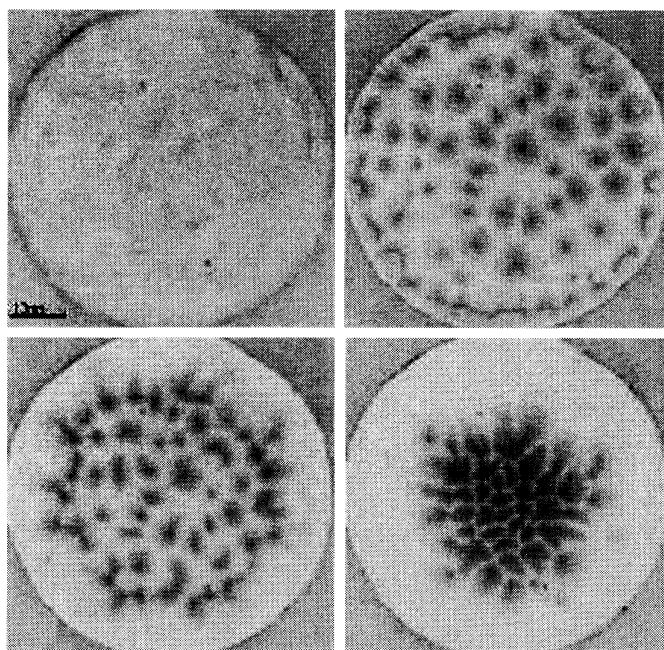


図 1 ミドリムシ生物対流の局在の様子

左上: 5sec, 右上: 60sec, 左下: 150sec, 右下: 600sec

この局在パターンからも予想されるように、ミドリムシ生物対流には独自のパターン生成維持機構があると期待出来る。本論文ではその機構を明らかにしてまだ明らかになっていない基礎方程式の特定につなげるために、対流構造および系の数理的構造に着目した実験結果について報告する。まず、構造を簡単にするために周方向に周期境界条件を設定し、動径方向の幅を狭くした容器を準備した。この容器を用いてミドリムシ対流の時空間パターンを作成すると、反応拡散系におけるパルスダイナミクスのようなパターンが見られた。このような局在対流の時空間構造の形成を理解するため、次の二つの視点から実験した。一つ目は流体力学的な観点から、微生物の周囲の流れと集団運動の可視化実験を行った。二つ目は数学的な観点から、マクロスケールパターンの分岐構造に関連する対流発生の臨界密度点付近の双安定性を調べた。また、ミドリムシの走光性応答を調べ、水平方向の光強度勾配と数密度の関係について調べた。

この論文は以下のように構成される。2章では周期境界条件を設定した容器での実験のセットアップと、初期空間濃度分布をかえて実験を行った時の局在対流相互作用について述べる。3章ではミドリムシの体表周りでの流れ場と集団運動中の流れ場について述べる。4章では生物対流の双安定性、走光性について述べる。

2. 実験手順と局在対流相互作用

図1のような容器では二次元的な広がりをしているので対流構造が複雑となり、解析することが難しい。そこでまず境界条件を簡単にするために、周期境界を設定した容器を使って実験した。外径 25mm、内径 20mm のリング状の容器（図 2(a)）で周方向の周期境界を設定し、実験を行った。この容器に対して水平方向からの光は遮断し、下方向から光を照射した。図 2(b)はこの容器を上から撮影している。右上の部分は実際に局在対流が発生している様子を表す。なお、以下の実験では深度は 5 mm に固定して行った。

