

# 繊毛虫 *Blepharisma japonicum* の 色素顆粒の捕食者に対する防御機能について

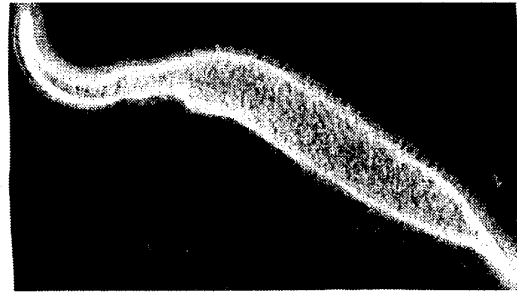
寺 嶋 昌 代 (自然科学)

## 1. はじめに

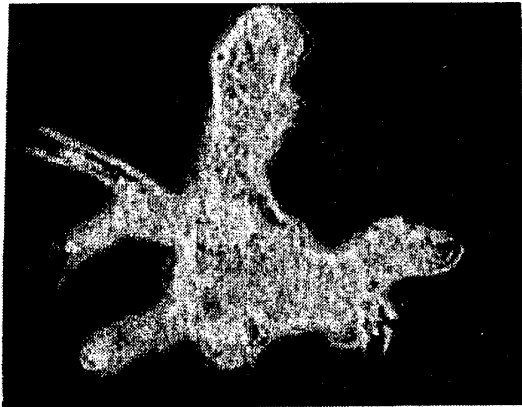
本研究の対象生物は *Blepharisma japonicum* という原生動物の繊毛虫と、これと相互作用する原生動物である。(図1)



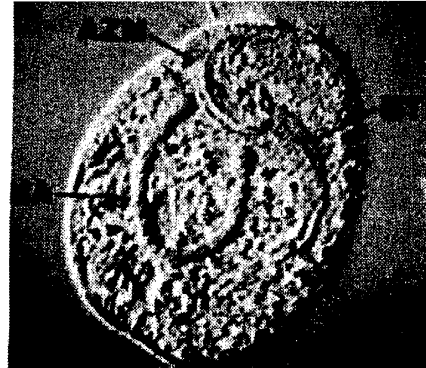
a) *Blepharisma japonicum*



b) *Dileptus margaritiger*



c) *Amoeba proteus*



d) *Climacostomum virens*

繊毛虫は原生動物の中でも最も進化したグループであるといわれている。繊毛虫類の特徴は、細胞表面が繊毛で覆われていることである。また、単細胞でありながら、構造や機能が著しく分化している。細胞口、細胞肛門、収縮胞なども種によって決まった位置にあり、繊毛もパターン化している。繊毛虫はふつう大核と小核をもち、性が分化して接合を行うなど、有性生殖と細胞の寿命との関連について、興味ある研究対象でもある<sup>1)</sup>。原生動物間の捕食者-被食者間相互作用は、単細胞間の認識の機構を解明する

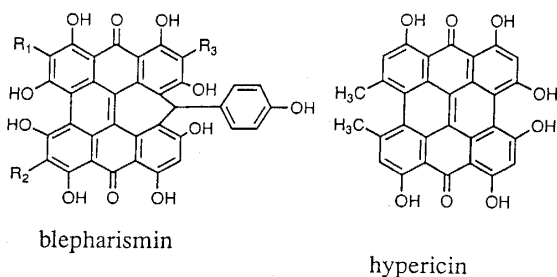
糸口とも考えられる。

原生動物は捕食者-被食者間相互作用の際に、放出体 (extrusome)<sup>2,3)</sup> という細胞の表層直下の皮質中に配列して機械的・電氣的・化学的刺激によって瞬時に内在させている物質や構造物を細胞外に放出する性質をもつ小胞状の細胞小器官(これまでに約10種類が報告されている<sup>3,4)</sup>)から、内容物を放出することにより、相手を餌として捕食したり、あるいは捕食されることを防御する。

例えば、他の繊毛虫や原生動物を捕らえて食

べる捕食性あるいは肉食性 (carnivorous) の繊毛虫はトキシシスト (toxicyst) (例、*Dileptus margaritifer*, *Didinium nasutum*)<sup>5)</sup>、ハプトシスト (haptocyst) (例、*Heliophrya erhardi*)<sup>4,6)</sup> など攻撃のために分化した放出体をもつことが知られていた<sup>7)</sup>。一方、攻撃を受ける繊毛虫の中には防御のために分化した放出体をもつものがあることも明らかになってきた。たとえば、*Paramecium* の放出体であるトリコシスト (trichocyst) は捕食性繊毛虫に対して防御の機能があることが報告されている<sup>8,9,10)</sup>。*Paramecium* のトリコシスト放出は、トリコシストの物理的伸長(放出時に8~10倍に伸長する)<sup>11)</sup>により捕食者との間に距離をとったり、先が突き刺さったりすることによる物理的防御であるといえる。また、*Blepharisma japonicum* (ブレファリズマ) や *Stentor coeruleus* (ソライロラップムシ) の色素顆粒がやはり放出体 (mucocyst type extrusome)<sup>3)</sup>であり、捕食性繊毛虫に対して防御の機能があることが明らかになっている<sup>12,13)</sup>。色素顆粒の色素ブレファリズミンは他の原生動物に対しても毒性があることがわかっている<sup>14)</sup>。*Blepharisma japonicum* の色素顆粒はその色素の毒性で捕食者を忌避させる化学的防御といえるであろう<sup>15)</sup>。

繊毛虫門、ポストキリオデスマトフォラ亜門、異毛亜綱、異毛目に属する *Blepharisma japonicum* (以下、*Blepharisma*) は体長 300 $\mu$ m 程度で沼や田などのよどんだ淡水の底の方や沈殿物の下で、バクテリアなどを食べて生息している<sup>16)</sup>。*Blepharisma* は赤い色をしており、これは、細胞の表層に赤い色素顆粒をもつからである。この色素顆粒は赤い色素ブレファリズミン (図2) とタンパク質の複合体で<sup>17,18)</sup>、膜に包まれており、直径は0.3-0.6 $\mu$ mで繊毛列に沿って存在する<sup>19,20)</sup>。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
A	Et	Et	H
B	Et	iPr	H
C	iPr	iPr	H
D	Et	iPr	Me
E	iPr	iPr	Me

