ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ YAYINLARI
ATATURK UNIVERSITY PUBLICATIONS

Research Article / Araştırma Makalesi DOI: 10.5152/VetSciPract.2022.221323

Nematod Caenorhabditis Elegans'ın Oksijen Seviyesine Bağlı Hareket ve Sürü Oluşturma Davranışının Belirlenmesi

Investigation of oxygen-dependent motility and swarming behavior in nematode Nematode Caenorhabditis Elegans

Aşkın KOCABAŞ

Department of Physics,
Koc University, İstanbul, Turkey

ÖZ

Nematod Caenorhabditis elegans (*C. elegans*) doğada sürü davranışı gösterebilen bir model organizmadır. *C. elegans* sürü oluşturma özellikleri, bulunduğu ortamdaki oksijen ve bakteri seviyesi ile direk ilişkilidir. Bu etkilerin karmaşık bir sonucu olarak *C. elegans* kendiliğinden organize olabilen kalabalık gruplar oluşturmaktadır. Bu grupların kolektif hareketleri canlının hız profilinin oksijen seviyesine bağlılığı tarafından kontrol edilmekte ve yoğunluğa göre farklı faz geçişleri göstermektedir. Bu grup oluşturma davranışlarını kontrol eden, gerçek hız profili tam olarak tespit edilememektedir. Bu çalışmada *C. elegans*'ın hareket hızının, bulunduğu ortamın oksijen seviyesine bağlılığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın ayırıcı özelliği, canlının hem kuyruk hem de kafa sinirleri aynı ortamı algılayacak şekilde, bir sıvı ortam ölçümü ile yapılmasıdır. Oksijen seviyeleri fiber optik oksijen sensörü ile belirlenmiş ve hareket hızı ile bağlantısı tespit edilmiştir. Tespit edilen deneysel hız profili, faz ayrımı prensibi kullanılarak sürü oluşturma davranışı matematiksel olarak modellenmiştir.

Anahtar Sözcükler: C. elegans, hareket, sürü

ABSTRACT

Model organism Caenorhabditis elegans can perform swarming behavior in nature. This behavior is intricately linked to the presence of bacteria and oxygen levels in the environment. The complex interplay of all these factors drives the emergence of a self-organized swarming response. The collective motility of this behavior is particularly controlled by the oxygen-dependent velocity profile of the animals which triggers phase separation into dense and dilute clusters. However, the exact velocity profile leading to this transition has not been determined yet. In this study, we experimentally identified this missing information by using a liquid environment. The main difference in this measurement is to use liquid culture to be able to stimulate both head and tail neurons with the same oxygen level. We utilized fiber optic-based sensors to precisely measure oxygen levels that correlated with the animal's velocity. Finally, based on these experimental results, we modeled swarming behavior using phase separation principles.

Keywords: C. elegans, movement, herd

Received/Geliş Tarihi: 11.05.2022
Accepted/Kabul Tarihi: 04.09.2022
Publication Date/Yayın Tarihi: 12.10.2022

Corresponding author/Sorumlu Yazar:
Aşkın KOCABAŞ
E-mail: akocabas@ku.edu.tr

Atıf: Kocabaş A. Nematod caenorhabditis elegans'ın oksijen seviyesine bağlı hareket ve sürü oluşturma davranışının belirlenmesi. *Vet Sci Pract.* 2022; 17(2), 45-48.

Cite this article as: Kocabaş A. Investigation of oxygen-dependent motility and swarming behavior in nematode Nematode Caenorhabditis Elegans. *Vet Sci Pract.* 2022; 17(2), 45-48.

