

走光性微生物が示す局在対流の生成機構とダイナミクス

Formation mechanism and dynamics of localized
bioconvection by photosensitive microorganisms

庄司 江梨花, 末松 信彦^A, 泉 俊輔,
西森 拓, 栗津 暁紀, 飯間 信
広島大学 明治大学^A

Erika Shoji, Nobuhiko Suematsu^A, Shunsuke Izumi,
Hiraku Nishimori, Akinori Awazu, Makoto Iima
Hiroshima University, Meiji University^A

1 Introduction

運動性のある生物には外部刺激に対して反応するものがある。外部刺激に方向性があった場合、生物はその刺激に対して近づいたり遠ざかったりし、これを走性という。微生物の走性には様々な種類があることが知られており、重力によっておきる重力走性 (gravitaxis)[1] や、粘性と重力とのトルクによって起きる gyrotaxis[2, 3]、光によって起きる走行性 (phototaxis)[3, 4, 5] が知られている。微生物は集団になることで周囲の環境によっては生物対流とよばれる数ミリスケールの巨視的な濃淡パターンを形成することがある。そのパターンは様々な形状をしており、線状やポリゴン状、熱対流系と類似したセル状のドットパターン等が知られている。パターンを駆動する機構は熱対流系の場合は浮力であるのに対して、生物対流では微生物個々の様々な走性による集団運動の特性である。形成されるパターンは微生物の平均数密度や容器の深さ等に依存することが様々な微生物で知られている。本研究ではミドリムシが走光性により形成するパターンについて扱う。

ミドリムシ (*Euglena gracilis*) は幅 $10\mu\text{m}$ 、長さ $50\sim 100\mu\text{m}$ 程度の感光性鞭毛虫である。ミドリムシの遊泳は不当な環境下からの逃避が主たる動機である。 $100\text{W}/\text{m}^2$ よりも弱い光に対して正の走光性 (光に近づく性質)、 $200\text{W}/\text{m}^2$ より強い光に対して負の走光性 (光から逃げる性質) を示す。正と負の走光性の閾値は、ミドリムシの光合成の飽和光量にほぼ等しい。ミドリムシは広い範囲の光条件に

適応することが可能であり、環境に適応すると通常個体は螺旋機動を描きながら前方へ直線的に移動する。しかし、ある環境に適応した個体の前方が急に暗くなると、細胞はその鞭毛の位置を細胞の長軸に平行な位置から垂直な状態に動かし、方向転換を行う。これを性の光驚動性反応 (step-down photophobic response) とよぶ。方向転換によって明るい方向へむかうか、その環境に適用するまで転換を繰り返す。また、前方から強い光をうけて場合も同様に方向転換を行い、これを負の驚動性反応 (step-up photophobic response) という [6]。ミドリムシの光受容期間は眼点と副鞭毛体が考えられる。眼点は赤色の部分で (図 1)、以前はこの眼点によって光を感知していると言われていたが、実際は副鞭毛体が感知し、眼点はこの副鞭毛体に影をつくる役割をしている。

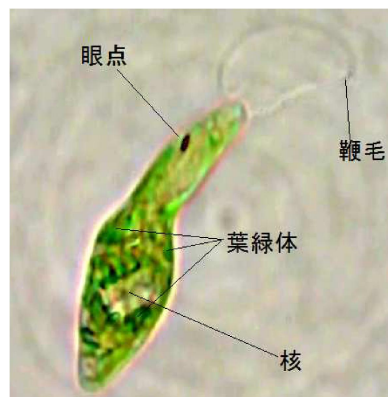


図 1: ミドリムシ

ミドリムシ懸濁液に下から一様な強い光をあてた場合、ミドリムシの生物対流は以下のように形成される。まず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数パーセント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再び走性によって界面付近に向かい泳ぎだす。このような走性による微生物運動と流れの相互作用によるスケール間相互作用によって対流パターンは形成される。ミドリムシ生物対流は空間局在したパターンを示す点が他の微生物にはない特異な点である [7]。これまでの研究 [10] として、局在するミドリムシ生物対流の単位構造を明らかにするため、リング状の周期境界を設定した容器を用いて、実験を行った。初期条件を工夫することで、生物対流が1つのセルになって動く様子や、traveling wave のような構造が見られた。この擬一次元的なパターンに加えて、最近では2次元的に動く様子が観察されている。

