

ミドリムシ集団の疎密パターン形成

広島大学大学院・理学研究科・数理分子生命理学専攻 永瀧 誠 (Makoto Nagataki)
 Department of Mathematical and Life Sciences, Graduate School of Science,
 Hiroshima University

これまで生物対流は, Rayleigh-Benard 対流と同じ機構で起こっていると考えられてきた. 1952 年 Robbins によってミドリムシを用いた生物対流実験が報告されている ([8]). 報告されているパターンは, 1 辺が約 5mm の規則正しい正三角形パターンである ([3],[5],[8]). これは, シャーレ内にミドリムシを一樣に分布させて光を照射すると発生する. 我々は, ミドリムシを高濃度に凝集し培地中に滴下するという実験を行い興味深い実験結果を得た. 滴下したミドリムシは, 様々なパターンを作りながら最終的に一点に集まってやがて一様化するというものである. この実験についての数値実験・考察はまだ始めたばかりで, 結論は得られていない.

1 ミドリムシについて

まず初めに, ミドリムシとはどのような生物なのかを述べることにする. ミドリムシは, 下図のような形をしている単細胞生物である. 体長は鞭毛を合わせると約 $50\sim 70\mu\text{m}$ ¹ で, 葉緑体を持ち光合成を行う植物的特徴と鞭毛運動や変形運動 (ユーグレナ運動) を行う動物的特徴の両方をもち合わせた生物で, 比重は 1 よりも大きい ([1]). ミドリムシは, 長い鞭毛と短い鞭毛を持っている. 長い鞭毛は図のように外に出ているが, 短い鞭毛 (副鞭毛体) は体の内部にある.

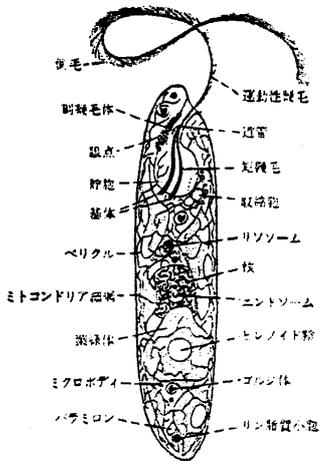


図 1.1: ミドリムシの細胞内模式図
 ([4])



図 1.2: ミドリムシの写真

¹ $1\mu\text{m}=10^{-3}\text{mm}$ であるから, 約 $0.05\text{mm}\sim 0.07\text{mm}$ ぐらいの大きさ.

2 生物対流の歴史的背景

原生動物を密に培養し、シャーレ内に一様に分布させると、ある条件²をみたすとき、その濃度分布に疎密が生じてパターンを形成する。これは、対流が原因で発生していることはすでに知られていることで、ミドリムシを用いた実験が1952年 Robbins によって報告されている ([8])。報告されているパターンは、1辺が約5mmの規則正しい正三角形パターン (図 2.3) である。

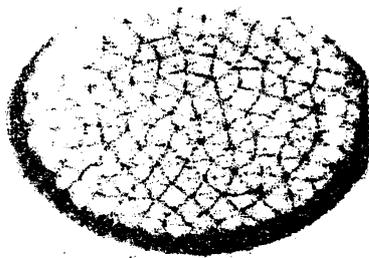


図 2.3: Robbins が行った実験 ([8])

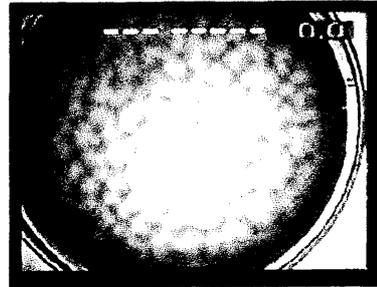


図 2.4: 我々が行った実験 ([12])

このパターン発生には：

適当なミドリムシ密度、深度、光度

という条件がそろふことが必要である。ミドリムシ密度が低すぎたり、深度が浅すぎたりするとパターンは形成されない。光が弱ければやはりパターンは発生しない。すなわち、どの条件が欠けてもパターンは発生しないのである。 ([12])

3 生物対流実験

パターンがどのようにして形成されるのかを観察する。(図 3.5) のように直径 3.5 cm の円形シャーレにミドリムシを一様に分布させ、下から光を当てて、顕微鏡カメラで上から撮影をする。(図 3.6) このときの流体の深度は約 3mm でその様子を撮影している。

