

希少糖がプラナリアの再生に及ぼす影響

倉良 詩夢 高橋 恵里 平間 太雅

書式変更: インデント: 最初の行: 24 字

【概要】

私たちは再生分野に興味があったため、希少糖がプラナリアの再生に及ぼす影響について研究した。希少糖の水溶液中におけるプラナリアの再生を観察した結果、希少糖はプラナリアの再生速度に影響を及ぼさないが、死亡率には影響を及ぼすことがわかった。

We are interested in regeneration of creatures. We studied the relationship between rare sugars and Planarian regeneration. We observed the regeneration speed in rare sugar solution. Rare sugars have no positive impact on Planarian regeneration speed. However we detected that rare sugars may reduce the Planarian death rate.

【研究動機】

近年話題になっている希少糖にはさまざまな効果があり、ダイエット甘味料として広く認知されるようになった。その生理活性には未知な部分が多く存在するが、医療の分野では、虚血保護作用、癌抑制作用、動脈硬化防止作用などの研究が進んでおり、再生医療についての研究も行われている。そこで私たちは、もともと再生分野に興味があったため、特に再生能力が高く、高校生でも実験可能な材料であるプラナリアと希少糖を用いたこの研究を行うことにした。

【研究目的】



希少糖がプラナリアの再生に及ぼす影響について調べることにした。

【仮説】

希少糖がもつ多様な生理活性が、プラナリアの再生に良い作用をもたらす。

【実験器具・薬品・材料】

(1)実験材料

プラナリア (Tricladida) は、扁形動物門ウズムシ綱ウズムシ目ウズムシ亜目に属する動物の総称であり、広義には、ウズムシ目 (三岐腸目) に属する動物の総称。全身に幹細胞が分布しており、再生能力が高い。この研究に用いたプラナリアは、リュウキュウナミウズムシ (*Dugesia rykyuensis*) である。北海道大学の柄内特任教授の研究室で培養しているプラナリアを分けて頂いた。

飼育環境について以下に示す。

- ・プラナリアの入った水槽はダンボールに入れて光を遮ってある。
- ・定温培養機の温度を 22℃ に設定し、その中で飼育している。
- ・月、水、金曜日の週 3 回、水換えを行っている。(汲み置きの水を使用。)

- 月、金曜日の週 2 回、冷凍の鶏レバーを与えている。

図-1 リュウキュウナミウズムシ

(2)実験器具・薬品

- ・ 希 少 糖 ...D-Allose, D- Psicose, D-Sorbose, D-Tagatose
- ・ そ の 他 の 単 糖 ...D-Glucose, D-Fructose, D-Galactose, D-Mannose

書式変更: 標準, 行頭文字または番号を削除

書式を変更: フォント: +本文のフォント (Century), 10.5 pt

書式変更: リスト段落, 箇条書き + レベル: 1 + 整列: 0 mm + インデント: 7.4 mm

・ 汲み置きの水

この研究に用いている希少糖は、すべて希少糖甲子園の前期プログラムで支給されたものを使用している。過去に希少糖甲子園に参加した先輩方からも、一部分けていただいた。前期プログラムにおいては、8種類の単糖が5gずつ配布される。

希少糖の量が限られており、希少糖についてのサンプル数を多くすることは困難であった。不足分の購入も検討したが、大変高価であったため、やむなく断念した。

【実験方法】

再生の定義

(1)実験1・2における再生の定義

プラナリアの頭部から尾部の中間付近で切断し、頭部を含む断片を「頭部」、尾部を含む断片を「尾部」とした。「頭部」については、形と色の復元および眼の形成をもって再生したとし、「尾部」については、形と色が復元された段階で再生したとした。

(2)実験3・4・5・6における再生の定義

プラナリアを目の真下で切断し、尾部を含む断片を実験に用いた。眼の形成をもって再生したとした。

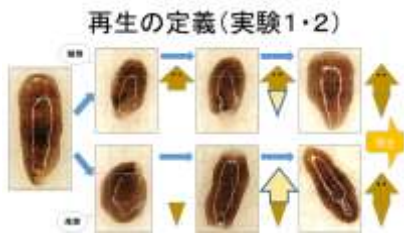


図-2 実験1・2における再生の定義

再生の定義(実験3・4)



