



Title	Transition and selection of behaviours influenced by extracellular geometrical cues in the ciliate, <i>Stentor coeruleus</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	越後谷, 駿
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(ソフトマター科学)
Dissertation Number	甲第15789号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92500
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Syun_Echigoya_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（ソフトマター科学） 氏名 越後谷 駿

学位論文題名

Transition and selection of behaviours influenced by
extracellular geometrical cues in the ciliate, *Stentor coeruleus*
(繊毛虫ソライロラップムシの行動遷移と細胞外幾何形状に応じた固着場所の選択)

【背景】

原生生物は単細胞性の真核生物で数億年前に誕生した原始的な生き物である。形や運動性、遺伝的にも多様性に富んでおり、生息場所も淡水から海水、土壌中、人体まで様々な環境中に広く分布している。彼らは食物連鎖を通して生態系の物質循環としての役割を果たすだけでなく、水質浄化や赤潮の要因ともなる。これらのマクロな現象を構成しているのは、原生生物一個体ごとの行動である。原生生物の行動は約 100 年前から記述され、自然界で多様な行動をとることが知られている。しかしそれらの行動を定量的に評価した研究は途上にある。

水環境中で主要な原生生物である繊毛虫は、体表面に生えた繊毛をオールのように動かし水をかいて移動する。なかでもソライロラップムシ (*Stentor coeruleus*) は環境に応じて遊泳と固着を繰り返し、この行動遷移にもなって細胞形状を大きく変える。*Stentor* の行動遷移に関して、固着した細胞の回避行動や固着から遊泳への遷移行動に関しては研究が行われているが、遊泳から固着への遷移過程については注目されていない。彼らが生きる水環境中には枯れ葉や小枝、生物の死骸など様々なミクロな構造物が存在しており、エサの非一様な分布、外敵の存在、水流などが存在する自然界では、細胞がどこに固着するかは *Stentor* の生存にとって重要な問題である。そこで本研究では、*S. coeruleus* の行動を様々な形状の観察容器を用いて観察し、行動の定量化を行った。

【結果】

単純な形状の容器内における細胞状態と状態遷移の定量化

まずは単純な形状の容器内における細胞行動を撮影した。得られた動画像から画像解析を行うことで細胞重心と細胞形状を抽出し、遊泳速度の大きさと体長の時間変化を取得した。これらの情報を使うことで細胞状態遷移の流れの定量化に成功した。また遊泳の速さと細胞の体長の 2 つ情報を用いることで、従来記述的に分類されていた 3 つの細胞状態と階層クラスタリングを使った定量的な分類と対応していることがわかり、*Stentor* の行動を定量的な方法で分類する手法を見いだすことに成功した。また体長の時間変化を用いることで、*Stentor* の形態変化に 4 種類の特徴的な時間スケールがあることを明らかにした。

遊泳から固着への行動遷移の特徴化

次に遊泳から固着に至るまでの行動遷移に着目する。この遷移過程において、遊泳の速さと細胞の体長の関係を見ると負の相関があり、遊泳軌跡や繊毛束の動かし方（繊毛打波形）に違いが観察された。これらの結果は、遊泳から固着への遷移時に繊毛打波形を変え、遊泳軌跡や速さといった運動性を切り替えていることが示唆される。

それでは、遊泳から固着への切り替えはいつどのような場所で誘発されるのだろうか。微細加工技術を駆使して幾何構造を含んだ観察容器を製作し細胞行動を観察した。その結果、構造物を含んでいない単純な容器では、遊泳フォームを取る細胞の割合が高かったのに対して、構造物を含んでいる容器では固着状態を取っている細胞の割合が有意に高かった。観察前に細胞を新鮮な培地に移した後、行動への影響が小さい赤色光を使い観察実験を行ったため、光や化学物質の影

響は最小限に抑えられた状況であると言える。これらの結果から、遊泳環境中の構造物が、遊泳から固着への細胞状態の遷移に影響を与えることが明らかになった。また構造物を含んだ容器において、固着状態を取った細胞の多くは構造物と容器の壁で作られた狭空間に選択的に固着することが分かった。*Stentor* は細胞表面の繊毛で水流を生み出し、遊泳や採餌を行っている。狭空間に固着した細胞の多くは、細胞前側にある口を広い空間に向けていた。

幾何形状に応じた固着場所の選択

狭空間を選択する *Stentor* の固着行動に関して、どのような要素が選択的な固着の実現に関わっているかを調べるために、一つの空間に複数種類の狭空間を用意して細胞の固着行動や周囲の幾何形状依存的な行動を観察した。狭空間を形成する角度や狭空間先端の尖り具合を変えた。遊泳時の細胞は容器の壁沿いや狭空間に高頻度に滞在していることが分かった。一方細胞の固着位置は、より小さな角度でより先端の尖った狭空間が選択された。これらの結果から、*Stentor* の遊泳から固着への切替行動は、周囲の幾何形状のなかでも角度と先端の曲率に影響を受けることがわかった。

幾何形状に依存した *Stentor* の固着場所の選択がどのように実現されているかを理解するために、それぞれの狭空間における遊泳時の行動を観察した。より角度が小さくより先端の尖った領域では、細胞の遊泳方向の反転数が有意に高いことが分かった。*Stentor* の遊泳軌道は直線的で、遊泳方向を反転させる際、細胞表面の繊毛の動かし方を通常時と逆転させる(繊毛打逆転)。この結果は、高頻度の繊毛打逆転によって固着行動が誘発され、固着場所の選択がなされている可能性を示唆する。

【考察】

Stentor にとって狭空間に固着することはどのようなメリットがあるのだろうか。*Stentor* の餌である遊泳性のクラミドモナスは角に集積することが知られている。またラップムシに機械刺激が加わると瞬時に収縮する回避行動をとる。*Stentor* の天敵であるミジンコやワムシといった多細胞生物は *Stentor* よりも体長が大きいことが多い。そのため狭空間に固着することは、体の大きな外敵から襲われないよう身を隠しつつ、餌を待ち伏せするリーズナブルな行動であると考えられる。

【結論・展望】

本研究では、繊毛虫 *Stentor* の行動遷移に関して、初めて定量的な手法で記述を行った。また *Stentor* の固着行動が狭い場所で選択的に行われることを発見し、外空間の幾何構造が細胞状態の遷移に影響を与えることを発見した。実際の自然界における行動を実験室で再現し、単細胞生物の行動遷移が幾何形状という物理的な要因と相互作用していることを明らかにした重要な発見である。

今後は固着場所の選択行動を実現するための細胞生物学的なメカニズムを明らかにするために、細胞内部のカルシウムイオンの蛍光イメージングや膜電位の測定などにアプローチしていく予定である。