図2 ブレファリズミンとピペリシンの分子構造

繊毛虫 *Blepharisma japonicum* は異なったアルキル基の置換基 (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>) をもつ5つのブレファミリズン (A-E) をもっている (いずれも暗赤色)。

ピペリシンは植物の *Hypericum pertoratum* から得られた色素 (暗赤色)

原生動物は一般に無色のものが多いが、色素をもつ種も存在する。緑がかって見えるもの多くは、クロレラを共生させている (例えば、*Climacostomum virens*, *Euplotes daidaleo*, *Paramecium bursaria*)<sup>21)</sup>。クロレラの共生がなくても色をもつ原生動物もいる。*Blepharisma japonicum*, *Stentor coeruleus*, *Folliculina baltica*<sup>22)</sup>, *Loxodes magnus*<sup>23)</sup>, *Fabrea salina*<sup>24)</sup>, *Tetrahymena geleii*<sup>25)</sup> は、それぞれ、ブレファリズミン、ステントリン、ステントリン、フラビン、ファブレイン、プロトポルフィリンという色素をもつ。これらの色素がどのような機能をもつものであるかということについては充分にはわかっていないが、*Blepharisma* の色素ブレファリズミンについては、次のような三つの可能性が示唆されている。

(1) 遠紫外線の遮蔽

色素顆粒をもたない albino 突然変異体の細胞は野生株の色素顆粒をもった細胞より遠紫外線 (265nm) 照射下での分裂速度が遅かったことから、色素顆粒は遠紫外線に対する遮蔽の機能があると、Giese によって示唆された<sup>26,20)</sup>。紫外線による DNA の損傷を防御するために存在するのかもしれない。この機能は黒紫色の色素ファブレインをもっている同じ異毛類に属する海産の繊毛虫 *Fabrea salina* の機能と類似している。*Fabrea* は紫外線に極めて強いという報告がある<sup>20)</sup>。

(2) *Blepharisma* の光回避行動の光受容体

第二には光受容色素としての機能である。*Blepharisma* は光感受性の繊毛虫として知られ、可視光を急に当てると *Blepharisma* は光を避けるように進行方向を変える (step-up photophobic

response)<sup>27)</sup>。弱い光 ( $0.02\text{W}/\text{m}^2$ ) でも光回避反応を示すことが報告されている<sup>28,29)</sup>。ブレファリズミンの吸収スペクトルと光回避反応の作用スペクトルが類似すること、また、色素除去細胞の光応答性が鈍くなることなどから、ブレファリズミンが光受容色素であることが示唆された<sup>28,29,30)</sup>。この機能は同じ異毛類の *Stentor coeruleus* (以下、*Stentor*) の色素ステントリンの機能と類似している<sup>31,32,33,34,35)</sup>。ステントリンは *Stentor* より単離され<sup>31,36)</sup>、その分子構造も決定された<sup>36)</sup>。ステントリンの分子構造は植物由来の光増感性色素のヒペリシンと構造が類似している (図2)。光受容体としての色素顆粒の研究は *Stentor* において進んでおり、その初期過程は励起一重項状態でのプロトン解離による細胞内 pH の低下であると報告されている<sup>35,36,38)</sup>。光受容体としての *Blepharisma* の色素顆粒の研究も数多くなされている<sup>39,40,41,42)</sup>。

### (3) 捕食者に対する防御

*Blepharisma* をサスペンドした溶液に細胞毒性があることは Giese<sup>43)</sup> によって最初に報告された。*Blepharisma* の色素顆粒は色々な原生動物やウニ卵に対して暗条件下でも毒性がある。このことから、捕食者に対する防御の機能が示唆された<sup>20)</sup>。この仮定はのちに三宅、春本らによって、アルビノ突然変異体や色素を減少させた細胞は、赤い色素顆粒をもった細胞より捕食性の纖毛虫 *Dileptus margaritifer* (ディレプタス) (以下 *Dileptus*) に食べられやすくなることや、色素顆粒をもった *Blepharisma* の細胞密度が高いサスペンド液中では *Dileptus* の数が減少すること等によって証明された<sup>12)</sup>。*Dileptus* は、身体の前方に柔軟性のあるプロボース (proboscis, 吻) をもち、プロボースの腹側の表層にはトキシシストと呼ばれる構造が存在する。*Dileptus* はプロボースを振り回しながら泳ぎ、*Blepharisma* に当たると瞬時に後退遊泳 (backward swimming) をする<sup>12,14)</sup>。また、*Dileptus* と *Blepharisma* の相互作用時の走査型電子顕微鏡による観察では、*Dileptus* の攻撃器官であるプロボースで攻撃された *Blepharisma* の細胞表面から多数の色素顆粒が放出されていることが確認された<sup>14)</sup>。また、精

製されたブレファリズミンは幾つかの種の纖毛虫に対しては強い毒性を示すが、*Blepharisma* 自身はブレファリズミンに対して感受性がないことも示されている<sup>14)</sup>。

細胞全体に大量に存在し、放出体であること、また、ブレファリズミンが強い毒性をもつことなどから、この第3の機能が *Blepharisma* の色素顆粒の最大の機能ではないかと考えられる。そこで、*Blepharisma* の色素顆粒が捕食性纖毛虫 *Dileptus margaritifer* (纖毛虫門、ラブドフォラ亜門、毒胞亜綱、咽頭類) に対して防御の機能をもつことは、すでに報告があるが<sup>12,14)</sup>、その他の捕食性原生動物に対してはどうかはまだわかっていない。そこで、本研究では捕食の仕方が *Dileptus* とは異なる *Amoeba proteus* (有毛根足虫門、肉質虫亜門、裸性葉状根足虫亜綱、アメーバ目) や *Climacostomum virens* (纖毛虫門、ポストキリオデスマトフォラ亜門、異毛亜綱、異毛目) に対して *Blepharisma* の色素顆粒が防御の機能を持つかどうかを調べた。*Dileptus* に対して調べられた<sup>12)</sup> のと同様に、色素顆粒をもつ野生株の *Blepharisma* と色素顆粒をもたないアルビノ株に対して捕食性原生動物を作用させて、その違いを比較した。