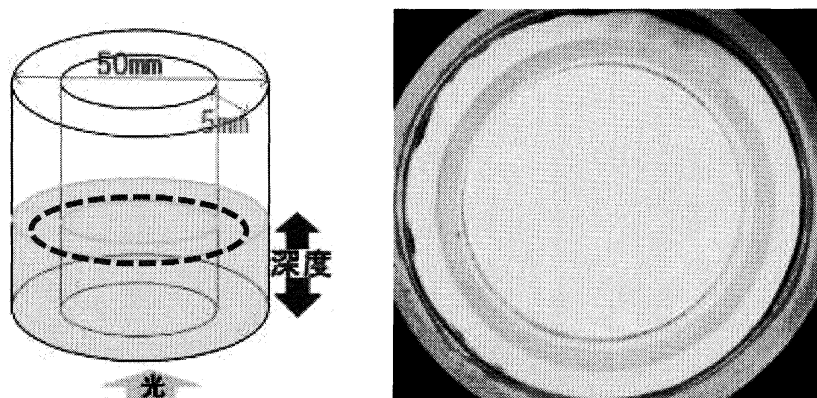


図 2 (a)周期境界を設定した容

(b) 上から見た図

図 2 の容器を使い、初期条件として、対流が 1 つできる程の量のみドリムシを空間的に 1 ヲ所 (平均数密度 $0.8 \times 10^5 \text{ cells/ml}$) 又は 2 ヲ所 (平均数密度 $1.6 \times 10^5 \text{ cells/ml}$) 局在させ、図 2 の点線部、周方向の時空間パターンを作成した。初期条件として 1 ヲ所に分布させたものは、一方向に動くパターンや途中で向きを変えるパターン (図 3 (a))、複雑な構造 (図 3(b))、消滅するケースがみられた。図 3(a),(b) は約 6 時間分の時空間パターンである。2 ヲ所に分布させたものは、2 つの対流が結合したり (図 3(c))、結合するが独立に存在する場合 (図 3(d)) や、空間的に局在しているが複雑なパターンを形成する場合がみられた。図 3(c),(d) は約 3 時間分の時空間パターンである。二種混合流体の熱対流実験においても様々な局在構造間相互作用が見られることが知られている [2]。

