

別刷

# 計測自動制御学会 論文集

年 第 卷 第 号

---

(P. ~P. )

---

---



社団法人 計測自動制御学会

## 機械刺激に対するゾウリムシの膜電位変化のモデル化†

平野 旭\*・辻 敏夫\*  
滝口 昇\*\*・大竹 久夫\*\*\*

### Modeling of the Membrane Potential Change of *Paramecium* for Mechanical Stimuli†

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

This paper proposes a new model of the membrane potential change of *Paramecium* for environmental stimuli. The proposed model calculates not only the membrane potential based on the Hodgkin-Huxley equation, but also the internal  $Ca^{2+}$  concentration in cilia that cannot be measured with the actual organism. This will be helpful to reproduce the behavior of *Paramecium* based on the mechanism of the actual organism. Simulation experiments demonstrate that the proposed computer model can reproduce the characteristics of the actual organism.

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

#### 1. はじめに

マイクロ加工技術の飛躍的な進歩により、サブミリマシンを作ることは不可能ではなくなった。それは体内侵入型の医療ロボットなども夢ではなくなったことを意味する。しかしながら、エネルギー供給や制御などの困難な問題が山積みになっているため、実現できていないのが現状である。そこで、バクテリアや原生動物を行動制御して「生きたマイクロマシン」として利用しようとする研究が活発になってきている<sup>1),2)</sup>。

われわれの身近に存在する原生動物は、環境からの刺激に対して特定の挙動を示す。この性質は「走性」と呼ばれ、この優れたメカニズムにより、原生動物は現在まで種を存続させられたものと考えられる。原生動物にとっての刺激には、機械的な刺激のほかに光・温度・化学物質などさまざまなものがある。原生動物を「生きたマイクロマシン」として利用する研究では、環境の電位勾配刺激に対する応答（走電性）を利用するものが主流である。

多くの原生動物は、環境に電位勾配が印加されると、いっせいに陰極のほうへ遊泳するという「負の走電性」をもつ。しかし、バクテリアのように小さすぎるとブラウン運動の影響が非常に強く制御しにくい。そこで、ある程度しっかりとした指向性をもって遊泳し、なおかつ定量的に制御可能であることから、ゾウリムシの走電性が注目されている。現在、この分野の研究では、電気的な刺激に対する原生動物の挙動を観察し、その統計データに基づいて制御則を決定している<sup>2)</sup>。そのため、データ取得用の実験には膨大な時間と手間を要する。ところが原生動物の内部処理系は、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特性が変わってしまうため、統計データに基づいた制御則が常に適用できるとは限らない。そこで、刺激受容時や環境変動時の細胞内部の変化を推測し、それに応じた挙動を再現できるバーチャルモデルが構築できれば、より有効な原生動物の行動制御則が導出できるものと期待できる。

このように生物の内部処理系に着目したモデルの例としては、大腸菌の内部処理の一部をシミュレートした Bray and Lay<sup>3)</sup> や Hauri and Ross<sup>4)</sup> のモデル、細胞内の化学反応に基づいて細胞全体の振る舞いをシミュレートするために開発された富田らの E-CELL<sup>5)</sup> などがある。また、われわれのグループは、大腸菌の内部処理過程を化学反応式に基づいてモデル化し、人工生命体の構築に応用した<sup>6)-8)</sup>。しかしながら、「生きたマイクロマシン」の可能性として注目されるゾウリムシについて、内部処理系に基づく挙動モデルは現在まで報告されていない。

そこで本論文では、ゾウリムシの内部処理系のモデルを構築する。以下、提案するゾウリムシの内部処理系モデルにつ

† ロボティクス・メカトロニクス講演会'04で発表(2004・6)

\* 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 August 19, 2004)

(Revised January 4, 2005)

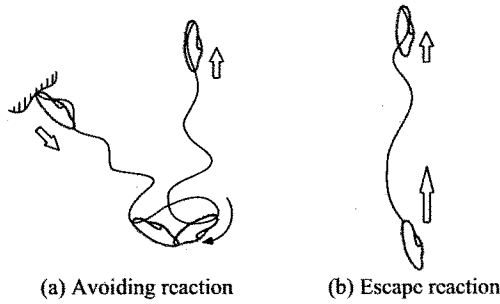


Fig. 1 Avoiding and escape reactions of *Paramecium* (revised from the figure in ref. 9))

