

## 3C-5

Cryptomonasの光走性に対する $Ca^{2+}$ と $K^{+}$ の効果

植松尚子, 古谷雅樹(東大・理・植物)

単細胞性鞭毛藻では、Platymonas (Halldall, 1959) や Chlamydomonas (Stavis & Hirschberg, 1973, Bean & Harris, 1979, Nultsch, 1979) の光走性は培地中の金属イオンの影響を受けるが、用いた実験材料によって異なった結果が得られている。本研究では、フリプト藻門の Cryptomonas sp. の光走性に対する培地組成の効果をも細胞集団のレベルで調べた。光走性に対する影響と遊泳速度に対する影響を区別するために、種々の培地中での個体の遊泳速度も測定した。

実験材料の Cryptomonas sp. (東大応微研株 CR-1) は、強化 Volvox 培地中、 $8Wm^2$  の蛍光灯下、 $25^{\circ}C$  で静置培養し、接種5日後、対数増殖期にあるものを用いた。 $900rpm$  10分の遠心によって細胞を集め、実験する培地に一度洗浄してから交換した。遠心直後は光走性活性が低くなるので回復するまでの時間30分 $8Wm^2$ の蛍光灯の下に静置した。光走性反応は、刺激光による細胞集団の濃度分布の変化を光電的に測定した (Watanabe & Furuya, 1974)。細胞個体の遊泳速度は、運動の軌跡を赤外暗視野顕微鏡写真法により撮影したフィルムから測定した。

強化 Volvox 培地の成りは(1)主要金属イオン(2)微量金属イオン(3)ビタミン(4)ビタミン以外の有機物の4群に分類できる。そこでこの4群の成分の光走性に対する影響をまず調べたところ、(1)群だけを光走性を示すことがわかった。主要金属イオンとしては $Ca^{2+} 0.5mM$ 、 $Mg^{2+} 0.16mM$ 、 $K^{+} 0.68mM$ 、 $Na^{+} 0.16mM$ が含まれている。そこで、これら4種の金属イオンの塩化物を含むMOPS緩衝液 $5mM$  pH7.0 (Tris でpHを調整)完全培地とし、完全培地から一種ずつの塩を抜いた培地中での光走性を測定すると、 $CaCl_2$ あるいは $MgCl_2$ を抜くと著しく光走性が抑制された。その場合、顕微鏡で観察すると運動が停止している個体が多かった。

そこで、培養用の培地から、 $CaCl_2 0.5mM$ 、 $MgCl_2 0.16mM$ 、 $KCl 0.68mM$ 、 $NaCl 0.16mM$ を含むMOPS緩衝液 $5mM$  pH7.0 (NaOH でpHを調整)に交換してから、光走性あるいは個体の遊泳速度を測定する10-20分前にEGTA、 $CaCl_2$ を種々の濃度加えて、光走性に対する $Ca^{2+}$ イオン濃度の効果を調べた。EGTAはNaOHを用いて溶解した。 $1mM$  EGTA、 $0.5mM$   $CaCl_2$ を含む培地中では完全に光走性を示さなくなるが、細胞の遊泳は停止しなかった。さらに最終濃度 $1.5mM$ になるように $CaCl_2$ を加えると、光走性が回復した。そこでカルシウムポンプを阻害すると言われる $La^{3+}$ の効果 (Sarkadi et al, 1977) を次に調べた。 $10^{-5}M$ になるように $LaCl_3$ を加えて30分後に細胞は停止した。 $10^{-5}M$ より低い濃度では、光走性は完全には抑制されなかった。

$15mM$  KCl を上記の4種の金属イオンを含む緩衝液に加えると光走性は抑制されたが細胞の遊泳は停止しなかった。 $15mM$  NaCl を加えた場合は光走性はほとんど抑制されなかった。 $15mM$  KCl、 $5mM$   $CaCl_2$ を同時に加えると光走性は部分的に回復した。

以上の結果より、Cryptomonas では、EGTAを用いて $Ca^{2+}$ 濃度を約 $10^{-7}M$ にすると、個体の遊泳は停止しないが、光走性を示さなくなること、 $15mM$  KCl は特異的に光走性を抑制することからわかった。 $K^{+}$ の効果は $Ca^{2+}$ の働きと関連があることが示唆された。