Copyright@Author(s) - Available online at veterinarysciences-ataunipress.org
Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Doğada, balıklardan kuşlara kadar birçok canlı organizma sürü oluşturma özelliği kazanmıştır. Bu özellik hem savunma hem de avlanma stratejisi olarak canlılara avantaj sağlamaktadır.[1,2] Canlıların sürü davranışlarının anlaşılması ve kontrol edilebilmesi, bu davranışın oluşturacağı zararı etkileri engellemek açısından oldukça önemlidir. Bu konuda dünya gündeminde olan en önemli örnek çekirge sürüleridir.[3,4] Bu sürüler çok ciddi boyutlarda tarımsal ve ekolojik zarar verebilmektedir. Ancak bu grupların karmaşık iç dinamikleri ve nasıl kontrol edilip engelleneceği henüz bütün boyutlarıyla anlaşılamamıştır. Model organizmalar bu karmaşık problemin anlaşılması için yeni bir platform olma özelliği taşımaktadır.

Nematod Caenorhabditis elegans (*C. elegans)* doğada çürüyen meyve ve mantarların etrafında oluşan bakterileri kolonilerini yiyerek beslenen bir toprak solucanıdır.[5,6] Bu canlının en ayırıcı özelliği, biyolojide

model organizma olması ve birçok genetik metotların kullanılmasına olanak sağlamasıdır.[7-9] Bu özelliklerin yanısıra sürü oluşturma özelliği gösterebilen tek model organizmadır.[10] Doğadan toplanmış olan varyantları[11] bakteri ile beslenirken kendiliğinden organize olan, belirli büyüklüklerde gruplar oluşturmaktadır. Bu gruplaşma özelliği *C. elegans*'ın gösterdiği tek sosyal davranış olarak kabul edilmektedir.[12]

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda,[6,10,11] *C. elegans*'ın sürü oluşturma özelliğinin arkasında bakteri ve oksijen dinamiklerinin olduğu tespit edilmiştir. Bakteri ortamı, oksijen tüketiminden dolayı, oksijeni bitirerek, oldukça düşük (~%0,1) oksijen seviyesine sebep olmaktadır.[10] *C. elegans,* yiyecek olarak bakteriyi bulabilmek için düşük oksijen seviyelerine (~%10) yönelmektedir.[13] Bakteri ve *C. elegans* etkileşime girdiği zaman, harekete bağlı etkenlerden dolayı bakteriyi kümenin içine çekerek, daha yoğun bir bakteri tabakası oluşturmakta ve oksijen seviyesini daha fazla düşürerek tercih ettiği seviyeye indirmektedir. Bu işlem sonucunda *C. elegans* sürüleri oluşmaktadır. Bu etkileşim fiziksel olarak oldukça karmaşık bir dinamiğe sahiptir. Yapılan analizler bu dinamiğin temel kontrol parametresi olarak *C. elegans'ın* hız profilinin oksijen seviyesi ile beraber düşmesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.[10] Sonuç olarak *C. elegans* tercih ettiği oksijen seviyesine ulaştığı zaman durmakta ve bu bölgelerde yoğunluk oluşturmaktadır. Bu temel grup oluşturma dinamiği son yıllarda geliştirilen aktif madde fiziği ile çarpıcı benzerlikler göstermektedir. En dikkat çeken model hareket tetiklemeli faz geçişi (Motility induced phase separation, MIPS) modelidir.[14-18] Bu model sayesinde bu canlıların sürü hareketleri analiz edilebilmektedir.

Bu modelleme sırasında ortaya çıkan en temel problem, hız profilinin belirlenmesidir. Doğal ortamından farklı olarak, deney ortamı olan agar yüzeyler kullanıldığı taktirde canlının oksijen algılama özellikleri tamamen farklılık göstermektedir. Hem kuyrukta hemde kafa bölgesinde bulunan URX ve PQR[19] sinir hücreleri karmaşık ve birbirleri ile çelişen oksiyen seviyeleri algılamaktadır. Bunun sonucu olarak çok düşük oksijen seviyesi olan ortamlardan ($[O_2]$ ~ %0-%3) kaçma refleksi ortaya çıkmaktadır.[13] Ancak bu davranışın arkasındaki gerçek hız profilinin ne olduğu henüz anlaşılamamıştır. Bu çalışmada düz agar yüzey yerine sıvı ortamda oksijen seviyesine göre hız ölçümü yapılmış ve gerçek profil tespit edilmiştir. Sıvı ortamda oksijen seviyesinin hızlı bir şekilde düzenlenmesi, oksijen difüzyonunun yavaş olmasından dolayı ayrıca zor bir işlemdir. Bu zorluğu aşabilmek için oksijen bağlama özelliği olan sodyum sülfit ($NaSO_3$) kullanılmıştır. Oluşturulan ortamın gerçek zamanlı oksijen seviyeleri hassas fiber optik sensörler kullanılarak belirlemiş ve son olarak aktif malzeme modelleri kullanılarak grup oluşturma özellikleri tespit edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Kullanılan organizma