いて説明し、その後、本モデルの特性を実生物データと比較し、モデルの妥当性を検証する。

以下、3では提案するモデルについて説明し、4では本モデルを用いて行なったコンピュータシミュレーションの結果を示す。

## 2. ゾウリムシの走性

ゾウリムシは、体長約 250 [ $\mu\text{m}$ ]、幅約 50 [ $\mu\text{m}$ ] の楕円球状をしており、表面に一樣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<sup>9)</sup>。繊毛打には有効打と回復打の2種類があり、有効打のときは繊毛が細胞表面にほぼ垂直な一平面内で動き、回復打のときには円錐面のような曲線を描きながら動く。繊毛が水から受ける粘性抵抗は、有効打のときのほうが回復打のときより大きい。その結果、周辺の水が有効打の終端方向に押し出される反力により遊泳する。

有効打の方向は、膜電位と呼ばれる細胞内外の電位差によって決まる。厳密には、繊毛内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度によって決まるが、通常は膜電位変化に依存しているとみなせる。ゾウリムシの細胞膜には、細胞内外のイオン濃度差に起因する電位差が生じており、これを膜電位と呼ぶ。これは、イオンチャネルやイオンポンプと呼ばれる、細胞内の各種イオン濃度を適切に保つ調節機構を有するためである。ゾウリムシが標準培養液中で刺激を受けていない場合、細胞外の環境を基準として細胞内は 30 [mV] 程度低く保たれている。特にこのときの膜電位を静止膜電位と呼ぶ。ゾウリムシに刺激が加わると、細胞膜に散在するイオンチャネルが開き、イオンの流入が生じる。これにより膜電位が大きく変化し、繊毛打の方向が制御される。

ゾウリムシは、環境の刺激を感知すると、この有効打方向および強さ（頻度）を変化させ、あたかも自分の身を守るかのような挙動を示す。これが走性である。たとえば、前方から物体にぶつかった場合には後退し、その後方向を変えて泳ぎ出す。また後方から、捕食者の触手などが接触したことを感知すると、速度を上げてその場から立ち去る (Fig. 1)。走性のうち、このような機械刺激に対する反応を走感性という<sup>9)</sup>。

本論文では、ゾウリムシの機械刺激に対する膜電位変化をモデル化し、実生物データとの比較を行なう。

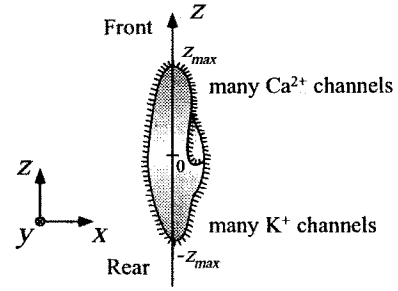


Fig. 2 The distribution of ion channels in *Paramecium*

## 3. 膜電位変化を再現するモデル

### 3.1 刺激受容と膜電位変化の関係

ゾウリムシの細胞表面には、イオンチャネルと呼ばれるイオン選択性の穴（タンパク質）が散在している。生物学の従来研究に基づく知見では、ゾウリムシの前方には  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが、後方には  $\text{K}^{+}$  チャネルが多く分布していると推測されている (Fig. 2)。通常、このイオンチャネルの大部分は閉口しているが、環境から機械刺激などが加わることにより開口する。このとき、 $\text{Ca}^{2+}$  は細胞外濃度が高いために内向き、 $\text{K}^{+}$  は細胞内濃度のほうが高いために外向きという特定の方向のイオンの流れが生じる。

このイオンチャネルの開閉は、環境からの刺激のみならず膜電位にも依存する。たとえば、前方から機械刺激が加わることで  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが開けば、細胞内へイオンが流入して膜電位（細胞内電位）が上昇する。この電位変化により、多くの  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが反応することでさらに  $\text{Ca}^{2+}$  が流入し、急激に膜電位が上昇する。しかしその膜電位が平衡電位と呼ばれる値に達することで、 $\text{Ca}^{2+}$  の流入が止み、電位の上昇が止まる。そのころ、最初の電位変化に反応した  $\text{K}^{+}$  チャネルが開き始めることで、 $\text{K}^{+}$  が流出し、急激な膜電位降下が起こる。この静止膜電位よりも正の方向への膜電位変化を脱分極といい、膜電位変化に対する2種類のイオンチャネルの応答がこのスパイク状の変化をもたらす。

一方、ゾウリムシの後方から機械刺激が加わり  $\text{K}^{+}$  チャネルが開く場合、 $\text{K}^{+}$  の流出により膜電位（細胞内電位）は、静止膜電位よりも負になる。これを過分極という。しかしこの場合、脱分極のような複雑な変化は生じず、刺激がなくなるにつれて反応する  $\text{K}^{+}$  チャネルが減少することで、緩やかに静止膜電位へと戻る。

