

プラナリアの粘液に含まれる誘因物質について

徳島県立城南高等学校応用数理科3年 市橋萌可 角田弥優

1. 研究の概要

私たちは、プラナリアをシャーレで飼育していた。その際、プラナリアたちが粘液のようなものに集まっているように感じた。そして、その粘液のようなものはプラナリアたちが排出したものであるとわかった。このことから、1) プラナリアが排出した粘液にはプラナリアを誘因する作用があるのか、2)・3) プラナリアが排出した粘液に誘因作用があるとすれば、プラナリアが排出した粘液に含まれる誘因物質は何なのか、また4) プラナリアたちがどこでプラナリアが排出した粘液を感知しているのかについて4つの実験を行った。実験結果より、1) プラナリアが排出した粘液にはプラナリアを誘因する作用がある、2)・3) プラナリアが排出した粘液に含まれる誘因物質は熱に不安定で、タンパク質分解酵素に感受性があることから、粘液に含まれる誘因物質はタンパク質である可能性が高い、また4) プラナリアが排出した粘液には尾部が最も誘因され、腹部は反応がなく、頭部は逆に忌避した。このことから、プラナリアは粘液を頭部と尾部で感知していると考えられる。

Planarians are famous in the field of regenerative science, but we didn't know why they would collect in their excreted mucus. We observed whether the Planarians really collected in Planaria's mucus and searched for the attractant contained in Planaria's mucus, and searched where the Planarians sense mucus. We recorded whether Planarians would gather in places where there was mucus or not, and did the same experiment with mucus whose protein and with the Planarians cut into three parts. The results show that Planaria collects in Planaria's mucus, and the attractant contained in it is likely to be a protein, and they sense it in their head and tail. Next, we want to experiment focusing on polysaccharide.

2. 仮説

- 1) プラナリアの排出する粘液にはプラナリアを誘因する作用がある。
- 2)・3) ナメクジなどの生物が排出する粘液の主成分は、タンパク質と多糖類であるという事実から、プラナリアの粘液もタンパク質または多糖類であると考え、私たちはタンパク質が誘因物質であると仮定し、次の仮説を立てた。
- 2) 熱処理を行うことによって粘液のプラナリアを誘因する活性が失われる。
- 3) タンパク質分解酵素を用いた処理を行ったものでは、誘因活性が失われ、コントロールのタンパク質分解用緩衝液のみでは、実験1)と同様にプラナリアが粘液に誘因される。
- 4) 頭部が粘液を感知し、誘因される。

3. 実験材料・器具

- ・恒温槽 ・温度計 ・タンパク質分解酵素 (0.5mg/ml proteinase K)
- ・タンパク質分解用緩衝液 (10mM NaCl, 50mM Tris-HCL(pH7.5)、100mM EDTA) ・メス など

5. 実験方法

実験中はシャーレ内でプラナリアを飼育する(インキュベーター23℃で保管)。また、飼育・実験には、市販の天然水を用い、3日に1回の頻度でシャーレ内の水替えを行う。実験では、シャーレの底面に粘液を付着させるために、2週間、1枚のシャーレに30匹のプラナリアを入れ飼育する。このシャーレからプラナリアを別のシャーレに移し、飼育に用いたシャーレの底面、中央部に線を引く。この作業までは、



(写真1)

すべての実験において共通であり(写真1)、これを飼育と表す。

1) プラナリアの粘液には誘因活性があるのか

飼育後、中央に引いた線を基準として、半面のみをキムタオルを用い粘液をふき取り、粘液ありの半面を A、粘液なしの半面を B とする。印をつけたシャーレの中央部に 30 匹のプラナリアを戻し、3 時間後、6 時間後の個体の移動数を記録する。

2) 粘液を熱処理する

飼育後、中央に線を引いたシャーレにパラフィルムをして、60℃に設定した恒温槽の中に置き、30 分間の熱処理を行う。熱処理後、半面のみをキムタオルを用い粘液をふき取る。シャーレ内に天然水を入れ、中央部に 30 匹のプラナリアを戻し、3 時間後、6 時間後の個体の移動数を記録する。

3) 粘液をタンパク質分解酵素処理する

飼育後、中央に線を引いたシャーレにタンパク質分解用緩衝液 5 mL とタンパク質分解酵素 50 μ L を加え、パラフィルムをして、55℃に設定した恒温槽内で半日保温する。熱処理後は、シャーレ内を軽く水洗いし、半面の粘液をキムタオルでふき取る。このシャーレ内に天然水を入れ、中央部に 30 匹のプラナリアを戻し、3 時間後、6 時間後の個体の移動数を記録する。この時、タンパク質分解用緩衝液のみを加えたシャーレもコントロールとして用意する。

