

バーチャルゾウリムシの化学応答シミュレーション

平野 旭*・辻 敏夫*
滝口 昇**・大竹 久夫***

Simulation for Chemotactic Response of *Paramecium* Using *Virtual Paramecium*

Akira HIRANO*, Toshio TSUJI*,
Noboru TAKIGUCHI** and Hisao OHTAKE***

Paramecium exhibits an avoiding reaction when it senses repellent chemicals. Also, on sensing attractants, it accelerates its swimming velocity and remains in the area. Such a chemotactic response is called chemotaxis, that is the necessary mechanism to survive in complex natural environment. This paper proposes the computer model of *Paramecium*, *Virtual Paramecium*, based on biological knowledge, in order to understand the complex relationship between the chemotactic behavior and the internal processing in cell. Simulation experiments demonstrate that the *Virtual Paramecium* can approximately realize the chemotactic behavior of actual *Paramecium* based on the information processing in cell.

Key Words: artificial life, paramecium, taxis, membrane potential, Hodgkin-Huxley Model

1. はじめに

微細加工技術の進歩により、マイクロマシンの開発が活発になりつつある。現在、マイクロサイズの微細構造体を体内に投入し、電磁界を用いて操作するマニピュレータ型マイクロマシンは、すでに実用段階に到達しつつある^{1),2)}。一方、自律性を備えたマイクロマシンの開発は、エネルギーの供給方法や制御ユニットを搭載する方法などの課題が山積しており、実現の見通しが立っていない³⁾。そこで、マイクロサイズの原生動物の行動を制御し、「生きたマイクロマシン」として利用することを目指した研究が行なわれている^{3)~5)}。

われわれの身近に存在する原生動物は、機械的な接触刺激のほかに、環境の光・温度・化学物質濃度の変化に対して敏感に反応し、生存に有利な環境を選択する。また、ある種の原生動物は、環境の電位勾配に従って陰極側に移動する「負の走電性」と呼ばれる性質をもつ。原生動物の行動を制御し、「生きたマイクロマシン」としての利用を目指した研究は、この電位勾配に対する応答に着目したものである^{3)~5)}。現在、

この分野の研究では、原生動物のなかでも比較的大型で指向性をもって遊泳し、なおかつ比較的定量的に制御できる可能性をもつゾウリムシが注目されている。

Itoh は、溶液に印加した電位勾配に対するゾウリムシの応答を計測し、統計的な応答特性にもとづいて物体搬送に適した制御則を導出した³⁾。また、Ogawa らは、高精度かつ詳細な制御の実現を目指し、電圧を印加してからゾウリムシの頭部が陰極側に向くまでの回転特性をモデル化している⁵⁾。しかしながら、原生動物の刺激に対する応答は、培養された環境や遊泳する環境の各種イオン濃度によって変化するため、統計データに基づいた制御則やモデルが、常に有効であるとは限らない。この問題に対してわれわれは、環境のイオン組成の変化に応じた挙動や情報処理特性の変化を予測できるコンピュータモデルの構築が、1つの有効なアプローチであると考えている。

これまでに著者らは、Hodgkin and Huxley が提案した神経の活動電位を表現する微分方程式を参考に、ゾウリムシの膜電位変化を再現するコンピュータモデルを提案した⁶⁾。そして、実生物実験から取得したパラメータを用いることにより、標準塩溶液条件下における、ゾウリムシの機械刺激に対する膜電位変化をある程度再現することに成功した。このコンピュータモデルは、環境のイオン組成の変化に対する膜電位変化の違いまでは再現していなかった。また、膜電位などの内部処理に基づく繊毛の動きをモデル化していないため、環境探索シミュレーションを実現していなかった。そこで本論文では、環境の Ca^{2+} と K^+ 濃度に応じた膜電位変化を再現する情報処理モデルを新たに提案する。さらに、ゾウリム

* 広島大学大学院工学研究科 東広島市鏡山 1-4-1

** 広島大学大学院先端物質科学研究科 東広島市鏡山 1-3-1

*** 大阪大学大学院工学研究科 吹田市山田丘 2-1

* Graduate School of Engineering, Hiroshima University, Kagamiyama 1-4-1, Higashi-Hiroshima

** Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University, Kagamiyama 1-3-1, Higashi-Hiroshima

*** Graduate School of Engineering, Osaka University, Yamadaoka 2-1, Suita

(Received May 15, 2006)

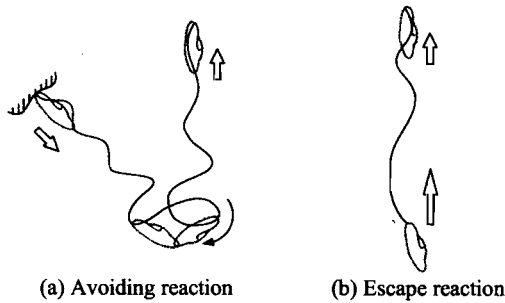


Fig. 1 Avoiding and escape reactions of *Paramecium* (revised from the figure in the literature⁷⁾)

シの感覚メカニズムと運動メカニズムを生物学的知見に基づいてモデル化し、情報処理モデルと組みあわせることで、環境探索シミュレーションを可能とする「バーチャルゾウリムシ」を提案する。

以下、2ではゾウリムシの刺激に対する応答メカニズムについて説明し、3ではバーチャルゾウリムシを構成する3つのユニットについて述べる。4では、バーチャルゾウリムシを用いた環境探索シミュレーションの結果を実生物データと比較し、妥当性を検証する。

2. ゾウリムシの刺激応答メカニズム

ゾウリムシは、体長約250 μm 、幅約50 μm の楕円球状をしており、細胞表面に様に生えている繊毛の運動（繊毛打）によって水中を遊泳する。通常、ゾウリムシは環境に依存した速度で遊泳する。環境から刺激を受容していないときの運動特性は、「カイネシス」と呼ばれる⁷⁾。一方、捕食者の接触などを感知すると、一時的に遊泳方向や速度を変化させることでその場から逃げる。この一時的な応答は「驚き反応」と呼ばれ、以下に述べるメカニズムで起こる⁷⁾。