本論文のように、ゾウリムシの機械刺激受容を取り扱う場合、細胞体への  $\text{Ca}^{2+}$  の流入と繊毛への  $\text{Ca}^{2+}$  の流入が別々に生じることに注意する必要がある。厳密にいえば、ゾウリムシの細胞体と繊毛は化学的に区切られており<sup>10)</sup>、機械刺激を受容して開く  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは細胞体に、膜電位変化に反応して開くチャネルは繊毛膜に存在する。そしてゾウリムシの繊毛打方向は、繊毛内に流入した  $\text{Ca}^{2+}$  濃度によって決まるためである<sup>9)</sup>。

原生動物の繊毛運動と細胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度との関係に関する研究は行なわれている<sup>11), 12)</sup>が、繊毛に流入する  $\text{Ca}^{2+}$  濃度そのものを定量的に計測することは非常に困難である。一方、繊毛を有するゾウリムシと繊毛を除去したゾウリムシの流入  $\text{Ca}^{2+}$  電流は測定可能であり、パラメータの決定も原理的には可能である<sup>13)</sup>。そこで本論文では、細胞体と繊毛の両方を含めたゾウリムシモデルと細胞体だけのゾウリムシモデルを作成し、この2つのモデルの差分から繊毛に生じる  $\text{Ca}^{2+}$  電流を求め、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を算出する方法を提案する。

### 3.2 Hodgkin-Huxley 方程式に基づく内部処理系モデル

まず、Hodgkin と Huxley によって提案された方法<sup>14)</sup>をもとに、繊毛を有するゾウリムシの膜電位変化をモデル化する。その電気等価回路を Fig. 3 に示す。これは、細胞膜の絶縁性をコンデンサで、イオンチャンネルを能動的な抵抗素子で表現し、細胞内外のイオン流入入によって膜電位が変化するメカニズムを表現している。

このとき、ゾウリムシの膜電位変化を、Hodgkin-Huxley が提案した非線形微分方程式<sup>14)</sup>（以下、H-H 方程式）を参考に、以下のように表現する。

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

ここで、 $V(t)$  は膜電位、 $I(t)$  は外部刺激電流、 $C_m$  は膜容量である。また、 $I_{\text{Ca}}(t, V)$  は  $\text{Ca}^{2+}$  電流、 $I_{\text{K}}(t, V)$  は  $\text{K}^+$  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<sup>14)</sup>。

$$I_{\text{Ca}}(t, V) = \bar{g}_{\text{Ca}} m^5 \{1 - (1 - h)^5\} (V(t) - E_{\text{Ca}}) \quad (2)$$

$$I_{\text{K}}(t, V) = \bar{g}_{\text{K}} n (V(t) - E_{\text{K}}) \quad (3)$$

$$I_{\text{leak}}(t, V) = g_{\text{leak}} (V(t) - E_{\text{leak}}) \quad (4)$$

ここで  $\bar{g}_{\text{Ca}}, \bar{g}_{\text{K}}, g_{\text{leak}}$  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、 $E_{\text{Ca}}, E_{\text{K}}, E_{\text{leak}}$  はそれぞれカルシウム、カリウム、リークイオンの平衡電位である。 $m, h, n$  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<sup>15)</sup>から決定した。

このチャンネルの開口・閉鎖に関するパラメータ  $x \in \{m, h, n\}$  は、次式で表わされる<sup>14)</sup>。

$$\dot{x}(t, V) = \alpha_x(V) \cdot (1 - x(t, V)) - \beta_x(V) \cdot x(t, V) \quad (5)$$

それぞれのサブユニットにおいて、チャンネルが開いている確率が  $x$ 、閉じている確率が  $1 - x$  である。この Hodgkin and Huxley が用いた上式を、本論文では以下のように修正して用いる。

$$\dot{m}(t, V, O_{\text{Ca}}) = \alpha_m(V, O_{\text{Ca}}) \cdot (1 - m(t, V, O_{\text{Ca}})) - \beta_m(V) \cdot m(t, V, O_{\text{Ca}}) \quad (6)$$

$$\dot{h}(t, V, O_{\text{Ca}}) = \alpha_h(V, O_{\text{Ca}}) \cdot (1 - h(t, V, O_{\text{Ca}})) - \beta_h(V) \cdot h(t, V, O_{\text{Ca}}) \quad (7)$$