*Dileptus* は捕食の器官としてプロボースという体長の五分の二を占める先の細った攻撃器官と、そこから出る放出体のトキシシストをもつ。餌をプロボースで捕らえ、プロボースの下部の細胞口へ送り込んで捕食する。*Amoeba proteus* は食作用 (phagocytosis) で摂食する。典型的な食作用は大きな食碗 (food cup) を形成して餌を取り囲み食胞を形成する。*Climacostomum virens* は特徴的な捕食の器官として体長の約3分の1を占める大きく発達した囓口部 (buccal tube, BT) をもつ。前方にある膜板 (membranelles) で水流を起こして様々なサイズの纖毛虫や鞭毛虫を囓口部に吸い込み、その後細胞口 (cytostome, CS) まで到達した餌虫を食胞の中に取り込み捕食を行う<sup>44,45)</sup>。

*Blepharisma* の色素顆粒は、*Dileptus* とは捕食の器官が異なるような捕食性原生動物にたいしても防御の機能をもつのであろうか。*Blepharisma* の色素顆粒が捕食性原生動物の攻

撃に対して有効な防御となるかどうか、何に依存するかについて研究した。

## 2. 材料と方法

### <材料>

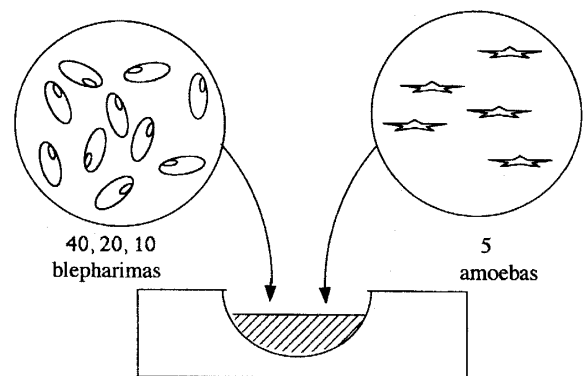
*Blepharisma japonicum* の R1072 株、A538 株 (Bangalore 株) を用いた。*Blepharisma* は使用の 2 日前に *Enterobacter aerogenes* を接種した小麦若葉粉末培養液<sup>1)</sup> (Wheat Grass Powder; Pines, Int. Inc. の浸出液に phosphate buffer (2mM, pH 6.8), ステイグマステロール (0.5mg/ℓ) を加えたもの) の中で 25°C 暗条件下で培養した。細胞は、なし型遠心管を用いて油試験用遠心分離機 (Kokusan H-210A, 100 × g, 3 分間) で集め、SMB- で洗って、ごみを除去するためにナイロンネットですろ過して、SMB- の中で一晩置いたものを用いた。

*Dileptus margaritifer* (D3-I 株) (以下 *Dileptus*) , *Climacostomum virens* (W 株) (以下 *Climacostomum*) と *Amoeba proteus* (G 株) (以下 *Amoeba*) を用いた。これらは餌として用いた *Sathrophilus sp.* (サスロフィルス) を懸濁した SMB- 溶液 (1.5 mM NaCl, 0.05mM KCl, 0.4 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.05 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.05 mM MgSO<sub>4</sub>, 2.0 mM リン酸ナトリウム緩衝溶液, pH 6.8) を 3 日に一回加えることによって 19°C で培養した。SMB- は *Blepharisma* のための生理的塩類溶液である SMB (synthetic medium for *Blepharisma*) の組成を一部変更したもの (modified SMB; EDTA を除いた SMB) である<sup>46)</sup>。餌となる *Sathrophilus sp.* は、レタス (サラダ菜) の浸出液を SMB- で希釈した培養液 (レタス浸出液 6.7 ~ 10%) に *Enterobacter aerogenes* を接種して 1 ~ 2 日置いたものを培養液とした。25°C で培養し、定常期に達した細胞を集めて (450 × g, 10 分)、SMB- にサスペンドした。実験はすべて室温で行った。

### <捕食者-被食者間相互作用>

*Amoeba* と *Blepharisma* は適度な飢餓状態にある (実験の 3 日前に餌をやり、その餌が完全に食べ尽くされている状態のもの) を用い

た。*Amoeba* を 5 細胞とり、それを、SMB- を通して洗った *Blepharisma* 10, 20, 40 細胞と共に、200μℓ の SMB- の中に入れた。この混合物をそれぞれ 5D-10B, 5D-20B, 5D-40B と表すことにする。それぞれの混合物のなかで、生存している *Amoeba* と *Blepharisma* の数を 4 日間数えた。(図 3) *Climacostomum* と *Blepharisma* の捕食者-被食者間相互作用も、同様な方法で測定した。数値は 9 回の実験の平均値である。細胞の相互作用は暗条件下湿室中で行った。



*Blepharisma*-*Amoeba* interaction

図 3

### <毒性のテスト>

ブレファリズミンは薄層クロマトグラフィーで精製したものを用いた<sup>15)</sup>。この実験で用いたブレファリズミンは五種類のブレファリズミンの混合物である。デプレッションスライドの穴に色々な濃度でブレファリズミンの SMB- 溶液を 200μℓ 入れ、そこに、テストする細胞を 10 細胞ずつ入れた。暗条件下湿室中で一日置いた後、生存している細胞数を数えた。実験は 3 回の平均である。ブレファリズミンは 99.5% エタノールに溶かし、それを、SMB- で希釈した。エタノールの最終濃度は 2% (体積比) 以下になるようにした。ブレファリズミンの濃度はエタノール中でのモル濃度で表わした。モル濃度を得るためのモル吸光係数は  $3.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (エタノール中)<sup>47)</sup>を用いた。