4) 粘液を感知している部位

30 匹のプラナリアを用意し、個体を頭部、腹部、尾部の 3 つの部位に切断する。腹部は咽頭が含まれるように切断した。切断個体 30 匹分の各部位を用意し、飼育後、半面の粘液をふき取ったシャーレ内に天然水を入れ、各部位が 3 時間後、6 時間後にどちらの面に移動したかを記録する。

6. 実験結果

1) 粘液はプラナリアを誘因するのか

実験開始から 6 時間後の結果を比較すると、実験を行った 4 枚のシャーレで粘液がある半面にプラナリアが多く集まった (図 1)。この結果から、プラナリアの粘液には、プラナリアを誘因する作用があることが分かった。

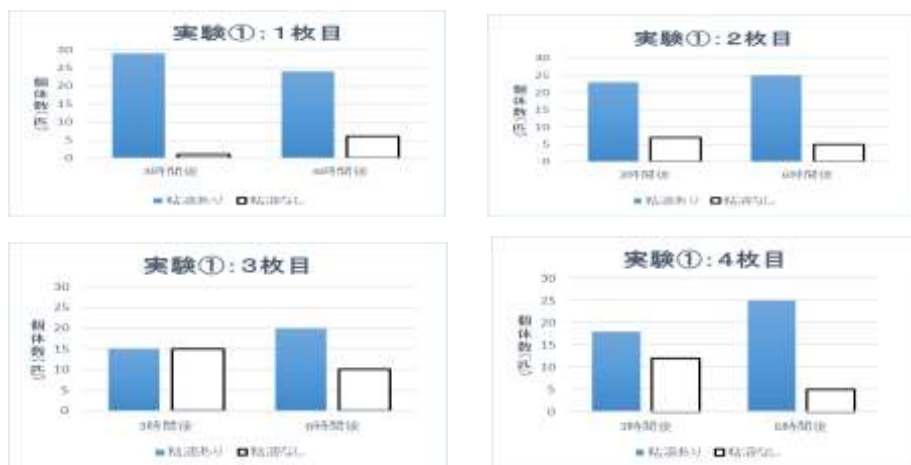


図 1

2) 粘液を熱処理 (60℃、30分) する

実験開始から6時間後の結果を比較すると、1)と異なり、粘液がある半面にプラナリアは誘因されなくなった(図2)。このことから、熱処理により粘液の誘因活性が失われたと考えられる。そのため、粘液に含まれる誘因物質は熱に不安定であることが分かった。

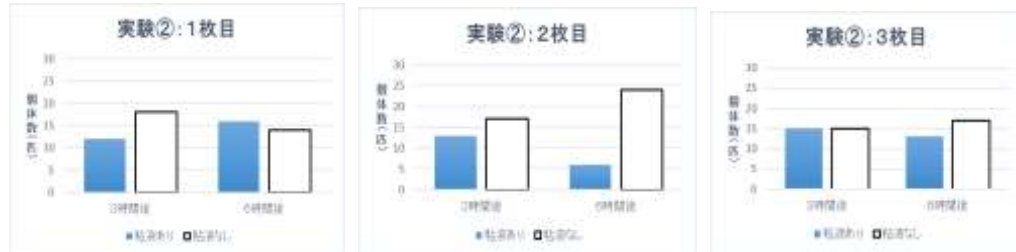


図2

3) 粘液をタンパク質分解酵素処理する

コントロールとして緩衝液のみを加えたシャーレでは、実験開始から6時間後の結果を比較すると、1)と同様、粘液がある半面にプラナリアが多く集まった。しかし、タンパク質分解酵素を加えたシャーレでは、粘液がある半面にプラナリアは誘因されなかった。この結果から、粘液に含まれる誘因物質はタンパク質分解酵素に感受性があることが分かった(図3)。