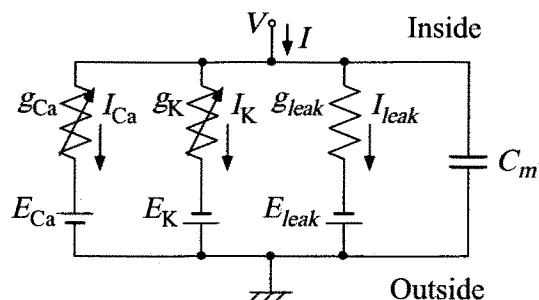


Fig. 3 An electric circuit model for *Paramecium*

$$\dot{n}(t, V, O_{\text{K}}) = \alpha_n(V, O_{\text{K}}) \cdot (1 - n(t, V, O_{\text{K}})) - \beta_n(V) \cdot n(t, V, O_{\text{K}}) \quad (8)$$

$O_{\text{Ca}}$  と  $O_{\text{K}}$  は、環境から  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルと  $\text{K}^+$  チャンネルに加わる機械的な刺激である。

電位感受性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルは、膜電位の上昇によって開口し ( $m \rightarrow 1$ )、細胞内へイオンを透過させる。膜電位は、流入する  $\text{Ca}^{2+}$  によってさらに上昇する。しかし、流入した  $\text{Ca}^{2+}$  が  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルを不活性化させるため ( $h \rightarrow 1$ )、 $\text{Ca}^{2+}$  の流入および膜電位の上昇が止まる。ちょうどそのころ、 $\text{K}^+$  チャンネルの活性化が引き起こされ ( $n \rightarrow 1$ )、細胞外へイオンが流出することで、刺激受容前の膜電位に戻る。本論文では、電位感受性イオンチャンネルの複雑な応答を、膜電位の関数  $m, h, n$  を用いて表現する。

### 3.3 繊毛を制御する繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の算出

ここでは、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を算出する手順を示す。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  $\text{Ca}^{2+}$  電流を  $I_{\text{Ca}(\text{cell})}$  とすると膜電位変化は、

$$\dot{V}(t) = \frac{1}{C_m} [I(t) - I_{\text{Ca}(\text{cell})}(t, V) - I_{\text{K}}(t, V) - I_{\text{leak}}(t, V)] \quad (9)$$

と表現することができる。ここで、 $I_{\text{Ca}(\text{cell})}$  は

$$I_{\text{Ca}(\text{cell})} = \bar{g}_{\text{Ca}(\text{cell})} m_{(\text{cell})}^5 \{1 - (1 - h_{(\text{cell})})^5\} (V(t) - E_{\text{Ca}}) \quad (10)$$

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

$$\dot{x}_{(\text{cell})}(t, V, O_{\text{Ca}}) = \alpha_{x(\text{cell})}(V, O_{\text{Ca}}) \cdot (1 - x_{(\text{cell})}(t, V, O_{\text{Ca}})) - \beta_{x(\text{cell})}(V) \cdot x_{(\text{cell})}(t, V, O_{\text{Ca}}) \quad (11)$$

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

$$I_{\text{Ca}(\text{cilium})} = I_{\text{Ca}} - I_{\text{Ca}(\text{cell})} \quad (12)$$

Table 1 Parameters of actual *Paramecium*  
(unpublished data by Y. Naitoh, 1974)

$V$ [mV]	$\alpha_m$	$\beta_m$	$\alpha_h$	$\beta_h$	$\alpha_n$	$\beta_n$
5	0.099	0.093	0.000	0.167	—	—
10	0.226	0.119	0.000	0.258	—	—
20	0.567	0.132	0.000	0.435	—	—
29	0.771	0.098	0.000	0.448	0.009	0.048
34	0.827	0.058	0.000	0.472	0.030	0.058
38	0.855	0.030	0.000	0.476	0.058	0.071
47	1.166	0.039	0.000	0.625	0.140	0.076
(60)	(1.451)	(0.019)	(0.000)	(0.654)	(0.368)	(0.036)
(80)	(1.879)	(0.008)	(0.000)	(0.763)	(0.843)	(0.026)
(100)	(2.220)	(0.002)	(0.000)	(0.855)	(1.571)	(0.016)

以上より、細胞体で生じる  $\text{Ca}^{2+}$  の流出入と繊毛で生じる  $\text{Ca}^{2+}$  の流出入を分離することができた。

つぎに、(12) 式で求められる繊毛に生じる  $\text{Ca}^{2+}$  電流  $I_{\text{Ca}(cilia)}$  を用いて、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度  $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$  を次式で計算する<sup>16)</sup>。

$$\frac{d[\text{Ca}^{2+}]_{in}}{dt} = -\frac{K_c}{2F} [I_{\text{Ca}(cilia)} + (I_p)_{\text{Ca}}] \quad (13)$$

$$(I_p)_{\text{Ca}} = 2F \frac{(\bar{J}_p)_{\text{Ca}}}{1 + \left( \frac{K_m}{[\text{Ca}^{2+}]_{in}} \right)^3} \quad (14)$$