こういった局在構造を生み出す機構としては、負の走光性による鉛直方向の数密度流束に加えて、水平方向にも何らかの走光性による数密度流束が存在すると考えられる。これらの走光性特性の定量的な計測が必要であるが、これまで十分な計測は行われていなかった。

本論文では、前述のような個体レベルの走光性特性ではなくミドリムシ懸濁液

のマクロな走光性特性を定量的に計測することを目的とし、実験を行った。まず、他の微生物の走光性であつかわれているような光応答関数をミドリムシに対して調べた。次にミドリムシ数密度の水平流束が水平方向の光強度勾配に比例することを検証し、その特性を調べた。また走光性と微生物自身がつくる影の関係を調べるため、ミドリムシの葉緑素欠損株(白ミドリムシ)の生物対流特性と走光性特性を調べた。

2 光応答関数

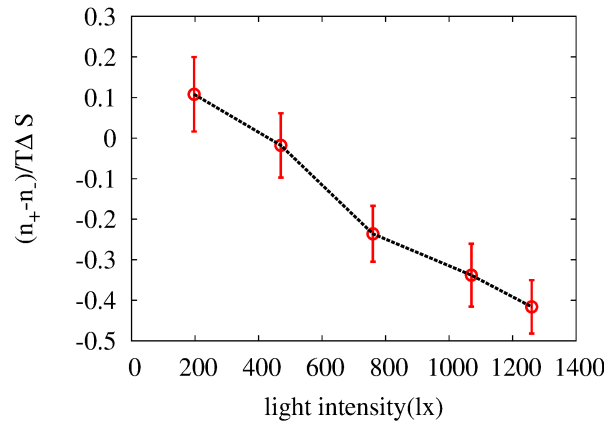
これまでの生物対流の走光性モデルとしては、感光性藻類の光線方向への走光性を考慮したモデル[8]等が考えられてきた。このモデルでは、微生物数密度流束が数密度に比例し、その比例係数は光強度 I で定まる関数 $T(I)$ で決定される。つまり、微生物は位置での光強度に依存した走光性を示す。ミドリムシに関してこの関数を実験的に求めるため、以下のような実験を行った。なお、ミドリムシのこの関数はミドリムシの進む方向と角度から導出されているが[11]、今回の実験では角度ではなく、微生物の移流より調べた。

キャピラリ(容量:1 μ l、長さ:30mm)にミドリムシ懸濁液(濃度=平均数密度): 5.0×10^5 cells/ml)を入れ、水平に設置する。キャピラリの先から10mm離れた断面 ΔS を計測面とする。このキャピラリの一端からハロゲン光を水平に入れ、光をあて始めてから30秒間静置する。その後 $T(=30)$ 秒間、微生物がこの面を横切って光源方向に進む数(n_+)と逆方向に進む数(n_-)をそれぞれ数えた。数密度流束を単位時間、単位面積辺りにこの面を横切って光源に向かう微生物の数と定義すると、それは $(n_+ - n_-)/(T\Delta S)$ で与えられる(ΔS はキャピラリの断面積=容量/長さ)。光源に近づいていく場合を正、遠ざかる場合を負としている。

図2に光強度と $(n_+ - n_-)/(T\Delta S)$ の関係を示す。 $T(I)$ はこの量を平均数密度で割ったものとなる。光強度が400lux付近で $T(I)$ の符号が変わり、400lux以下では正の走光性、400lux以上では負の走光性を示している。