Bu çalışmada *C. elegans* varyantı *npr-1* (DA609) kullanılmıştır. Bu varyant direk olarak Caenorhabditis Genetics Center (CGC) merkezinden temin edilmiştir.

Kullanılan kimyasal

Bu çalışmada oksijen seviyesini kontrol edebilmek için 1M yoğunlugunda $NaSO_3$ sodyum sülfit kullanılmıştır. Bu kimyasal S0505 ürün kodu ile temin edilmiştir. Ayrıca *C. elegans* sıvı ortamı oluşturmak için standary M9 solüşyonu kullanılmıştır.

Kullanılan araçlar

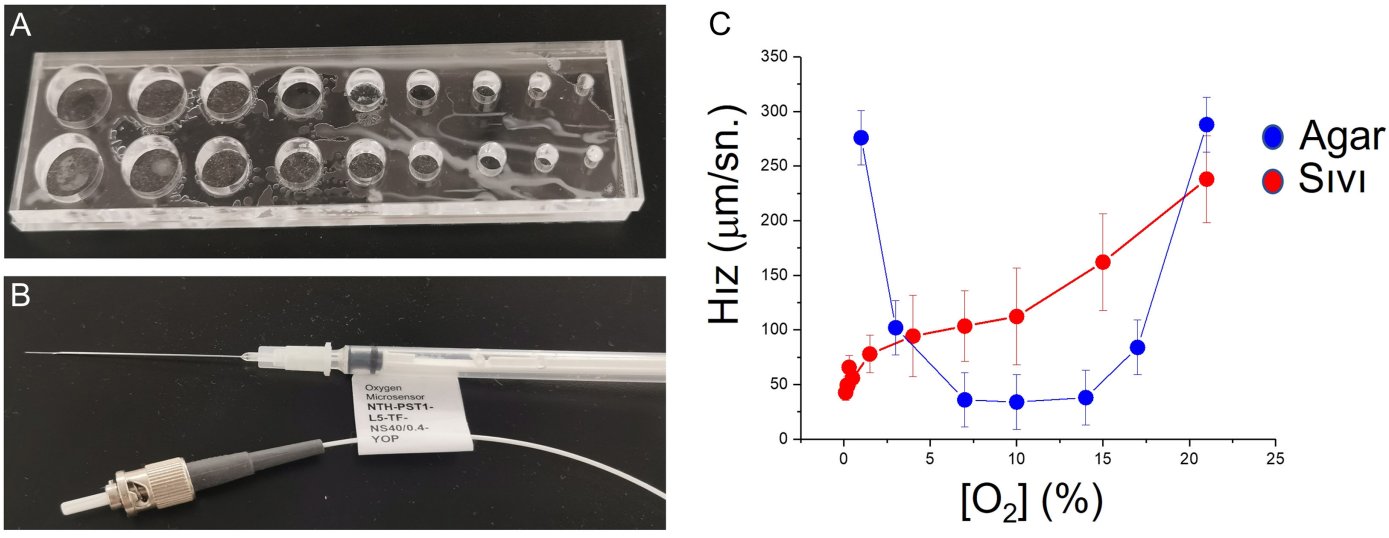
Oksijen yoğunlukları Microx TX3 fiber optic oksijen sensörü kullanılarak alınmıştır. Video görüntüleme ve kayıt için Stereo SMZ18 mikroskobu ve DCC1545M CMOS kamera kullanılmıştır.