ここで、 $F$  はファラデー定数 (= 96500 coulomb/mole),  $K_c$  は  $\text{Ca}^{2+}$  の流出入量を繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に変換する係数である。また、 $(\bar{J}_p)_{\text{Ca}}$  は  $\text{Ca}^{2+}$  の流出量の最大値、 $K_m$  は  $\text{Ca}^{2+}$  の流出量が最大値の半分になるときの  $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$  の値である。また、 $(I_p)_{\text{Ca}}$  は  $\text{Ca}^{2+}$  を体外に排出する  $\text{Ca}^{2+}$  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(1)式や(9)式では  $I_{\text{leak}}$  に含まれるものとする。上式を用いることにより、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化を計算することができる。

以上のように、膜電位変化による繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化が、繊毛打の方向および強さを変えることによって、ゾウリムシの挙動に変化が生じる。

#### 4. 膜電位変化シミュレーション

##### 4.1 パラメータの決定法

(6) ~ (8) 式に含まれる  $\alpha_x(V, O_{\text{Ca}})$ ,  $\beta_x(V)$  ( $x \in \{m, n, h\}$ ) は、イオンチャネルが膜電位変化に対して開口、閉鎖する確率である。このパラメータは、膜電位固定法<sup>17)</sup>を用いて膜電位を急激に変化させたとき、膜に流れる電流を測定することで推定できる。本論文では、内藤によって推定されたデータ (Table 1) に対し、最小二乗法を用いることでパラメーターを決定した<sup>18)</sup>。

また、(1) ~ (14) 式に含まれるパラメータの値は、文献<sup>19)</sup>に基づき  $C_m = 2 [\mu\text{F}/\text{cm}^2]$ ,  $V(0) = -30 [\text{mV}]$  とした。同様に、文献<sup>9)</sup>より  $E_{\text{Ca}} = 125 [\text{mV}]$ ,  $E_{\text{K}} = -40 [\text{mV}]$  と設定、 $\bar{g}_{\text{Ca}} = 0.6667 [\text{mS}/\text{cm}^2]$ ,  $\bar{g}_{\text{K}} = 1.3333 [\text{mS}/\text{cm}^2]$  は内藤による実測値を用いた。ゾウリムシの細胞体と繊毛は化

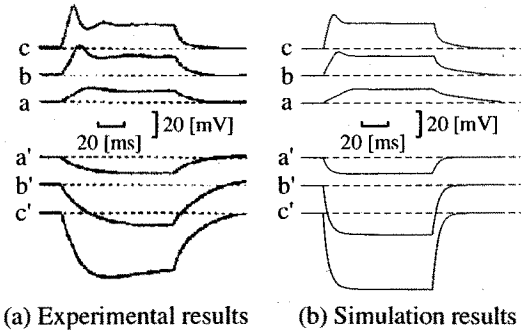


Fig. 4 Membrane potentials in actual and virtual *Paramecia* for electrical stimuli

学的に区切られているためそれぞれ平衡電位が異なる可能性があるが、本論文では共通の値を用いた。この点については、今後、詳細に検討する必要がある。

一方、 $x \in \{m, h, n, m_{(cell)}, h_{(cell)}\}$  の初期値を  $x_{ini}$  とし、静止膜電位  $V(0) = -30 [\text{mV}]$  における定常状態から  $m_{ini} = 0.2911$ ,  $h_{ini} = 0.162$ ,  $n_{ini} = 0.0163$ ,  $m_{(cell)ini} = 0.1953$ ,  $h_{(cell)ini} = 0.9999$  を得た。リーク要素である  $g_{\text{leak}}$ ,  $E_{\text{leak}}$ , 細胞体における  $\text{Ca}^{2+}$  コンダクタンス  $\bar{g}_{\text{Ca}(cell)}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプに関するパラメータ  $(\bar{J}_p)_{\text{Ca}}$ ,  $K_m$  は、試行錯誤的に  $g_{\text{leak}} = 0.42 [\text{mS}/\text{cm}^2]$ ,  $E_{\text{leak}} = -29.7803 [\text{mV}]$ ,  $\bar{g}_{\text{Ca}(cell)} = 0.5333 [\text{mS}/\text{cm}^2]$ ,  $K_c = 0.02 [l^{-1}]$ ,  $(\bar{J}_p)_{\text{Ca}} = 8.3553 \times 10^{-3} [\mu\text{M}]$ ,  $K_m = 0.04 [\mu\text{M}]$  と設定した。