3 2領域での光強度勾配による応答

Vincent and Hill のモデル[8]では、走性は鉛直方向にのみ働き、その強さは局所的な光強度に依存していると考えており、水平方向の光強度やその勾配にはよらないものとしている。しかし、ミドリムシの場合線形の光強度勾配を与えた系ではちょうど走光性の符号が逆転する辺りの領域にミドリムシが集中することがわかっている(4章参照)。このことから水平方向の数密度流束は光強度の勾配に依存すると予想される。そこでまず微生物数密度と光勾配の関係性について調べるため以下の実験をおこなった。

図 2: $T(I)$

3.1 実験方法

キャピラリ (容量: $1 \mu l$, 長さ: $30mm$) にミドリムシ懸濁液 (濃度: $2.5 \times 10^5 cells/ml$) にミドリムシ懸濁液をいれ、中央 ($x = 0$) を境に左半分 (領域 1) と右半分 (領域 2) で異なる強さの光をキャピラリと垂直に当てる。 $x = 0$ の近傍を ($|x| < \Delta$) とすると近傍を除く領域ではそれぞれ環境は一樣と考えられる。30 分放置して定常状態をつくりキャピラリの中央をカッターで切断し領域 1 (左側) と領域 2 (右側) にわけ、それぞれの領域のキャピラリ内液体をガラス板の上に滴下した。その滴下した液体の中の微生物数密度 (領域 1 を n_1 、領域 2 を n_2) をマクロレンズを用いて撮影し、それぞれの領域での微生物数密度を測定した。

十分希薄な懸濁液の場合、水平方向の流束を左右の光強度に依存する効果と拡散の和と仮定し、流束 J を $J = J_p + D \frac{dn}{dx}$ とする。平衡状態で $J = 0$ なので、区間 $[-\Delta, \Delta]$ で J を積分すると、

$$0 = \int_{-\Delta}^{\Delta} J dx = \int_{-\Delta}^{\Delta} J_p dx - D(n(\Delta) - n(-\Delta)) \quad (1)$$

$$= \int_{-\Delta}^{\Delta} J_p dx - D(n_2 - n_1) \quad (2)$$

区間 $|x| < \Delta$ での J_p の平均を $\bar{J}_p$ とすると、

$$0 = 2\Delta \bar{J}_p - D\Delta n, \Delta n = n_2 - n_1 \quad (3)$$

ここで、 $\bar{J}_p$ は Δn から測定できるので、 Δn と $\Delta I = I_1 - I_2$ の関係を調べた。

3.2 結果

図 3、4 では、 $\bar{I} = 160, 680$ のときの ΔI と Δn の関係を示す (4 章で光勾配の感知に関する式が $160 lux$ の場合正のピーク、 $680 lux$ の場合負のピークあたりをとる

ので、この値を採用している)。この結果、 ΔI と $\frac{\Delta n}{n}$ は線形の関係であり、 $\overline{J_p}$ は $n\nabla I$ に比例し、光強度勾配に依存する事が示唆される。