図-3 実験3・4における再生の定義

実験1 D-Glucose 水溶液中におけるプラナリアの再生速度

グルコース水溶液（質量パーセント濃度1.0%,0.8%,0.6%,0.4%,0.2%,0.1%の6種類）にプラナリアの頭部と尾部を1個体ずつ入れ、毎日1回観察を行い、再生の状況を確認した。また、対照実験として通常の飼育水での再生実験も行った。

実験2 希少糖とプラナリアの再生速度の関係

以下の各種単糖（※）の1.0%,3.0%,5.0%水溶液に、プラナリアの頭部と尾部を1個体ずつ入れ、毎日1回観察を行い、再生の状況を確認した。また、対照実験として、次の2つの実験も行った。

(1) 1.0%,3.0%,5.0%のD-Glucose水溶液に切断していない個体を入れたものを作成した。

(2) 実験1と同様に、通常の飼育水での再生実験を行った。

※希少糖(D-Allose, D- Psicose, D-Sorbose, D-Tagatose)

※その他の単糖(D-Glucose, D-Fructose, D-Galactose, D-Mannose)

書式変更: リスト段落, 箇条書き + レベル: 1 + 整列: 0 mm + インデント: 7.4 mm

書式変更: 標準, インデント: 左: 0 mm

書式変更: 標準, インデント: 左: 0 mm

書式変更: 標準, インデント: 左: 0 mm

書式変更: 標準, インデント: 左: 0 mm

書式変更: 標準, インデント: 左: 0 mm

実験 3 限界状態におけるプラナリアの再生

実験 1・2 で再生速度に変化が見られなかったのは、プラナリアにとって好条件での飼育であったためと考えた。そこで、限界状態、すなわち、プラナリアが好まない環境に変えて実験した。pH を酸性 (pH4,pH5,pH6) に変えることで、限界状態を設定した。

実験 3 においては、以下に示す環境下で再生の状況を確認した。

- (1) 通常状態 (≒ 汲み置き水、pH7) のとき
- (2) 限界状態 (pH4,5,6) のとき
- (3) (2)の限界状態に各種単糖 (※※) を加えたとき

※ ※ 希少糖 (D-Allose, D- Psicose, D-Sorbose)、その他の単糖 (D-Glucose)

実験 4 切断していないプラナリアを用いる(実験 3 の対照実験)

実験 3 の結果から、「プラナリアの体のどの部分に、pH の酸性や希少糖は作用しているのか。」という疑問を持った。そこで、「pH の酸性と希少糖は、プラナリアの切断面に作用している。」という仮説を立て、切断していないプラナリアを用いて、実験 3 の一部の対照実験を行った。