Modelleme ve simülasyon

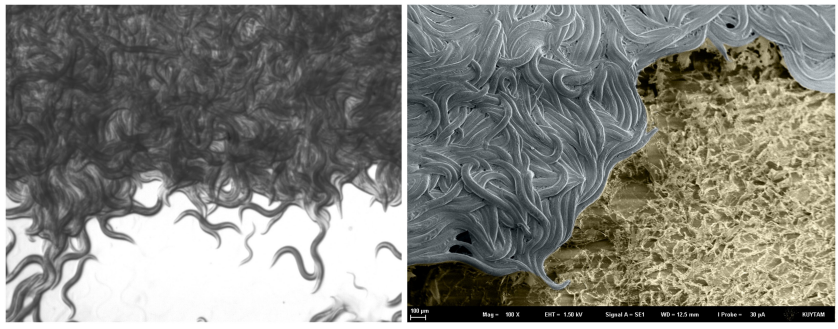
Oksijen ve *C. elegans* yoğunluklarını belirleyen denklemler nümerik finite-difference algoritması kullanılarak, Matlab programı ile hesaplanmıştır.

BULGULAR

C. elegans'ın hız profilinin tespiti için Şekil 1A de gösterilen hazneler ve video mikroskobu kullanılarak kaydedilmiştir. Hazneler lazer kesme metodu ile pileksi malzemeden üretilmiştir. Her bir haznеye kalabalık olmaması için, 20 adet *C. elegans* yerleştirilmiştir. Şekil 1B de gösterilen fiber optik sensör, haznenin içerisinden oksijen seviyesinin okunabilmek için kullanılmıştır (bkz. Materyal ve Metot). Video kayıt hızı bütün hareketi algılayabilmek için 10 resim/san. olacak şekilde belirlenmiştir.



Şekil 1. C. elegans hareket hızının V(O) oksijen seviyesine bağlılığı. A) Sıvı ortam ölçümleri için kullanılan değişik boyutlarda hazneler. B) Hassas oksijen seviyesi ölçmek için kullanılan fiber optic sensor. C) Agar ve sıvı ortamda C. elegans ın hareket hızının oksiyen seviyesine göre değişimi. Agar yüzeyler parabolic bir V(O) profili vermekte iken sıvı ortam, oksijen seviyesi düştükçe sürekli azalan bir profil göstermektedir.



Şekil 2. C. elegans ın sürü davranışı. A) Yoğun C. elegans gruplarının oluşturduğu sürünün optic mikroskop görüntüsü. B) Grupların ayrıntılı electron mikroskobu görüntüsü. Sıvı azotla dondurulan sürünün soğuk ortam altında, electron mikroskobisi ile alınan örnek resim.