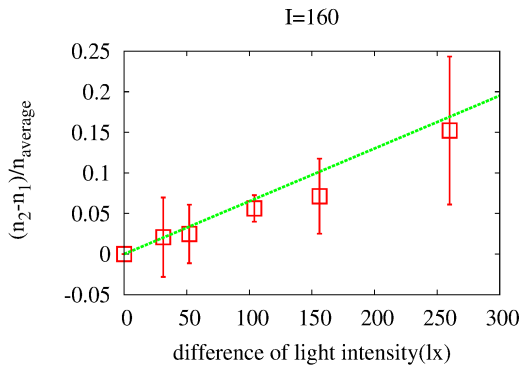


図 3: 160lux

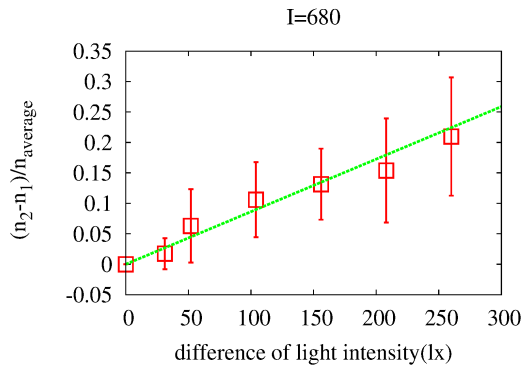


図 4: 680lux

4 光強度勾配への応答

これまで走光性による生物対流モデルとして、感光性藻類に対して垂直方向の走光性についてのモデル [8] などが調べられ、水平方向の走光性を考慮したモデル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があるが、白ミドリムシ生物対流は空間局在しないことが実験より明らかになっている (図5、6)。白ミドリムシはミドリムシから葉緑素を薬品を使って除去した微生物である。白ミドリムシは通常ミドリムシより吸光度が小さい (実験により、10 倍程度小さいことが確認されている。) ことからミドリムシの体に含まれる葉緑素が光を遮るため互いの体で影をつくり合い、その影による勾配を感知しながら水平方向に移動することで局在対流を形成する可能性が考えられる。ただし、白ミドリムシの走光性特性が通常ミドリムシと異なる可能性があるため、白ミドリムシの水平走光性特性が通常ミドリムシと同じであることを確認する必要がある。

以下の様な一次元モデルを考える。

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \frac{\partial J}{\partial x} = 0 \quad (4)$$

ここでは、水平方向の走光性を仮定し、その流束が光強度の勾配と数密度に比例するものとする (3章参照)。全体の流束はこれに拡散効果を加えた、 $J = (\text{水平方向の走光性}) + (\text{拡散})$ として、

$$J = D(f(I)n \frac{\partial I}{\partial x} - \frac{\partial n}{\partial x}) \quad (5)$$

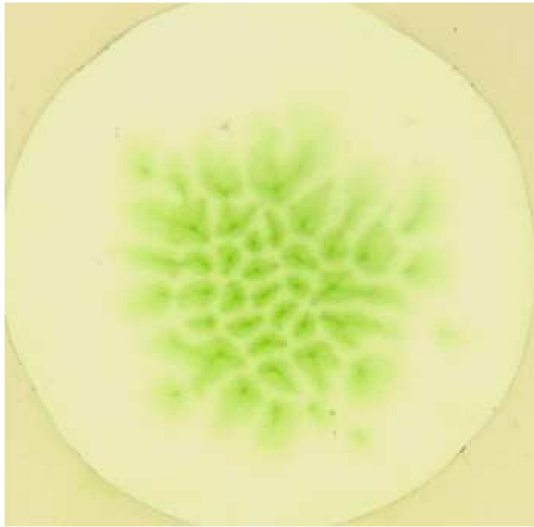


図 5: ミドリムシの生物対流

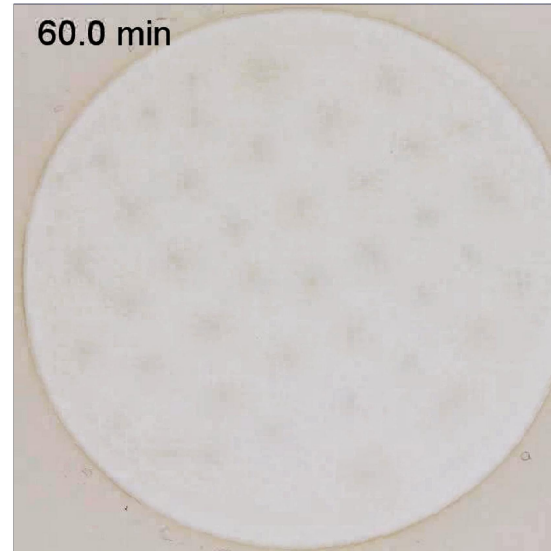


図 6: 白ミドリムシの生物対流

定常状態の時、 $J = 0$ であるから、

$$\frac{n_x}{n} = f(I) \frac{\partial I}{\partial x} \quad (6)$$

実験で $\frac{\partial I}{\partial x} = \gamma$ (定数) とすると、 $f(I) = \frac{1}{\gamma} \frac{n_x}{n}$ より、 $n(x)$ をもとめることで、 $f(I)$ が求まる。以上より、定常状態での線形な光勾配を与えた場でのミドリムシの数密度 (位置) 分布を以下のような実験で調べた。

