

■原 著■

## 輪形動物ヒルガタワムシの運動における繊毛冠の役割の研究

指篠和也<sup>1</sup> 市川麗子<sup>1,3</sup> 茂木和枝<sup>2</sup> 豊泉龍児<sup>1,2</sup>

Bdelloid Rotifer: A Study on the Role of Ciliary Corona in Locomotion

Kazuya Sashihata<sup>1</sup>, Reico Ichikawa<sup>1,3</sup>, Kazue Mogi<sup>2</sup> and Ryuji Toyoizumi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: reico.bio@gmail.com

**Abstract:** Rotifers (species belonging to the phylum Rotifera) have numerous motile cilia on their surface, and they use these cilia for locomotion and feeding. Especially, the corona, the most-anterior paired apparatus, has ciliary bands with densely packed long cilia. From zoological aspects, microscopic rotifers are intriguing organisms. *Philodina* sp. (class Bdelloidea, order Bdelloida) is well-known for its cryptobiosis, and this rotifer species has a potential to become a model organism for ciliary movement, because we can easily resuscitate *Philodina* by immersing it in artificial fresh water. The corona of the rotifer has two important ciliary bands, preoral ciliary one and postoral ciliary one, both of which are essential for swimming and feeding. However, mechanisms for the metachrony (metachronal wave), the coordinated ciliary movement of its corona, have not yet to be unveiled. In this report, ciliary beating of rotifer *Philodina* sp. was observed with a high-speed camera after treating it with the chemical agent, to investigate the role and mechanism of metachrony in the paired corona of the *Philodina* sp. By treating *Philodina* with Sodium Orthovanadate (V) (an inhibitor of dynein ATPase), trajectories of its swimming changed markedly compared with the control group; *Philodina* changed its swimming direction more frequently to form tiny circular trajectories. By treating *Philodina* with NiCl<sub>2</sub> (an inhibitor of dynein ATPase), metachrony was disrupted and ciliary movement was mostly arrested. Neurotransmitters are known to be involved in the control of ciliary beating in several invertebrate species. Therefore, we next examined the effects of octopamine, norepinephrine (noradrenaline), and serotonin on the ciliary beating and locomotive behaviors of the *Philodina* sp. After the administration of octopamine or norepinephrine, confusion of metachrony and resultant disorder of the "collective V-shaped waveform" of metachrony were markedly induced. As the results, trajectories of swimming significantly increased the ratio of topical spiral circle lines. At higher dose of serotonin, the cilia movement of the preoral ciliary band was weakened or stopped, and frequent changes between ciliary locomotion and muscular creeping behavior were induced. The administration of nepicastat, an inhibitor of the biosynthesis of octopamine or norepinephrine, elicited retraction and closure of the paired corona into the body, and often caused the failure of creeping movement. These above changes may have been the reflection of the neurotransmitter-dependent control of metachronal ciliary movement of *Philodina* sp. of the bdelloid rotifer. In this report, we challenge to investigate the complex and fascinating ciliary metachrony of the *Philodina* rotifer. We hope that our efforts will promote studies on ciliary metachronal wave using the rotifer.

**Keywords:** Rotifera, rotifer, Bdelloidea, locomotion, ciliary beat, metachronal wave, norepinephrine, octopamine, serotonin

## 序論

輪形動物門 (Phylum Rotifera) のワムシ類は三胚葉性の左右相称動物である。約 3000 種が知られ、単生殖巣綱 (Class Monogononta)、ヒルガタワムシ綱 (Class Bdelloidea)、ウミヒルガタワムシ綱 (Class Seisonidea) の 3 綱に大きく分類される。体長は最大約 3 mm であるが、大部分は 500  $\mu\text{m}$  以下と小さく、その体は頭部、胴部、足部に分けられる。匍匐性の種では外見上胴部、足部に体節に似た構造が見られるが、体節構造はない。この偽の体節を望遠鏡のように折りたたむことで伸縮や収納を行う<sup>1)</sup>。

ワムシ類は、1000 個ほどの細胞で構成され、一生を通して核の数が一定であり、胚の時期以降には細胞の分裂は起こらないため、一般に寿命は短く、その一生は環境によって 20 日から 30 日とされる。多くの組織が多核体 (syncytium) で、表皮は細胞内クチャラを持ち、これを肥厚させて被甲を形成する種 (例えば被甲によく発達したトゲをもつツボワムシ *Brachious calyciflorus* など) もいる。