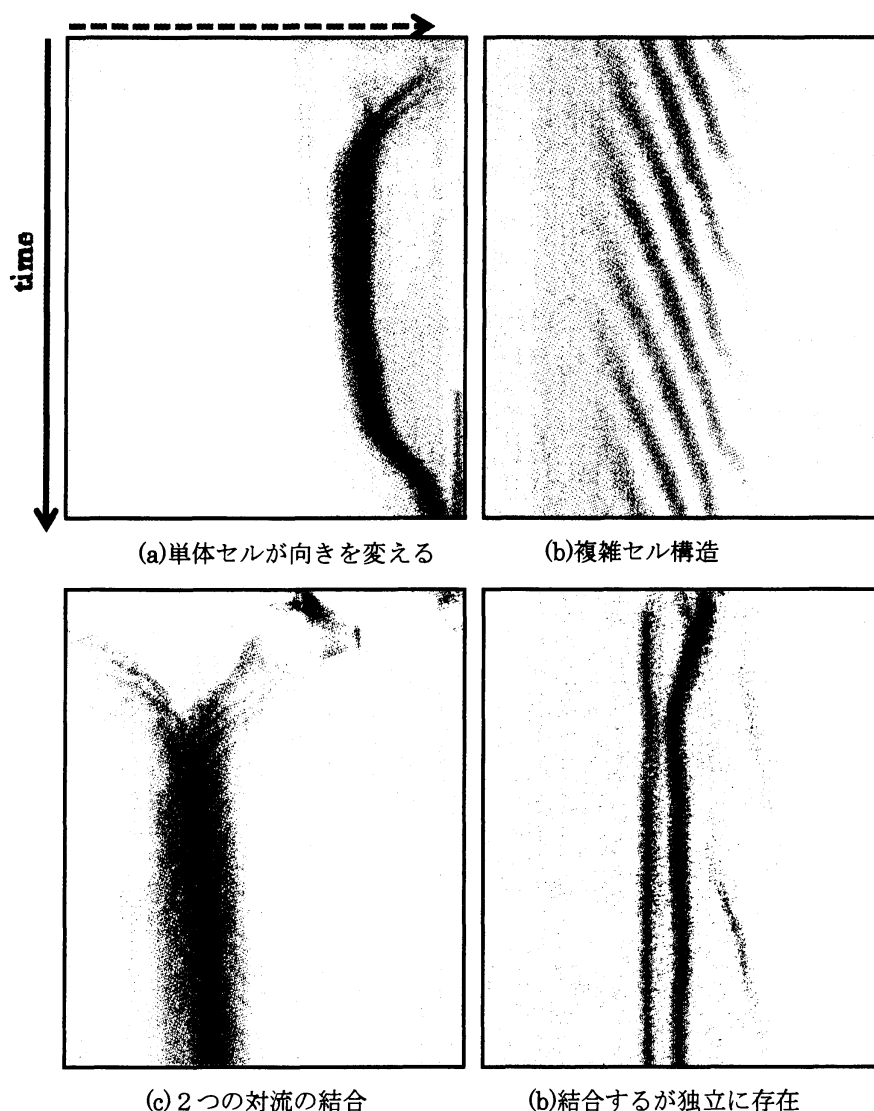


図 3 初期条件としてミドリムシ集団を分布させたときの時空間パターン

3. 流れ場

ミドリムシ生物対流を調べるにあたって、ミクروسケールでのミドリムシの挙動を知ることがその拡散特性やレオロジー特性を理解するうえで大切であると考えられる。そこでまずミクروسケールでの流れを調べた。ミドリムシ懸濁液を粒径が $1\sim 5\mu\text{m}$ の牛乳と混ぜて微分干渉顕微鏡を用いて観測した。ミドリムシが自由遊泳している様子を撮影し、PIV法で流れ場を解析したところ図3(a)のようなで鞭毛による駆動力と体を受ける抵抗力がぶつかる“Puller type”であることがわかった。“puller type”の理論的なモデルは、ストークス方程式[3]

$$\nabla p - \mu \nabla^2 \mathbf{v} = \mathbf{F}, \quad \nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \quad (2.1)$$

($p, \mathbf{v}, \mu, \mathbf{F} = \mathbf{e}_x \delta(\mathbf{x})$) はそれぞれ、圧力、流速、粘性率、および単位質量あたりに働く外力)の基本解の一つであるストークスレットを二つ重ね合わせた場(図3(b))である。このモデルは周囲の流れを定性的に説明できると考えられる。

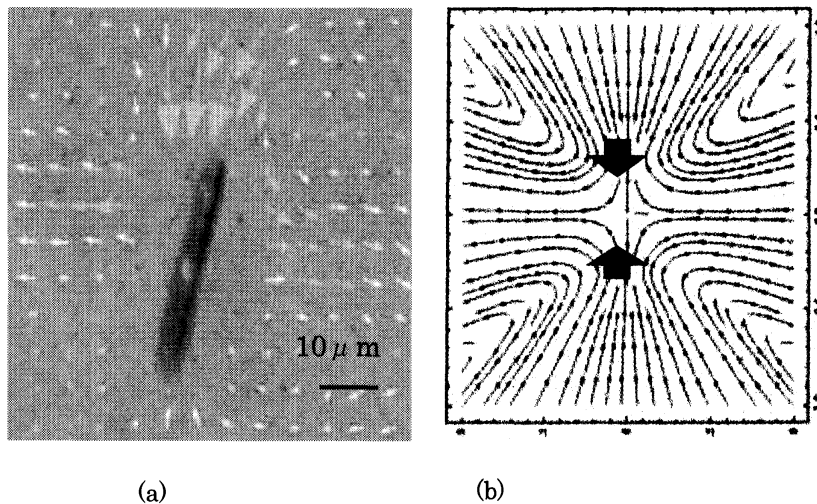


図4 (a) PIV法による体表周りの流れ場(b)puller typeの理論モデル

対流の構造をみるために、生物対流のミドリムシ集団落下点付近をマクロレンズを使って撮影し、微生物の集団運動をPIVで解析したものが図5である。図5はミドリムシ平均速度の密度流をPIV処理したものであり、図の中央付近が落下点近傍であることが分かる。この領域では強い下降流が形成されていると考えられ、全体としては熱対流と類似したロールパターンが見られる。

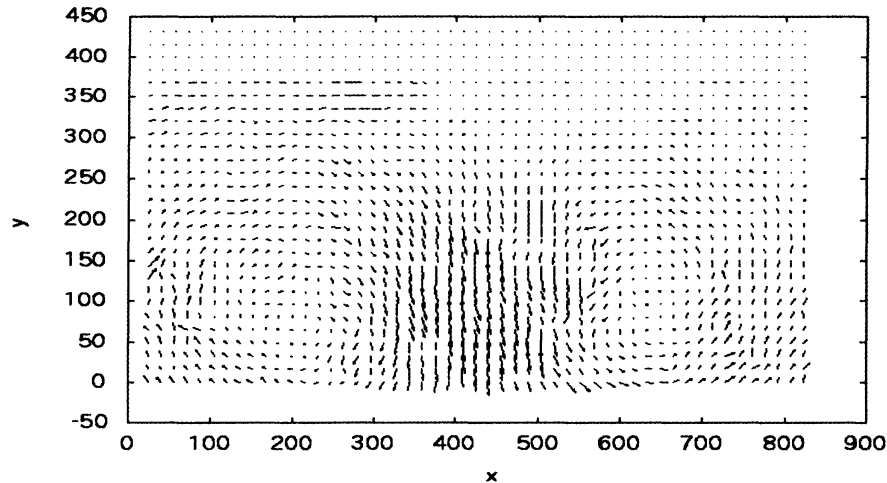


図5 落下点付近のミドリムシの挙動

4. マクロスケールでの生物対流の数学的特徴

4.1 生物対流の双安定性

局在構造をもつ例として水とアルコールの混合物のような二種混合流体の熱対流があげられる[4]。この系では定常局在解、また局在進行波とよばれる局在した対流セルからなる複数の解が存在する。局在構造を持つ理由としては、この系が熱伝導状態と一様対流状態の両方を双安定とするようなパラメータ領域があることが重要であると考えられる。しかし生物対流において双安定性が実験的に報告された例はまだないようである。