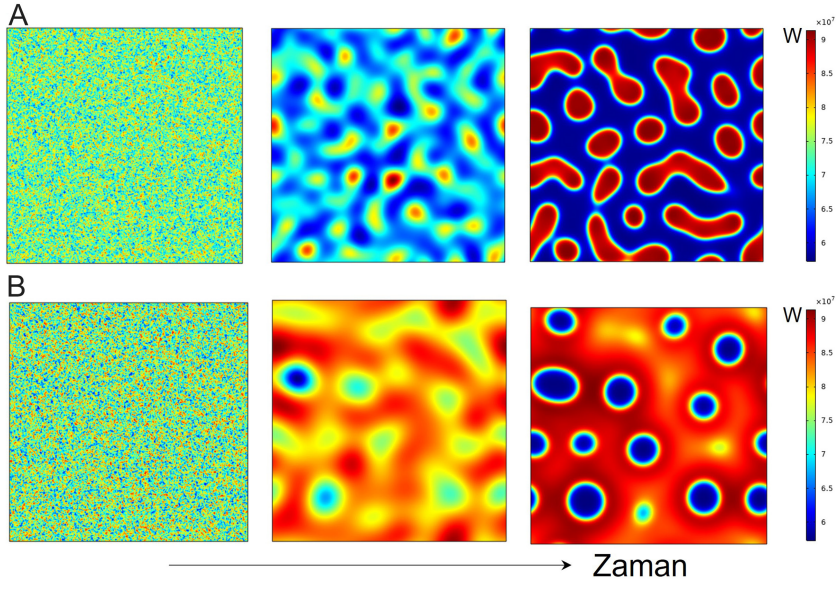
Oksijen seviyeleri 10 µl, 1M $NaSO_3$ eklenerek zaman içerisinde değişik seviyelere düşürülerek %21-%0 aralığı taranmıştır (Video 1). *C. elegans*'ın hız verileri görüntü işleme programı kullanılarak belirlenmiştir. Şekil 1C bu işlem sonucunda elde edilen hız profili (V(O)) ve oksijen seviyelerini göstermektedir. Agar yüzeylerde dış ortamın oksijen seviyesi değiştirilerek yapılan deneylerde parabolik bir hız profili ortaya çıkmaktadır. Şekil 1C de görüldüğü gibi sıvı ortamda oluşan hız profili tamamen farklı olarak sürekli azalan bir özellik göstermektedir. Bu sonuçlar göstermektedir ki düz agar yüzeyinde fiziksel etkenler canlının hareket özelliklerini oldukça değiştirmektedir.

Düz agar yüzeyleri, laboratuvar ortamında *C. elegans* model organizmasını büyütebilmek için tercih edilmiş bir metottur. Bu metodun kolaylıklarının yanında getirdiği karmaşıklıklar ortaya çıkmaktadır. Sıvı ortamda yapılan deneyler sayesinde ise hem URX hem de PQR sinir hücrelerinin aynı oksijen seviyelerini algılamaktadır. Bu durum doğal grup oluşturma ortamları açısından daha gerçekçi bir senaryodur. Ancak bu noktada ortaya çıkan yeni soru sürekli düşen hız profilinin sürü oluşturma özelliği olup olmadığıdır. Bir sonraki aşama olarak aktif malzeme modelleri kullanılarak bu deneysel veriler ile canlının gruplaşma özellikleri modellenmiştir.

Şekil 2A ve 2B de *C. elegans* ın grup halinde görünümleri verilmiştir. Gruplaştıkları zaman, bakteri ile beraber oldukça yoğun bir yapı oluşturduları elektron mikroskobu görüntüleri ile de anlaşılabilmektedir (Şekil 2B).

Yoğun grup oluşturma, fiziksel prensipler açısından faz ayrımı olarak düşünülebilir. Bu ayrım sonrasında yoğun ve seyrek bölgeler ortaya çıkar. Bu işlem temel olarak birbiri ile etkileşen parçacıklar için geçerlidir. Ancak birbirleri arasında çekim veya etkileşim olmayan sistemlerin grup oluşturma özellikleri son yıllarda geliştirilen aktif malzeme modelleri sayesinde mümkün olmuştur.[20] Bu faz ayrımının oluşması yoğunluğa bağlı olarak hız profilinin yavaşlaması ile mümkün olmaktadır. Daha önceki çalışmalar[10] bu ayrımı parabolik hız profili kullanarak mümkün olduğunu göstermiştir. Bu aşamada MIPS modeli kullanılarak deneysel tespit edilen sürekli azalan hız profilinin faz ayrımına neden olup olmadığı ve oluşan grupların dinamikleri modellenecektir.

