

LED を用いた細胞性粘菌の走光性

清水 公平 中上 元太 森崎 亘
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

走光性は地球上の様々な生物に見られる性質の1つである。粘菌も走光性を持っていると言われている。また、細胞性粘菌はその生活環の特殊さから生物の細胞の分化のモデルとして多くの研究に用いられている。

我々は、その細胞性粘菌の走光性についての先行研究を見つけ、光源の色の波長に注目した。先行研究では、光源の色をセロファンによって変えることで走光性の変化の観察を行っていた。しかし、セロファンでは光の波長の幅が広いので、特定の色の波長とはいえないと考えられる。そこで、より特定の色の波長に近いLEDを用いてこの観察を行うことにした。その結果、色によって正の走光性と負の走光性を示すものを見つけた。

1. はじめに

1.1. 研究の動機と目的

細胞性粘菌は、単細胞期と多細胞期を持っており、その2つの時期を繰り返す生物である。(図1)

先行研究では走光性は波長に依存せずどの色でも正の走光性を示す結果が出ていたが、我々は本当に光の色の違いで走光性に違いが出ないのかと疑問を持った。

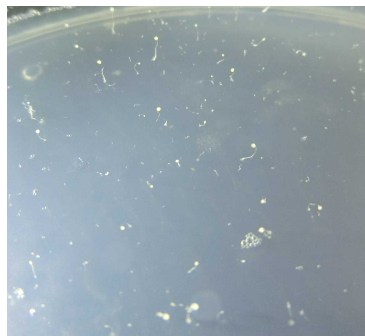


図1 細胞性粘菌
ほこりのように見えるのが子実体。

我々の本実験での目的は、細胞性粘菌の走光性が光の波長に依存しているかを調べることである。

1.2. 細胞性粘菌の生活環

単細胞期は、アメーバのような状態で行動する。大きさは、約55μmである。アメーバ期にはバクテリアなどの微生物を捕食する。

多細胞期には、次の3つの時期に分類される。

①集合体期

集合体とは、アメーバ期の単細胞がたくさん集まってできたものだ。捕食する対象がいなくなると、アメーバは走化性で1つの場所に集合し、集合体となる。

②移動体期

移動体は、集合体が走光性によって動く時期の名称である。

③子実体期

移動体は最適な場所を見つけると、高さ2mmほどの柄細胞と呼ばれる細胞と、土台の細胞に分化し、柄細胞の先端から胞子が放出され、その胞子がアメーバ状態の個体なり、再び成長する。

細胞性粘菌は、この順番を繰り返して生活する。(図2)

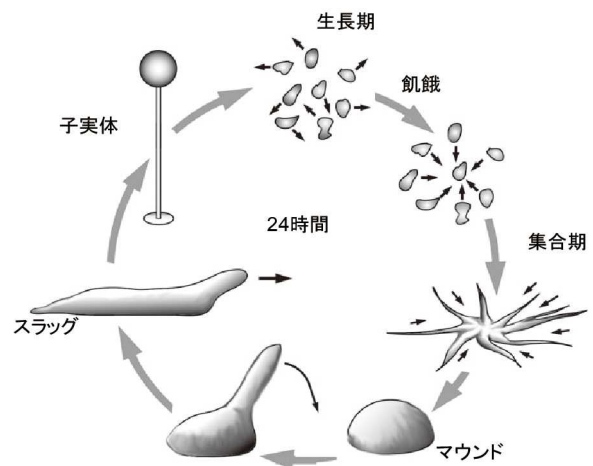


図2 細胞性粘菌の生活環^[2]

アメーバのような状態の単細胞期が、飢餓になると1つに集まり集合期となり、それが移動体を経て子実体を形成する。子実体の先端から胞子が放出し、また単細胞期になって生活する。アメーバ状態から子実体形成まで2~4日要する。

2. LEDとセロファンの波長測定

2.1. 仮説

LEDは単一波長の光を出す。白色光をセロファンに通すと幅が広い波長の光が出る。

2.2. 方法

LED とセロファンスペクトル測定を行うことで、LED とセロファンの光の波長の幅の違いを調べた。今回測定したLEDは11色(表1)で、セロファンは、赤、黄、緑、青の4色を測定した。測定はLab Junior SV2100 (K-MAC 社の分光器) を用いた。LEDは発光モード、セロファンは吸収モードで測定した。

