

ゾウリムシが接合する条件

Conditions for *Paramecium caudatum* to conjugate

清水凜々子

東京都立戸山高等学校 SSH 生物 2 年

ABSTRACT

Paramecium caudatum are single-celled eukaryotes that reproduce in two ways: somatic cell division and conjugating. The method of conjugating using chemicals has been studied so far, but it is unclear what specific conditions cause the conjugating. I hypothesized that they would conjugate if they were in an environment where they were easy to survive, but I couldn't observe them. Next, we studied how to grasp the division cycle of them. It was found that by treating cells in an aqueous solution of 1.25% methylcellulose for more than 3 hours, it was found that it was possible to induce autogamy in them and reset the division cycle.

Key Word: *Paramecium caudatum*, cell division, conjugating, autogamy, division cycle

I. はじめに

ゾウリムシ(学名: *Paramecium caudatum*)は単細胞真核生物の繊毛虫だ。ゾウリムシは無性生殖と有性生殖の両方を行うことができ、無性生殖では分裂、有性生殖では接合を行う。ゾウリムシは体内に大核と小核の二核をもち、ゾウリムシにおける接合とは接着した二個体間で遺伝情報を持った小核を交換することを指す。接合の最大のメリットは遺伝的多様性の確保の点にあるが、加えてゾウリムシは接合時に大核の作り替えを行い、この時テロメラーゼを活性化して新しくできる大核のテロメアを伸長するため、真核生物におけるヘイフリック限界¹を延長できるという利点も持っている。化学物質を用いた接合の人為的誘導については盛んに研究が行われてきたが、自然下においては具体的にどのような条件がゾウリムシに接合をさせるのかははっきりしていない。そこで私は、誰もが簡単に接合を観察できる方法の確立に向けて、ゾウリムシが接合する条件について研究した。

¹ 細胞の分裂回数の限界のこと。

Ⅱ. 仮説

最初に、ゾウリムシは接合を行うことでヘイフリック限界を延長することから、接合をしたゾウリムシは接合をしていないゾウリムシに比べて長寿であるといえる。このことから、よりゾウリムシが生存しやすい環境を調べれば接合対を発見しやすいと考え、以下の仮説1を立てた。

仮説1:ゾウリムシの個体数が最も多くなる条件は、室温 25℃で栄養を与えることである。

次に、ゾウリムシは分裂周期における成熟期にしか接合活性をもたないため、接合の観察には分裂周期の把握、管理が必要である。分裂周期の把握には人為的な有性生殖の誘導が有効であるため、ミドリゾウリムシで報告されている方法を用いてゾウリムシにオートガミー²を誘導することを考え、以下の仮説2を立てた。

仮説2:ゾウリムシを 1.25%メチルセルロース水溶液で処理すると、オートガミーを誘導できる。

Ⅲ. 方法

仮説1に対しては、ゾウリムシを培養のボトル(約 20℃、栄養あり)の環境から異なった環境におき、7日間での個体数の推移を調べた。(実験1)

仮説2に対しては、ゾウリムシは有性生殖時に以下の図1で示されたとおりに大核の作り替えを行うことから、メチルセルロース処理後 16 時間、17 時間、18 時間、24 時間が経過した細胞をそれぞれ観察し、大核に変化があるか調べた。(実験2)

交配反応開始後の細胞の変化

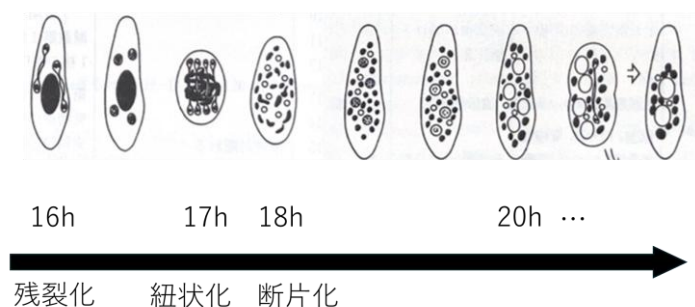


図1(引用1)