### <顕微鏡観察とビデオ撮影>

捕食者-被食者間相互作用は、ノマルスキー顕微鏡 (Olympus, BH-2) , 位相差顕微鏡

(Olympus, BX-50), 実体顕微鏡 (Leica, MS-5) を用いて観察し, CCD カメラ (Sony, DXC-107) を用いて画像を取り込み, ビデオレコーダー (Victor, HR-VX11) に録画した。

### 3. 結果

#### < *Amoeba* と *Blepharisma* との相互作用 >

*Blepharisma* の色素顆粒の防御機能については, すでに *Blepharisma* と *Dileptus* との相互作用において報告されている<sup>12)</sup>。そこで, さらに, *Blepharisma* の色素顆粒が *Amoeba* に対して防御機能があるかどうか調べた。*Amoeba* を野生型で赤い色素顆粒をもつ *Blepharisma* (R1072) と相互作用させたときと色素顆粒をほとんど持たないアルビノ株の *Blepharisma* (A538) と相互作用させたときでは, *Amoeba* の細胞数の変化がどのように異なるのかを調べた。*Blepharisma* (A538) は, 色は無色で, 細胞の大きさは野生株より少し小さい。その

*Blepharisma* のアルビノ株を 40, 20, 10 細胞とり, SMB-200 $\mu$ l 中でそれぞれ *Amoeba* 5 細胞と相互作用させ, 4 日間の細胞数変化を調べた (図 4, A, a)。 *Blepharisma* のアルビノ株の細胞は *Amoeba* に食べられ, 数が減少し (図 4, A), *Amoeba* は増殖した (図 4, a)。ところが, 赤い色素をもっている野生株の *Blepharisma* を同様に *Amoeba* と相互作用させると (図 4, B, b), *Blepharisma* の数が少ないときは少し食べられるが (5A-10B), 数が増えると, ほとんど食べられず (5A-40B, 5A-20B) (図 4, B), *Amoeba* は増殖しなかった (図 4, b)。以前に報告された *Dileptus* と *Blepharisma* の相互作用では, *Dileptus* の数が減少したとされているが<sup>12)</sup>, *Amoeba* と *Blepharisma* の相互作用では *Amoeba* の数は減少しなかった (図 4, b)。しかし, *Amoeba* はデプレッションスライドの穴の端に逃げていたり, 水面に浮かんでいたりして, 弱っていることが観察された。これらのことから, *Blepharisma* の色素顆粒が *Amoeba*

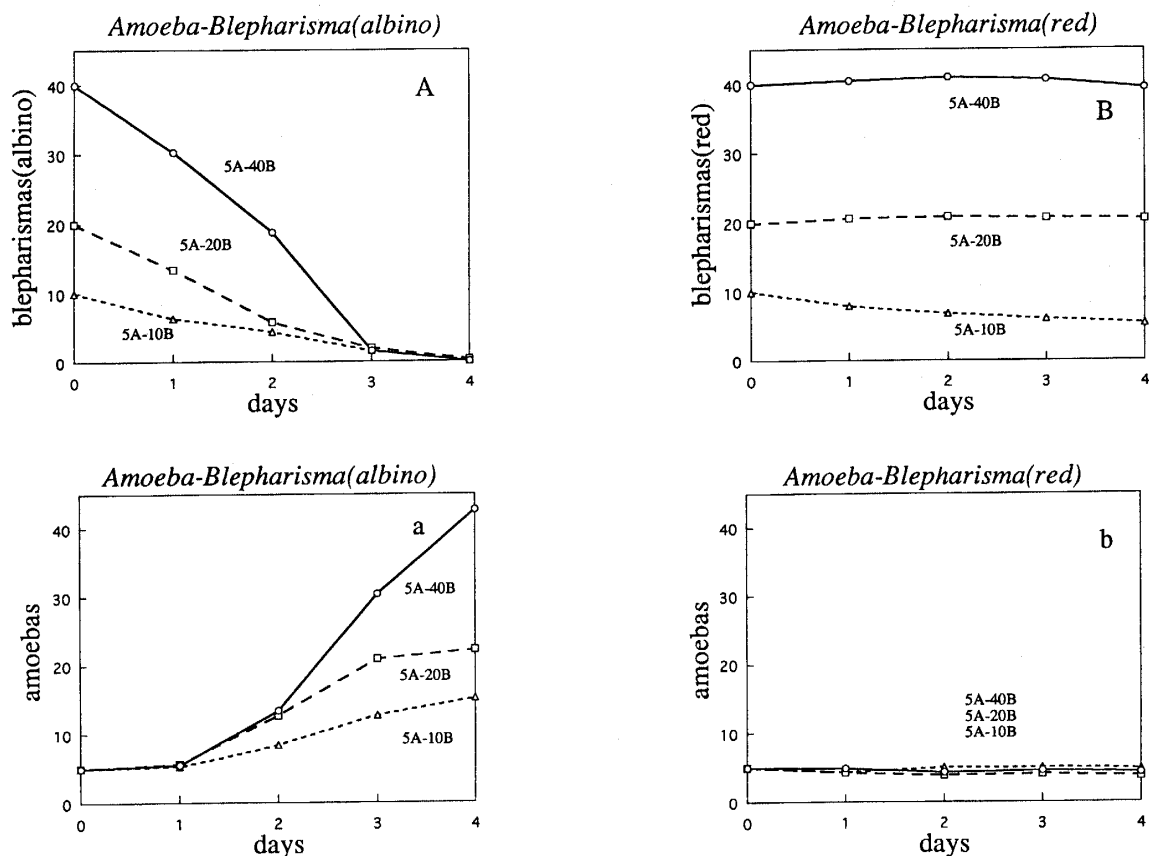


図4 *Amoeba* と *Blepharisma* との捕食者-被食者相互作用に対する *Blepharisma* の色素量と細胞数の効果

5細胞の *Amoeba* に対して, 10 (△), 20 (□), 40 (○) 細胞の *Blepharisma* を 200 $\mu$ l の SMB-1 中で相互作用させ, 一日ごとの *Blepharisma* と *Amoeba* の細胞数を上下別々のグラフにプロットした (それぞれ, A と B, a と b)。使用した *Blepharisma* は, A と a においてアルビノ (突然変異体) であり, B と b においては赤い (野生型) ものをを用いた。データは 9 回の実験の平均である。