輪形動物の生活は繊毛冠と深い関わりを持っている。ほとんどの繊毛冠では液流を生むための運動性繊毛が 2 つの帯状に密集して生えており、前部繊毛帯は後方への繊毛打 (ciliary beat) を行い、後部繊毛帯は前方への繊毛打を行う<sup>2,3)</sup>。本研究で実験動物として用いたヒルガタワムシ (*Philodina sp.*) もまた、体の前端に繊毛 (cilia) が密集した 2 つの繊毛帯からなる繊毛冠 (輪毛器 corona) を持ち、回転するように見える繊毛運動 (ciliary movement) によって移動のための運動と摂食を行う (図 1)。一時的に繊毛冠を被甲に収納することができ、開いた繊毛冠を用い

る遊泳と、繊毛冠を収納した頭部でシャクトリムシ様に這う移動の両方を行って生活する。多くのワムシ類の繊毛冠では運動性繊毛が 2 つの帯状に密集して生えており、先述のように口前繊毛帯は後方への繊毛打を行い、口後繊毛帯は前方への繊毛打を行う<sup>4)</sup>。

ワムシは、多様な体制、神経系の働き、広域に分布する同目の生態についての理学的研究が盛んな上に、水産業や廃水処理においても注目を集めている。しかし、それらの研究と比べるとヒルガタワムシの繊毛を用いる移動や摂食行動に着目した研究は少ない。筆者らはヒルガタワムシが固着性と遊泳性のどちらの状態であっても繊毛冠の繊毛を用いることに注目し、ヒルガタワムシが繊毛運動の制御機構に関する研究においてモデル生物となりうると考えた。ワムシ類の繊毛に関する先行研究では、繊毛帯の配置が明らかにされている<sup>3)</sup>。繊毛打の制御についての研究では、ヒルガタワムシと同様に繊毛帯を持つウニ幼生の繊毛運動において、神経伝達物質が繊毛運動の方向性と周期安定性 (繊毛打は安定度の高い周期運動を行うと考えられている) に関与することが報告されている<sup>4)</sup>。ムラサキイガイの鰓繊毛は神経支配があることが明らかになっている<sup>5)</sup>。ゾウリムシにおいては、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度上昇が繊毛打逆転を生ずることや鞭毛の波形の調節をしていることが知られている<sup>6)</sup>。カタコウレイボヤの精子鞭毛やウニ胚の繊毛運動ではダイニンと結合する  $\text{Ca}^{2+}$  結合性タンパク質カラクシンが鞭毛打波形の調節を行っている<sup>7)</sup>。また、ヒルガタワムシが有する神経系の研究では、ヒルガタワムシ目に属する *Macrotrachela quadricornifera* において serotonin 作動性神経系が繊毛冠から足部に渡って広く存在し、繊毛冠に沿った serotonin の局在が報告されており、繊毛運動が serotonin 作動性神経に何かしらの制御を受けている可能性が示唆されている<sup>8)</sup>。他にもワムシ類の *Brachionus plicatilis* において、足腺、縦筋帯および繊毛冠、感覚毛帯、中枢神経節においてカテコールアミンと多数のアドレナリン受容体が確認されている<sup>9)</sup>。一般にヒトやマウスなどの哺乳類では、Octopamine と Norepinephrine はどちらもアドレナリン  $\alpha$  1 受容体に結合することで受容細胞の細胞内カルシウム濃度を上昇させ得ることが知られている<sup>10)</sup>。

一方で、ヒルガタワムシの繊毛運動の詳細な制御機構についてはほとんど解明されておらず、神経伝達物質がヒルガタワムシの繊毛運動による移動や摂食行動に与える影響に注目した研究もない。そこで我々は、繊毛運動阻害剤の投与、および神経伝達物質の投与によって、ヒルガタワムシの繊毛運動や行