シャーレにミドリムシを一様に分布させ (図 3.6) のような状態で撮影すると、(図 2.4) のようなパターンが得られる。これは、光を当ててから約 1 分後の写真である。濃淡がはっきりしてくる頃カメラをズームアップして観察すると、濃い部分で吸い込みが、薄い部分で湧き出しが起こっているのがわかる。(図 3.7)

²条件は原生動物によって様々である。

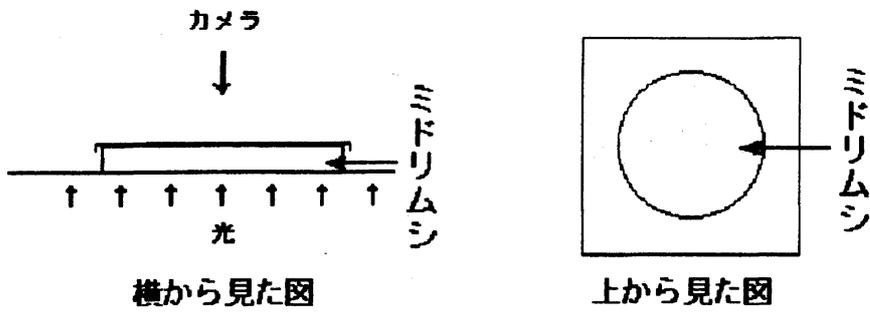


図 3.5: 実験の模式図 (光を下から当てている)

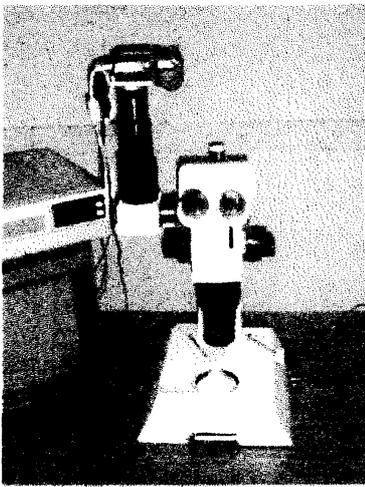


図 3.6: 実験写真

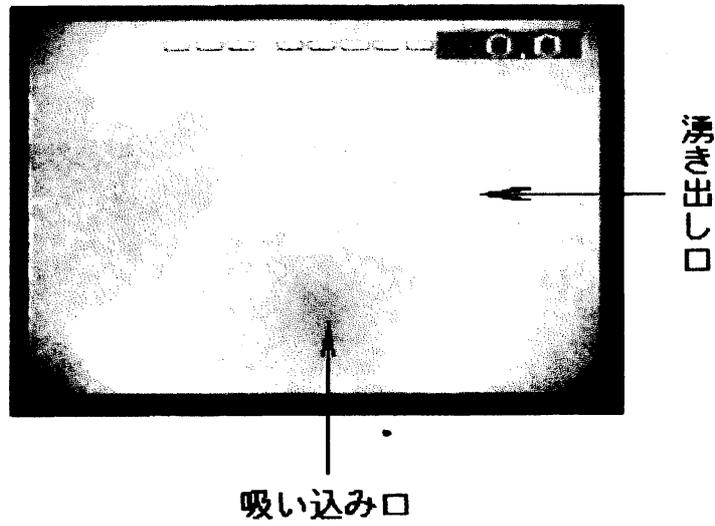


図 3.7: 濃淡部分の拡大図

4 生物対流発生のメカニズム

静止している流体がどのような理由で対流が変わるのであろうか？ベナール対流の類似性から次のようなメカニズムで起こることが予想される。

- ミドリムシに光を当てると、(何故か) ミドリムシは上へ向かって泳ぎ出す。³
- ミドリムシの比重は1よりも大きいためミドリムシが上へ向かって泳ぐと Top-heavy⁴の状態になる。
- Top-heavyの状態になることで流体に不安定化が起こり、そこで対流が発生する。
- 対流に巻き込まれることによってミドリムシの密度に濃淡が生じそれがパターンとして見える。

ベナール対流は、温度差による浮力が駆動力になり対流が発生するのに対して、生物対流は、生物の動きによって生じる浮力が駆動力になり対流が発生するという点で異なっている。