に対しても防御の機能をもつことがわかった。

### < *Climacostomum* と

#### *Blepharisma* との相互作用 >

次に、捕食性繊毛虫である *Climacostomum* に対して、*Blepharisma* の色素顆粒が防御の機能をもつかどうか調べた。*Climacostomum* 5細胞に対して *Blepharisma* のアルビノ株の細胞を 10, 20, 40 細胞ずつとり、それぞれ、200 $\mu$ l の SMB-溶液の中で相互作用させ、4 日間の細胞数変化を調べた (図 5, A, a)。 *Blepharisma* のアルビノ株の細胞は *Climacostomum* に食べられ (図 5, A)、 *Climacostomum* の細胞数は増加した (図 5, a)。同様に野生株の色素顆粒をもつ *Blepharisma* と *Climacostomum* を相互作用させて、そのときの細胞数の変化を調べた (図 5, B, b)。色素顆粒をもつ野生株の *Blepharisma* の数も減少し (図 5, B)、 *Climacostomum* の数は増加した (図 5, b)。

このことは、野生株の *Blepharisma* は毒性色素ブレファリズミンを多量にもつにもかかわらず、捕食性繊毛虫 *Climacostomum* の捕食に対する防御とはならないことを意味する。*Climacostomum* は *Blepharisma* に接触すると、すぐ飲み込み、*Blepharisma* を 4 細胞くらいは捕食した。*Climacostomum* と *Blepharisma* のアルビノ株との相互作用と、 *Blepharisma* の野生株との相互作用は、 *Blepharisma* の野生株でもアルビノ株でも *Climacostomum* の餌になるという点では同じであるが、 *Blepharisma* の野生株と相互作用したときのほうが *Climacostomum* の細胞数の増加が大きいのは (図 5, a, b)、 *Blepharisma* の野生株の細胞の方が大きいために、餌として有効であるためと考えられる。

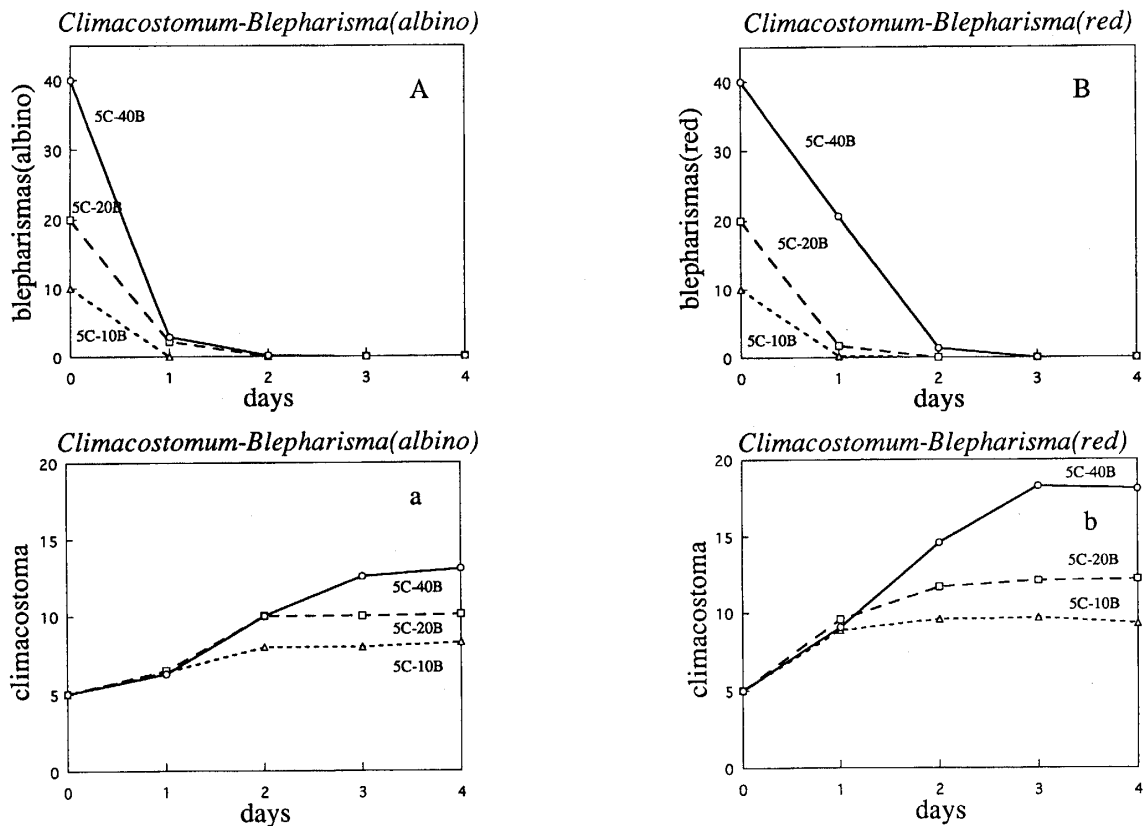


図 4 *Climacostomum* と *Blepharisma* との捕食者-被食者相互作用に対する *Blepharisma* の色素量と細胞数の効果

5細胞の *Climacostomum* に対して、10( $\Delta$ ), 20( $\square$ ), 40( $\circ$ )細胞の *Blepharisma* を 200 $\mu$ l の SMB-中で相互作用させ、一日ごとの *Blepharisma* と *Climacostomum* の細胞数を上下別々のグラフにプロットした (それぞれ、AとB、aとb)。使用した *Blepharisma* は、Aとaにおいてアルビノ (突然変異体) であり、Bとbにおいては赤い (野生型) ものをを用いた。データは9回の実験の平均である。

