

アメリカザリガニのセルロース消化

宮城県仙台第三高等学校 理数科11班

沼、川などの自然環境から、側溝のような劣悪な環境にもその姿を表すアメリカザリガニ。私達は彼らが持つ強力な生存力の要因になるものを調べ、彼らの食性に注目した。資料によれば、彼らは水草を食べるそうだ。そ

こで私達は、彼らがどのように植物を消化しているのか調べることにした。彼らは細菌と共生し、細菌にセルロースの分解を担ってもらうことで自身の栄養としている。参考文献によれば、ザリガニも同様に細菌を利用してセルロースを分解している。また、消化のために細菌を利用しているものの、自身がセルロースを分解できないわけではなく、セルロース分解酵素のセルラーゼを自身で生成している可能性があるそうだ。これらの情報から私達は仮説および実験計画をたてた。研究する仮説は二つ、アメリカザリガニが前述した特徴を持っているかどうか、持っているとするならば細菌が分泌するセルラーゼと、ザリガニ自身が分泌するセルラーゼのどちらの働きが大きいのか、である。この二つの仮説の検証では、セルラーゼ活性を利用することで結果を導くことに決定した。実験の結果、胃と中腸腺からセルラーゼが分泌されていることがわかった。また実験の結果にばらつきがあったため2つ目の仮説はうまく結果が出なかった。これらの結果をふまえ、より正確な測定方法を用いて再実験したい。

1 背景

現在、日本では外来生物による捕食や生態系への影響により様々な在来生物が減少している。アメリカザリガニもその外来生物の1種である。そこで私たちはアメリカザリガニの生態を知ることでアメリカザリガニの駆除に繋がり、多くの在来生物を保全することが可能になると考えた。アメリカザリガニは雑食であり水草を食べていることが知られている。さらにザリガニの消化器官には、セルラーゼを分泌している細菌が共生していることがわかっている。またザリガニの中腸腺のマイクロソーム画分により中腸腺からセルラーゼが分泌している可能性があることがわかっている。そしてレッドクロウ(*Cherax quadricarinatus*)という種のザリガニは胃からセルラーゼを分泌していることがわかっている。これらのことからアメリカザリガニはセルラーゼを胃や中腸腺から分泌されているのではないかと考えた。そこで私たちはこれらのことを明らかにし、セルラーゼが分泌されていた場合、細菌由来のものと胃と中腸腺由来のものどちらがセルロースの消化により大きな影響を与えているのか測定することを目的に研究を行った。

2・1 予備実験

実験1 目的: アメリカザリガニの内臓に存在するセルラーゼ分泌細菌に抗生物質が有効であるか。

アメリカザリガニを2グループ(A群、B群)に分け、A群は水道水10Lで飼育し、B群は水道水10Lに抗生物質(グリーンFゴールド顆粒、ニトロフラゾン、スルファメジンナトリウム)0.25gを混ぜた水溶液で飼育する。5日後に両群を解剖し、胃と中腸腺を取り出す。そして胃と中腸腺の内容物をCMC(カルボキシメチルセルロース)を混ぜた寒天培地に塗布し培養する。管理条件は恒温器に入れ、低酸素状態で23°C程度を保つ。これらの条件の下、2週観察し培地の変化を観察する。以上をまとめると4パターン



図1 中腸腺培地

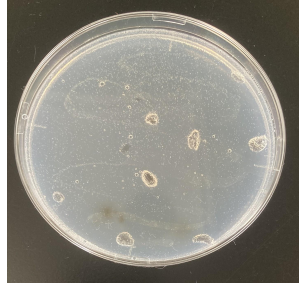


図2 胃培地

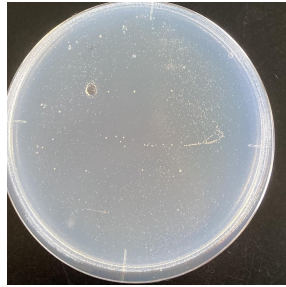


図3 殺菌中腸腺培地

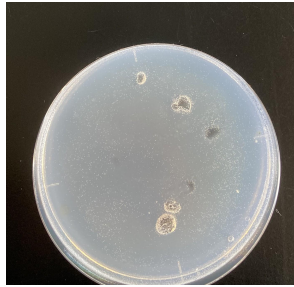


図4 殺菌胃培地

2・1 結果

A群の内臓を使った培地から細菌のコロニーが確認され(図1、2)、B群の内臓を使った培地からはほとんどコロニーが確認されなかった。(図4、5)

2・2 予備実験

実験2 目的:CMC溶液にセルラーゼを加えるとどんな反応が起きるか。

2.5%CMC溶液50mlに1%セルラーゼ溶液を数滴垂らして攪拌し、変化を確認する。

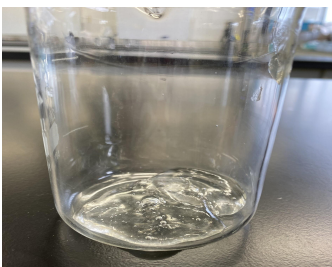


図5 CMC溶液

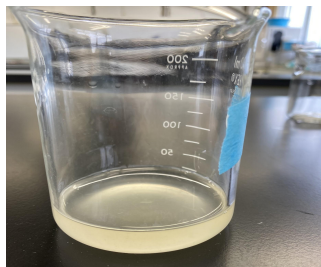


図6 セルラーゼ入CMC溶液

2・2 結果

図5図6のようにセルラーゼ溶液を添加することでCMC溶液の粘度は変化することがわかった。

2・3 考察

アメリカザリガニの胃と中腸腺にはセルロースを餌にする細菌、すなわちセルラーゼを分泌する細菌が存在することがわかった。また抗生物質はアメリカザリガニの胃と中腸腺に存在する細菌に対して有効であるとわかった