生物対流は、ベナール対流と同様に常に起こるとは限らない。適当な密度・光の強さ・流体の深度が必要である。密度が低すぎたり・光が弱すぎたり・流体の深度が浅すぎたりすると、パターンは発生しない。逆に、上限がありすぎるため詳しいことはいえないが、密度が高い状態でパターン形成をするのかという疑問に対しては、ミドリムシを遠心分離器にかけて密度を高くして実験した写真が(図4.8)⁵にあるようにパターン出現が確認できた。

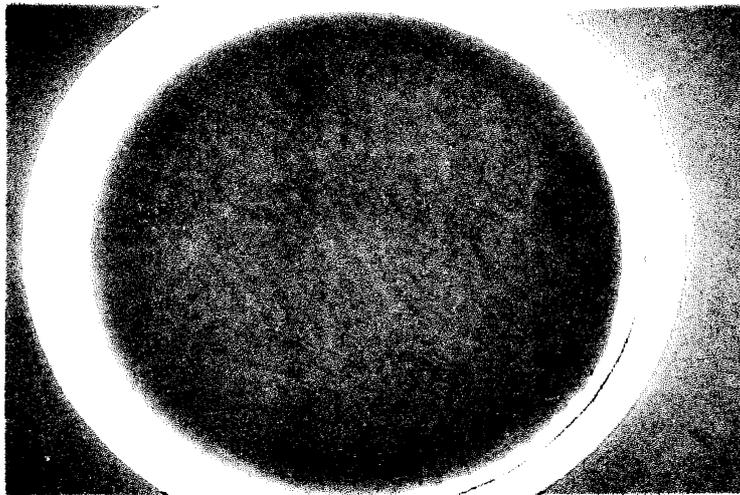


図 4.8: 実験写真

³ははっきりとした理由は、生物学的によくわかっていないが、実験の事実としてある。

⁴ミドリムシは非常に小さい生物なので流体と一体になるとみなせば、水底よりも水面の方が重くなる。

⁵密度は(図2.4)のときと比べて約20倍

5 密度と深度に関する実験とその結果

テトラヒメナという原生動物に関して密度と深度のパターン出現の依存性については(図 5.9)にあるような関係が報告されている([5])。ミドリムシに関してもこれと同様な関係があることは、わかっているらしいがはっきりとした臨界値は未だ不明である。そこで、実験から密度と深度の関係を図示することにした。

まず、実験装置は(図 3.6)と同じように設置し、円形シャーレは直径 7cm のものを用いた。⁶ 実験は 10 日間行い密度は実験する前に測定した。つまり、1 日の実験で密度一定で深度を変えることを行った。

どの程度の密度差でパターンが出現したとするかの判断は非常に難しいので、次の 3 つに分類することにした。

- パターンなし (×)
- 密度差が生じているが、パターンが出来たとは言えない(模様のように見えない) (△)
- パターン有り (○)