＜捕食者のブレファリズミンに対する耐性と *Blepharisma* の色素顆粒の防御の有効性との関係＞

*Blepharisma* の色素顆粒が *Dileptus* , *Amoeba* に対しては防御として機能するが、*Climacostomum* に対しては防御として機能しないということは、なにが異なるためであろうか。考えられることは、これらの捕食性原生動物のブレファリズミンの毒性に対する耐性がかなり違うという可能性である。これを証明するために、薄層クロマトグラフィーで精製したブレファリズミンに対する捕食性原生動物の耐性を半数が死ぬ濃度 (LD<sub>50</sub>) を測定することによって調べることにした。測定は暗条件下湿室中で、色々な濃度のブレファリズミンの SMB-溶液 200 μl に、捕食性原生動物を 10 細胞ずつ入れて、一日後に生存率を測定し、半数が死ぬ濃度を決定した。結果は表 1 にまとめた。

*Blepharisma* の野生株およびアルビノ株とともに、ブレファリズミンの毒性に極めて強かった。最も濃いブレファリズミン溶液の中でも、死ぬことはなかった。*Climacostomum* は *Dileptus* の 29 倍もブレファリズミンの毒性に耐性があった。*Amoeba* は *Dileptus* よりも、約 2 倍ブレファリズミンの毒性に耐性があった。

4. 考 察

*Blepharisma* と捕食性原生動物 *Amoeba* や *Climacostomum* との相互作用を調べた結果、*Blepharisma* の色素顆粒は *Amoeba* に対しては防御の働きをするが(図 4)、*Climacostomum* の捕食に対する防御とはならなかった(図 5)。この違いが捕食性原生動物のブレファリズミンに対する耐性と関係があるのではないかと考え、ブレファリズミンに対する LD<sub>50</sub> を測定して調べた(表 1)。そして、捕食性原生動物のブレファリズミンに対する耐性には大きな違いがあることがわかった。*Climacostomum* は *Dileptus* や *Amoeba* よりも、ブレファリズミンの毒性に耐性があった。捕食性の原生動物であっても、ブレファリズミンに対する耐性が弱い *Dileptus* や *Amoeba* の捕食行動はブレファリズミンによって防御されるが、ブレファリズミンに対する耐

性が強い *Climacostomum* の捕食行動に対してはブレファリズミンは防御の働きをしない。敷衍して言えば、ブレファリズミンはブレファリズミンに対する耐性が弱い捕食性原生動物に対しては防御の働きをするが、ブレファリズミンに対する耐性が強い捕食性原生動物に対しては防御の働きをしない、ということである。

表 1 色々な原生動物にブレファリズミンを暗条件下で作用させたとき(1日後に)半数が死ぬ濃度(LD<sub>50</sub>)と、*Dileptus* の LD<sub>50</sub>に対する比

	LD <sub>50</sub> (M)	LD <sub>50</sub> / LD <sub>50</sub> ( <i>Dileptus</i> )
<i>Blepharisma</i> (red)	≥ 2.0 x10 <sup>-4</sup>	≥ 59
<i>Blepharisma</i> (albino)	≥ 2.0 x10 <sup>-4</sup>	≥ 59
<i>Climacostomum</i>	1.0x10 <sup>-4</sup>	29
<i>Amoeba</i>	7.6x10 <sup>-6</sup>	2.2
<i>Dileptus</i>	3.4x10 <sup>-6</sup>	1

Relative resistance to blepharismin  
*Blepharisma* ≫ *Climacostomum* ≫ *Amoeba* > *Dileptus*

*Blepharisma* と相互作用させたとき、*Climacostomum* は *Blepharisma* を捕食して増殖した。一方、*Amoeba* は *Blepharisma* によって増殖が阻害され、細胞数に変化はなかったものの、細胞が弱っていることが、観察された。以前に報告された *Blepharisma* と *Dileptus* 相互作用においては、*Dileptus* は細胞が弱り、細胞数の減少がみられた<sup>12)</sup>。*Dileptus* の方が *Amoeba* より、*Blepharisma* との相互作用において細胞数が減少する等の影響が大きかったということである。このような作用の違いは、そのまま、ブレファリズミンに対して、*Dileptus* の方が *Amoeba* より感受性であることを反映していると考えられる。

表 2 捕食者-被食者相互作用

被食者(防御器官)	<i>Blepharisma</i> (red) (色素顆粒、ブレファリズミン)	<i>Blepharisma</i> (albino)
捕食者(捕食器官)		
<i>Climacostomum</i> (発達した口部)	食べて、増える	食べて、増える
<i>Amoeba</i> (食作用)	少し食べるが、増えない	食べて、増える
<i>Dileptus</i> (プロボシス、トキシシスト)	攻撃するが、数は減少する	食べて、増える

本研究において、*Blepharisma* に対しては捕食者である *Climacostomum* , *Dileptus* ,

*Amoeba* が被食者と相互作用したときの様子を表2にまとめた。また、それを図6で模式的に表わした。矢印(→)は餌として認識して攻撃して食べることを、それに対して(⊥)はなんらかの毒性物質をもって防御することを示している。捕食者としての *Amoeba* の捕食の特徴は、自在に伸ばせる仮足の先に、大きな食碗を形成して餌を取り囲み、食胞を形成する食作用である。*Amoeba* は *Blepharisma* を捕食するが、*Blepharisma* の野生株の細胞数が多いときは、*Amoeba* は増殖せず体が弱った。*Blepharisma* のアルビノ株のものを捕食したときは、さかんに増殖した(図4)。*Blepharisma* はその色素ブレファリズミンの毒性により *Amoeba* の捕食を防御すると考えられる。また、ブレファリズミンは *Amoeba* の増殖を阻害するものであると考えられる。

捕食者としての *Climacostomum* の攻撃に有効な器官は発達した口部(buccal tube)であり、被食者を飲み込もうとする。*Blepharisma* に対しては野生株およびアルビノ株に対して同じように攻撃し(図5)、捕食した。*Climacostomum* に対しては *Blepharisma* の色素ブレファリズミンの毒性は防御機能を発揮しなかった。