※ 発光モードは、自身が発光する試料を用いて各波長の光の強度を測定するモード。吸収モードは、試料から透過した付属の光の強度を測定するモード。

表1 使用したLEDのカタログ記載の値

色【型番】	波長 (nm)
赤【OS5RKA5111P】	619-629
緑【OSG58A5111A】	520-530
黄緑【EPY5608S】	570
青【OSB56A5111A】	465-475
青緑【OSBG5111A】	505
橙【OS60GA5111A】	606-616
黄【OS5YKA5111P】	585-595
桃【OSK54K5111A】	表記なし
紫(紫外線)【OSSV5111A】	400-410
赤外線【OSI3CA5111A】	850
赤外線【OSI5FU5111C-40】	940

2.3. 結果

セロファンと比べると、LEDのほうが波長の幅が狭いということが分かった(図3、図4)が、LEDの紫、桃の2色では、ピークが2つ現れ、単一波長とはいえないため、今回の研究では除くことにした。

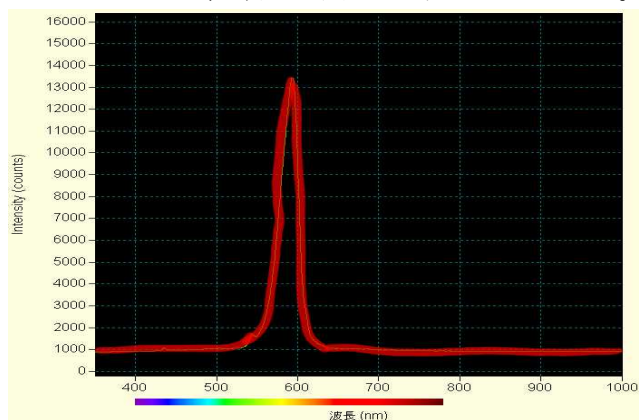


図3 LED黄の波長

縦軸は光の強度を表している。横軸は計測する光の波長を表す。550~600 nmあたりにピークがでており、他では全く出ていない。

3. 走光性の実験

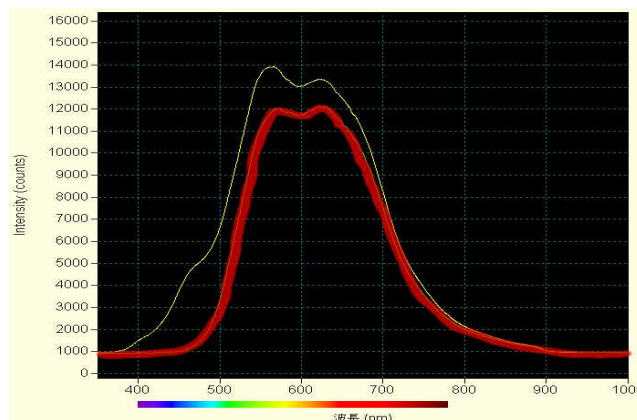


図4 セロファン黄の波長(赤の線)

470~850 nmまで波長の光が出ている。

図3と比べて幅が広いことが分かる。

3.1. 仮説

波長の違う光を当てても、白色光と同様に走光性を示すであろう。しかし、粘菌に当たる波長によって移動の速さや増殖の数に変化がおこるのではないか。また、粘菌が正の走光性ではなく負の走光性を示すような波長があるのではないか。その場合、細胞性粘菌の走光性によるふるまいは、波長に依存しているということになる。

3.2. 実験方法

①粘菌の接種位置や子実体の位置が分かるように目印になる紙をつくった。(図5)

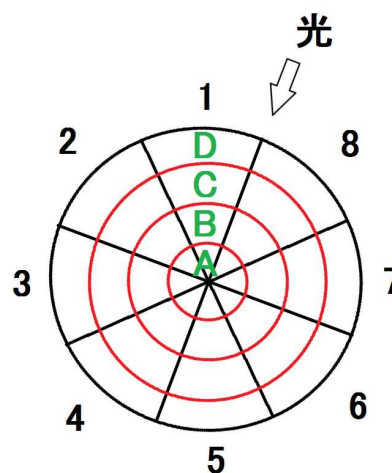


図5 シャーレの側面に貼る紙

まず、円形の紙を45度ずつ分けし、分けられた範囲に1から8まで番号をつける。また、中心から差が半径1cmずつの同心円を書き、内側から順にA、B、C、Dとする。このような紙をシャーレの底面に貼り付ける。