ゾウリムシの細胞膜には、イオンチャネルやイオンポンプと呼ばれるタンパク質が存在し、細胞内の Ca^{2+} 濃度を環境よりも低く、 K^+ 濃度を高く保っている。細胞内外の各種イオン濃度差に基づく細胞内電位は、膜電位と呼ばれる。そして、ゾウリムシが刺激を受容していないときの膜電位は静止膜電位と呼ばれ、環境の Ca^{2+} 濃度と K^+ 濃度によって値が決まる。標準塩溶液とよばれる環境では、静止膜電位の値は、約-30 [mV]程度である⁷⁾。ゾウリムシが刺激を受容すると、イオンチャネルが開くことで膜を介したイオンの流出入が起こり、膜電位が静止膜電位レベルから大きく外れる。膜電位が静止膜電位よりも正の方向に変化することを脱分極、逆に負の方向へ変化することを過分極という。

脱分極は、主に Ca^{2+} の流入によって生じる。細胞内に Ca^{2+} が取り込まれると繊毛打方向が反転し、ゾウリムシは後退する (Fig. 1(a))。しかしながら、細胞内に流入した Ca^{2+} は、イオンポンプによって細胞外に排出されるため、すぐに環境に依存した前進遊泳に戻る。一方、細胞外に K^+ が流出すると過分極が生じ、繊毛打方向が細胞の前後軸後方へと変

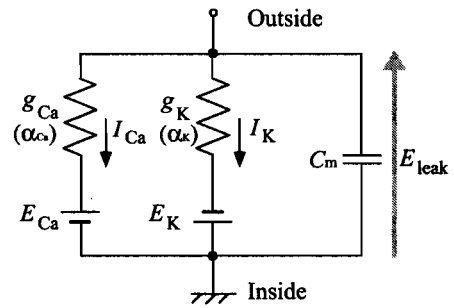


Fig. 2 An electric circuit model for *Paramecium*

化する。これにより、繊毛打による駆動力が前進速度へ反映されやすくなると同時に、繊毛打の頻度も上昇するため、加速遊泳が生じる (Fig. 1(b))。

このようにゾウリムシは、高等生物同様に環境の変化を電気的な信号に変換し、その情報処理結果に基づいて運動を制御している。

3. バーチャルゾウリムシ

本論文で提案するバーチャルゾウリムシは、感覚ユニット、情報処理ユニット、運動決定ユニットの3つで構成される。感覚ユニットは、環境のイオン濃度の変化から、ゾウリムシが受容する刺激量を計算するユニットである。情報処理ユニットは、感覚ユニットで計算した刺激量をもとに、ゾウリムシの膜電位と繊毛内 Ca^{2+} の変化を計算するユニットである。運動決定ユニットは、情報処理ユニットの計算結果をもとに繊毛の動きを計算し、それに依存した個体の挙動を算出するユニットである。

3.1 感覚ユニット

環境の Ca^{2+} 濃度と K^+ 濃度に依存したゾウリムシの膜電気特性は、Fig. 2のような電気回路で表現することができる。図は細胞膜をコンデンサ、イオンチャネルを抵抗素子とみなし、細胞内外におけるイオンの流出入を電流で表現したものである。 E_{Ca} および E_{K} は、平衡電位とよばれる細胞内外のイオン濃度差に基づく電位差であり、以下の式で計算することができる⁷⁾。

$$E_{ion} = \frac{RT}{cF} \cdot \ln \frac{[ion]_o}{[ion]_i} \quad (ion \in \{\text{Ca}^{2+}, \text{K}^+\}) \quad (1)$$

ここで c はイオン価数、 F はファラデー定数 (= 96500 coulomb/mole)、 R は気体定数、 T は絶対温度である。 $[ion]_o$ は環境のイオン濃度、 $[ion]_i$ は細胞内のイオン濃度である。環境のイオン組成に依存する静止膜電位 E_{leak} は、次式を用いて近似的に計算する⁷⁾。

$$E_{\text{leak}} = \frac{\alpha_{\text{Ca}} E_{\text{Ca}} + \alpha_{\text{K}} E_{\text{K}}}{\alpha_{\text{Ca}} + \alpha_{\text{K}}} \quad (2)$$

α_{Ca} 、 α_{K} は、細胞体に存在するイオンチャネルのうち、電位刺激に応答せずに開口しつづけている Ca^{2+} チャネルと K^+ チャネルの存在比率を表わすパラメータと定義した⁷⁾。

ゾウリムシの膜電位を静止膜電位レベルから変動させると、

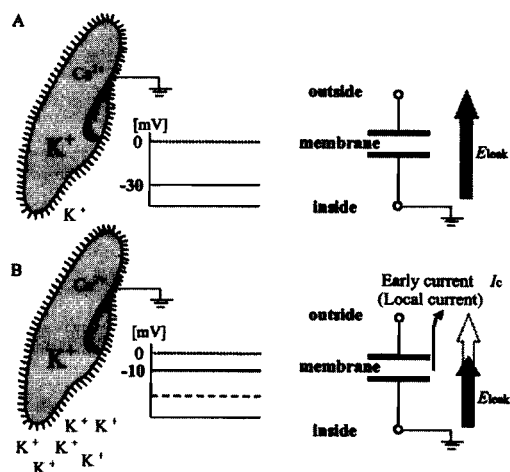


Fig. 3 Membrane potential change based on chemical environmental change

閉口していた電位感受性イオンチャンネルが開口する (2. 参照⁷⁾). 膜電位固定実験により, 膜電位を静止膜電位レベルから急激に脱分極させると, 短い外向き膜容量電流に続き, 外向きイオン電流が発生する. このように外向きイオン電流が発生する条件では, 電位感受性 Ca^{2+} チャンネルが開口し, 細胞内へ Ca^{2+} を透過させるようになる⁷⁾.