(△) がはっきりとしないが、うっすらと濃淡が現れただけではっきりとした濃淡差ではないと思っていただければよい。

その実験結果は(図 5.10)で表している。

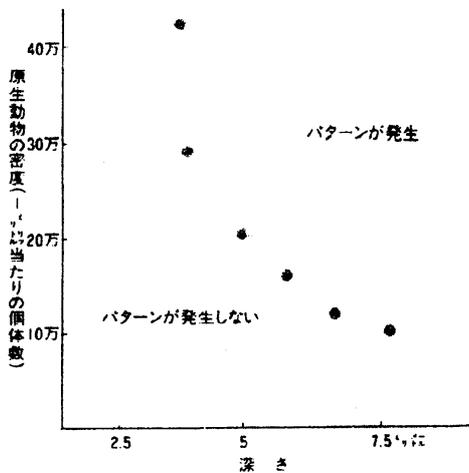


図 5.9: テトラヒメナのパターン形成

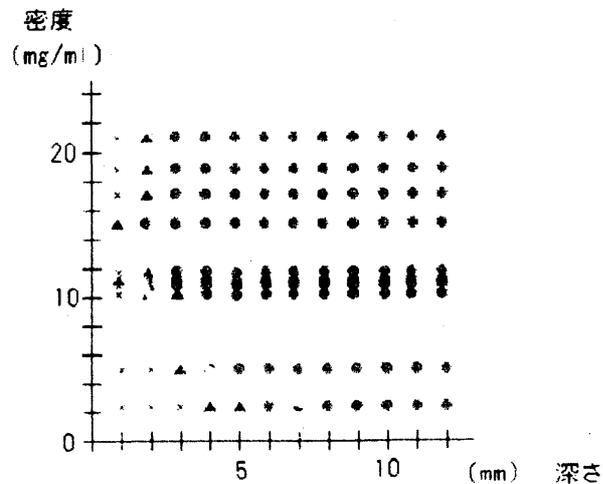


図 5.10: ミドリムシによる実験結果

⁶ 図 3.6 で用いたシャーレだと深さが 6mm 程度しかない。密度と深度に関する実験をするにあたって最低でも 1cm の深度が必要であったが、これをみたすものは直径 7cm のものしかなかったのでものを代用した。

【実験結果】

グラフから、(図 5.9) と同じように密度が低くても深度が深ければパターンが出現し、深度が浅くても密度が高ければパターンが出現することが示唆される。さらに、パターン出現までの時間も密度が高くなるにつれて早くなることがわかった。

このように、密度・深度を変えてパターンが出現するか否かを調べた結果、

$$\text{密度} \times \text{深さ} = \frac{\text{ミドリムシの総量}}{\text{底面積}} = C(\text{一定})$$

となっていると考えられるので、対流発生はパラメータ C のみに依存していると考えられる。このことを数理的に確認するためにベナル対流のモデル方程式を基に生物対流モデルを導出する。詳しい導出は ([12]) を参照。

6 モデル方程式と数値計算

生物対流モデル方程式は、ミドリムシの運動方程式と流体の運動を記述する Navier – Stokes 方程式の結合系で表す。その際、以下のような仮定をしてモデルを導出した。

- ミドリムシはランダムウォークをしている。
- ミドリムシは、光を浴びると運動性が高くなり上へ向かって泳いでいく。
- ミドリムシの比重は水よりも大きいので、重力の影響を受けて泳がなければ沈む。

実際の現象は、3次元であるが簡単のために2次元で以下話を進める。

以上の仮定を基に、次の無次元化された2次元生物対流モデル方程式系が導出される。

$$\begin{cases} \frac{\partial a}{\partial t} = D\Delta a - \nabla \cdot (a\mathbf{u}) + r_2(1 - \beta(l))\mathbf{e}_z \cdot (\nabla a) \\ \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla)\mathbf{u} = -\nabla P - r_1(1 + a)\mathbf{e}_z + \text{Pr}\Delta \mathbf{u} \\ \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \end{cases} \quad (6.1)$$

ここで、未知関数 $a(t, x, z)$ 、 $\mathbf{u} = (u(t, x, z), w(t, x, z))$ 、 $P(t, x, z)$ は時刻 t 、位置 $\mathbf{x} = (x, z)$ におけるミドリムシ密度、流速、圧力を表している。さらに、(6.1) に含まれる定数 D 、 $\beta(l)$ 、 r_1 、 r_2 、 Pr は、無次元パラメータで、 $\mathbf{e}_z = (0, 1)$ である。

また、数値計算をする際の境界条件・初期条件を次のように決めた。

実験中はミドリムシが死んだり、新たに細胞分裂して増えたりすることは想定していないので、実験中の流体中のミドリムシの個体数は常に一定である。すなわちモデル方程式においてもミドリムシの積分量が保存されていなければならない。考える領域 Ω は、(図 6.11) のように $\Omega = (0, L) \times (0, 1)$ とし、次の境界条件を与える：

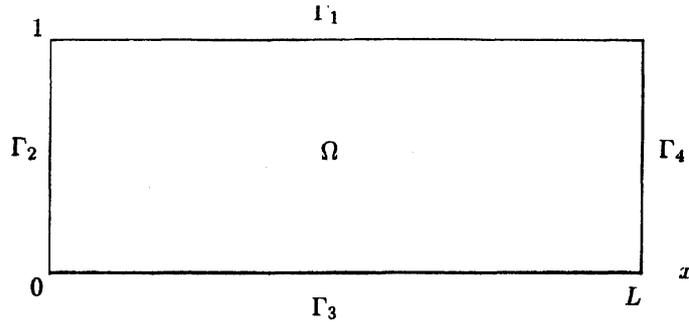


図 6.11: 計算領域

まず初めに、ミドリムシの運動方程式に対しての境界条件を考える。

x 方向の境界条件として周期境界条件を課す。

$$a(t, 0, z) = a(t, L, z) \quad , \quad \frac{\partial}{\partial x} a(t, 0, z) = \frac{\partial}{\partial x} a(t, L, z) \quad \text{on } \Gamma_2, \Gamma_4 \quad (6.2)$$

