プラナリアの個体崩壊の過程と原因

宮城県仙台第三高等学校　11班

プラナリアは高い再生能力を持つ原始生物として知られている。しかしプラナリアは高温ストレス下や、わさびの辛味成分であるAITC溶液内にいると個体崩壊を起こす。そこで、プラナリアの個体崩壊の過程と原因を細胞レベルで明らかにすることを目的とし、唐辛子の辛味成分であるカプサイシンを用いた実験を行い、AITCの結果と比較をした。その結果、個体崩壊は起きなかった。また、個体崩壊したプラナリアは輪郭が不明瞭になる。そこで、アクチンフィラメントを染色する蛍光試薬を用いた観察を行った。その結果、プラナリアはAITCの影響で細胞が離れることにより個体崩壊すると推測できた。

1　背景

先行研究から熱、わさびの刺激(アリルイソチオシアネート)を与えることにより個体崩壊が起こることがわかった。熱による個体崩壊は約40度の水に入れて個体崩壊を観察し、個体崩壊が見られた。わさびの刺激(アリルイソチオシアネート)による個体崩壊から個体崩壊における定義としてプラナリアの体が再生不可能な個体の崩壊をすること。つまり、プラナリアの細胞の輪郭が不明瞭になることを定義にすると先行研究により定めた。また、この研究にするにあたってわさびの刺激(アリルイソチオシアネート)による実験の試行回数が少なかったため私達の班がこの研究に携わり、解明しようとした。この実験では、細胞どうしの遊離を確認するために細胞どうしをつなぐカドヘリンを染色して細胞の遊離具合を観察していくと考えていた。だが、カドヘリンを染色する溶液が非常に高価なためカドヘリンによる実験は断念した。そのことから、カドヘリンではなく細胞骨格であるアクチンフィラメントを染色して個体崩壊が起きたことを観察していくことにした。

また、わさびの刺激(アリルイソチオシアネート)であるAITCだけでなく、他の刺激を受け取る受容体で個体崩壊が起きるのではないかということも実験に取り入れようと考えた。

そのことから、わさびの刺激を受け取るのはTRPA1チャネルであると確認できている。このTRPA1チャネルが個体崩壊を引き起こす鍵となっているのではないかと考えた。TRPA1チャネルは冷たくて痛いと感じる温度であると調べて確認できた。今回の実験では熱く、痛いと感じる温度をプラナリアの個体に与えて個体に起こる変化を確認して対比の構造を観察しようと考えた。

個体崩壊したプラナリア

Fig.1　プラナリアの個体崩壊の定義

私達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にした。(図1)

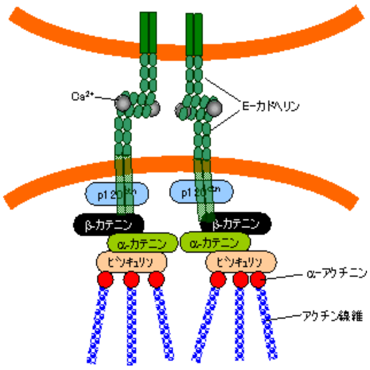


図1　細胞接着の模式図

２　材料と方法

材料

・プラナリア
・アリルイソチオシアネート（AITC）
・カプサイシン
・ファロイジン（アクチンフィラメントを染色する溶液）
・ホルマリン（プラナリアの動きの固定）
・グリセリン（プラナリアの脱色）
・DMSO（AITCの溶媒）
・蛍光顕微鏡

AITC溶液の作り方

ビーカーにAITCを0.1mmolとDMSOを0.25ml入れる。その後、純水をビーカー内の合計が50mlになるまで入れる。

実験方法

①プラナリアにAITCを加える
①'プラナリアにカプサイシンを加える
②ホルマリンで20分固定する
③グリセリンで20分脱色する
④ファロイジンで5分染色する
⑤蛍光顕微鏡で観察する