ここで, 環境の K^+ 濃度の増大を考えると, (1), (2) 式より, 静止膜電位レベルが上昇し, 環境と細胞内の電位差が減少することが計算できる (Fig. 3 A \rightarrow B). したがって, 環境の K^+ 濃度の変化でも Fig. 3 B に示す外向き電流 $I_c(t)$ が発生する. モデルでは, 環境のイオン濃度の変化に伴って発生する初期電流 $I_c(t)$ を次式で計算する.

$$I_c(t) = \frac{1}{R_m}(E_{\text{leak}}(t) - V(t)) \quad (3)$$

R_m は膜の入力抵抗, $V(t)$ は膜電位である. なお, 本論文における R_m は, 一般的に定義される細胞全体の入力抵抗値ではなく, 初期電流が局所的に発生することを考慮した抵抗値とする. $I_c(t) > 0$ は電流の流出, $I_c(t) < 0$ は電流の流入を意味する. つぎに, 初期電流の値をもとに, イオンチャンネルの初期開口率を次式で決定する.

$$O_{\text{Ca}} = \begin{cases} b_{\text{Ca}} \cdot I_c & (I_c \geq \text{Th}_1) \\ 0 & (I_c < \text{Th}_1) \end{cases} \quad (4)$$

$$O_{\text{K}} = \begin{cases} 0 & (I_c > \text{Th}_2) \\ -b_{\text{K}} \cdot I_c & (I_c \leq \text{Th}_2) \end{cases} \quad (5)$$

O_{Ca} , O_{K} は, 環境のイオン濃度変化に基づく Ca^{2+} チャンネルと K^+ チャンネルの初期開口率である. b_{Ca} , b_{K} および Th_1 , Th_2 は定数である. 膜電位固定実験より, 初期イオン電流はオームの法則に従うことが確認されている. また, 瞬間的な脱分極が大きいほど, 反応する電位感受性チャンネルも多いと考えられている⁷⁾. そこで, 各イオンチャンネルの初期開口率は, 電流 $I_c(t)$ の大きさに比例するものと仮定した. 閾値 Th_1 よりも大きな電流が外向きに流れるとき ($I_c \geq \text{Th}_1 > 0$), Ca^{2+}

チャンネルの初期開口率 O_{Ca} が増大する. 逆に, 閾値 Th_2 よりも大きな電流が内向きに流れるとき ($I_c \leq \text{Th}_2 < 0$) は, K^+ チャンネルの開口率 O_{K} が増大する.

以上により, 環境のイオン濃度変化に応じたイオンチャンネルの初期開口率を決定する. つぎのユニットでは, この入力 O_{Ca} と O_{K} をもとに, 膜電位変化と細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を計算する.

3.2 情報処理ユニット⁶⁾

まず, 繊毛を有するゾウリムシの電気膜特性を Hodgkin-Huxley 方程式⁸⁾ (以下, H-H 方程式) を参考に次式でモデル化する⁶⁾.

$$\dot{V}(t) = \frac{1}{C_m}[I_c(t) - I_{\text{Ca}}(t, V) - I_{\text{K}}(t, V) - I_{\text{leak}}(t, V)] \quad (6)$$

ここで, $V(t)$ は膜電位, $I_c(t)$ は初期電流, C_m は膜容量である. また, $I_{\text{Ca}}(t, V)$ は Ca^{2+} 電流, $I_{\text{K}}(t, V)$ は K^+ 電流, $I_{\text{leak}}(t, V)$ はリーク電流であり, それぞれ以下の式で表現できる⁸⁾.

$$I_{\text{Ca}}(t, V) = \bar{g}_{\text{Ca}} m^5 \{1 - (1 - h)^5\} (V(t) - E_{\text{Ca}}(t)) \quad (7)$$

$$I_{\text{K}}(t, V) = \bar{g}_{\text{K}} n (V(t) - E_{\text{K}}(t)) \quad (8)$$

$$I_{\text{leak}}(t, V) = g_{\text{leak}} (V(t) - E_{\text{leak}}(t)) \quad (9)$$

ここで \bar{g}_{Ca} , \bar{g}_{K} , g_{leak} はそれぞれカルシウム, カリウム, リークイオンチャンネルのイオンコンダクタンスの最大値, E_{Ca} と E_{K} は, それぞれカルシウムとカリウムの平衡電位, E_{leak} は静止膜電位, m , n , h は電位感受性イオンチャンネルの開閉に関するパラメータであり, それぞれの指数は文献⁹⁾から決定した.

イオンチャンネルの開閉に関するパラメータ $x \in \{m, h, n\}$ は, Hodgkin and Huxley が神経の膜電位変化を再現するために提案した式⁸⁾を参考に次式で表現する.

$$\begin{aligned} \dot{m}(t, V, O_{\text{Ca}}) = & \alpha_m(V, O_{\text{Ca}}) \cdot (1 - m(t, V, O_{\text{Ca}})) \\ & - \beta_m(V) \cdot m(t, V, O_{\text{Ca}}) \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} \dot{h}(t, V, O_{\text{Ca}}) = & \alpha_h(V, O_{\text{Ca}}) \cdot (1 - h(t, V, O_{\text{Ca}})) \\ & - \beta_h(V) \cdot h(t, V, O_{\text{Ca}}) \end{aligned} \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \dot{n}(t, V, O_{\text{K}}) = & \alpha_n(V, O_{\text{K}}) \cdot (1 - n(t, V, O_{\text{K}})) \\ & - \beta_n(V) \cdot n(t, V, O_{\text{K}}) \end{aligned} \quad (12)$$

O_{Ca} と O_{K} は, 感覚ユニットで計算した Ca^{2+} チャンネルおよび K^+ チャンネルの初期開口率である. $x \in \{m, h, n\}$ は, 各時刻の膜電位に応じて同種のイオンチャンネルが開口している統計的確率, $1 - x$ は閉口している確率を表現したものである⁸⁾. 環境の急激な変化によって初期電流が発生すると, イオンチャンネルが開口する (O_{Ca} , O_{K}). イオンチャンネルが開口し, Ca^{2+} が細胞内に流入すると, 膜電位が急激に上昇する. この急激な電位変化を活動電位という. この活動電位が発生しているときのイオンチャンネルの開口率は, 初期電流 I_c

から計算する O_{Ca} , O_K ではなく、膜電位に依存する。

膜電位が上昇すると、さらに Ca^{2+} チャンネルが開く ($m \rightarrow 1$)。しかしながら、イオンの流入はチャンネルの不活性化 ($h \rightarrow 1$) を引き起こし、膜電位の上昇を抑制する。この頃、 K^+ チャンネルの活性化が引き起こされ ($n \rightarrow 1$)、イオンの流出が生じる。これにより、膜電位は急激に静止膜電位レベル E_{leak} に戻る。脱分極にみられる複雑な膜電位変化は、(6) ~ (12) 式により再現されている。