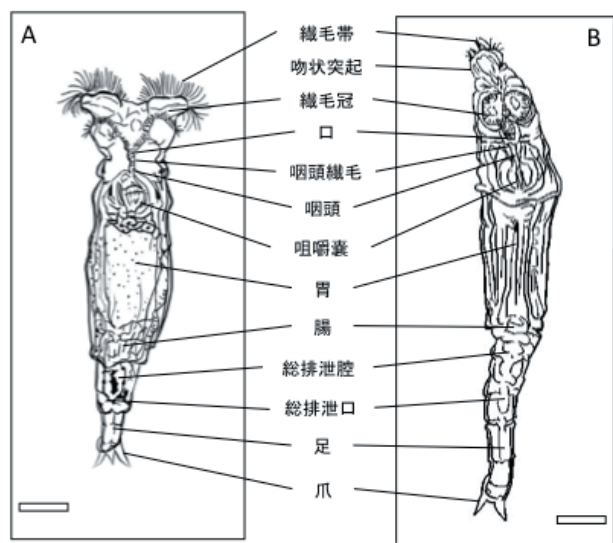


図 1. ヒルガタワムシ (*Philodina sp.*) の体制。(A) ヒルガタワムシの摂食時の腹面図。(B) ヒルガタワムシのシャクトリムシ様の匍匐行動時の腹面図。Bars, 50  $\mu\text{m}$ .

動にどのような変化がもたらされるのかを、主にハイスピードカメラを用いた行動観察によって調査した。そして、得られた結果をもとに、ワムシの運動様式における繊毛運動、特に繊毛冠のそれへの神経伝達物質の役割について考察した。

## 材料と方法

本研究では、ヒルガタワムシ (*Philodina sp.*) を使用した。休眠させたヒルガタワムシを紙片に吸着した『ひかりヒルガタワムシ』（キョーリンフード工業株式会社）を、10% Steinberg 氏液（人工淡水）に1-2日間浸漬して、26度の恒温器内で蘇生させて、実験に使用した。蘇生時の飼育水中には餌として研究室で培養したクロレラを与えた。実験に用いる際は、多穴プレートへの投入時に10% Steinberg 氏液を用いてワムシを洗浄した。

### 繊毛運動阻害剤への浸漬

① ATPase の阻害剤であるオルトバナジン (V) 酸ナトリウム ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ; 分子量 183.91) と、② 繊毛運動に阻害効果を引き起こす塩化ニッケル (II) ( $\text{NiCl}_2$ ; 分子量 129.60) を用いて、どちらも 0.01 mM, 0.05 mM, 0.1 mM に10% Steinberg 氏液で希釈して浸漬に用いた。浸漬 24 時間後に繊毛冠と遊泳行動の観察と撮影を行った。繊毛冠の繊毛運動の観察は Olympus 社の倒立顕微鏡 IX71 と、Phtron 社のハイスピードカメラ Fastcam Mini AX50 を用いて撮影し、低倍速で観察した。遊泳行動の観察は Olympus 社の実体顕微鏡 SZX16 と同社顕微鏡用カメラ DP22 を用いた。撮影した動画は、windows PC アプリのペイントを使用してマニュアルで軌跡をトラッキングした。

### 神経伝達物質の投与

① アドレナリン  $\alpha$  受容体等に結合する Octopamine Hydrochloride ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$ ; 分子量 189.64)、② アドレナリン受容体全般に結合する Norepinephrine Bitartrate ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; 分子量 337.28)、③ ヒルガタワムシの繊毛冠の繊毛運動に関与すると予想される Serotonin Hydrochloride ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$ ; 分子量 212.70) を使用した。濃度はそれぞれ 0.1 mM, 0.5 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM に10% Steinberg 氏液で希釈して浸漬に用いた。浸漬 1 時間後と 24 時間後に繊毛冠と遊泳行動の観察と撮影を行った。観察および撮影は繊毛運動阻害剤の項と同様に行った。

### 神経伝達物質の生合成阻害剤への浸漬

Dopamine  $\beta$ -hydroxylase の阻害剤であり、Octopamine, Norepinephrine の生合成を阻害する Nopicastat Hydrochloride ( $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{F}_2\text{N}_3\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot 1/4 \text{H}_2\text{O}$ ; 分子量 336.31) を使用し、0.05 mM, 0.1 mM に10% Steinberg 氏液で希釈し、浸漬に用いた。浸漬 1 時間後に繊毛冠と行動の観察を行った。

## 結果

### 繊毛冠の繊毛運動に対する阻害剤の影響

繊毛の屈曲運動に関与するダイニンの ATPase 活性を阻害する薬品としてオルトバナジン酸ナトリウム  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ 、塩化ニッケル (II)  $\text{NiCl}_2$  を用いてヒルガタワムシの繊毛運動、特に繊毛冠の繊毛運動の阻害と、これらの薬剤による繊毛を用いた移動、摂食行動への影響を調べた。