² 未接合細胞内で起きる減数分裂と自家受精から成る有性生殖法。

IV. 実験

実験1

『強力わかもと』一錠を 500mL の水に溶かした培養液中でゾウリムシを室温(約 20℃)で5か月間培養した。

- ① ビーカーを4つ用意 (A、B、A'、B'とする)し、A、B には培養液 50mL、A'、B'には水 50mL を加えたのち、ゾウリムシを 20 匹ずつ入れて7日間培養した。
- ② ビーカーをかき混ぜて均一にしたのち、1mL 抽出した中にいるゾウリムシの個体数をそれぞれ記録した。

培養の条件は以下に示す表1の通りとした。

表1

ビーカーA	ビーカーB	ビーカーA'	ビーカーB'
20℃	25℃	20℃	25℃
栄養あり	栄養あり	栄養なし	栄養なし

実験2

実験は 25℃下で行った。

- ① 1.25%メチルセルロース溶液とゾウリムシを十分含む培養液を 1:1で混合し、3時間処理した。
- ② ゾウリムシを抽出し、純水に3度くぐらせて洗ったのち、4枚のプレパレートに分けて数時間静置した。静置する時間はそれぞれ 16 時間、17 時間、18 時間、24 時間とした。
- ③ 酢酸カーミンで固定・染色し、観察した。