つぎに、繊毛運動において重要なパラメータとなる繊毛内 Ca^{2+} 濃度を計算する。繊毛は非常に微小であるため、内部の Ca^{2+} の変化を定量的に計測することは非常に困難である^{10)~12)}。本論文では、論文⁶⁾をもとに、以下の手順で計算する。

まず、細胞体だけの電気特性を定式化するために、繊毛を除去したゾウリムシを考える。このゾウリムシの細胞体で生じる Ca^{2+} 電流を $I_{Ca(cell)}$ とすると膜電位変化は、

$$\dot{V}(t) = \frac{1}{C_m} [I_c(t) - I_{Ca(cell)}(t, V) - I_K(t, V) - I_{leak}(t, V)] \quad (13)$$

と表現することができる⁶⁾。ここで、 $I_{Ca(cell)}$ は

$$I_{Ca(cell)} = \bar{g}_{Ca(cell)} m_{(cell)}^5 \{1 - (1 - h_{(cell)})^5\} (V(t) - E_{Ca}) \quad (14)$$

である。ただし、 $\bar{g}_{Ca(cell)}$ は細胞体における Ca^{2+} チャンネルのイオンコンダクタンスの最大値、 $x_{(cell)}$ ($x \in \{m, h\}$) は細胞体の Ca^{2+} チャンネルの開口に関するパラメータであり、次式で表わすことができる。

$$\dot{x}_{(cell)}(t, V, O_{Ca}) = \alpha_{x(cell)}(V, O_{Ca}) \cdot (1 - x_{(cell)}(t, V, O_{Ca})) - \beta_{x(cell)}(V) \cdot x_{(cell)}(t, V, O_{Ca}) \quad (15)$$

繊毛で生じる Ca^{2+} 流入電流 $I_{Ca(cilia)}$ は、(14) 式から求めた $I_{Ca(cell)}$ と (7) 式で求めたゾウリムシ全体に生じる Ca^{2+} 電流 I_{Ca} から、次式により求めることができる。

$$I_{Ca(cilia)} = I_{Ca} - I_{Ca(cell)} \quad (16)$$

以上、細胞体で生じる Ca^{2+} の流入と繊毛で生じる Ca^{2+} の流入とを分離した。

つぎに、(16) 式で求められる繊毛に生じる Ca^{2+} 電流 $I_{Ca(cilia)}$ を用いて、繊毛内 Ca^{2+} 濃度 $[Ca^{2+}]_{cilia}$ を次式で計算する¹³⁾。

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{cilia}}{dt} = -\frac{1}{2F} [I_{Ca(cilia)} + (I_p)_{Ca}] \quad (17)$$

$$(I_p)_{Ca} = 2F \frac{(\bar{J}_p)_{Ca}}{1 + \left(\frac{K_m}{[Ca^{2+}]_{cilia}}\right)^3} \quad (18)$$

ここで、 F はファラデー定数、 $(\bar{J}_p)_{Ca}$ は Ca^{2+} の流出量の最大値、 K_m は Ca^{2+} の流出量が最大値の半分になるときの

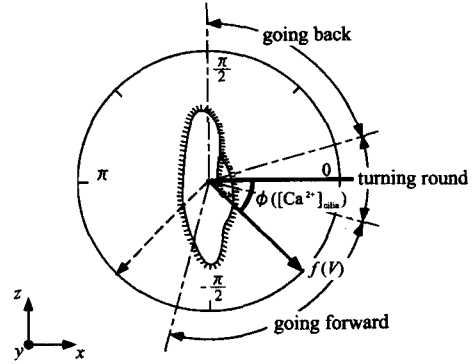


Fig. 4 Ciliary beat direction of *Paramecium*

$[Ca^{2+}]_{cilia}$ の値である。また、 $(I_p)_{Ca}$ は Ca^{2+} を体外に排出する Ca^{2+} ポンプによって生じるポンプ電流である。膜電位変化を算出する (6) 式や (13) 式では I_{leak} に含まれるものとする。上式を用いることにより、繊毛内 Ca^{2+} 濃度の変化量を計算する⁶⁾。なお、細胞体には電位感受性 Ca^{2+} チャンネルは存在しないため⁷⁾、厳密には (13)~(15) 式は不要である。本論文では、文献⁷⁾で述べてあるような細胞体に存在するイオンポンプの膜電位変化に応じた活性はモデル化しておらず、その効果を等価的に考慮するために電位感受性 Ca^{2+} チャンネルが存在すると仮定した。

3.3 運動決定ユニット

ゾウリムシの運動は、細胞表面に一様に生えた繊毛を打つ方向（繊毛打方向）とその強さ（繊毛打頻度）によって決まる。繊毛打方向とゾウリムシの挙動の関係を Fig. 4 に示す。通常、ゾウリムシの繊毛は $-\pi/4$ [rad] 方向を打ち、環境の変化に応じて $\pi/2$ [rad] から $-7\pi/12$ [rad] の間で変化する。繊毛打方向が $-\pi/2$ [rad] に近づくと前進力が増して加速し、逆に $\pi/2$ [rad] 近くを打つと後退する。まず、繊毛打方向 ϕ と繊毛内 Ca^{2+} 濃度の関係についてモデル化する。

ゾウリムシの繊毛は非常に微小であるため、繊毛内の Ca^{2+} 濃度を直接操作し、濃度と繊毛打方向の関係を検証することが困難である。そこで Naitoh and Kaneko は、ゾウリムシの細胞膜を化学溶液で処理し、ゾウリムシが存在する溶液の Ca^{2+} を繊毛に直接作用させる実験方法を提案した¹²⁾。この実験結果を Fig. 5 に示す。図中の白い丸は、ゾウリムシが前進していることを意味し、黒丸は後退していたことを示している。Fig. 5(a) より、繊毛内 Ca^{2+} 濃度が $10\mu\text{M}$ 以下であれば、繊毛打頻度は Ca^{2+} 濃度にあまり影響を受けないことがわかる。一方、Fig. 5(b) より、溶液の Ca^{2+} 濃度に従って繊毛打方向 ϕ が変化し、遊泳速度が変化していることがわかる。本論文では、この実験結果をもとに、繊毛打方向 ϕ と繊毛内 Ca^{2+} 濃度の関係を次式で定式化する。

$$\phi([Ca^{2+}]_{cilia}) = \pi \left(\frac{1}{A_\phi \log_{10}([Ca^{2+}]_{cilia})} - 0.5 \right) \quad (19)$$