##### 4.2 膜電位シミュレーション

まず、本モデルが示す膜電位変化の時間特性を検証するためのシミュレーションを行なった。本シミュレーションでは、細胞内へ電流を注入することで膜の電位を強制的に変化させる実験を想定した。このように膜の電位を強制的に変化させる生物実験は、ゾウリムシをはじめとする原動物の電気膜特性を検証する手法である<sup>9)</sup>。さまざまな細胞内注入電流に対して実生物が示す膜電位変化の時間経過を Fig. 4(a) に示す<sup>9)</sup>。a, b, c は外向き電流に対する膜電位の変化、a', b', c' は内向き電流に対する膜電位の変化で、電流刺激はそれぞれ 100 [msec] 間与えた。また、電流値の絶対値はそれぞれ  $a \rightarrow c$ ,  $a' \rightarrow c'$  の方向に増加させた。Fig. 4(a) より、外向き電流に対しては、数 [msec] から数十 [msec] の間でスパイク状の電位変化が起こり、その電位は急激に上がった後に急激に減少し、刺激がなくなるとゆるやかに下降していくことがわかる。また、内向き電流に対しては比較的ゆるやかに下降していき、刺激がなくなるとゆるやかに上昇していることがわかる。

注入電流に対する本モデルの時間的な膜電位変化を Fig. 4(b) に示す。シミュレーション時間は 180 [msec] とし、20 ~ 120 [msec] の間、一定電流を注入した。注入した外向き電流の大きさは  $a \rightarrow c$  の順に 0.5 [nA], 1.5 [nA], 3.0 [nA] とし、内向き電流の大きさは  $a' \rightarrow c'$  の順に -1.5 [nA], -4.5 [nA], -7.0 [nA] とした。このように Fig. 4(b) の a, b, c では、脱分極に対して  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルが開いて

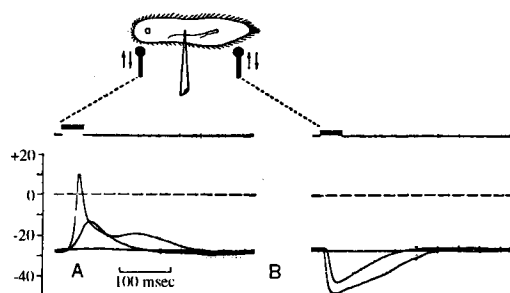


Fig. 5 Membrane potentials of actual *Paramecium* for mechanical stimuli<sup>9)</sup>

すぐに閉じ、 $\text{Ca}^{2+}$ の流入から遅れて $\text{K}^+$ が流出するために現れる実生物同様のスパイク状の膜電位変化をうまく表現できていることがわかる。また、a', b', c'では $\text{K}^+$ チャンネルによる $\text{K}^+$ の流出のみが生じ、刺激の消滅とともに膜電位のゆるやかな上昇が再現できていることがわかる。

以上により、本論文で構成したモデルがある程度妥当であることが確認できた。

#### 4.3 機械刺激応答シミュレーション

つぎに、前方および後方からの機械刺激に対する膜電位変化のシミュレーションを行なった。ただし本論文では、環境からの機械的な力により電位感受性イオンチャンネルが開閉させられる現象を機械刺激受容と定義する。イオンチャンネル分布は、Fig. 2を参考に、以下のように定めた。

$$O_{\text{Ca}}(t, z_s) = \frac{w}{1 + \exp[(z_s - z_{ca})/s_{ca}]} \cdot \exp\left[-\frac{t}{T_{\text{Ca}}}\right] \quad (15)$$

$$O_{\text{K}}(t, z_s) = \frac{w}{1 + \exp[(z_s - z_k)/s_k]} \cdot \exp\left[-\frac{t}{T_{\text{K}}}\right] \quad (16)$$

$O_{\text{Ca}}(t, z_s)$  および  $O_{\text{K}}(t, z_s)$  は、ゾウリムシに機械刺激が加わったときの $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ それぞれのチャンネルに対する刺激量である。外部から加わる力の大きさを $w$  ( $0 \leq w \leq 1$ : 最大値で正規化)とし、この $w$ および刺激位置 $z_s$ を用いて、各チャンネルへの正規化された刺激量を算出する。ここで、 $z_{ca}$ 、 $z_k$ 、 $s_{ca}$ 、 $s_k$ は各チャンネルに対する刺激量の特性を決定する定数、 $T_{\text{Ca}}$ 、 $T_{\text{K}}$ は時定数であり刺激が生じた時刻を $t=0$ とする。また、 $z_s$ はゾウリムシが機械刺激を受けたときの接触点の $z$ 座標の値である。ただし、ゾウリムシの前後軸を $z$ 軸とし、体の中心を原点、前方を正とする。ゾウリムシの体長の半分を $z_{max}$ とすると、 $-z_{max} \leq z_s \leq z_{max}$ となる。ゾウリムシが機械刺激を受けていないときは $w=0$ とする。シミュレーション時間は500 [msec]とし、前方刺激の位置を $z_s = 100 [\mu\text{m}]$ 、後方刺激の位置を $z_s = -100 [\mu\text{m}]$ として50~100 [msec]の間、機械刺激を与えた。また、外部から加わる力の大きさを $w=1$ と $w=0.3$ の2種類とした。