空間局在構造と定常状態の双安定性には何らかの関係があると考えられる。そこでミドリムシ生物対流発生の臨界密度が初期条件にどの程度依存するかを調べた。対流が発生する臨界値近くの平均数密度 ($0.4 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^5 \text{ cells/ml}$) の懸濁液に対して、初期状態を二種類設定した。数密度分布が一様であるもの (Case1)、そして数密度分布が非一様になるよう、一カ所 (幅 5mm 程度の領域) にミドリムシを集めた状態にしたもの (Case2) である。これらの初期状態に対して 50 分後の対流発生の有無を調べた。対流発生を調べるため、実験容器を上から撮影し、リング領域の中央となる円周上 (図 2(a) の点線部) の輝度を 0 から 255 の間の数値で表し、その標準偏差により局在性を見積もった。図 6 では濃度 $0.7 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ のときの対流発生の時間発展と標準偏差の関係の典型例を表している。Case1, Case2 から対流が発生するものと発生しないものをそれぞれ一つずつ取り出した。標準偏差の値が大きければ対流ができており、小さいものは対流が発生していない。Case1 の値が大きい方は、初めは対流がなかったが、徐々に対流が発生している様子を表している。Case2 の値が小さい方は、初期濃度分布を変えて行ったものなので、最初はミドリムシが一カ所に集まっているので標準偏差が大きくなるが、やがて値が小さくなるので対流が発生していない。この図からもわかるように、対流発生の有無は 30 分あれば決まるので、50 分後の対流発生の有無を調べた。対流発生頻度を平均数密度の関数として表したものが図 7 である。この図から平均数密度が $0.5 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ から $0.9 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ の区間では

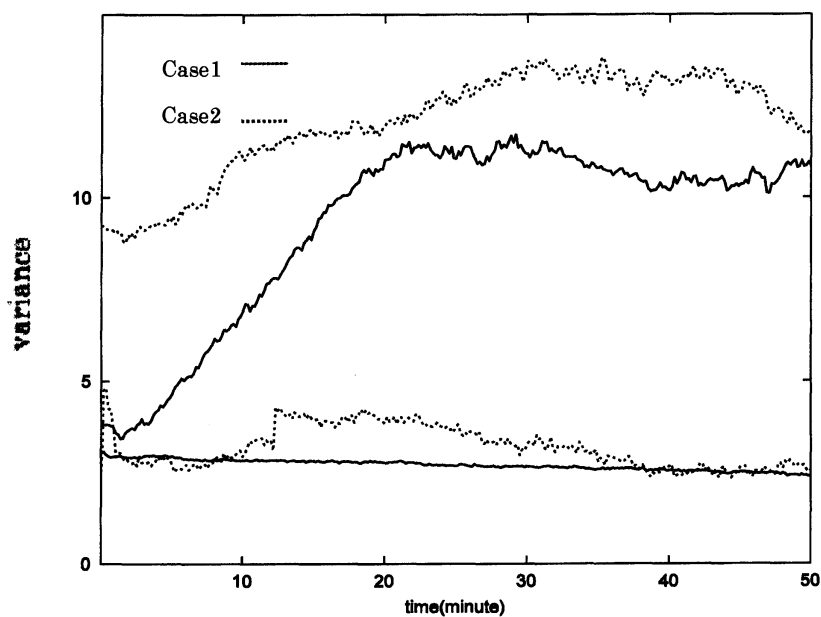


図6 濃度 $0.7 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ のときの時間発展と標準偏差の典型例