$$(A_\phi = A_{\phi 1} \quad ([Ca^{2+}]_{cilia} < C_\phi))$$

$$(A_\phi = A_{\phi 2} \quad ([Ca^{2+}]_{cilia} \geq C_\phi))$$

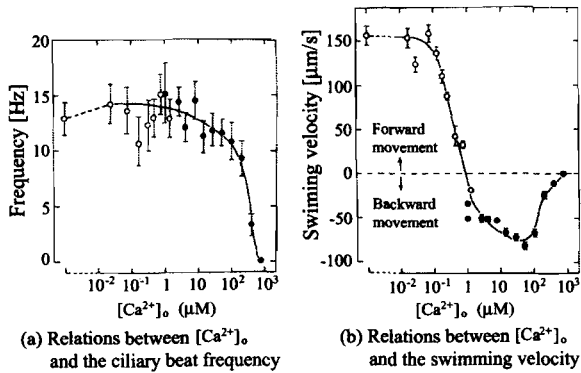


Fig. 5 Ciliary beat direction and frequency based on the Ca^{2+} concentration in cilia (revised from the figure in the literature¹²⁾)

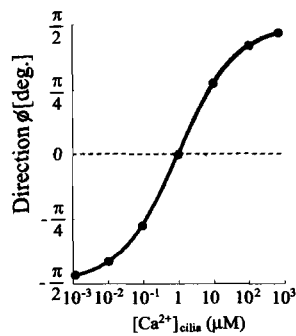


Fig. 6 Relations between $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}$ and the ciliary beat direction in *Virtual Paramecium*

ここで、 $A_{\phi 1}$ と $A_{\phi 2}$ は定数である。本モデルでは、繊毛打方向 ϕ の範囲を $\pi/2 \geq \phi \geq -\pi/2$ とし、 C_{ϕ} は $\phi = 0$ deg. となるとき繊毛内 Ca^{2+} 濃度である。 $C_{\phi} = 1 \mu\text{M}$ とした場合の(19)式の特性を**Fig. 6**に示す。

つぎに、繊毛打頻度と膜電位の関係についてモデル化する。ゾウリムシの膜電位変化と繊毛打頻度の関係を検証した実験結果を**Fig. 7**に示す¹⁴⁾。通常遊泳時の繊毛打頻度が10~25 [Hz]であるのに対し、膜電位の変化に応じて約50 [Hz]程度まで増大しているようすがわかる。このようにゾウリムシの繊毛打頻度は、膜電位変化に依存している⁷⁾。本論文では、繊毛内 Ca^{2+} 濃度が $10^2 \mu\text{M}$ 以上になると繊毛打頻度が減少する特性(**Fig. 5(a)**)を考慮し、次式で定式化する。

$$f(V, [\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}) = f(V) - f([\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}) \quad (20)$$

$$f(V) = f_0 + A_{f1} (|A_{f\text{req}} - V(t)|)^{A_{f2}} \quad (21)$$

$$f([\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}) = \left(\frac{f_{\text{max}}}{1 + \exp(A_{f3} \log_{10}(A_{f4} [\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}))} \right) \quad (22)$$

ここで $A_{f1} \sim A_{f4}$ は定数、 f_0 は通常時の繊毛打頻度、 $A_{f\text{req}}$ は繊毛打頻度が f_0 となるとき膜電位である。ただし、本モデルにおける繊毛打頻度 f は、 $f_0 \leq f \leq f_{\text{max}}$ とする。(21)式は、膜電位に依存した繊毛打頻度の変化をモデル化した式であり、 $A_{f2} = 2.0$ の条件では**Fig. 8(a)**に示す特性となる。また、(22)式は、繊毛内 Ca^{2+} 濃度が $10^2 \mu\text{M}$ 以上になると繊毛打頻度が減少する特性をモデル化した式であり、

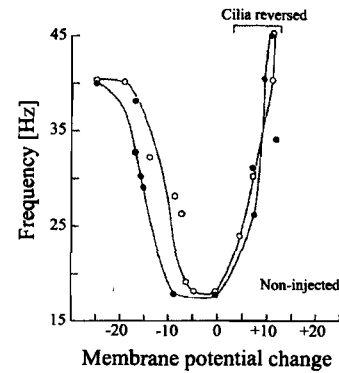
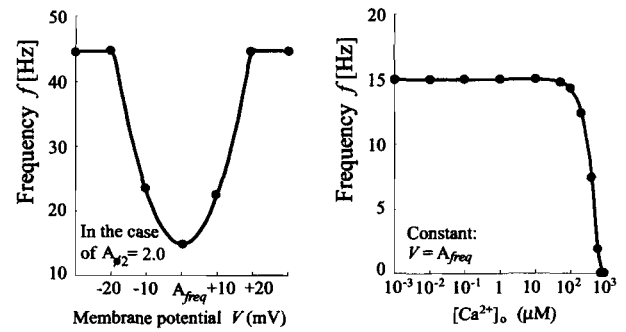


Fig. 7 Ciliary beat frequency based on the membrane potential (revised from the figure in the literature¹⁴⁾)



(a) Relations between V and the ciliary beat frequency

(b) Relations between $[\text{Ca}^{2+}]_o$ and the ciliary beat frequency

Fig. 8 Characteristics of the ciliary beat frequency in *Virtual Paramecium*

Fig. 8(b)に示す特性となる。

以上、(19)~(22)式で計算した繊毛打方向および繊毛打頻度から、ゾウリムシの挙動を計算する¹⁵⁾。まず、繊毛打頻度に基づく駆動力を以下の式で計算する。

$$F = a_0 f(V, [\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}}) \quad (23)$$