4.1 実験

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 $0.5 \times 10^5 \text{ cells/ml}$) ミドリムシ懸濁液をいれた長さ $5(\Delta x + 2) \text{ mm}$ 、幅 5 mm 、高さ 1 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 $\Delta x = 5 \text{ mm}$ と設定した。懸濁液が希薄であることと高さが 1 mm であることから、密封セル内では局在対流は発生せず、かつ酸素勾配等に依存して微生物は移動しないものとする。 Δx ごとにマクロレンズを用いて 10 秒分撮影した動画の平均の数密度を測定し、その値を正規化し図にまとめた。

4.2 結果

光強度を線形に変えた場合の平衡状態における数密度を求めたものが図 7,8 である。ここでミドリムシの関数 $n_g(I)$ はガウス関数と定数の和

$$n(I) = a \exp(-b(x - c)^2) + d \quad (7)$$

$a = 0.107983$, $b = 1.03074 \times 10^{-5}$, $c = 304.506$, $d = 0.0516742$ でフィッティングした。

通常のみドリムシが n_g 、白みドリムシが n_w で示されている。この結果から、白みドリムシとみドリムシについてはほぼ等しい分布を与えることが分かり、両者には微生物個体の走光性特性は特に変わりはないため、局在対流の有無は色素の吸光度の違いによることが示唆される。

この結果より、みドリムシに対して

$$f(I) = \frac{1 - 2ab(I - c) \exp(-b(I - c)^2)}{\gamma \frac{a \exp(-b(I - c)^2 + d)}{}} \quad (8)$$

を求めたのが図9である。光強度がおよそ 305 lux までで正の走光勾配性を示し、 305 lux よりも大きいところでは負の走光勾配性を示すことがわかる。また、 1000 lux を超えると、値が0に近づいているのでそれほど光勾配を感知して動いていないことがわかる。

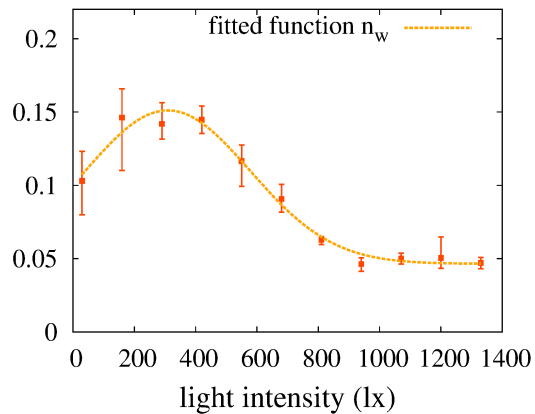
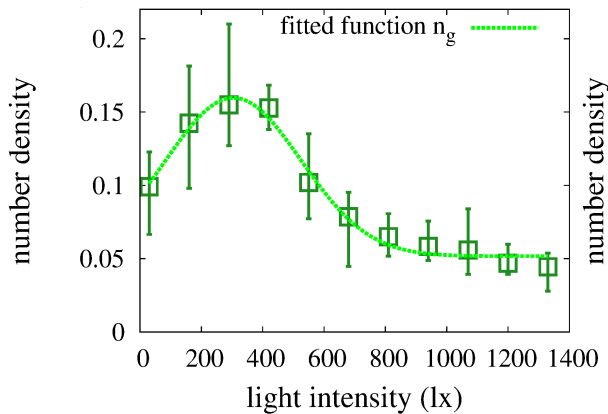