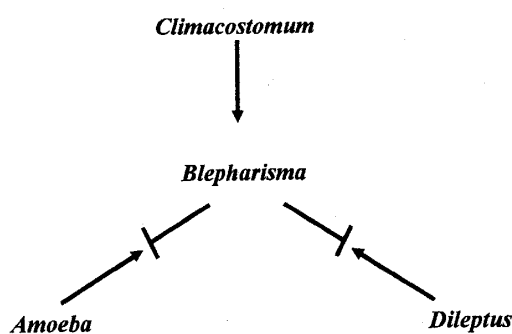


図6 *Blepharisma* に対する捕食の模式図

- ⊥— は毒性物質で防御しようとするを示す。  
 → は攻撃して捕食しようとするを示す。

表2からもわかるように、防御のための手段も攻撃のための器官もたない *Blepharisma* のアルビノ突然変異体は色々な捕食者に食べられるばかりである。このことから、原生動物の世界において、餌をとるための攻撃器官とともに、少しでも食べられないための毒性物質を細

胞表層近くに保持することは、生存のために重要な要素であることがわかる。もしそれらを欠けば餌になるしかないのは、*Blepharisma* のアルビノ突然変異体が自然界では存在しえない<sup>20)</sup>ものであることが示していると思われる。

## 5. まとめ

繊毛虫 *Blepharism* の赤い色素顆粒は様々な繊毛虫に対して毒性があり、捕食性繊毛虫 *Dileptus* に対して、防御機能をもつことが明らかとなっている。本研究ではその他の捕食性原生動物である *Climacostomum* や *Amoeba* に対して、色素顆粒が防御の機能をもつかどうかを調べた。その結果、色素顆粒は捕食者 *Dileptus* に対してと同様に、捕食者 *Amoeba* に対しても、防御の機能をもつことがわかった。しかし *Climacostomum* に対しては防御の働きをしなかった。ブレファリズミンの毒性に対する耐性を *Dileptus*, *Climacostomum*, *Amoeba* について調べたところ、*Climacostomum* は *Amoeba* の13倍、*Dileptus* の29倍、ブレファリズミンに耐性があることがわかった。つまり、*Blepharisma* の赤い色素顆粒は色素ブレファリズミンの毒性に対する耐性が弱い捕食性原生動物に対しては防御機能を果たすが、ブレファリズミン毒性に対する耐性が強い捕食性原生動物に対しては防御機能を果たさないことがわかった。

## 6. 謝辞

本研究を行うにあたり、暖かいご指導を賜りました奈良女子大学春本晃江教授、多くのご助言を賜りました高木由臣博士、三宅章雄博士、大阪市立大大学院飯尾英夫教授に心より感謝申し上げます。また、東海女子短期大学の神谷みゑ子学園長、神谷哲郎理事長には研究の最初からご理解とご支援を賜りました。たいへん有難く感謝申し上げます。また、多くの有益な議論と協力をしてくださった奈良女子大学理学部細胞情報学講座の皆様にも感謝致します。



引用文献

1. Takagi Y, Nimura K, Tokusumi Y, Fujisawa H, Kaji K (1993) Secretion of mitogenic factor (s) from stocks of *Paramecium tetraurelia*, *P. caudatum* and *P. multimicronucleatum*. *Zool Sci* 13: 89 - 96
2. Grell KG (1973) *Protozoology*. Springer - verlag, Berlin
3. Hausmann K (1978) Extrusive organelles in protists. *Int Rev Cytol* 52: 197 - 276
4. Hausmann K, Hulsmann N (1996) *Protozoology* 2nd ed. Thieme, New York
5. Lee JJ (1985) An illustrated guide to the protozoa. Society of protozoologists, U.S. A.
6. Spoon DM, Chapman GB, Cheng RS, Zane SF (1976) Observations on the behavior and feeding mechanisms of the suctorian *Heliophrya erhardi* (Rieder) Matthes preying on *Paramecium*. *Trans Amer Microsc Soc* 95: 443 - 462
7. Fauvé - Fremiet E (1962) Pouvoir lytique et phosphatase acide chez les cilies. *C R Hebd Seances Acad Sci* 254, 2691 - 2693
8. Miyake A, Harumoto T, Salvi B, Rivola V (1989) Defensive function of extrusomes, pigment granules in *Blepharisma* and trichocysts in *Paramecium*, against a carnivorous ciliate *Dileptus*. *J. Protozool* 36: 28A
9. Harumoto T, Miyake A (1991) Defensive function of trichocysts in *Paramecium*. *J Exp Zool* 260: 84 - 92
10. Sugibayashi R and Harumoto T (2000) Defensive function of trichocysts in *Paramecium tetraurelia* against heterotrich ciliate *Climacostomum virens*. *Europ J Protistol* 36: 415 - 422
11. Paulin JJ (1996) in *Ciliates Cells as organisms*, ed Hausmann K and Bradbury PC, p28, Gustav Fischer, Stuttgart
12. Miyake A, Harumoto T, Salvi B, Rivola V (1990) Defensive function of pigment granules in *Blepharisma japonicum*. *Europ J Protistol* 25: 310 - 315
13. Harumoto T, Miyake A (1994) Defensive function of pigment granules in *Stentor*. *Zool Sci* 11(Suppl.) 24
14. Harumoto T, Miyake A, Ishikawa N, Sugibayashi R, Zenfuku K, Iio H (1998) Chemical defense by means of pigmented extrusomes in the ciliate *Blepharisma japonicum*. *Europ J Protistol* 34: 458 - 470
15. Terazima N M and Harumoto T (2004) Defense function of pigment granules in the ciliate *Blepharisma japonicum* against two predatory protists, *Amoeba proteus* (Rhizopodea) and *Climacostomum virens* (Ciliata) *Zoological Science* 21: 823 - 828
16. Giese AC (1981) The photobiology of *Blepharisma*. *Photochem Photobiol Rev.* 6: 139 - 180.
17. Matsuoka T, Murakami Y, Kato Y (1993) Isolation of blepharismin - binding 200kDa protein responsible for behavior in *Blepharisma*. *Photochem Photobiol* 57: 1042 - 1047
18. Gioffre D, Ghetti F, Lenci F, Paradiso C, Dai R, Song PS (1993) Isolation and characterization of the presumed photoreceptor protein of *Blepharisma japonicum*. *Photochem Photobiol* 58: 275 - 279
19. Inaba F, Nakamura R, Yamaguchi S (1958) An electronmicroscopic study on the pigment granules of *Blepharisma*. *Cytologia* 23: 72 - 7
20. Giese AC (1973) The pigment blepharismin and photosensitivity. In "*Blepharisma*" Ed by Giese AC, Stanford University Press, Stanford, CA, pp 266 - 303
21. Kuhlmann HW (1998) Photomovements in Ciliated Protozoa. *Naturwissenschaften* 85: 143 - 154
22. Sjogren L (1964) On the existence of

