

# プラナリアの個体崩壊の過程

宮城県仙台第三高等学校

04 班

プラナリアは高い自己再生能力を持つ生き物であるが、熱やワサビの刺激を与えるとその輪郭が不明瞭になり、再生できず、死んでしまうということが昨年までの研究でわかっている。この現象を個体崩壊と言い、プラナリアが再生不可能な個体の崩壊をすること、すなわちプラナリアの輪郭が不明瞭になることを定義としている。個体崩壊を起こす要因となる刺激についてはいくつかわかっているものの、個体崩壊がどのように起こるのかということについては触れられていなかった。そのため、今回は個体崩壊の過程について、細胞骨格であるアクチンフィラメントを Alexa Fluor<sup>™</sup>488 phalloidion で蛍光染色し、変化の様子を調べることにした。その結果、熱刺激を与える時間が長くなるほど、網目状であったアクチンフィラメントの形状が崩れていった。また今回は1～10分間、熱刺激を与えたが5分以降になると1分ごとのアクチンフィラメントの崩壊が著しく進んでおり、10分後にはアクチンフィラメント同士の結合を確認することができなかった。

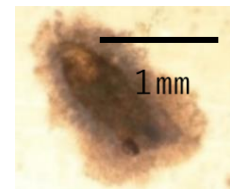
## 1 背景

プラナリアは全国の水質の良い環境に生息し、高い再生能力を持つことで知られている。しかし、先輩方が夏季に白神山地でプラナリアの一種であるカズメウズムシを保冷水筒とペットボトルに分けて持ち帰る途中で保冷水筒に入れた個体は生存していたが、ペットボトルに入れた個体は外気からの熱によって個体崩壊している様子が観察された。このことをもとに行った先行研究ではプラナリアが高温条件下では熱ストレスにより細胞がバラバラになることが解明された。<sup>1)</sup>また、別の先行研究ではプラナリアにワサビの辛味成分を与えると、逃避行動を起こす<sup>2)</sup>ことも判明している。プラナリアが個体崩壊する条件は周知されているがその過程については不明である。このことに私たちは興味を持ち、明らかにすることを目的として実験を行った。熱やワサビ刺激を与えるとプラナリアの輪郭が

不明瞭になり再生せず、死亡する現象がみられる。その状態を個体崩壊と定義した。(図1)



正常なプラナリア



個体崩壊したプラナリア

図1 正常なプラナリアと個体崩壊したプラナリア

私たちは個体崩壊が起こる原因は細胞接着分子であるカドヘリンが離れることではないかと考えた。当初、カドヘリンを染色し、顕微鏡で観察しようとしたがカドヘリンに接着する抗体が含まれている手頃な染色液がなかった

ためカドヘリンと結合している細胞骨格のアクチンフィラメントを染色し個体崩壊の過程を観察することとした。(図2)

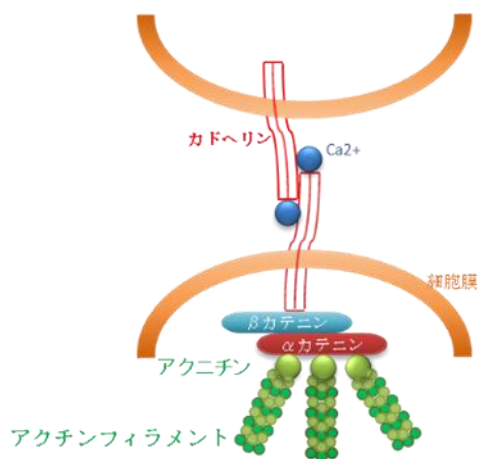


図2 細胞の模式図

4. 人工淡水で3回洗いホルマリンを流す
5. Alexa Fluor™488 Phalloidinでアクチンフィラメントを染色する
6. 人工淡水で同様に洗う
7. グリセリンでプラナリアを脱色する
8. 顕微鏡で観察する

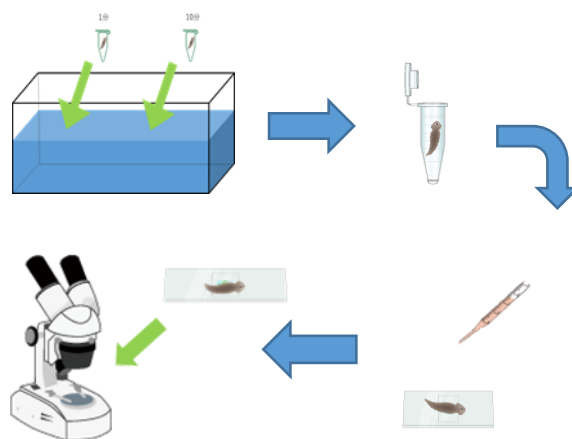


図3 実験イメージ

## 2 材料と方法

### 材料

- 仙台三高の近くにある七北田川水系二級河川高野川から採集したプラナリア(ナミウズムシと推定)
- m-solution(pHを7.6に調整した人工淡水)
- ホルマリン(濃度5%)
- Alexa Fluor™488 Phalloidin(アクチンを緑色に染める抗体)
- グリセリン(濃度70%)
- 蛍光顕微鏡