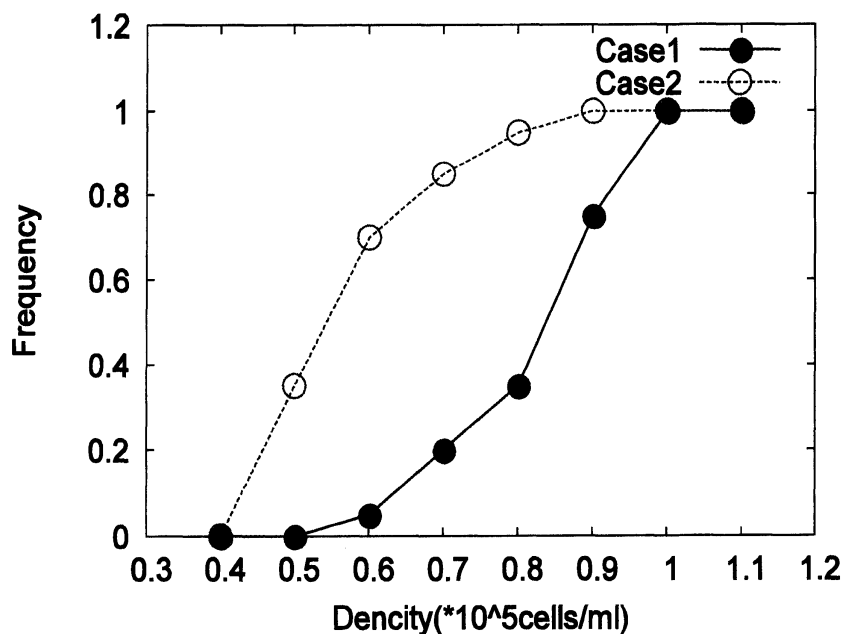


図7 双安定性のグラフ

Case1 と Case2 では大きな差があるため、対流発生は初期の数密度の空間分布に依存し、双安定であることが示唆される。このデータに関してフィッシャーの正確確率検定を行うと、帰無仮説 H を Case1 と Case2 には関係性がない（独立である）とすると、平均数密度 $\rho = (0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9) \times 10^5 \text{ cells/ml}$ で H が成立する確率はそれぞれ (6.37×10^{-2} , 3.93×10^{-5} , 3.60×10^{-4} , 1.28×10^{-5} , 4.71×10^{-2}) であるので密度が $0.6 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ から $0.8 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ の時、危険率は 1% 以下となる。したがって帰無仮説は棄却され、Case1 と Case2 は独立ではないことがわかる。

4.2 走光性による集団運動

これまで走光性のモデルとして、感光性藻類に対して垂直方向の走光性影についてのモデル[5,6]などが調べられてきた。垂直方向の走光性を踏まえたモデルのみが考えられ、水平方向の走光性は考えられていない。ミドリムシ生物対流は空間局在するという性質から、ミドリムシは互いの体で影をつくり、局在対流を形成すると考えられる。 n を数密度、 J を流束とすると、数密度の保存則は

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \frac{\partial J}{\partial x} = 0. \quad (4.1)$$

ここで、水平方向の走光性を仮定し、その流速が光強度の勾配と数密度に比例すると仮定する。全体の流速はこれに拡散効果を付け加えたものと考え、 $J = (\text{水平方向の走光性}) + (\text{拡散})$ とする。具体的な形は β を時定数、 I を光強度とし、

$$J = \frac{1}{\beta} \left(f(I)n \frac{\partial I}{\partial x} - \frac{\partial n}{\partial x} \right) \quad (4.2)$$

とする。定常状態のとき $J=0$ であるから、

$$\frac{n_x}{n} = f(I) \frac{\partial I}{\partial x} \quad (4.3)$$

今回の実験では $\frac{\partial I}{\partial x} = \gamma$ ($const$) と設定する。この場合 $\frac{1}{\gamma} \frac{n_x}{n} \cong f(I)$ より、 $n(x)$ を求めることで、 $f(I)$ が求まる。そこで光強度を空間的に変えた場での定常的な数密度分布を求めた。なお文献[5]のモデルでは、光強度と数密度の間の関係は

$$I(x) = I_0 \exp(-\alpha \int_z^0 n(x,t) dz) \quad (4.5)$$

と仮定されているので、 $\frac{\partial I}{\partial x} = \gamma$ の場合は n_x が一定となり、 n は空間的に線形に決まる。