無処理群では、露出した繊毛冠付近に腹面方向からの繊毛流が生じており、口部へ向かう流れと繊毛冠の外側から体の後方への流れが生じていた (図

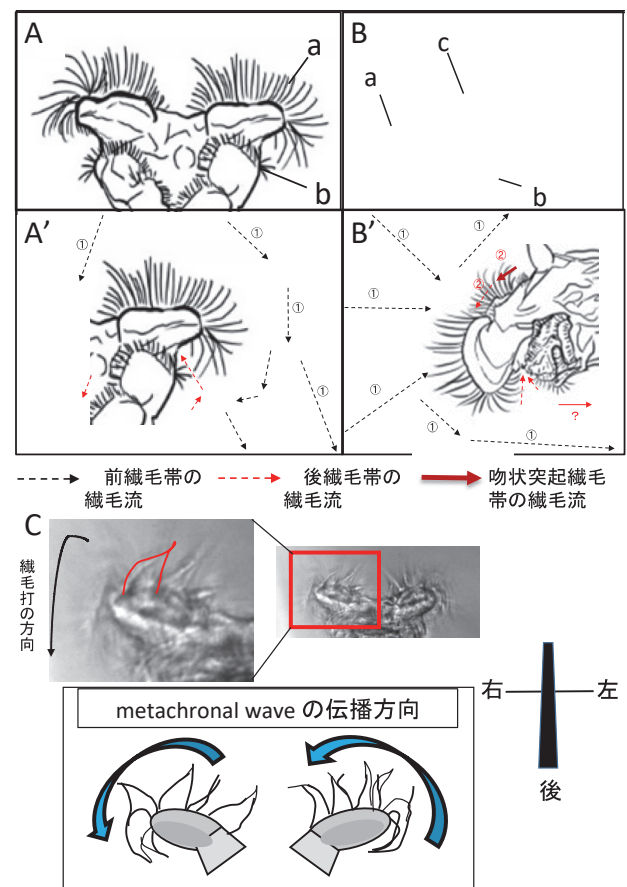


図 2. ヒルガタワムシの繊毛冠付近の繊毛流。(A, A') 腹面方向から見た繊毛冠付近の繊毛流形成を示した図。(B, B') 左側面方向から見た繊毛冠付近の繊毛流形成を示した図。(C) 繊毛冠の顕微鏡下での観察において、棘状の構造が繊毛冠上を滑るように metachronal wave を形成する。a, 口前繊毛帯; b, 口後繊毛帯; c, 吻状突起繊毛帯。



2A, A')。また左側面方向から見た場合、繊毛冠の背腹に後方へ向かう繊毛流があり、体から遠ざけるように流れていた(図 2B, B')。口部付近では、口後繊毛帯が口へ向かう小さな繊毛流を形成していた。また、吻状突起上の繊毛も口部方向へ繊毛流を形成するように見えた。口後繊毛帯のほとんどは後方から前方に向けた繊毛流を形成するが、最も腹側の後方に生える繊毛は後方への繊毛流を形成していた。露出した繊毛冠では、開かれた円盤状をした 2 つの繊毛冠上に口前繊毛が密に生え揃い、繊毛運動による metachronal wave が生じていた(図 2C)。この繊毛運動をハイスピードカメラで観察したところ、規則的な繊毛の運動による繊毛の位置的な重なりが棘状の波形を形成していた(図 2C)。

無処理群の遊泳行動としては、容器の外縁に沿うように泳ぎ、その軌跡は大きな円を描いた(図 3A)。また、壁面や底面との接触によって伸縮などの固着性の運動へ切り替わる様子が見られたが、遊泳中に伸縮行動を行うものはそれほど多くはなかった。

$\text{Na}_3\text{VO}_4$  処理群では、繊毛運動に影響を与えないものの、遊泳軌跡を変化させた(図 3B)。正常な遊泳を行っていたヒルガタワムシを、0.01 mM, 0.05 mM, 0.1 mM に希釈した  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  に投入し、24 時間後の口前繊毛の繊毛運動を観察した。その結果、すべての濃度において口前繊毛の繊毛運動に影響は生じなかった。しかしながら、遊泳軌跡においては  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  処理群では何度も方向転換をし、旋回するような遊泳軌跡であった。遊泳中の伸縮行動も頻発し、移動範囲が狭まるという対照群とは異なる様子が見られた。