②無栄養寒天培地(表2)に接種した細胞性粘菌(キイロタマホコリカビ *Dictyostelium discoideum*) を低温インキュベーターの中で、22 °Cで培養した。

餌としてエンテロバクター菌 (*Enterobacter Aerogenes*)を37 °Cで液体培地 (表3) に培養した。

表2 無栄養寒天培地の組成(シャーレ一枚あたり)

イオン交換水	20 mL
粉末寒天	0.4 g

表3 液体培地の組成

ブドウ糖	5 g
ポリペプトン	5 g
酵母エキス	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
KH ₂ PO ₄	7.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
イオン交換水	500 mL

③無栄養寒天培地をつくり、エンテロバクター菌懸濁液、滅菌水をそれぞれ10 μL入れ培地全体に広げ、その後粘菌を培地の中央に接種した。

④黒画用紙にきりで直径3 mmの穴をあけ、①で作った紙の1と8の間の線から光が入るようにシャーレの側面に黒画用紙を貼り付ける。その他の側面に、乾燥防止のためにビニールテープを巻き、光が入らないようにシャーレ全体をアルミ箔で覆った。

④LEDまたはセロファンを通した3.8Vの豆電球とともに、遮光した段ボール箱の中に入れる。(図6)



図6 LED 橙とシャーレを入れた段ボール隙間をアルミ箔で覆うことで遮光している。

⑤その段ボールを22°Cに設定した低温インキュベーターの中に2週間入れて培養する。

⑥1から8、AからDのそれぞれの範囲にある粘菌の子実体の個数を数える。

※ ③で、粘菌は餌となるエンテロバクター菌を入れるだけで増殖可能であり、万一雑菌が混入した場合でも増殖を防ぐ為に、今回の実験では無栄養寒天培地を用いた。

※ ⑥で、細胞性粘菌は移動体期に動き、子実体となる。子実体の現れた場所を観察することで、移動体期にどこへ移動したかが分かる。

4. 結果

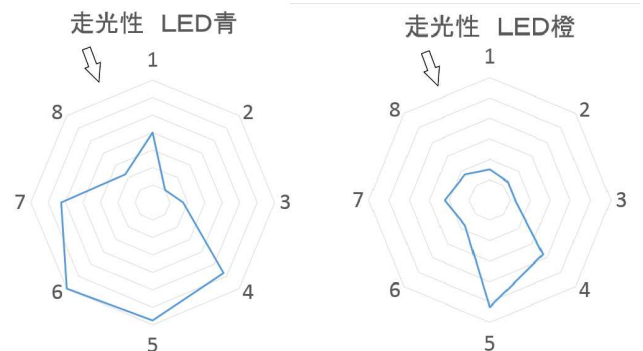
①1~8を見ると、LED 青、橙、セロファン青、セロファン赤、セロファン黄は負の走光性、セロファン緑だけは正の走光性が出ている。(表4、図7) 特にセロファン緑とLED 青ははっきりと走性が出ているが、他の4色は光に対してまっすぐ増えずに横に広がっているのがわかる。

表4 子実体の個数

色	前半分	後ろ半分	走光性
LED 青	50	85	-
LED 橙	27	48	-
セロファン赤	67	83	-
セロファン黄	24	25	-
セロファン青	24	89	-
セロファン緑	24	5	+