ここで a_0 は、繊毛打頻度 f を駆動力 F に変換する係数である。つぎに、繊毛打方向 $\phi([\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}})$ から、**Fig. 9(a)**に示すような体の前後軸に平行な成分 $F_f = F \sin \phi([\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}})$ とそれに垂直な成分 $F_s = F \cos \phi([\text{Ca}^{2+}]_{\text{cilia}})$ を求めることができる。これらの力を速度に変換する係数を a_1 とすると、ゾウリムシの遊泳速度 v_i ($i \in \{f, s\}$)は

$$v_i = -a_1 F_i \quad (24)$$

与えられる。ここで、 a_1 は力を速度に変換する係数、 v_f は体の前後軸と平行な速度、 v_s はそれと垂直な速度である(**Fig. 9(b)**)。また、ゾウリムシを前後軸を中心とした半径 r の楕円体と考えると、その自転角速度 ω_s は

$$\omega_s = \frac{v_s}{r} \quad (25)$$

と表わされる。

ゾウリムシには、囀口部の特殊な繊毛運動などにより**Fig. 9(c)**のような前後軸に垂直な力 F_d も発生している。

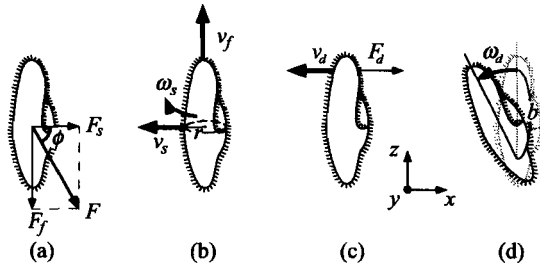


Fig. 9 Driving force of *Paramecium* generated by the ciliary movement

この F_d によって発生する前後軸に垂直な速度 v_d と回転角速度 ω_d (Fig. 9(c), (d)) は,

$$v_d = -a_2 F_d \quad (26)$$

$$\omega_d = \frac{v_d}{b} \quad (27)$$

で求めることができる。ここで、 a_2 は F_d を v_d に変換する係数、 b は支点と力点間の距離である。以上により繊毛運動に基づく個体の挙動を計算する。

以上、ゾウリムシが環境のイオン濃度変化を感知して運動を決定するまでのプロセスを、感覚ユニット、情報処理ユニット、運動決定ユニットの3つに分けてモデル化した。

4. 計算機シミュレーション

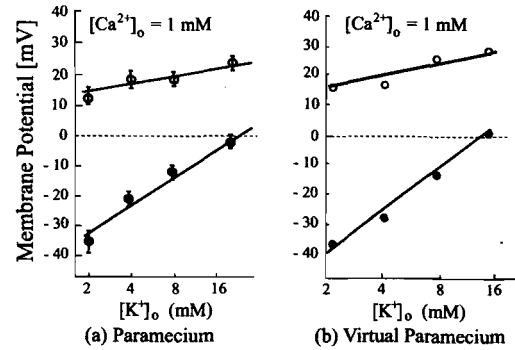
4.1 パラメータの決定

バーチャルゾウリムシを用いて環境探索シミュレーションを行なうために、まずモデルに含まれる各パラメータの設定を行なった。(2)～(4)式に含まれるパラメータの値は、文献⁷⁾より $[K^+]_i = 20 \text{ mM}$, $[Ca^{2+}]_i = 10^{-8} \text{ M}$ とした。標準塩溶液中の Ca^{2+} と K^+ 濃度は、細胞内イオン濃度と文献⁷⁾に示された平衡電位の値から、(1)式を用いて $[K^+]_o = 4.09 \text{ mM}$, $[Ca^{2+}]_o = 0.204 \text{ mM}$ を得た。 R_m は $R_m = 10^9 \Omega$ と仮定し、本シミュレーションでは b_{ca} および b_k は $b_{ca} = 0.25$, $b_k = 5.0$ とした。(6)～(18)式に含まれるパラメータ値には、内藤による実測値⁶⁾を用いた。

繊毛打方向 $\phi([Ca^{2+}]_{cilia})$ と繊毛打頻度 $f(V, [Ca^{2+}]_{cilia})$ に関するパラメータは、ゾウリムシの運動を記録したビデオや文献^{7), 16)}を参考に、 $A_{\phi 1} = 4.0$, $A_{\phi 2} = 2.0$, $C_{\phi} = 1.0 \mu\text{M}$, $f_0 = 15.0 \text{ Hz}$, $f_{max} = 45.0 \text{ Hz}$, $A_{f1} = 0.08$, $A_{f2} = 2.0$, $A_{f3} = -4.0$, $A_{f4} = 0.001$, $A_{freq} = -30 \text{ mV}$ とした。また、(23)～(27)式に含まれるパラメータの値は、ゾウリムシの幅が約 $50 \mu\text{m}$ であることから $r = 25 \mu\text{m}$ とし、そのほかのパラメータは $a_0 = 100$, $a_1 = 5 \text{ m/Ns}$, $a_2 = 20 \text{ m/Ns}$, $b = 200 \mu\text{m}$, $F_d = 0.5 \text{ mN}$ とした。

4.2 イオン組成に対するバーチャルゾウリムシの特性

まず、環境の K^+ と Ca^{2+} 濃度に対する膜電位変化の検証を行なった。Fig. 10(a) は、 $[Ca^{2+}]_o$ を固定し、 $[K^+]_o$ を変化させたときの実生物の静止膜電位 (●) と脱分極の飽和尖頭値 (○) の関係である。静止膜電位は、 $[K^+]_o$ と $[Ca^{2+}]_o$



(a) *Paramecium*
(revised the figure written by Naitoh in 1972)

(b) Virtual *Paramecium*

Fig. 10 Ionic dependence of the resting membrane potential in the actual and Virtual *Paramecium*

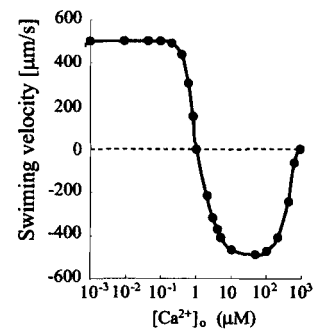


Fig. 11 Characteristics of swimming velocity based on $[Ca^{2+}]_{cilia}$ in Virtual *Paramecia*

の両方の影響を受けるが、脱分極の飽和尖頭値は $[K^+]_o$ の変化にはあまり影響されず、 $[Ca^{2+}]_o$ に大きく左右される特性であることがわかる⁷⁾。一方、 $[K^+]_o$, $[Ca^{2+}]_o$ に対する本モデルの静止膜電位 (●) と脱分極の飽和尖頭値 (○) の関係を Fig. 10(b) に示す。実線は、最小自乗法により求めた回帰直線である。Fig. 10 より、環境の Ca^{2+} と K^+ 濃度に影響を受ける膜電位の特性がある程度再現できていることが確認できる。