＊実験1は①、②、⑤
＊実験2は①～⑤
＊実験3は①'、②、⑤

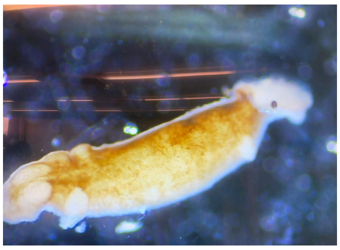
３　結果と考察

実験1

プラナリアにAITCを加える実験

①

②



③

④

①がAITCを加えてから10分後、②がAITCを加えてから15分後、③がAITCを加えてから20分後、④を加えてから25分後。

結果

AITCを加えてから10分後に個体崩壊が見られた。また、その後時間が経つに連れてプラナリアの輪郭が不明瞭になっているのがわかる。

考察

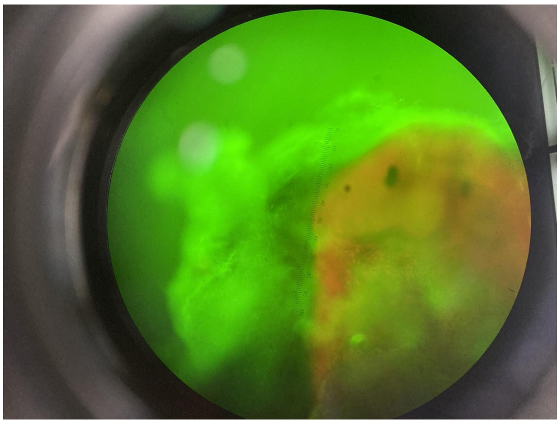
プラナリアの個体から白いモヤの部分が確認できることから細胞の遊離が起こったことが考えられる。

AITCが作用し、細胞が遊離するには10分程度必要だと考えられる。

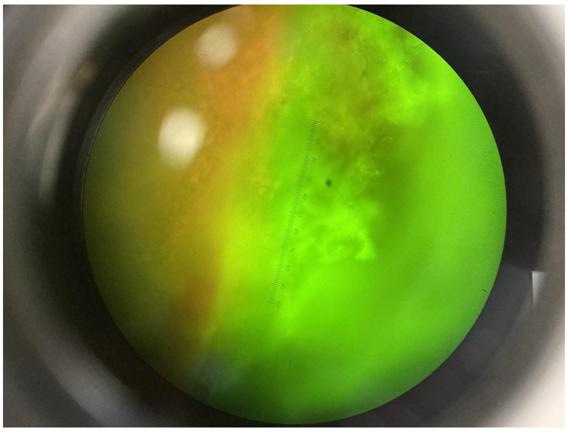
実験2

プラナリアにAITCとファロイジンを加える実験

①



②



①がプラナリアにアクチンフィラメントを加えた画像

②が①の拡大図

結果

オレンジ色の部分がプラナリアの個体となっており、その個体から緑色のモヤが遊離していることが確認できる。ファロイジンはアクチンフィラメントを緑色に染色するため、この遊離した緑色のモヤはアクチンフィラメントを含んでいる細胞が遊離していることが予想できる。

考察

緑色のモヤが離れていることから、少なくともアクチンフィラメントを含む細胞が遊離しており、組織が崩壊している可能性が示唆された。

実験1, 2よりわさびの刺激によるAITCを与えると細胞が遊離し、個体崩壊が起きたことが観察できた。このことから他の刺激成分(辛味成分)を与えたときの反応を調べることにした。

実験3

プラナリアにカプサイシンを加える実験

①

②

③

④

①がカプサイシンを入れた直後の写真
②がカプサイシンを入れて5分後
③がカプサイシンを入れて10分後
④がカプサイシンを入れて15分後

結果

　カプサイシンはAITCと比べて個体崩壊があまり起こらなかった。
また、体の中心部から出てきた白い部分はプラナリアの口であると確認できた。

考察

　カプサイシンを受け取る受容体は個体崩壊を導かないと考えられる。
　このことからプラナリアはTRPA1チャネルに作用されやすいと考えられる。

参考文献

H29「プラナリアから見るストレス応答の仕組み」
https://drive.google.com/file/d/1GgMBfMTOoIe63jKKqN-nPaBJNlMNLJxr/view

H30「プラナリアのストレス受容と個体崩壊の関係」

https://classroom.google.com/c/NDk0MDc1NzMxMTAz/m/NTA1NzcxNjk0MTU5/details

R1「プラナリアの個体崩壊の過程」

http://www.sc.fukuoka-u.ac.jp/~bc1/Biochem/adhmol.ht