次に z 方向の境界条件として積分量を保存させるため零流量条件を課す。

$$\begin{aligned} D \frac{\partial}{\partial z} a(t, x, 0) - a(t, x, 0)v(t, x, 0) + r_2(1 - \beta(l))a(t, x, 0) &= 0 \quad \text{on } \Gamma_3 \\ D \frac{\partial}{\partial z} a(t, x, 1) - a(t, x, 1)v(t, x, 1) + r_2(1 - \beta(l))a(t, x, 1) &= 0 \quad \text{on } \Gamma_1 \end{aligned} \quad (6.3)$$

次に流体についての境界条件は、次のように与える。 x 方向の境界条件は、ミドリムシと同様周期境界条件を課す。

$$\begin{aligned} u(t, x, 0) = v(t, x, 0) &= 0 \quad \text{on } \Gamma_3 \\ \frac{\partial}{\partial z} u(t, x, 1) = 0, \quad v(t, x, 1) &= 0 \quad \text{on } \Gamma_1 \\ u(t, 0, z) = u(t, L, z) & \quad \text{on } \Gamma_2, \Gamma_4 \end{aligned} \quad (6.4)$$

さらに初期条件は、実際の実験を想定して次のようにおく。

$$\begin{aligned} u(0, x, z) = v(0, x, z) &\equiv 0 \quad \text{in } \Omega \\ a(0, x, z) &= a_0 \pm \varepsilon \quad (0 < \varepsilon \ll 1) \quad \text{in } \Omega \end{aligned} \quad (6.5)$$

7 2次元数値計算

パラメータ $C = \frac{\text{ミドリムシの総量}}{\text{底面積}}$ の底面積を一定にしてミドリムシの総量が少ないとき、あるいは多いとき我々の2次元モデルで対流発生を確認することはできるのかどうかを調べるため、先ほど無次元化した方程式系(6.1)を数値計算する。流体の計算方法として、MAC法・SMAC法・SIMPLE法・疑似圧縮性法などが挙げられる([10],[11])が、ここでは3次元への拡張が容易とされているSMAC法(SimplifiedMarkerAndCellmethod)を用いることにした。

ミドリムシの総量をパラメータとして数値計算を行う。(図7.12,7.13)は、ミドリムシの密度分布を表している。右にカラーバーがあるが、赤色の方が密度が高くミドリムシが多くいるところ、青色の方が密度が低くミドリムシが少ないところを示している。また、カラーバーの右にある数字は上が領域内の最大値、下が領域内での最小値を示した数字である。ちょうどシャーレを横から観察している状態に相当するので上が水面、下が水底であると考えてもらいたい。