$\text{NiCl}_2$  処理群では完全停止ではないものの、多くの繊毛が運動を停止する傾向があり、遊泳行動は阻害された(図 3C)。0.01 mM, 0.05 mM, 0.1 mM の  $\text{NiCl}_2$  が繊毛運動および遊泳行動に与える影響を調べたところ、濃度依存的に口前繊毛の metachrony を乱す、あるいは繊毛運動を停止させる影響が生じた。繊毛運動の停止が生じた個体では摂食行動時にも繊毛流は形成されず、停止した繊毛は繊毛冠から垂れ下がるように有効打方向に屈曲して停止していた。この繊毛はヒルガタワムシ自身の伸縮運動による液流を受けても、一定の形状を維持した。遊泳軌道の観察では、遊泳軌道は描かれず、殆どの個体において繊毛冠を開かず伸縮運動を繰り返す行動が見られ、樽状の休眠状態へ移行する個体も多かった。

### 神経伝達物質投与による繊毛冠への影響

神経伝達物質は、対応する神経系とそれに連なる筋組織を支配する。それぞれの神経伝達物質を投与し

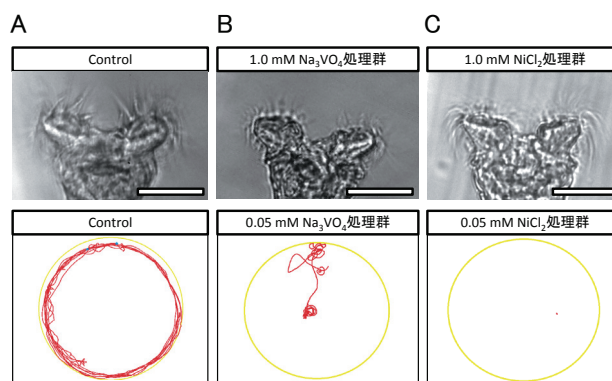


図 3. 繊毛運動阻害剤に 24 時間浸漬したヒルガタワムシの metachrony と遊泳軌道。上段は無処理正常個体および繊毛運動阻害剤への浸漬個体における摂食時の繊毛冠の拡大図を示す。下段は遊泳軌道を追跡した図を示す。録画個体数は各 n=6。Bars, 50  $\mu\text{m}$ 。

た場合のヒルガタワムシの固着性の運動、摂食に与える影響を調査した。

Octopamine 処理群では metachrony の乱れ、もしくは波形が変化することで遊泳軌跡の変化が生じた(図 4 右上)。metachrony の乱れは最低濃度の 0.1 mM から生じ始め、本実験での最高濃度である 10 mM ではほぼすべての個体で乱れが生じた。繊毛運動への影響が生じた個体の繊毛冠付近の繊毛流には大局的な変化は見られず、前方から後方へ繊毛流を発生させていた。遊泳軌跡の解析では長い距離の遊泳と常にカーブを描き、局所的な旋回を示すような複雑な軌跡を描いた。このような遊泳が見られた個体では容器の壁面および底面への接触によっても固着性の行動へは移行せず、衝突を繰り返すような遊泳を行っていた。metachrony や遊泳軌道に影響が見られた個体では、しばしば腹部方向への痙攣に似た屈曲が起これ、そのうちの少数個体では腹側へ屈曲したまま遊泳や伸縮を行う様子が見られた。

Norepinephrine 処理群では metachrony が乱れ、局所的な旋回遊泳が誘発された(図 4 左下)。Norepinephrine 投与の影響は全体的に Octopamine 投与の場合と類似していた。Norepinephrine によって、口前繊毛の metachrony は濃度依存的に乱れが生じた。また、濃度依存的に休眠状態へ移行する個体数も増加した。しかし、Octopamine と比べると Norepinephrine 処理の効果は弱かった。遊泳軌跡の解析ではほとんどの個体において Octopamine 同様の旋回行動を繰り返し、固着性の行動へ移ることはなかった。しかし、Octopamine よりもその旋回半径は狭く、より強い腹部側への屈曲が体に見られた。特に Norepinephrine の影響が大きかった個体では、体が球状、輪状となるほど強い屈曲を示し、繊毛冠が屈曲したヒルガタワムシ自身と接触するなどして