つぎに、情報処理系に基づく運動特性について検証を行なった。Fig. 5の実験¹²⁾を想定し、繊毛内の Ca^{2+} 濃度を変化させたバーチャルゾウリムシの遊泳速度と繊毛打頻度を Fig. 11 に示す。Fig. 11 に示す本モデルの遊泳速度が Fig. 5(b) と大きく異なるのは、文献¹²⁾の実験において除膜の過程で運動機能の一部が損なわれたことに起因すると考えられる。ゾウリムシの通常遊泳速度を考慮した本モデルの特性 (Fig. 11) を Fig. 5 と比較すると、情報処理系に基づく運動特性が定性的に再現できていることが確認できる。

4.3 環境探索シミュレーション

バーチャルゾウリムシの環境探索能力について検証する。まず、検証用データを取得するために、以下の手順で生物実験を行なった。

- 1) 厚さ約 1 mm のシリコンシートを縦 1 mm , 横 10 mm の矩形状にくり抜き、左側を刺激溶液、右側を標準塩溶液

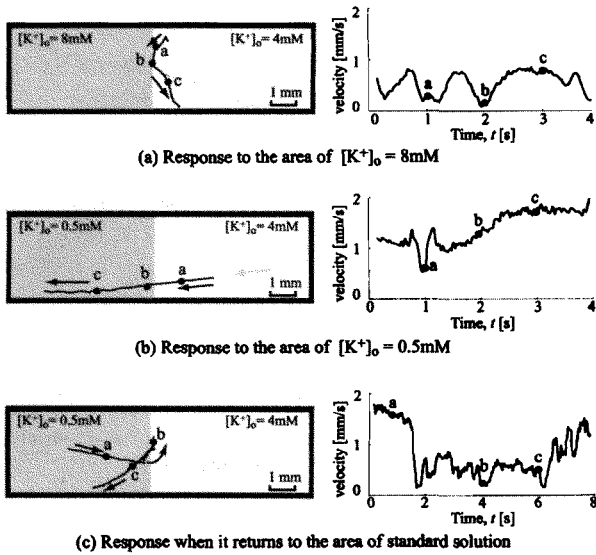


Fig. 12 Chemotactic responses of actual *Paramecium* to the K^+ concentration change in environment

($[K^+]_o = 4\text{mM}$) で満たす。

- 2) あらかじめ別の容器で標準塩溶液に慣らしておいたゾウリムシを、スポイトで右側の領域に投入する。
- 3) 二つの溶液の境界および、刺激領域で示す挙動を観察する。

Fig. 12 の左に、グレーで示した刺激溶液に対する遊泳軌跡、右にゾウリムシの遊泳速度を示す。なお Fig. 12 (c) は、Fig. 12 (b) の個体が左端の壁面に衝突した後の計測結果である。なお、刺激領域を感知した直後の挙動には個体ごとで違いがみられたが、「回避応答」と「集積応答」という点では共通の応答結果が得られたため、一例のみを示す。また、本実験では、3次元の運動を2次元的に観察しているため、真の遊泳速度は計測できない。撮影倍率も小さく、体の先端と後端を判別できないため、すべて前進していると仮定して計測している。

Fig. 12 (a) の時刻 a より、 K^+ 濃度が高い領域を感知すると、回避行動をとることがわかる。また (b) の時刻 b より、環境の K^+ 濃度の低下を感知して、加速遊泳していることがわかる。さらに (c) より、 K^+ 濃度が低い環境をしばらく遊泳すると、もとの標準塩溶液の領域に対して回避行動を示すことがわかる。

このような環境のイオン組成変化に対する挙動がバーチャルゾウリムシで再現できるかどうかを確認するために、実験と同様の条件でコンピュータシミュレーションを行なった。シミュレーションでは、3次元空間でのゾウリムシの刺激応答を模擬し、Fig. 13 に示す陰影をつけた領域を刺激領域とした。刺激溶液の K^+ 濃度を 8 [mM] としたときの結果を Fig. 13 (a) に、 K^+ 濃度を 0.5 [mM] としたときの結果を Fig. 13 (b) に示す。なお、モデルの遊泳速度は運動系で計算した値であり、負の速度は後退を示す。実生物同様に、 K^+ が高い領域

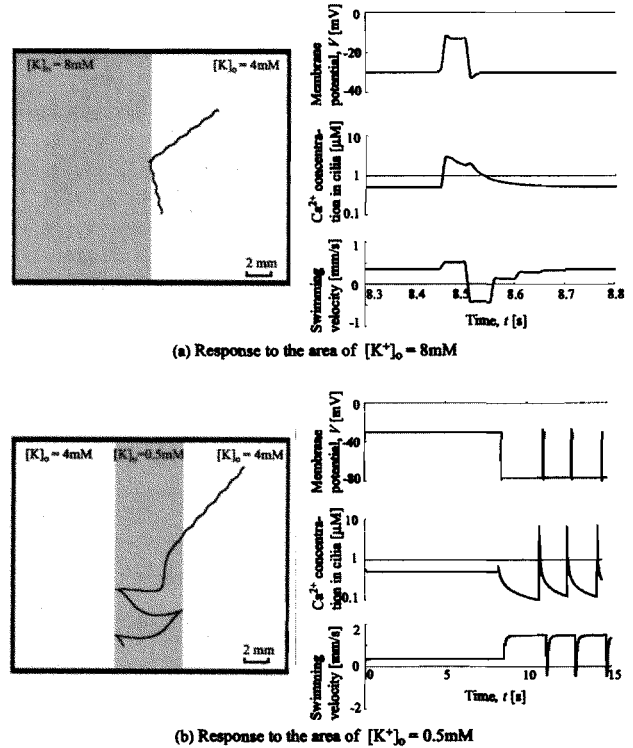


Fig. 13 Chemotactic responses of *Virtual Paramecium* to the K^+ concentration change in environment

には回避反応を示すことが確認できる。また、 K^+ が低い領域に対しては加速して進入し、その領域に留まろうとする傾向が再現できていることが確認できた。

遊泳するゾウリムシの膜電位や繊毛内 Ca^{2+} 濃度の変化を非拘束に計測することはきわめて困難であるが、バーチャルゾウリムシを用いることにより、環境の変化に対する応答およびそのときの膜電位変化や繊毛内 Ca^{2+} 濃度変化をある程度推定することが可能になった。