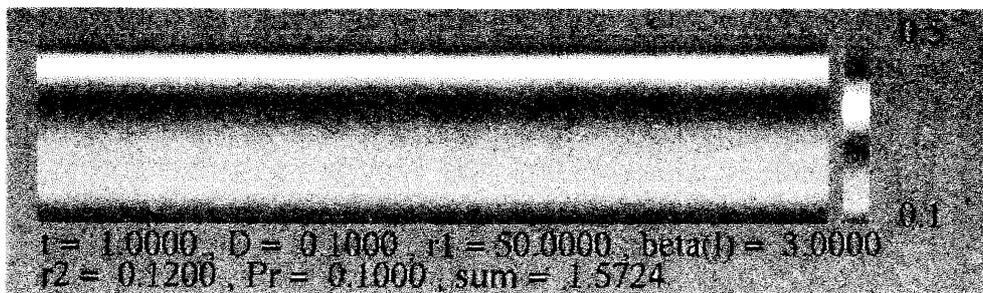


図 7.12: ミドリムシの総量が少ないとき

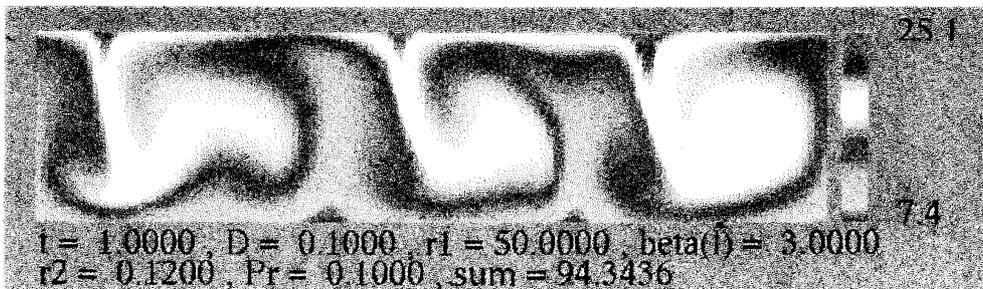


図 7.13: ミドリムシの総量が多いとき

計算結果より、我々の2次元モデルから、ミドリムシの総量が少ないときは対流が発生せず、多いときには対流が発生することが確認された。

ここで、池など底面積が非常に大きい場所において、原生動物が斑状分布を示すことがあるのだが、これまでの議論では、底面積が非常に大きいとパラメータ C が非常に小さくなってしまい、対流が発生するためには膨大な生物密度が必要になってくる。これは、どのように説明できるのであろうか？

8 1点凝集滴下実験

我々は、次のような実験を試みることで、池で斑状分布する原因を理解しようとした。

シャーレを池にみたてて、対流が起こらない程度の中ドリンシ量を高濃度に凝集して、シャーレに滴下したらどうなるのか？

実際の実験方法は、中ドリンシを遠心分離器にかけ、培地と中ドリンシにわけ⁷。培地のみ（中ドリンシはいない）をシャーレに入れて（図 8.14）、凝集された中ドリンシをシャーレ中央に滴下する。（図 8.15）

（図 8.16）～（図 8.20）は実験開始からのパターンの移り変わりを撮影したものである。まず、約 1 分ほどで（図 8.17）のように拡散する。次に実験開始から約 2 分後には、（図 8.18）のようにロールパターンを形成する。ここまでは、かなり短い時間で起こるのだが、実験開始約 20 ～ 25 分経つと、ロールパターンが変形しクラスターパターンが形成される。さらに実験開始から約 1 時間で 1 点に集まってきてその後、数時間経つと一様になる。一様になった後は、もう何も起こらない。

この実験の最後からもわかるように、この程度の中ドリンシ量では、前半で行ったように一様な状態からのパターン形成はない。しかしながら、中ドリンシを凝集して滴下すれば、様々な局所的パターンが遷移過程において形成される。⁸しかしながら、十分時間が経つとパターンは一様になる。

この実験から、次の問題が新たに考えられる。

- このような遷移過程のパターンは Rayleigh-Benard 対流においても出現するのだろうか？
- ロールパターンからクラスターパターンに移行するのは、我々の生物対流モデルで説明できるのか？

この実験は、まだ始めたばかりでその考察や数値計算等がまだ十分ではない。しかし、Rayleigh - Benard 対流においてこのような現象は報告されておらず、我々もまだ未確認である。