x 方向に光強度を段階的に変えた場の上に希薄な(平均数密度 10^5 cells/ml 以下) ミドリムシ懸濁液をいれた長さ $5 \times (\Delta x + 2)$ mm、幅 5 mm、高さ 2 mm の密閉セルを設置し 2 時間放置して定常状態を作り、ミドリムシの数密度の位置(光強度)依存性を測定した。 Δx は明度ごとの領域を表しており、今回の実験では $\Delta x = 5$ mm と設定した。ミドリムシの概日リズムによる影響を排除するため実験は夜間の同じ時間帯(19 時から 23 時)に行った。図 8 に $\Delta x = 5$ mm のときのミドリムシの定常数密度分布のグラフを示す。点が実際に場所依存した光強度のもとで数密度を測定したデータである。横軸は空間に依存した光強度である。ある光強度で極大となっていることがわかる。このデータから分布をガウス関数で近似させたものが赤線部である。同様に $\Delta x = 3$ mm, 7 mm のときも同様の分布を得ることができた。この $n(I)$ から、式(4.3)を用いて $f(I)$ を求めることができる。 $f(I)$ より、光強度がおおよそ 380 lux までで正の走光性を示し、380 lux よりも大きいところでは負の走光性を示すことがわかる。

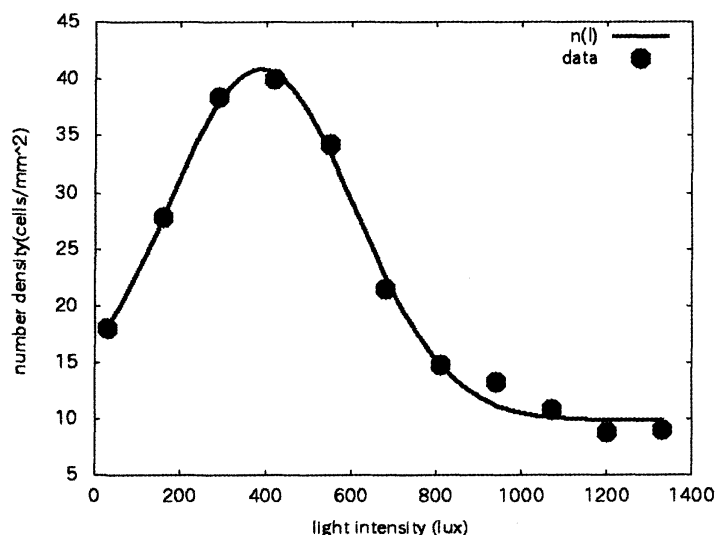


図 8 $\Delta x=5\text{mm}$ のときの場所依存した光強度に対する数密度

5. まとめ

局在するミドリムシ生物対流の数理解造を調べる実験を行った。パターンの解析を容易にするため、周方向に周期境界条件を設定した容器をつかうと、単体セルであると対流セルが一方方向に動いたり途中で向きを変えたり複雑な構造を持つ様子、複数対流セルだと衝突が結合、結合するが独立に存在したり、パルスダイナミクスのようなパターンが見られた。この対流構造を調べるため、流体力学的に流れ場の解析と、数理解造についての解析を行った。ミドリムシの体表周りの流れ場は *puller type* であることがわかった。また、対流中の集団運動として、落下点付近でのミドリムシの挙動を観察したところ、熱対流のようなセル状パターンが観測された。生物対流の数理解造について、局在対流は初期濃度分布に依存しており、双安定であることが示唆される。ミドリムシの光応答に関して、数密度はある光強度領域で極大となっていることがわかり、走光性を表す関数を導出した。

走光性の情報から数密度流速の数理解造モデルが作れば、ミドリムシ生物体流の支配方程式が得られると期待できる。実験で得られている空間局在構造を説明できるような支配方程式の導出が今後の課題である。

本研究課題の一部は、科学研究費(23540433)および CREST(PJ74100011)の補助を受けたものである。

[参考文献]

- [1] N. J. Suematsu, A. Awazu, S. Izumi, S. Noda, S. Nakata and H. Nishimori ; Localized Bioconvection of *Euglena* Caused by Phototaxis in the Lateral Direction, *Journal of Physical Society of Japan*, **80** (2011) 064003

- [2] P. Kolodner:, Collisions between pulses of traveling-wave convection, *Physical Review A*, **44** (1991) 6466–6479.
- [3] 神部勉: 流体力学, (裳華房,1995).
- [4] T. Watanabe, M. Iima and Y. Nishiura, Spontaneous formation of travelling localized structures and their asymptotic behaviour in binary fluid convection, *Journal of Fluid Mechanics*, **712** (2012) 219-243.
- [5] Vincent, R. V. and Hill, N. A. 1996. Bioconvection in a suspension of phototacticalgae. *Journal of Fluid Mechanics*, 300,
- [6] N. A. Hill and T. J. Pedley, “Bioconvection,” *Fluid Dyn. Res.* 37, 12005.