繊毛冠の状態を観察することはできなかった。

Serotonin 処理群では繊毛運動が微弱化した (図 4 右下)。また遊泳中の伸縮が誘発され、濃度依存的な metachrony の乱れが生じた。その多くでは、口前繊毛の繊毛運動が微弱化し、一部では繊毛運動がほぼ停止している個体も見られた。口前繊毛の繊毛運動がほぼ停止した個体では、NiCl<sub>2</sub> 処理群で観察された影響と同様に、有効打方向に屈曲して停止する繊毛が観察され、繊毛冠は一定の形状を維持していた。遊泳軌跡の解析では、Serotonin 処理によって遊泳と固着性の匍匐運動を高い頻度で切り替える様子が見られ、その軌跡は遊泳性のしなやかな線と匍匐性の細かな蛇行が見られる線とが混在して描かれた (図 4 右下)。小さな点のように見える軌跡の集中は、遊泳からの匍匐への切替えと匍匐運動によるものである。また、Serotonin がヒルガタワムシの体に与えた影響としては、繊毛冠のある頭部と胴部の間にある節の収縮と足の伸長、吻状突起の収縮、そして頭部の腹側への屈曲が高頻度で観察された。

### 神経伝達物質の生合成阻害による影響

神経伝達物質の過剰投与はヒルガタワムシの固着頻度と繊毛冠の露出頻度に影響を及ぼし、遊泳軌跡の局在化をもたらすことが示された。では、内在性の神経伝達物質の減少は、ヒルガタワムシの繊毛

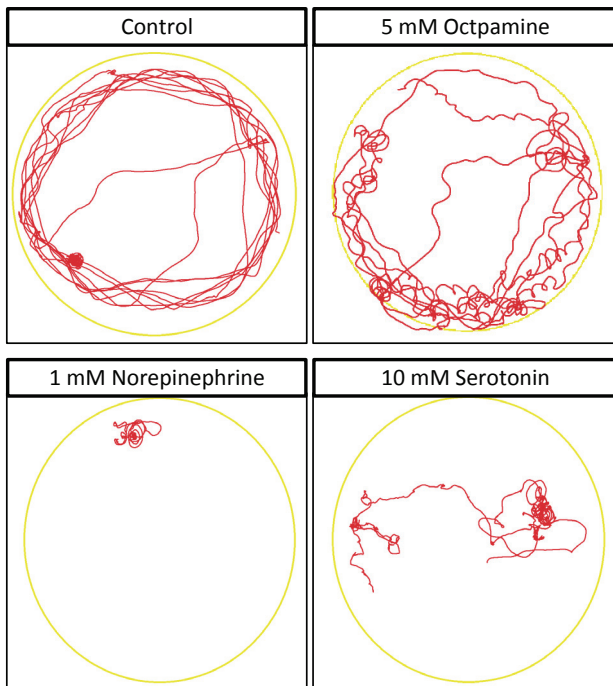


図 4. 対照群ならびに神経伝達物質投与群における遊泳軌跡の変化。神経伝達物質投与群の遊泳軌跡は対照群のそれと比べて大きな変化が観察される場合が多かった。Control, n=30; 5 mM Octopamine, n=12; 1 mM Norepinephrine, n=20; 10 mM Serotonin, n=10.

運動や行動に、どのような影響をもたらすであろうか。そのような問題意識から、次に神経伝達物質 Norepinephrine, Octopamine の生合成経路を遮断する薬剤 Nepicastat を用いてヒルガタワムシの行動にどのような変化を与えるかを観察した。

Nepicastat 処理群では、伸長状態と収縮状態間の形態変化に影響が生じ、匍匐運動における基質への粘着力が低下した。また、繊毛冠を撮影したすべての個体で収縮、または伸長した状態で繊毛冠を露出しなかったため、口前繊毛を観察できなかった。遊泳軌跡の解析においても、遊泳およびシャクトリムシ様の匍匐運動による移動は大半の個体で観察されなかった。しかし、一部の個体では匍匐運動が観察された (図 5)。無処理対照群の匍匐運動では、胴部の高い伸縮性を利用して足先で基質に粘着し、頭部を移動先に延ばした後に足を収縮させて引き入れることで移動を行うが、Nepicastat 処理群では足の粘着力の低下のためか、移動時に足先を基質上で滑らせる様子が観察された。