実験 4 においては、以下に示す環境下で、個体が生存するのかを観察した。

- (1) 切断しない+pH4,5,6+溶質なし
- (2) 切断しない+ pH4,5,6+D-Glucose

【実験結果】

実験 1 D-Glucose 水溶液中におけるプラナリアの再生速度

どの個体も約 9 日で再生し、D-グルコース

の濃度の違いによるプラナリアの再生速度の有意な差は見られなかった。また、「頭部」と「尾部」の再生速度を比較した場合についても大きな差は見られなかった。

対照実験についても、各グルコース濃度の水溶液と汲み置き水における再生速度の有意な差は見られなかった。

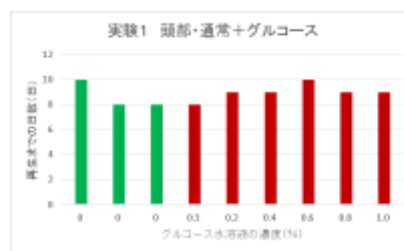


図-4 実験 1 頭部における D-Glucose 水溶液の濃度と再生までの日数の関係

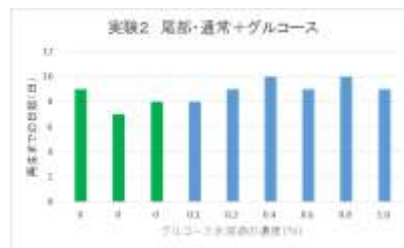


図-5 実験 1 尾部における D-Glucose 水溶液の濃度と再生までの日数の関係

実験 2 希少糖とプラナリアの再生速度の関係

3.0%,5.0%の各種単糖の水溶液においては、すべての個体が、約 1~2 日で再生することなく死亡した。対照実験(1)を行ったところ、切断していない個体においても 3.0%,5.0%の水溶液中の個体は死亡し、1.0%の水溶液中の個体は生存するという同様の結果が得られた。これらの結果から、3.0%,5.0%水溶

液中において個体が死んだ原因は、浸透圧によるものと考えられる。

一方、1.0%水溶液においては、どの個体も約9日で再生し、糖の種類によるプラナリアの再生速度の有意な差は見られなかった。また、「頭部」と「尾部」の再生速度を比較した場合についても大きな差は見られなかった。

対照実験(2)の結果についても、各種単糖の水溶液における結果とあわせてグラフに示している。

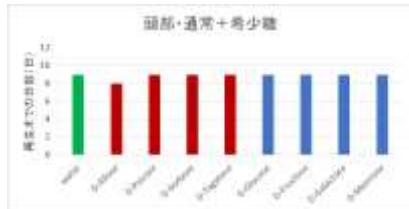


図-6 実験2 頭部における単糖の種類と再生までの日数の関係

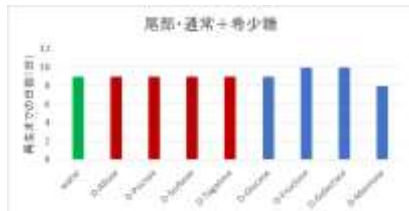


図-7 実験2 尾部における単糖の種類と再生までの日数の関係

実験3 限界状態におけるプラナリアの再生

実験3(1)

実験3(1)を行った目的は、以下の2つである。

- ・新たな定義に基づいた、通常状態における平均再生日数を調べること。
- ・実験3(2),(3)の対照実験を行うこと。

15個体の再生速度を調べたところ、通常状態での平均再生日数は、4.2日であった。

実験3(2),(3) 結果 pH4.0

表-1 実験3(2),(3) pH4.0における単糖の種類と再生日数、死亡率の関係

	平均再生日数(日)	死亡率
なし	3.1	30%
D-Glucose	3.4	50%
D-Allose	3.4	20%
D-Psicose	3.2	10%
D-Sorbose	3.1	10%

実験3(2),(3) 結果 pH5.0

表-2 実験3(2),(3) pH5.0における単糖の種類と再生日数、死亡率の関係

	平均再生日数(日)	死亡率
なし	3	0%
D-Glucose	4	0%
D-Allose	3	0%
D-Psicose	3	0%
D-Sorbose	3	0%

実験3(2),(3) 結果 pH6.0

表-3 実験3(2),(3) pH6.0における単糖の種類と再生日数、死亡率の関係

	平均再生日数(日)	死亡率
なし	3	10%
D-Glucose	4	0%
D-Allose	3	0%
D-Psicose	3	0%
D-Sorbose	3	0%