Fig. 5に機械刺激による実生物の膜電位変化を示す<sup>9)</sup>。また、Fig. 6には機械刺激に対する本モデルの膜電位変化を示す。Fig. 5より、ゾウリムシが前方から機械刺激を受けた

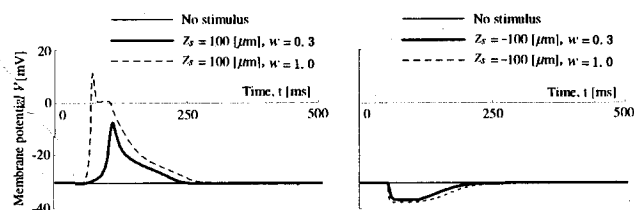


Fig. 6 Membrane potentials of virtual *Paramecium* for mechanical stimuli

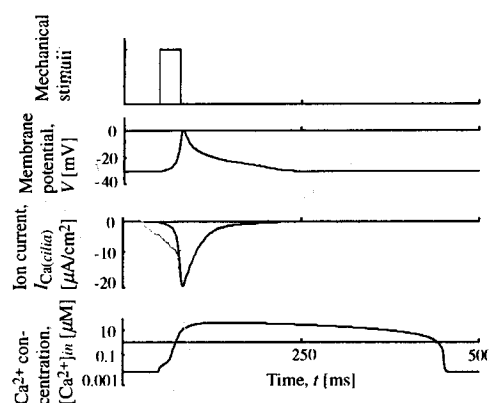


Fig. 7 Change of the internal  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in cilia for mechanical stimuli

場合、刺激が大きくなるほど膜電位の脱分極が激しくなることがわかる。また、後方からの機械刺激に対しては、刺激が増すにつれて膜電位の過分極が大きくなることがわかる。シミュレーション結果と実際のゾウリムシの膜電位変化を比較すると、機械刺激を前方から受けた場合には脱分極が、後方から受けた場合には過分極が生じるという点で、ある程度、一致している。

#### 4.4 繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の変化

Fig. 7に本モデルが機械刺激を受けたときの膜電位 $V$ の時間変化、繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 電流 $I_{\text{Ca}}(\text{cilia})$ の時間変化、繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度 $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ の時間変化を示す。ここで、外部から加わる力の大きさは $w=1$ とした。Fig. 7より、機械刺激を受けている間だけでなく、機械刺激がなくなったあと、約300[msec]の間、繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が刺激受容前よりも高い値を維持していることがわかる。

ゾウリムシが生存する環境では、ゾウリムシの質量よりも環境から受ける粘性のほうが大きいため、慣性の影響は無視してもよい。そのため、繊毛打方向が逆転すれば時間遅れなく進行方向も変化し、繊毛打方向が直接、挙動に反映される。したがって、膜電位や繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 電流のような比較的応答の速い要素で繊毛を制御してしまうと、前方の障害物にぶつかった場合、繊毛逆転の時間が非常に短く、大きな障害物だと回避できなくなる。時間変化が緩やかな繊毛内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度で繊毛を制御するメカニズムは、前方からの機械刺激を

受け終わったあとでもしばらくの間、後退遊泳を実現することができるのである。

以上、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度算出を可能とする本モデルを用いれば、受容した刺激に対してどのような膜電位変化が生じるかにとどまらず、繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  を計算することができ、時々刻々の遊泳状態を再現することが可能となる。

## 5. ま と め

本論文では、高等生物同様に電気生理現象を有するゾウリムシを対象とし、機械的な刺激を受容し、それに応じた膜電位変化を再現する内部処理系モデルを構築した。そして、本モデルの特性を実生物データと比較・検証することで、ある程度、実生物同様の特性を再現可能であることを確認した。ゾウリムシの挙動は、繊毛の動きによって決まる。この繊毛を打つ方向は繊毛内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度、その頻度は膜電位に依存することが明らかにされている<sup>20), 21)</sup>。今後は、本提案モデルを拡張し、刺激受容に応じた挙動を再現できるバーチャルモデルの構築を目指す。そして、電気生理現象に非常に密接した環境の電場刺激に应答するゾウリムシモデルを構築し、原生動物のより有効な制御則導出を可能とするシミュレーターの構築を試みる予定である。