5. まとめ

本論文では、生物学的知見に基づいて、ゾウリムシの刺激受容から運動までの一連のプロセスをモデル化し、コンピュータモデル「バーチャルゾウリムシ」を構築した。そして、環境の Ca^{2+} と K^+ 濃度に応じた挙動と膜電位変化をシミュレート可能であることを確認した。

今後は、より多くの従来研究に基づいてパラメータの意義やその値の見直しを行ない、定量的な膜電位変化の再現を目指す。また、本提案モデルでは、壁に衝突した際の機械的な刺激の影響や個体同士の接触の影響を考慮できていない。機械刺激に対する応答モデル⁶⁾と組み合わせることで、壁面の影響や個体間の相互作用を考慮した集団遊泳シミュレーションを可能にしていく予定である。

本研究を遂行する上で多大なるご協力を頂いた内藤豊先生(ハワイ大学客員教授)、堀田康夫先生(EUGLENA Co.,Ltd.)、橋上幸治氏(松下電器産業(株))、鈴木芳代氏(日本原子力

研究開発機構)に厚く御礼申し上げます。なお、本研究は21世紀COEプログラム「超速ハイパーヒューマン技術が開く新世界」の一環として行なわれたものであり、ここに改めて謝意を表します。

参考文献

- 1) F. Arai, H. Maruyama, T. Sakami, A. Ichikawa and T. Fukuda: Pinpoint Injection of Microtools for Minimally Invasive Micromanipulation of Microbe by Laser Trap, IEEE/ASME Trans. on Mechatronics, **8**, 3/9 (2003)
- 2) A. Yamazaki et al.: WIRELESS MICRO SWIMMING MACHINE WITH MAGNETIC THIN FILM, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, **272-276**, e1741/e1742 (2004)
- 3) Akitoshi Itoh: Motion Control of Protozoa for Bio-MEMS, IEEE/ASME Transaction on Mechatronics, **5**, 181 (2000)
- 4) R.S. Fearing: Control of a Micro-Organism as a Prototype Micro-Robot, 2nd Int. Symp. on Micromachines and Human Sciences, Nagoya, Japan, Oct. 8-9 (1991)
- 5) N. Ogawa, H. Oku, K. Hashimoto and M. Ishikawa: Dynamics Model of Paramecium Galvanotaxis for Micro-robotic Application, IEEE International Conference on Robotics and Automation, Barcelona, Spain, Apr. 19 (2005)
- 6) 平野, 辻, 滝口, 大竹: 機械刺激に対するゾウリムシの膜電位変化のモデル化, 計測自動制御学会論文集, **41-4**, 351/357 (2005)
- 7) 内藤 豊: 単細胞動物の行動, 東京大学出版会 (1990)
- 8) A.L. Hodgkin and A.F. Huxley: A Quantitative Description of Current and Its Application to Conduction and Excitation in Nerve, The Journal of Physiology, **117**, 500/544 (1952)
- 9) Y. Naito and K. Sugino: Ciliary Movement and Its Control in *Paramecium*, *J. Protozool.*, **31**, 31/40 (1984)
- 10) J. Pernberg and H. Machemer: Fluorometric measurement of the intracellular free Ca^{2+} -concentration in the ciliate *Didinium nasutum* using Fura-2, *Cell Calcium*, **18**, 484/494 (1995)
- 11) Y. Iwadate and T. Suzuki: Ciliary reorientation is evoked by a rise in calcium level over the entire cilium, *Cell motility and the cytoskeleton*, **57**, 197/206 (2004)
- 12) Y. Naitoh and H. Kaneko: Reactivated Triton-Extracted Models of Paramecium: Modification of Ciliary Movement by Calcium Ions, *Science*, **176**, 523/524 (1972)
- 13) S. Gestrelus and W. Grampp: Impulse Firing in the Slowly Adapting Stretch Receptor Neuron of Lobster and Its Numerical Simulation, *Acta Physiologica Scandinavica*, **118**, 253/261 (1983)
- 14) P. Brehm and R. Eckert: AN ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF THE REGULATION OF CILIARY BEATING FREQUENCY IN *PARAMECIUM*, *J. Physiol.*, **283**, 557/568
- 15) 杉野, 内藤: ゾウリムシの遊泳軌跡の測定法, 生体の科学, 医学書院, 39巻, 5号, 485/490 (1988)
- 16) 堀田康夫: ゾウリムシ, 科学技術映像祭 科学教育部門 科学技術長官賞 (2000)

[著者紹介]

平野 旭



1980年8月15日生。2003年広島大学工学部第二類電気電子工学課程卒業。現在、広島大学大学院工学研究科博士課程後期在学中。人工生命体、シミュレーション生物学、バイオメカニクスなどの研究に従事。IEEE, 機械学会, 電子情報通信学会などの学生会員。

辻 敏夫 (正会員)



1982年8月・工・電気卒 85 同大学院工学研究科博士課程前期修了。同年同大学工学部助手。94年同助教授を経て、2002年より同大学院工学研究科教授、現在に至る。工学博士。計測自動制御学会学術奨励賞(86), 論文賞(2002), バイオメカニクス学会論文賞(90), 日本義肢装具学会論文賞(2000), 日本医科器械学会論文賞(2003), the K.S.Fu Memorial Best Transactions Paper Award of the IEEE Robotics in 2003, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス部門学術業績賞(2004)などを受賞。人間とロボットの運動制御, 生体信号解析, ニューラルネット, ヒューマン・マシンシステムなどの研究に従事。IEEE, 日本人間工学会, バイオメカニクス学会, 日本機械学会, 電気学会などの会員。

滝口 昇



1970年6月19日生。98年大阪大学大学院工学研究科応用生物工学専攻博士後期課程修了。同年広島大学大学院先端物質科学研究科助手、現在に至る。現在は化学的感覚に対する生物の応答機構の進化に関する研究などに従事。日本生物工学会, 化学工学会などの会員(工学博士)。

大竹 久夫



1949年7月27日生。78年大阪大学工学研究科発酵工学専攻博士課程修了。同年鳥根大学農学部助手。80年同大学助教授。83年東京大学応用微生物研究所助教授。85年米国イリノイ州立大学客員研究員。90年広島大学工学部教授。2004年大阪大学大学院工学研究科教授、同年広島大学名誉教授。研究分野は生命情報工学。日本生物工学会, 日本農芸化学会などの会員(工学博士)。