Temel gruplaşma prensibi, sürüklenme ve difüzyon denklemleri ile belirlenmektedir. Bu temel denklemler aşağıdaki gibidir, **W** *C. elegans* yoğunluğunu ve **O** ise ortamın oksijen seviyesini göstermektedir;



Şekil 3. Grup oluşturma dinamiklerinin similasyonları. A) Düşük yoğunluktaki grupların eşit dağılmış ortamdan gruplaşmış duruma geçişi. Bu geçiş faz ayrımına neden olmakta ve yoğun (kırmızı) ve seyrek (mavi) bölgeler oluşturmaktadır. B) Çok yoğun düzgün dağılmış canlıların zaman içerisinde gruplaşma dinamiği. Canlılar yoğun ortamda ise, sürü içerisinde seyrek delikler oluşturacak şekilde gruplaşma özelliği gösteriyor.

$$\frac{\partial W}{\partial t} = \nabla\left[D_W \nabla W\right] + \nabla\left[\beta W \nabla O\right] \quad (1)$$

$$\frac{\partial O}{\partial t} = D_O \nabla^2 O + f\left(O_{am} - O\right) - k_c W \quad (2)$$

Bu denklemlerde, $D_W = \frac{V^2}{2\tilde{}}$ *C. elegans* ın difüzyonunu, D_O oksijen difüzyonunu, $\dagger = \frac{V}{2\tilde{}}\frac{\partial V}{\partial O}$ oksijen takip hassasiyetini ve V hız profilini göstermektedir. Ayrıca *f* oksijenin yüzeyden çözünme miktarını ve O_{am} ise dış ortamın oksijen seviyesini belirtmektedir. Ve son olarak $k_c$bakteri ve *C. elegans*'ın ortak oksijen tüketme miktarını vermektedir.

Bu denklemler deneysel olarak tespit ettiğimiz hız profili V(O) kullanılarak çözülmüştür. Şekil 3A tipik faz ayrım dinamiğini göstermektedir. Bu modelleme sırasında oksijen ve *C. elegans* yoğunlukları düzgün dağılım gösterecek şekilde ancak faz ayrımını tetiklemek için düşük seviyede oynamalar eklenerek başlatılmıştır. Şekil 3A da görüleceği üzere zaman ilerledikçe gruplar oluşmakta ve grup yoğunlukları artmaktadır. Literatürde daha önceden gözlemlendiğinin aksine, yeni hız profili sayesinde yoğunluk giderek artış göstermektedir. Bu artıştaki limit canlıların oluşturacağı maksimum yoğunluk tarafından belirlenir. Literatürden farklı olarak, bu ayrımın temel sebebi düşük oksijen yoğunluklarında canlı hızlanma yerine yavaşlama eğilimi göstermesinden kaynaklanmaktadır. Bunun yanında, aynı simülasyon *C. elegans* yoğunluğu yüksek bir seviyede başlatıldığı taktirde, gruplaşma dinamiği kümeler yerine sürü içerisinde delikler oluşacak şekilde ortaya çıkmaktadır.

TARTIŞMA

C. elegans model organizma olarak belirlendikten sonra agar yüzeyler uygun ortam olarak seçilmiş ve başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar göstermektedir ki oksijen yoğunluğunun canlının hızı üzerinde olan etkisi, bulunduğu ortamın agar yüzey ve sıvı ortam oluşu birbirlerinden oldukça farklı sonuçlara sebep olmaktadır. Agar yüzeyler oksijen seviyelerine göre parabolik, sıvı ortam ise sürekli azalan bir profil sergilemektedir. *C. elegans* sürü oluşturduğu durumda içinde bulunduğu yoğun yapı düz agar yüzeyinden, diğer *C. elegans* lardan dolayı oldukça karmaşıktır. Bu ortam içerisinde kuyruk ve kafada bulunan URX ve PQR sinir hücreleri daha gerçekçi olan, sıvı ortamı algılamaktadır. Bu çalışmada elde ettiğimiz, V(O) hız profili sürü davranışlarının modellenmesi için daha gerçekçi bir deneysel veri ortaya koymaktadır.

Etik Komite Onayı: Deneylerde omurgasız canlı, Caenorhabditis elegans, kullanılmış olup herhangi bir etik kurulu onayı gerekmemiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma Avrupa Moleküler Biyoloji Organizasyonu (EMBO) tarafından desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: The invertebrate Caenorhabditis elegans was used in the experiments and no ethics committee approval was required.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author have no conflicts of interest to declare.

Funding: This study support from The European Molecular Biology Organization (EMBO).