- stentorin II in *Folliculinids*. Acta Zool Bd XLVI: 293 - 297
23. Finlay BJ, Fenchel T(1986)Photosensitivity in the ciliated protozoon *Loxodes*: pigment granules, absorption and action spectra, blue light perception, and ecological significance. J Protozool 33: 534 - 542
  24. Donnasson J, Faure - Fremiet E(1911)Sur le pigment de *Fabrea salina*. C R Soc Bio 71: 515 - 517
  25. Rudzinska MA, Granick S(1953)Protoporphyrin Production of *Tetrahymena geleii*. P S E B M 83: 525 - 526
  26. Giese AC(1965)*Blepharisma intermedium*: Ultraviolet resistance of pigmented and albino clones. Science 149: 540 - 541
  27. Kraml M, Marwan W(1983)Photomovement responses of the heterotrichous ciliate *Blepharisma Japonicum*. Photochem Photobiol 37: 313 - 319.
  28. Scevoli P, Bisi F, Colombetti G, Ghetti F, Lenci F, Passarelli V. (1987)Photomotil responses of *Blepharisma japonicum* I: Action spectra determination and time - resolved fluorescence of photoreceptor pigments. J Photochem Photobiol B1:75 - 84.
  29. Checcucci G, Damato G, Ghetti F, Lenci F(1993)Action spectra of the photophobic response of blue and red forms of *Blepharisma japonicum*. Photochem. Photobiol. 57: 686 - 689.
  30. Matsuoka T, Matsuoka S, Yamaoka Y, Kuriu T, Watanabe Y, Takayanagi M, Kato Y, Taneda K(1992)Action spectra for step-up photophobic response in *Blepharismas*. J Protozool 39: 498 - 502.
  31. Moller KM(1962)On the nature of stentorin. Comp Rend Trav Lab Carlsberg Ser Chim 32: 471 - 498
  32. Wood DC (1976) Action spectrum and electrophysiological response correlated with the photophobic response of *Stentor coeruleus*. Photochem Photobiol 24: 261 - 266.
  33. Walker E, Lee TY, Song PS (1979) Spectroscopic characterization of the *Stentor* photoreceptor. Biochim Biophys Acta 587: 129 - 144
  34. Song PS, Hader DP, Poff KL(1980)Step-up photophobic response in the ciliate, *Stentor coeruleus*. Arch. Microbiol. 126: 181 - 186.
  35. Song PS(1981)Photosensory transduction in *Stentor coeruleus* and related organisms. Biochim Biophys Acta 639: 1 - 29
  36. Tao N, Orlando M, Hyon JS, Gross M, Song PS (1993) A new photoreceptor molecule from *Stentor coeruleus*. J Am Chem Soc 115: 2526 - 2528
  37. Song PS, Kim IH, Rhee JS, Huh JW, Florell S, Faure B, Lee KW, Kahsai T, Tamai N, Yamazaki T, Yamazaki I(1991) Photoreception and photomovements in *Stentor coeruleus*. Biophysics of Photoreceptors and Photomovements in Microorganisms. Edited by Lenci F et al. Plenum Press, New York
  38. Wells TA, Losi A, Dai R, Scott P, Park SM, Golbeck J and Song PS(1997)J Phys Chem A 101: 366 - 372
  39. Cubeddu R, Ghetti F, Lenci F, Ramponi R, Taroni P(1990)Time-gated fluorescence of blepharismin, the photoreceptor pigment for photomovement of *Blepharisma*. Photochem Photobiol 52: 567 - 573
  40. Tao N, Deforce L, Romanowski M, Meza-Keuthen S, Song PS, Furuya M(1994) *Stentor* and *Blepharisma* photoreceptors: Structure and function. Acta Protozool 33: 199 - 211
  41. Fabczak S and Fabczak H (1995) Phototransduction in *Blepharisma* and *Stentor*. Acta protozool 34:1 - 11
  42. Matsuoka T, Sato M, Maeda M, Naoki H, Tanaka T, Kotsuki H(1997)Localization o

- blepharismin photosensors and identification of a photoreceptor complex mediating the step - up photophobic response of the unicellular organism, *Blepharisma*. Photochem Photobiol 65: 915 - 921.
43. Giese AC(1949) A cytotoxin from *Blepharisma*. Biol Bull 97: 145 - 149
44. Fischer - Defoy D and Hausmann K(1977) Untersuchungen zur phagocytose bei *Climacostomum virens*. Protistologica 13: 459 - 476
45. Fischer - Defoy D and Hausmann K (1981) Microtubules, microfilaments, and membranes in phagocytosis: structure and function of the oral apparatus of the ciliate *Climacostomum virens*. Differentiation 20: 141 - 151.
46. Miyake A (1981) Cell interaction by gametes in *Blepharisma*. In Sexual reproduction in eukaryotic microbes (Ed by O'Day DH and Horgen PA ), Academic Press, New York, pp 95 - 129
47. Checcucci G, Shoemaker RS, Bini E, Cerny R, Tao N, Hyon JS, Gioffre D, Ghetti F, Lenci F, Song PS (1997) The chemical structure of blepharismin, the photosensor pigment for *Blepharisma japonicum*. J Am Chem Soc 119: 5762 - 5763

— 一般教養 —