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）、臼井支朗先生（豊橋技術科学大学教授）、堀田康夫先生（愛知県立一宮高教諭）、橋上幸治氏（松下電器産業（株））に厚く御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) 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)
- 2) Akitoshi Itoh : Motion Control of Protozoa for Bio-MEMS, IEEE/ASME Transaction on Mechatronics, **5**, 181 (2000)
- 3) D.Bray and S.Lay : Computer Simulated Evolution of a Network of Cell-Signaling Molecules, Biophysical Journal, **66**, 972/977 (1994)
- 4) D. C. Hauri and J. Ross : A Model of Excitation and Adaptation in Bacterial Chemotaxis, Biophysical Journal, **68**, 708/722 (1995)
- 5) M. Tomita, K. Hashimoto, K. Takahashi, T. S. Shimizu, Y. Matsuzaki, F. Miyoshi, K. Saito, S. Tanida, K. Yugi, J. C. Venter and C. A. Hutchison III : E-CELL: software environment for whole-cell simulation, Bioinformatics, **15**-1, 72/84 (1999)
- 6) 諸星, 辻, 大竹 : 細菌細胞の運動制御モデルと走化性シミュレーション, 計測自動制御学会論文集, **34**-11, 1732/1738 (1998)
- 7) 辻, 橋上, 金子, 大竹 : 遺伝的アルゴリズムによるバーチャル・バクテリアの走化性発現, 電気学会論文誌 C, 電子・情報・システム部門誌, **122**-C, 201/207 (2002)
- 8) 辻, 坂根, 福田, 金子, 大竹 : バクテリアの走化性モデルに基づく移動ロボットのバイオメテック制御, 機械学会論文集, **68**-673, 171/178 (2002)
- 9) 内藤豊 : 単細胞動物の行動, 東京大学出版会 (1990)
- 10) K. Dunlap : Localization of Calcium Channels in Paramecium Caudatum, The Journal of Physiology, **271**, 119/133 (1977)
- 11) J. Pernberg and H. Machemer : Fluorometric measurement of the intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$ -concentration in the

ciliate *Didinium nasutum* using Fura-2, Cell Calcium, **18**, 484/494 (1995)

- 12) Y. Iwamoto 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)
- 13) 臼井支朗編 : 脳・神経システムの数理モデル—視覚系を中心に, 共立出版 (1997)
- 14) 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)
- 15) Y. Naito and K. Sugino : Ciliary Movement and Its Control in *Paramecium*, J. Protozool., **31**, 31/40 (1984)
- 16) S. Gestrelus and W. Grampp : Impulse Firing in the Slowly Adapting Stretch Receptor Neurone of Lobster and Its Numerical Simulation, Acta Physiologica Scandinavica, **118**, 253/261 (1983)
- 17) 星宮望 : 生体情報計測, 森川出版 (1997)
- 18) K. Hashigami : Simulation for Taxis of Paramecia Based on Electrophysiological Phenomena, Dissertation for the degree of Master of Engineering, Graduate School of Engineering, Hiroshima University (2001)
- 19) 渡辺・山岸編 : 《新生理科学大系 1》興奮膜の生理学, 医学書院, 242/257 (1986)
- 20) Y. Naitoh and H. Kaneko : Reactivated Triton-Extracted Models of Paramecium: Modification of Ciliary Movement by Calcium Ions, Science, **176**, 523/524 (1972)
- 21) H. Machemer : Frequency and directional response of cilia to membrane potential changes in *Paramecium*, J. comp. Physiol., **92**, 293/316 (1974)

## [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。現在、人工生命体、シミュレーション生物学などの研究に従事。電気学会、情報処理学会などの学生会員。

### 辻 敏 夫 (正会員)



1959年12月25日生。85年広島大学大学院工学研究科博士課程前期修了。同年広島大学工学部助手。94年助教授を経て、2002年より同大学大学院工学研究科教授。現在に至る。工学博士。主として、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に関する研究に従事。本会学術奨励賞 (1986)、論文賞 (2002)、バイオメカニズム学会論文賞 (1990)、日本義肢装具学会論文賞 (2000)、日本医科器械学会論文賞 (2003)、IEEE 2003 King-Sun Fu Memorial Best Transactions Paper Award (2004)、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。