### 方法

1. プラナリアを入れたマイクロチューブを40℃の温水にいれる
2. 1分毎に1匹取り出す
3. 取り出した個体をホルマリンで固定する

今回は2種類の実験を行い、1分間と10分間の2回を観察したものを実験1、1分間から10分間の10回を観察したものを実験2とした。また、その他の条件は同じである。

## 3 結果

### 結果1 実験1の結果

1分間加熱

10分間加熱

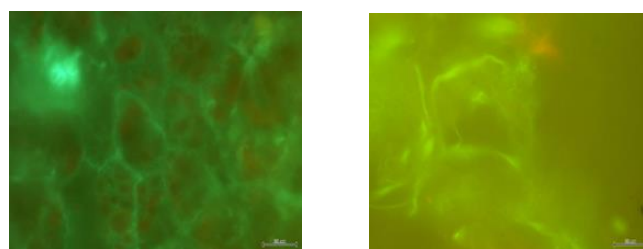


図4 1分間と10分間加熱したアクチンフィラメントの様子

加熱から1分後と10分後のアクチンフィラメントの様子を見比べてみると、初めは網目状になっていた細胞骨格が崩れていることが観察できた。(図5) この結果よりアクチンフィラメントの形状変化と個体崩壊の過程には何らかの関係があると考え、さらに実験2を行った。

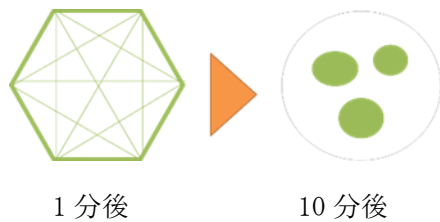


図5 アクチンフィラメントの模式図

## 結果2 実験2の結果

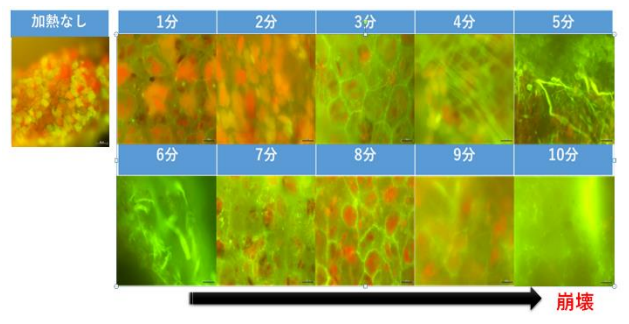


図6 1~10分間加熱したアクチンフィラメントの様子

図6より、一部変化がわかりにくいところもあるが1~10分間でアクチンフィラメントが段階的に崩れていることがわかる。

また、実験の後半である5分以降では、1分ごとの崩壊が著しく進んでいることがわかる。

## 4 考察

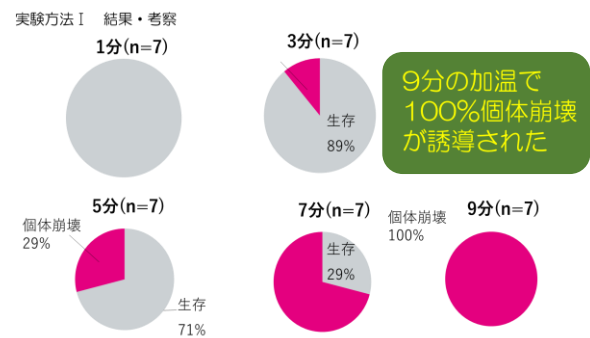


図7 一定時間ごとにプラナリアが個体崩壊を起こす割合

また上記の先行研究より、プラナリアの個体崩壊は5~7分の間で多く誘発され、9分ではすべての個体において個体崩壊が確認されたという。

この記述と今回の実験2の結果を照らし合わせると、アクチンフィラメントの形状変化と個体崩壊はほぼ同じに起こっている可能性が高いと考えられる。

## 5 展望

今回観察したプラナリアの個体崩壊は熱刺激によるもののみだったため、わさびの辛み成分であるアリルイソチオシアネートによる個体崩壊の過程との比較を行う。また、細胞接着分子であるカドヘリンを染色した上での観察を行う。さらには、核とアクチンフィラメント、核とカドヘリンの二重染色を行う。これらを行うことで今回の実験結果をより確実性の高いものにしていきたい。

## 6 参考文献

- 1) プラナリアから見る死の仕組み平成 28 年度  
仙台三高
- 2) Jason Pellettieri, Patrick Fitzgerald,  
Shigeki Watanabe, Joel Mancuso, Douglas R.  
Green, Alejandro Sanchez Alvarad : Cell death  
and tissue remodeling in planarian  
regeneration *Developmental Biology* (2010)
- 3) 阿形 清和 : 切っても切ってもプラナリ  
ア, pp44, 岩波書店(2009)
- 4) 原島 広至 : プラナリアの再生・走性・消化の  
実験, *生物の科学 遺伝・別冊実験単*, pp174, エヌ・  
ティー・エス(2015)
- 5) Takeshi Inoue, Taiga Yamashita, Kiyokazu  
Agata : Thermosensory signaling by TRPM is  
processed by brain serotonergic neurons to  
produce planarian thermotaxis -*The Journal  
of Neuroscience*(2014)
- 6) 沼田 朋大, 香西 大輔, 高橋 重成, 加藤 賢  
太, 瓜生 幸継, 山本 伸一郎, 金子 雄, 眞本  
達生, 森 泰生 : TRP チャネルの構造と多様な機  
能(2009)-*生化学* 第 81 巻 第 11 号
- 7) 辻本 賀英 : 細胞死・アポトーシス集中マスタ  
ー 羊土社(2006)
- 8) プラナリアのストレス受容と個体崩壊の関係  
平成 30 年度 仙台三高 乙供真澄他
- 9) <https://oitamedakabiyori.com/contents/post-317.html>
- 10) [http://sandy.cocologizu.com/photos/uncat  
egorized/2011/10/13/20111013puranaria.jpg](http://sandy.cocologizu.com/photos/uncategorized/2011/10/13/20111013puranaria.jpg)
- 11) NEW PHOTO GRAPHIC 生物図説 秀文堂
- 12) プラナリアの生と死の堺 平成 29 年度 仙  
台三高 芦立 美春他