実験 3-(2) pH と再生日数の関係

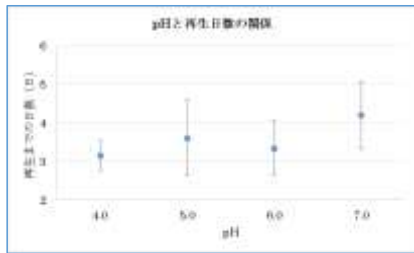


図-8 実験 3-(2) pH と再生日数の関係

実験 3-(2),(3) pH4.0 各種単糖添加

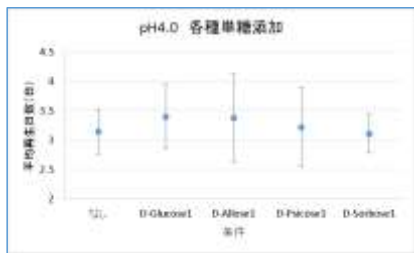


図-9 実験 3-(2),(3) pH4.0 各種単糖添加

実験 3-(1),(2),(3) pH と死亡率の関係

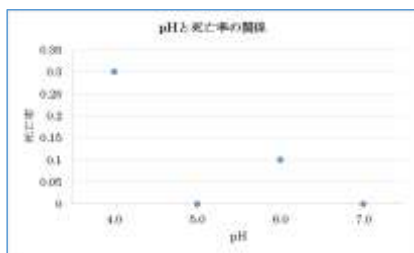


図-10 実験 3-(1),(2),(3) pH と死亡率の関係

実験 3-(2),(3) pH4.0 各種単糖添加(死亡率)

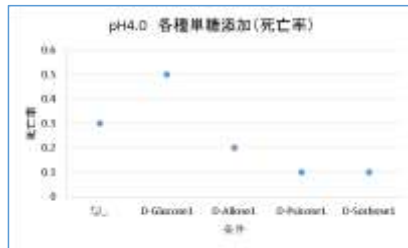


図-11 実験 3-(2),(3) pH4.0 各種単糖添加 (死亡率)

実験 4 切断していないプラナリアを用いる(実験 3 の対照実験)

(1) 切断しない+ pH4,5,6+溶質なし における死亡率

表-4 実験 4-(1)と実験 3-(1)の死亡率の比較

	pH4	pH5	pH6
実験 4-1 切断しない	0%	0%	0%
実験 3-1 切断する	30%	0%	10%

pH4 の実験 3-1 (切断面あり) において 30%であった死亡率が、実験 4-1 (切断面なし) においては 0%であったことから、pH の酸性は、プラナリアの切断面に作用している可能性が高い。

(2) 切断しない+ pH4,5,6+ D-Glucose における死亡率

表-5 実験 4-(2)と実験 3-(2)の死亡率の比較

	pH4	pH5	pH6
実験 4-2 切断しない	0%	0%	0%
実験 3-2 切断する	50%	0%	0%

pH4 の実験 3-1 (切断面あり) において 50%であった死亡率が、実験 4-1 (切断面なし) においては 0%であったことから、希少糖は、

プラナリアの切断面に作用している可能性が高い。

したがって、pHの酸性と希少糖は、プラナリアの切断面に作用している可能性が高い。

【考察】

酸性の飼育環境では、プラナリアの切断面が損傷し、死亡率が上昇したと考える。希少糖は切断面に保護作用をもたらし、その結果、切断面の幹細胞が正常な分裂を維持できたため、死亡率が低下したと考える。

【結論】

希少糖は、プラナリアの再生速度に対して影響を与えないが、再生中のプラナリアの死亡率を低下させる効果を持つ。

【参考文献】

プラナリアの形態文化ー基礎から遺伝子までー 手代木 渉・渡辺 憲二 編著
切っても切ってもプラナリア (新装版) 阿形 清和(文) 土橋とし子(絵)

【謝辞】

本研究に際して、ご指導を賜りました香川大学何森健特任教授に深謝いたします。また、徳島大学渡部稔准教授には、プラナリアの提供やご指南を頂き、大変お世話になりました。そして、終始ご協力していただきました生物科の藤田康平先生、英語科の東谷悦生先生、ALTの先生方、本研究を支えてくださいましたSSH委員会の先生方、ありがとうございました。

【感想】

「希少糖が再生中のプラナリアの死亡率を

低下させる効果を持つ。」という結論は、研究を開始してから10ヶ月後に、やっと出すことができたものです。本研究を通して、たとえ失敗しても、そこで諦めることなく研究していくことが大切だと学びました。

「失敗から生まれる新たな疑問や意外な発見は、成功への手がかりである。」と実感できた、貴重な経験となりました。