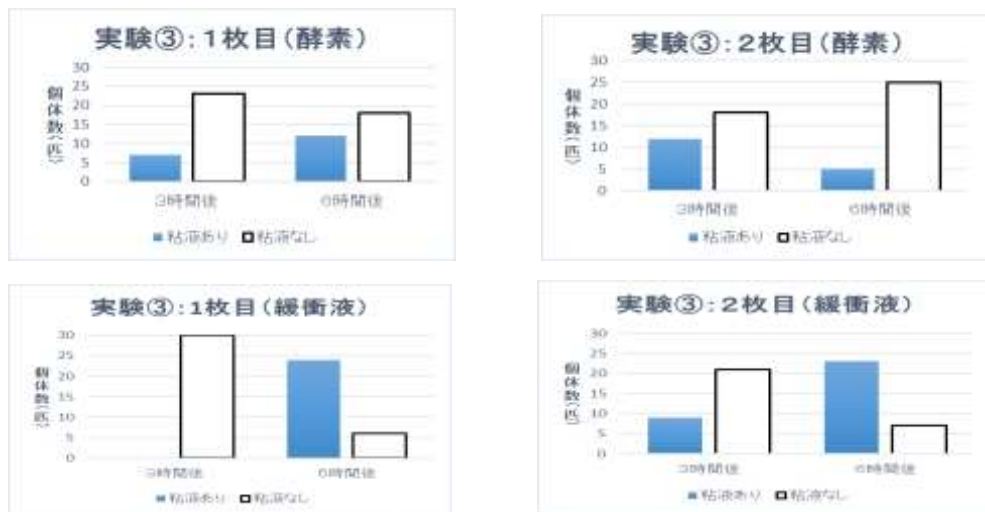


図3

4) 粘液を感知している部位

頭部・腹部・尾部全て、実験開始から6時間後の結果を比較する。まず粘液を感知している部位であると仮説を立てた頭部では、粘液がある半面を忌避したという結果となった。次に腹部では、移動に偏りがなく、粘液に対して腹部では反応がないことが分かった。また尾部では、粘液がある半面にプラナリアが誘因された。これらのことから、プラナリアは体の部位により粘液に対する反応性が違うことが分かった(図4)。

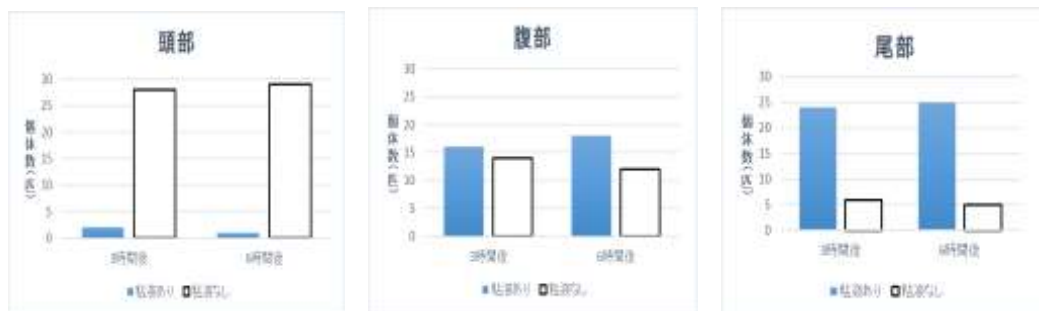


図 4

7. 考察

- 1) 粘液がある半面にプラナリアが多く集まったことから、粘液には誘因作用があると考えられる。
- 2)・3) 粘液に含まれる誘因物質が熱に不安定で、タンパク質分解酵素に感受性があることから、粘液に含まれる誘因物質はタンパク質である可能性が高いと考えられる。
- 4) 粘液には尾部が最も誘因され、腹部は反応がなく、頭部は逆に忌避したことから、プラナリアは粘液を頭部と尾部で感知していると考えられる。

プラナリアの誘因物質に対する、部位による反応性の違いであるが、誘因物質に対する受容体とその分布の違いではないかと考え、次の2つの仮説を立てた。それを図に表したものが図6・7である。また、図で斜線は誘因の受容体を表し、塗りつぶした部分は忌避の受容体を表している。

忌避と誘因の受容体が、それぞれ体の頭部と尾部にのみ分布する。

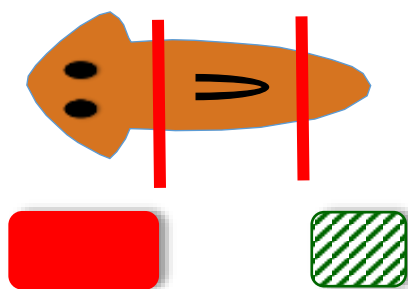


図 5

忌避と誘因の受容体が、それぞれ体の頭部と尾部から勾配を持って分布する。

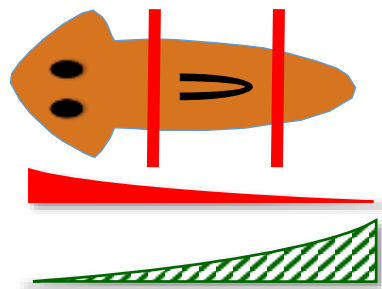


図 6

この2つの仮説を検証することはできなかった。しかし、ショウジョウバエなどの他の生物などの再生現象での位置情報モデルから考えると、図6の仮説の方が可能性が高いと考える。

8. 参考文献

- 手代木 渉・渡辺 憲二. プラナリアの形態分化 - 基礎から遺伝子まで -. 共立出版, 1998年.
 長野 敬・牛木 辰男 他. サイエンスビュー生物総合資料. 実教出版, 2016年.

9. 謝辞

本研究に際し、プラナリアの提供および研究方法のご指導をいただいた、徳島大学渡部稔教授に感謝申し上げます。