3・1 実験

実験1 目的:アメリカザリガニの内臓からセルラーゼが分泌されているのか。

2・1予備実験で行ったようにアメリカザリガニを殺菌させ、そのアメリカザリガニから胃と中腸腺を摘出し、それぞれの濃度0.1%の水溶液10mLと水10mLを濃度2.5%のセルロース水溶液50mLに90秒間混ぜる。その後、図7の装置を用いてそれぞれの水溶液の落下時間を測定した。

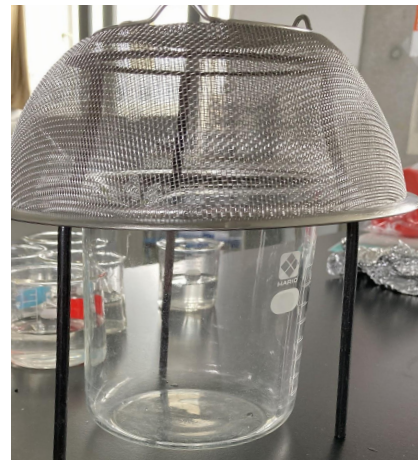


図7 粘度測定装置

3・1 結果

秒	1回	2回	平均
A	297	317	307
B	165	200	182
C	132	114	123

A: セルロースと蒸留水

B: 殺菌した胃とセルロース

C: 殺菌した中腸腺とセルロース

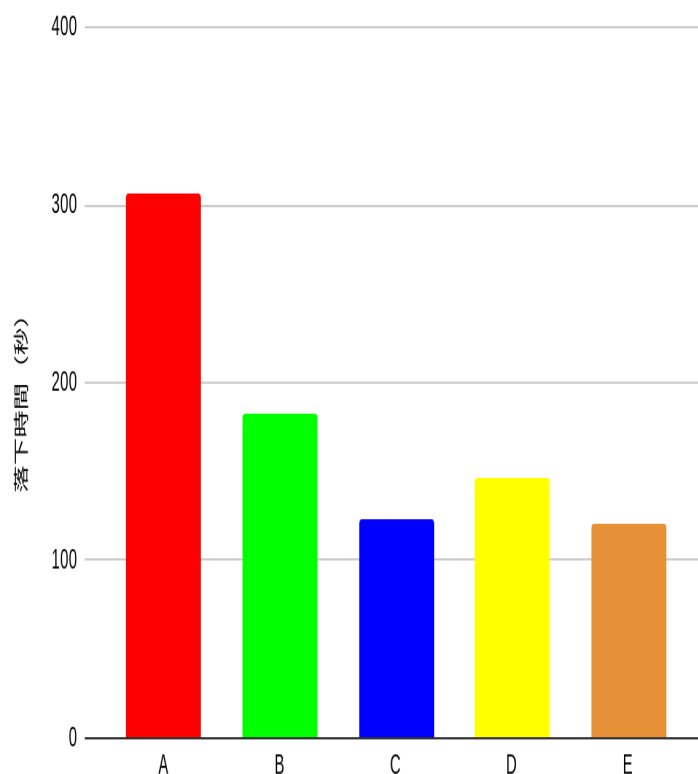
3・2 実験

実験2 目的:アメリカザリガニの胃と中腸腺由来のセルラーゼと細菌由来のセルラーゼのどちらがよりセルラーゼ活性しているのか。

殺菌していないアメリカザリガニの胃と中腸腺を抽出し、3・1実験と同様の濃度の水溶液を作成し、粘度を測定し、3・1実験の結果と比べた。

3・2 結果

秒	1回目	平均
D胃	147	147
E中腸腺	120	120



A: セルロースと蒸留水

B: 殺菌した胃とセルロース

C: 殺菌した中腸腺とセルロース

D: 胃とセルロース

E: 中腸腺とセルロース

4 考察・展望

3.1実験よりアメリカザリガニは胃と中腸腺の両方からセルラーゼを分泌していることがわかった。本来、セルラーゼは細菌や真菌などの微生物が持っている酵素である。また一般にセルラーゼを分泌できる生物は、細菌の他にシロアリがいる。シロアリは水平伝播によりセルラーゼを分泌する遺伝子を得た⁴⁾

。このことからアメリカザリガニを含むザリガニは進化の過程で遺伝子の水平伝播が起こり、セルラーゼを発現するDNAを他の生物から獲得した可能性がある。今後は他の種類のザリガニでもセルラーゼが分泌されているのか確かめていきたい。またザリガニの筋肉からDNAを取り出し、

PCR 法を用いてセルラーゼの塩基配列が存在するか調べたい。

3.2実験より胃と中腸腺由来のセルラーゼと細菌由来のセルラーゼのセルラーゼ活性にあまり大きな差異が確認できなかった。原因として殺菌が不十分であったこと、殺菌後も細菌由来のセルラーゼが中腸腺に残っていたこと、これらが可能性として考えられる。

今後はさらに試行回数を増やしたり、粘度計を用いたりしてより正確なデータを収集していきたい。

<参考文献>

1) 動物のセルラーゼ-カタツムリ、シロアリなどの共生説への批判- 今日の話題 - J-Stage 横江靖郎

2) ATP処理によるザリガニ中腸腺ミクロソーム画分からのセルラーゼ活性の遊離, Sci Pap Coll Gen Educ Uni (Scientific Papers of the College of General Education, University of Tokyo) 第15号 P95~98 安増郁夫,横江靖郎 1965年 発行

3) Structure and function of a cellulase gene in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*.
Gene. Allison C Crawford 2004.

4) シロアリ共生系をモデルとした真核生物への遺伝子の水平伝播に関する進化学的研究
守屋繁春 2006年