また対照実験として、①でメチルセルロース処理をしなかったゾウリムシも同様の手順で観察した。

V. 結果

結果1

実験1の結果は次の図2のようになった。

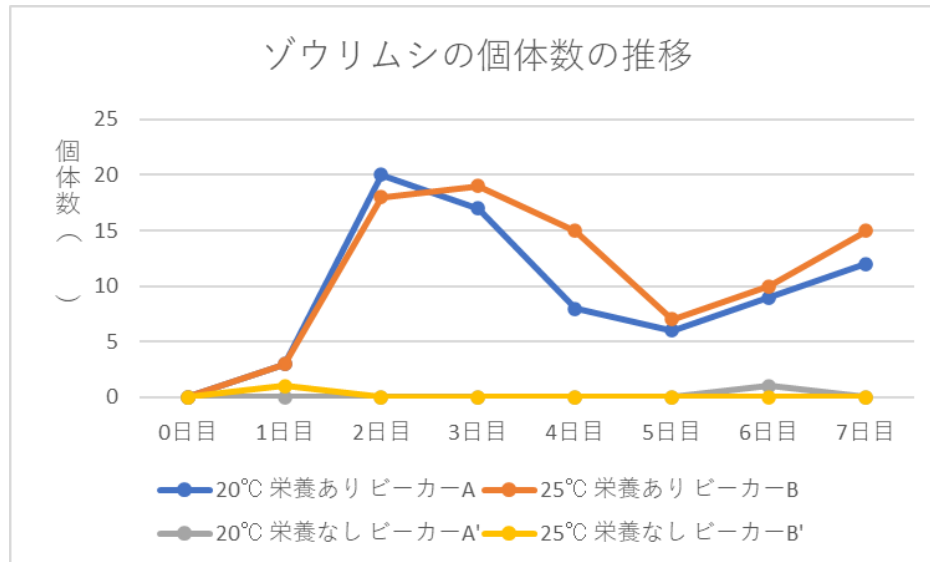


図 2

結果2

実験2の結果は以下(図3～8)の通りになった。

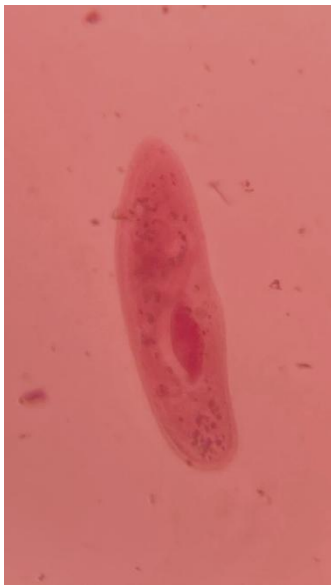


図3

無処理のゾウリムシ

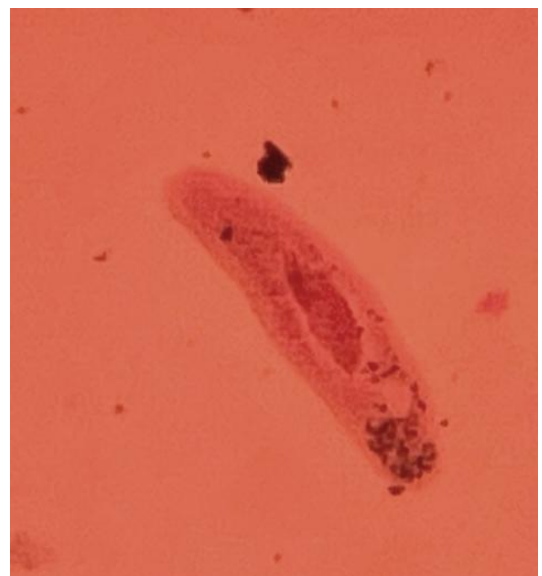


図4

処理開始から 16 時間後のゾウリムシ



図5

処理開始から 17 時間後のゾウリムシ



図6

処理開始から 18 時間後のゾウリムシ



図7

処理開始から 24 時間後のゾウリムシ



図8

図7と同じ方法で撮影した無処理のゾウリムシ

VI. 考察

結果1より、栄養ありと栄養なしのゾウリムシを比較すると、栄養ありのゾウリムシの方が個体数が多かった。栄養なしのゾウリムシ(ビーカーA'、B')は、どちらもビーカーを目視で確認したところ数匹の生存が認められたが、ほとんどが死滅した。また栄養ありのゾウリムシ(ビーカーA、B)を比較して、ビーカーBの方が一日当たりの個体数の減少率が低いことから、今回の実験においては25℃栄養ありの環境がゾウリムシにとって最も死にづらい環境であるといえる。またビーカーAで2日目以降、ビーカーBで3日目以降の個体数が減少し、どちらも5日目以降再び増加を示している。これは、ビーカー内のゾウリムシの密度が大きくなったことで密度効果が強くなって環境収容力に達し、増加が抑制されたことで個体数が減少し、その後密度に余裕が生まれたことで再び増加を示したと考えられる。

次に結果2より、メチルセルロース処理開始から16～17時間が経過した細胞では大核が観察できたが、18時間と24時間が経過した細胞では大核が観察できなかった。また図1と比較すると、図5(処理開始から17時間後のゾウリムシ)は紐状化の段階にあるという予測が外れていることがわかった。一方で、メチルセルロース処理をした図4、5の大核と無処理の図3の大核を比較すると、処理をした方の大核は肥大化していた。これについては、大核の紐状化というのが極端に細いものであるため、顕微鏡を通してその輪郭を捉えることが難しく、見かけ上紐状化していないように見えた可能性が高いと考えられる。この考えが正しければ、図4、5の大核が肥大化していることについても、ひとつの塊であった大核が紐状になったことで緩み、広がって見えた結果であると考察できる。結果とこれらの考察を踏まえて、今回の方法でゾウリムシにオートガミーを誘導できたものとする。

実験1ではゾウリムシの死にづらい環境を研究したが、まだ検証していない温度や条件が多くあるため、25℃栄養ありという条件だけが必ずしもゾウリムシを長命にするかはわからない。さらに、接合の観察に成功していないことから、ゾウリムシが死にづらい環境で接合が起きやすいという考えも仮説のままにとどまった。今後はもっと幅広い条件を設定し、ゾウリムシの接合条件について網羅的に調査していく必要がある。現在判明している接合条件のひとつである分裂周期については、実験2よりゾウリムシの分裂周期をリセットすることに成功したので、観察したい個体を成熟期にする方法はこれで確立できたといえる。

VII. 引用文献

見上一幸「接合と核変化」『ゾウリムシの遺伝学』pp.56

東北大学出版会 1999年 引用1

VIII. 参考文献

見上一幸「接合と核変化」、柳明「接合の化学的誘導」、渡辺疆「接合と繊毛」『ゾウリムシの遺伝学』

東北大学出版会 1999年

柳明「ミドリゾウリムシにおけるオートガミーの人為的誘導」『原生動物学雑誌』第37巻1号 pp.36-37

日本原生生物学会 2004年

IX. 謝辞

この論文を書くにあたり、ご指導いただいた鶴島富士彦先生、松元智志先生、研究成果発表会等でご助言いただいた先生方へ厚く御礼申し上げます。