図 7: みドリムシの光勾配に対する数密度分布 図 8: 白みドリムシの光勾配に対する数密度分布

5 まとめ

この論文では、空間局在するみドリムシ生物対流についてその走光性特性を調べるために実験を行った。2章では感光性藻類の走光性モデルで扱われている位置光強度に依存した走光性関数 $T(I)$ を求めるため、様々な光強度に対する微生物セルの移流を調べた。400 lux 付近で走性の符号が逆になる結果を得た。3章では数密度と光強度の関係性を調べた。2つの異なる光強度の元での数密度の変化を調べた。 ΔI と Δn が線形であることが示唆された。4章ではみドリムシの光勾配関数導出のため、線形な光勾配下での数密度分布を調べた。白みドリムシとみド

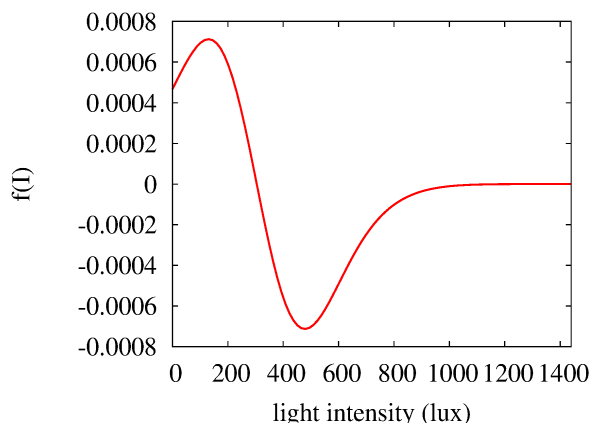


図 9: ミドリムシの光勾配関数 $f(I)$

リムシの分布を比較すると、それぞれ同様の分布であった。この結果からミドリムシは葉緑素などが影になることでこの影による勾配を感知しながら動いており、故に空間局在することが示唆される。この数密度分布からミドリムシの光勾配関数を導出した。300lux 付近で正負の符号が逆転しており、1000lux 以上では値が 0 に収束した。

今回求めた走行性の情報より、数密度流束の数理モデルがつくれれば、ミドリムシ生物対流の支配方程式が導出できることが期待できる。今後はこれらの安定性解析をしていることが課題としてあげられる。また、現在簡単なモデルを検証しているが、実験で得られている空間局在やその特性を再現できる支配方程式を導出したい。本研究課題の一部は、科学研究費 (26400396) および CREST(PJ74100011) の補助を受けたものである。

参考文献

- [1] Y.Mogami, A.Yamane, A.Gino, and S.A.Baba, J.Exp.Biol.**207**,3349(2004).
- [2] A.Kage, C.Hosoya, S.A.Baba, and M.Mogami, J.Exp.Biol.**216**,4457(2013).
- [3] C.R.Williams and M.A.Beas, J.Exp.Biol.**214**,2398(2001).
- [4] S.Ghorai, M.K.Panda, and N.A.Hill,Phys.Fluids **22**,071901(2010).
- [5] S.Ghorai and M.K.Panda,Eur.J.Mech.B **41**,81(2013).
- [6] 北岡正三郎, ユーグレナ 生理と生化学, 学会出版センター (1989).
- [7] N. J. Suematsu, A. Awazu, S. Izumi, S. Noda, S. Nakata and H. Nishimori,J.Phys. Soc. Jpn. **80** 064003(2011).

- [8] R.V.Vincent, and N.A.Hill, J. Fluid Mech.**300**(1996).
- [9] N.A.Hill , T.J.Pedley, Fluid Dyn. Res. , **37**(2005).
- [10] E. Shoji, H. Nishimori, A. Awazu, S. Izumi, M. Iima, J.Phys. Soc. Jpn. **83** 043001(2014).
- [11] D.P.Häder, Arch. Microbiol. **147**(1987).