

ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) を用いた  
ラクリマリア (*Lacrymaria olor*) の培養法の改良

芝野 郁美<sup>1</sup>, 早川 昌志<sup>1</sup>, 洲崎 敏伸<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>神戸大・理・生物, <sup>2</sup>神戸大・院理・生物)

Improved culture method of *Lacrymaria* with *Paramecium bursaria*

Ikumi SHIBANO<sup>1</sup>, Masashi Mark HAYAKAWA<sup>1</sup> and Toshinobu SUZAKI<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biol., Fac. Sci., Kobe Univ. and <sup>2</sup>Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

The ciliate *Lacrymaria olor* comprises three body parts: the oral apparatus, proboscis, and cell body. The contractile and flexible proboscis is used to seek and capture prey ciliates. To investigate the mechanism of proboscis motility of *Lacrymaria*, a stable and easy culture method has been established with *Paramecium bursaria* as prey. During this

experiment, we found that the proboscis length is proportional to the swimming velocity of *Lacrymaria*, which is explainable if the proboscis is extended elastically by the driving power generated by the active ciliary beating at the oral apparatus. A dynamic model was proposed for swimming *Lacrymaria* cells, being simplified to a spherical particle (the cell body) moving in a viscous fluid under the influence of the Stokes drag, pulled through a damped spring (proboscis) by the power generated at the other end of the spring (oral apparatus). The model was validated by comparing simulations and experimental data.

**【目的】** 繊毛虫リトストマ類に属するラクリマリアは、細胞体、プロボシス（首あるいは吻）、口部の三つの部分からなり、伸縮性に富んだ首を大きく伸ばし、主に他の繊毛虫類を捕食する。本研究室では、ラクリマリアに特徴的な首の伸縮運動の機構解明が試みられている。しかし、ラクリマリアの培養方法が確立されていないため、多量の細胞を用いた安定した研究が困難であった。そこで、まず繊毛虫類の中でもミドリゾウリムシ (*Paramecium bur-saria*) を餌としてラクリマリアの培養実験を行い、安定した培養法を確立した。また、培養したラクリマリアの観察から伸縮機構を解明するための運動モデルを提案し、その検証を行った。

**【方法】** 実験に用いたラクリマリアは奈良県橿原市鳥屋町宣化天皇稜の堀より採取した。またミドリゾウリムシはドイツ産 PB-SW1 株を用いた。ミドリゾウリムシの餌としては、無菌的に培養したクロロゴニウム (*Chlorogonium capillatum*) を用い、培地には Volvic を用いた。シャーレに用意したサンプルは、① クロレラ共生ミドリゾウリムシ (以降、GPB) + クロロゴニウム + ラクリマリア、② クロレラ非共生ミドリゾウリムシ (以降、空 PB) + クロロゴニウム + ラクリマリア、③ クロロゴニウム + ラクリマリア、④ テトラヒメナ (*Tetrahymena pyriformis*) + ラクリマリアの四種類である。① と ② における GPB と空 PB の初期密度、①~③ におけるクロロゴニウムの初期密度は一定とした。ラクリマリアは、同倍率で実体顕微鏡の視野内に見える個体数をカウントし、10 回の平均をとった。ミドリゾウリムシは培養液を 10  $\mu$ l ずつとり、中にある個体数をカウントした。これも10回の平均をとった。

**【結果と考察】** ① の GPB と ② の空 PB の個体数の増加はほぼ同じだったが、ラクリマリアの個体数は、① の GPB 培養で大きく増加し、他のシャーレではほとんど増加しなかった。また中でも ④ のテトラヒメナ培養では、首が二つある奇形個体や、細胞が異常に膨らんだ個体が複数見られた。これらの結果から、GPB はラクリマリアの餌として適していることが分かった。

また、培養したラクリマリアの観察から、ラクリマリアの運動状態を、遊泳状態、休泳状態、滑走状態の3つに分類した。遊泳状態のラクリマリアは、水中に浮いた状態で自転しながら進行する。等速で直進している時、首の長さは一定であった。休泳状

態では体をシャーレの底につけ、首を自由に伸縮する。この状態のラクリマリアが最も多く観察され、特に顕著な首の伸びが見られた。滑走状態では体をシャーレの底につけながら滑る様に移動し、等速で直進する時、やはり首の長さは一定であった。

これらの観察結果と、ラクリマリアの口に、体に比べて長い繊毛が密に生え、活発に運動している事から、口の繊毛を伸縮運動の動力源とし、首をばねの様な伸びやすい構造であるとする運動モデルを考えた。このモデルならば、休泳状態では体を固定した状態で口の繊毛運動によって自由に伸縮運動をしており、遊泳運動では全身が一体となって前進するため、首の長さが変わらないと考えられ、これは事実と一致する。そこで、等速直進運動をしている遊泳状態について、運動方程式を立てた。一定速度で直進している時、体にかかる前向き力 ( $kx$ ) と後ろ向き力 ( $6\pi\eta r v$ ) が釣り合っているので、 $kx = 6\pi\eta r v$  という式が立てられ、これを変形すると  $x = (\text{定数}) \times v$  が得られる ( $k$ : 首をばねと見立てた場合のばね定数、 $x$ : 首の伸び、 $\eta$ : 外液の粘性係数、 $r$ : 細胞体の半径、 $v$ : 一定速度で直進している時の遊泳速度)。つまり首の伸びと遊泳速度は比例関係にあり、速いラクリマリアほど首が長い、ということがこの式から導かれる (図1)。

ここで実際に一定速度で遊泳しているラクリマリアをビデオ撮影し、その動画から、遊泳速度と細胞の全長を調べグラフにプロットした。その結果、データは比例直線上に並び、仮定した運動モデル、

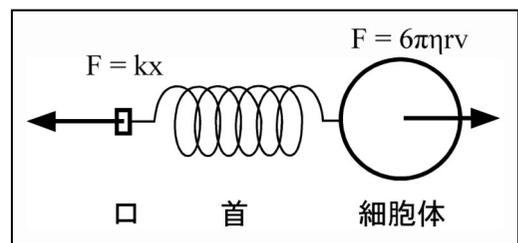


図1 遊泳状態のラクリマリアの力学モデル。遊泳の推進力は、口部の繊毛により作られる牽引力により作られ、首はバネのように弾性伸縮を行うとした。遊泳状態の細胞においては、首の伸長による弾性力 ( $F = kx$ ,  $k$  はばね定数、 $x$  は首の伸長距離) と、球形と仮定した細胞体の粘性抵抗 ( $F = 6\pi\eta r v$ ,  $\eta$  は外液の粘度、 $r$  は細胞体の半径、 $v$  は一定速度で細胞が直進している時の遊泳速度) と釣り合っていることになる。

すなわち口の繊毛を動力源とし、首をばね様構造とするモデルに矛盾しないことが確かめられた。今後は繊毛運動と伸縮運動との関係をセルモデル化等に

よって、別角度から検証すると同時に、首のばね様構造の実態について、微細構造観察や生理学的解析を行う必要がある。