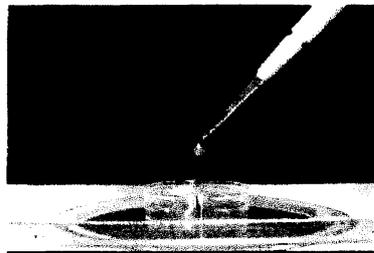


図 8.14: シャーレ内 … 培地のみ

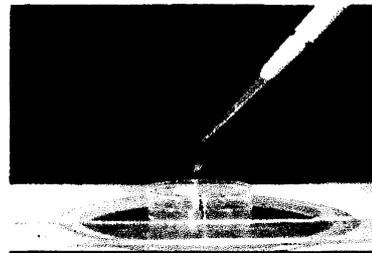


図 8.15: ミドリムシを滴下

⁷遠心分離器にかけた直後は、ミドリムシはあまり動かないので、数時間放置した後通常の運動を始めたら実験を開始する。

⁸再現性の確認はしてある。ミドリムシの状態にもよると思われるが、8割以上の確率で再現している。

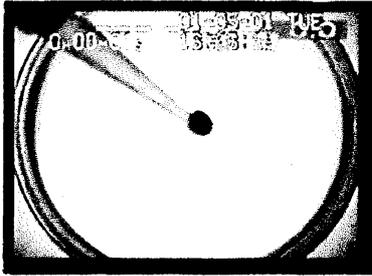


図 8.16: 初期状態

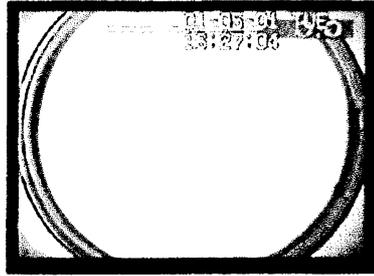


図 8.17: ある程度の領域まで拡散

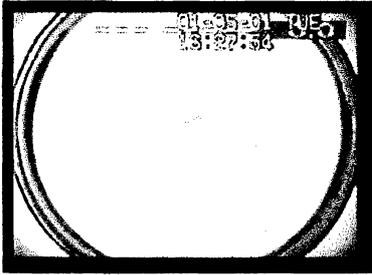


図 8.18: ロールパターン形成

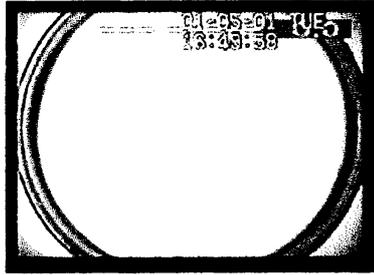


図 8.19: クラスターパターン形成

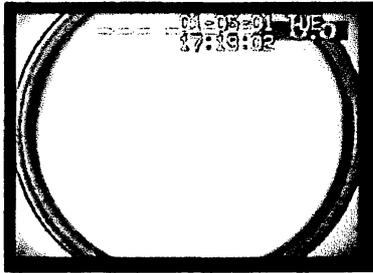


図 8.20: 1点凝集

9 今後の課題

この実験に対して、先に述べたように Rayleigh – Benard 対流でこのような現象が起こるか否かを調べることと、我々のモデル方程式を 3 次元に拡張してその数値計算からパターンの移り変わりが説明できるのかを確かめることである。これらの実験を通して、Rayleigh – Benard 対流と生物対流には違いがあるのか、あるいはないのかを研究していきたいと考えている。

10 おわりに

最後に、本研究の共同研究者であり指導教官の広島大学大学院数理分子生命理学専攻の三村昌泰教授には、モデル方程式導出や多くの助言をいただき、共同研究者で同専攻・生物化学研究室の泉俊輔助教授には、実験の面でいろいろとお世話になりました。また、ミドリムシの培養には、昨年まで生物化学研究室に在籍していた須藤祥一氏にいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

参考文献

- [1] 重中 義信 『原生動物の観察と実験法』 共立出版株式会社 1988.
- [2] 扇元 敬司 『原生動物学入門』 弘学出版株式会社 1989.
- [3] 森部 幸人 『テトラヒメナ (*Tetrahymena pyriformis*) の生物対流について (修士論文)』 大阪大学基礎工学研究科 1973.
- [4] 北岡 正三郎編 『ユーグレナ：生理と生化学』 学会出版センター 1989.
- [5] 三村 昌泰 『生物に見る定量的モデルの世界』 科学朝日 10 1984.
- [6] 木村 忠信 『ブシネ・レイリー・ベナール問題のハニカム状対流パターン (修士論文)』 龍谷大学理工学研究科 1999.
- [7] Pedley, T. J., and J. O. Kessler. "Hydrodynamic Phenomena in Suspensions of Swimming Microorganisms." *Ann. Rev. Fluid Mech.* 212(1992): 313-358.
- [8] William J. Robbins "Patterns Formed By Motile *Euglena Gracilis* Var. *Bacillaris*" *Bull. Torrey Bot. Club* Vol.79 , No.2 (1952): 107-109.
- [9] J. O. Kessler, and N. A. Hill "Microbial Consumption Patterns."
- [10] 河村 哲也 『流体解析 I』 朝倉書店 1996.
- [11] 保原 充・大宮司 久明編 『数値流体力学』 東京大学出版会 1993.
- [12] 永瀧 誠 『生物対流モデルと数値シミュレーション (修士論文)』 広島大学理学研究科 2001.