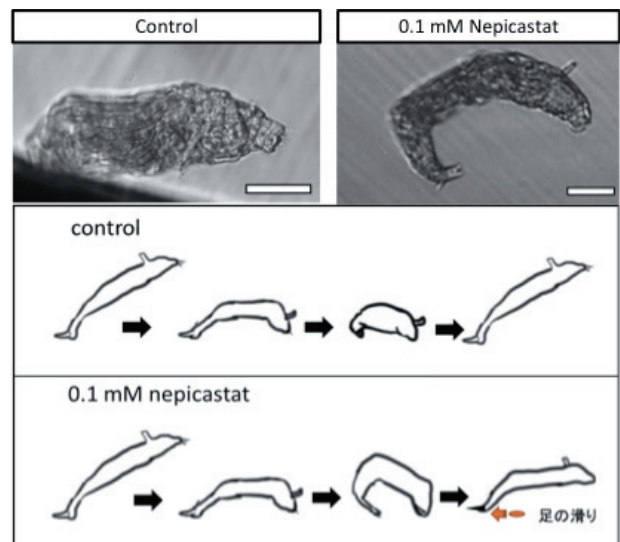


図 5. Nepicastat がヒルガタワムシの行動に与える影響。対照群では通常のシャクトリムシ様の匍匐運動パターンを示したが、0.1 mM Nepicastat 投与群の個体がシャクトリムシ様の運動パターンを行う際には、基質に足を固定して頭部を前方に伸ばす時に足が基質上で滑る様子が観察された (n=12). Bars, 50 μm.

### 討論

先行研究においてワムシ類はその多様な生態や体構造、咀嚼器の形状によって多くの種が同定され、分類されてきた。その中でもヒルガタワムシは生殖様式の特異性が意識され、生殖様式、分布、遺伝子の水平伝播、生態、行動、体制に関する研究がなされている。ヒルガタワムシにおいてその特徴的な繊毛冠における繊毛の配置や、神経系の分布、筋肉や内



臓の配置が徐々に明らかになっている中で、本研究ではワムシ類の命名の由来でもある車輪のように見える繊毛冠の *metachronal wave* を制御する機構と樽状、収縮状態、伸長状態へと体を変化させる機構について新たな知見をもたらすことを目的として実験研究を行った。

NiCl<sub>2</sub> 処理群および Serotonin 処理群では口前繊毛帯の繊毛運動の停止が生じた。繊毛運動が停止した個体では、摂食行動時に起こす繊毛冠の周囲の繊毛流形成機能が失われ、口前繊毛は繊毛冠の縁から後方へしなった状態で停止していた。停止した口前繊毛は、外部の水流やヒルガタワムシの伸縮運動があってもその形状に大きな変化は起こらず、微小な湾曲があっても即座に変化前の形状に戻る様子が観察された。この様子からヒルガタワムシの口前繊毛はある程度の剛性と弾性を持っていることが考えられる。恐らくこの弾性は有効打に利用されるものとして推測され、この繊毛を回復打によって持ち上げ、有効打の行う際に繊毛の構造的な反発力を利用していると推測される。

Octopamine, Norepinephrine, Serotonin 処理群の全てにおいて、*metachronal wave* の波形の乱れが生じた。神経伝達物質の過剰投与はヒルガタワムシの固着頻度や繊毛冠の露出頻度を変化させ、遊泳軌跡の局在化をもたらすこと、*metachrony* の維持には神経伝達物質が関与することが示唆された。アドレナリン  $\alpha$  1 受容体は、ヒトやマウスにおいて受容細胞の細胞内カルシウム濃度を上昇させることが知られている<sup>9)</sup>。また、Octopamine や Norepinephrine はどちらもアドレナリン  $\alpha$  受容体に結合する。Doran らの実験により、カタツムリの繊毛細胞において Serotonin は繊毛運動の周期性 *ciliary beating frequency* (CBF) と細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させることが報告されている<sup>10)</sup>。Serotonin の 10 mM 投与群で見られた繊毛運動の停止は、二本の中心小管がカルシウム濃度依存的にダイニンの滑り頻度と速度を抑制することと関係していると予想している<sup>12)</sup>。これらの先行研究から、本研究における Serotonin 処理による繊毛打の抑制は、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇により繊毛運動に抑制的な作用が加えられたことが原因であると考えている。また、ヒルガタワムシの繊毛冠における *metachrony* の制御には、神経刺激によるカルシウムイオンの濃度変化が関与している可能性が考えられる。本研究の今後の展望としては、カルシウムイメージングを行い、ヒルガタワムシ体内のカルシウムイオンの局在を調べ、繊毛運動とカルシウムイオンの相関について明らかにしたい。培養細胞の研究でよく用いら