REFERENCES

1. Martínez AE, Gomez JP, Ponciano JM, Robinson SK. Functional traits, flocking propensity, and perceived predation risk in an Amazonian understory bird community. *Am Nat*. 2016;187(5):607-619. [CrossRef]
2. Miller N, Gerlai R. From schooling to shoaling: patterns of collective motion in zebrafish (Danio rerio). *PLOS ONE*. 2012;7(11):e48865. [CrossRef]
3. Guo XJ, Yu Q, Chen D, et al. 4-Vinylanisole is an aggregation pheromone in locusts. *Nature*. 2020;584(7822):584-588. [CrossRef]
4. Matthews GA. New technology for desert locust control. *Agron Basel*. 2021;11(6). [CrossRef]
5. Hollis JP. Induced swarming of a nematode as a means of isolation. *Nature*. 1958;182(4640):956-957. [CrossRef]
6. Guisnet A, Maitra M, Pradhan S, Hendricks M. A three-dimensional habitat for C. elegans environmental enrichment. *PLoS One*. 2021;16(1):e0245139. [CrossRef]
7. Coulson A, Sulston J, Brenner S, Karn J. Toward a physical map of the genome of the nematode Caenorhabditis-elegans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(20):7821-7825. [CrossRef]
8. White JG, Southgate E, Thomson JN, Brenner S. The structure of the nervous-system of the nematode Caenorhabditis-elegans. *Philos T R Soc B Biol Sci*. 1986;314(1165):1-340. [CrossRef]
9. Kocabas A, Shen CH, Guo ZV, Ramanathan S. Controlling interneuron activity in Caenorhabditis elegans to evoke chemotactic behaviour. *Nature*. 2012;490(7419):273-277. [CrossRef]
10. Demir E, Yaman YI, Basaran M, Kocabas A. Dynamics of pattern formation and emergence of swarming in Caenorhabditis elegans. *eLife*. 2020;9. [CrossRef]
11. de Bono M, Bargmann CI. Natural variation in a neuropeptide Y receptor homolog modifies social behavior and food response in C-elegans. *Cell*. 1998;94(5):679-689. [CrossRef]
12. de Bono M, Tobin DM, Davis MW, Avery L, Bargmann CI. Social feeding in Caenorhabditis elegans is induced by neurons that detect aversive stimuli. *Nature*. 2002;419(6910):899-903. [CrossRef]
13. Rogers C, Persson A, Cheung B, de Bono M. Behavioral motifs and neural pathways coordinating O2 responses and aggregation in C. elegans. *Curr Biol*. 2006;16(7):649-659. [CrossRef]
14. Solon AP, Stenhammar J, Cates ME, Kafri Y, Tailleur J. Generalized thermodynamics of motility-induced phase separation: phase equilibria, Laplace pressure, and change of ensembles. *New J Phys*. 2018;20(7). [CrossRef]
15. Cates ME, Tailleur J, Phase M-I. Separation. *Annu Rev Conden Ma*. 2015;P 6:219-244. [CrossRef]
16. Gonnella G, Marenduzzo D, Suma A, Tiribocchi A. Motility-induced phase separation and coarsening in active matter. *C R Phys*. 2015;16(3):316-331. [CrossRef]
17. Li YI, Cates ME. Hierarchical microphase separation in non-conserved active mixtures. *Eur Phys J E Soft Matter*. 2021;44(9):119. [CrossRef]
18. Fausti G, Tjhung E, Cates ME, Nardini C. Capillary interfacial tension in active phase separation. *Phys Rev Lett*. 2021;127(6):068001. [CrossRef]
19. Gray JM, Karow DS, Lu H, et al. Oxygen sensation and social feeding mediated by a C-elegans guanylate cyclase homologue. *Nature*. 2004;430(6997):317-322. [CrossRef]
20. Yang XB, Manning ML, Marchetti MC. Aggregation and segregation of confined active particles. *Soft Matter*. 2014;10(34):6477-6484. [CrossRef]