※ 前半分は、1, 2, 7, 8 後ろ半分は3, 4, 5, 6の区間を表す。

※ 走光性の+は正、-は負である。正の走光性は光に近づく、負の走光性は光から遠ざかることを指す。



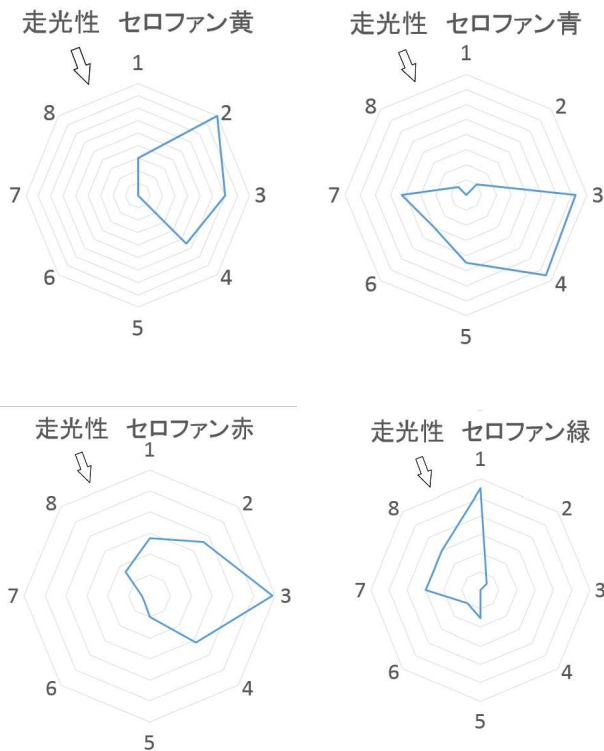


図7 粘菌の走光性の違い
矢印は光の入ってくる方向を示している。
1, 2, 7, 8の区間に寄っていれば正の走光性、逆に3, 4, 5, 6の区間ならば負の走光性といえる。

②ABCDを見ると、6色すべて外側に広がっている。このことにより粘菌が移動していることがわかる(図8)。

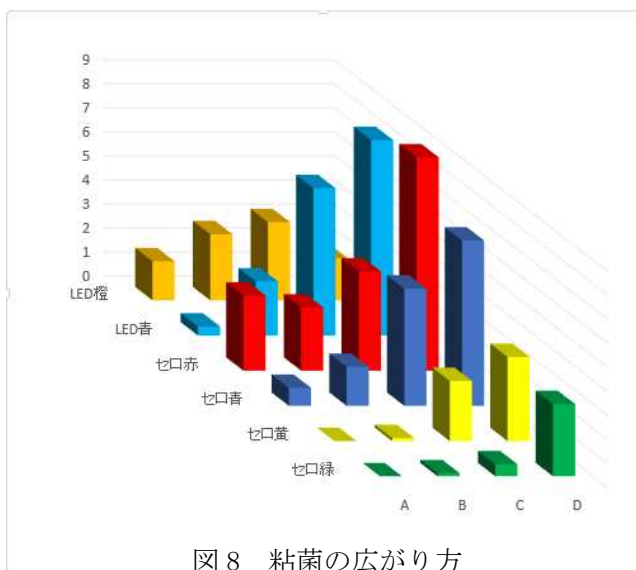


図8 粘菌の広がり方
縦軸は子実体の個数を表している。
橙以外はA~Dになるにつれて子実体の個数が増えている。

5. 考察

①の結果より、正と負の走光性がそれぞれ出たと言うことは、粘菌には好みの波長があるのではないかと考えられる。今回の実験では、セロファン緑のみで正の走光性が表れたので、好みの波長の中に緑が含まれている可能性がある。改めてLEDの緑で確かめる必要がある。

②の結果より、LED橙以外の5色は外側になるにつれて子実体の個数が多くなっていったのに対し、LED橙はD区間の子実体の個数はCの区間よりも少なくなっており、LED橙は粘菌の移動速度が遅いと考えられる。

6. 今後の展望

今回は、LEDを2色しか実験できなかったため、他の9色のLEDを使ってより深く走光性について調べていきたい。

粘菌を安定して培養することは成功したが、粘菌が増えるまでの時間がかかりかかるので、短時間でも走光性がでないか調べる。

7. 謝辞

本研究を進めるにあたり、様々なアドバイスをくださった方々、御指導・サポートしてくださった本校のSAおよび教員の先生方に深く御礼申し上げます。

8. 参考文献・参考URL

- [1] 高橋和成, 身近な細胞性粘菌を利用した教材の開発, 平成12年度(第32回)東レ理科教育賞受賞作(2000) www.toray.co.jp/tsf/rika/pdf/h12_05.pdf
- [2] 「細胞性粘菌について」 http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/ueda/dicty.html
- [3] 「細胞性粘菌の培養」 <http://cosmos.bot.kyoto-u.ac.jp/csm/methods/culture.html>
- [4] 「野外サンプルからの細胞性粘菌の分離」 <http://cosmos.bot.kyoto-u.ac.jp/csm/methods/isolation.html>
- [5] 「生きもの 細胞性粘菌 キイロタマホコリカビ SK-25」 http://www.kyotokagaku.jp/appli2/contents.php?action_record&code=22394-000

URLは、平成28年1月26日現在