れているカルシウムイオン指示薬である Fluo-8 によるイメージングを試みたが、細胞内への十分な浸透ができていなかったようなので、プロトコルを改善することを今後の展望として挙げたい。

ヒルガタワムシは固着性と遊泳性を切り替える生活をしており、固着性の行動である摂食行動ではヒルガタワムシの物理的な位置の固定や薬剤による運動性の阻害を行うことなく繊毛運動を観察することができる。この繊毛運動は *metachronal wave* を持っており、それはあたかも棘のような波形を作り出している。そのため薬剤処理による繊毛への効果を、観察しやすい棘状の波形が保持されているかどうかで判断ができるポテンシャルを秘めていると考えられる。しかし、この繊毛冠の繊毛運動はしばしば伸縮やシャクトリムシ様の匍匐運動によって体内に隠されてしまうため、撮影できる時間にムラができてしまい、平準化されたデータの取得は難しい。それでも本研究はヒルガタワムシの *metachronal wave* の形成について初めて研究したものである。今後の繊毛運動研究にヒルガタワムシが優れた研究材料として役立つことを期待する。

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、助言いただきました日野晶也教授ならびに大平剛教授に深謝いたします。また、神奈川大学総合理学研究所所長ならびに所員各位に深謝いたします。

## 文献

- 1) 朝比奈英三 (1950) ヒルガタワムシの一種 *Philodina roseola* の生態観察. A Culture Note of a Bdelloid Rotatoria *Philidina roseola* Ehrenberg. 陸水学雑誌 14: 181-188.
- 2) Koste W and Shiel R (1986) Rotifera from Australian Inland waters. I. Bdelloidea (Rotifera : Digononta). *Mar. Freshw. Res.* 37: 765-792.
- 3) Melone G and Ricci C (1995) Rotatory apparatus in Bdelloids. *Hydrobiologia* 313: 91-98.
- 4) Strathmann RR, Jahn LT and Fonseca CRJ (1972) Suspension feeding by marine invertebrate larvae: clearance of particles by ciliated bands of a rotifer, pluteus, and trochophore. *Biol. Bulle.* 142: 505-519.
- 5) Aiello E, Hager E, Akiwumi C and Stefano GB (1986) An opioid mechanism modulates central and not peripheral dopaminergic control of ciliary activity in the marine mussel *Mytilus edulis*. *Cell Mol. Neurobiol.* 6: 17-30.
- 6) Mogami Y and Takahashi K (1983) Calcium and microtubule sliding in ciliary axonemes isolated from *Paramecium caudatum*. *J. Cell Sci.* 61: 107-121.
- 7) Mizuno K, Shiba K, Okai M, Takahashi Y, Shi-taka Y, Oiwa K, Tanokura M and Inaba K (2012) Calaxin drives sperm chemotaxis by Ca<sup>2+</sup>-mediated direct modulation of a dynein motor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- U S A. **109**: 20497-20502.
- 8) Leasi F, Pennati R and Ricci C (2009) First description of the serotonergic nervous system in a bdelloid rotifer: *Macrotrachela quadricornifera* Milne 1886 (Philodinidae). *Zool. Anz.* **248**: 47-55.
  - 9) Keshmirian J and Nogrady T (1989) Rotifer neuropharmacology IV. Involvement of aminergic neurotransmitters in the abnormal sessile behavior of *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Aschelminthes). *Hydrobiologia* **174**: 213-216.
  - 10) 瀬川富朗, 福田英臣 他 (1991) 神経伝達物質 薬物作用と疾患. 廣川書店. 高崎
  - 11) Doran SA, Koss R, Tran CH, Christopher KJ, Gallin WJ and Goldberg JI (2004) Effect of serotonin on ciliary beating and intracellular calcium concentration in identified populations of embryonic ciliary cells. *J. Exp. Biol.* **207**: 1415-1429.
  - 12) Bannai H, Yoshimura M, Takahashi K and Shingyoji C (2000) Calcium regulation of microtubule sliding in reactivated sea urchin sperm flagella. *J. Cell Sci.* **113**: 831-839.