

クリプトビオシスの利用

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科2年

ネムリユスリカ(*Polypedilum vanderplanki*)は、昆虫の中で唯一、乾燥した環境に置かれたときに、クリプトビオシスと呼ばれる無代謝状態になることができる。

今回は同じユスリカ科に属する昆虫を用いて、「本来は復活しないと考えられている、ネムリユスリカ以外のユスリカ類も、人為的にクリプトビオシスに近い状態にすることができないか」ということを目的として実験を行った。

1. はじめに

1. 1. 動機と目的

私は、クマムシに興味を持ち、クマムシの能力であるクリプトビオシスという状態について詳しく調べていくうちに、ネムリユスリカの存在を知った。

ネムリユスリカは、クリプトビオシスを行うことのできる最大の生物で、唯一の昆虫である。ネムリユスリカ以外のユスリカでは、近縁種であっても、クリプトビオシスを行えないとされている。

これを聞き、本来は行えないとされているほかのユスリカ類でも、人為的にクリプトビオシスに近い状態を作り出すことができないかと考え、本実験を開始した。

今回は、クリプトビオシスに関連していると考えられているトレハロースに着目した。

1. 2. ネムリユスリカについて

ネムリユスリカは、アフリカの半乾燥地帯に生息する昆虫であり、幼虫は岩のくぼみの水たまりなどに住んでいる。アフリカの半乾燥地帯では、雨季と乾季に分かれており、何か月もの間、雨が降らないこともある。ネムリユスリカの幼虫は、この厳しい環境を、クリプトビオシスを使って生き延びている。この状態のユスリカは、20℃という高温下から、-270℃という低温下でまで生存できる。また、乾燥状態にした状態での17年の休眠から蘇生した例も確認されている。

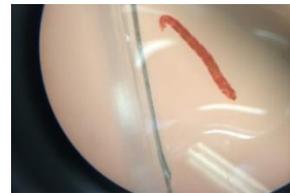


図1 ネムリユスリカ

1. 3. クリプトビオシスについて

クリプトビオシスとは、一部の生物だけが行うことができる無代謝状態、つまり、エネルギーや物質の出入りを停止した状態である。

クリプトビオシスになる際に、体内の水分のほとんどを排出し、体内で大量に生成したトレハロースを水分と置き換えることで、細胞を保護し、厳しい環境に対する耐性を得ることができる。トレハロースは高濃度になるとガラス化という現象を起こす。ガラス化したトレハロースがカプセルのように細胞を包み込み、細胞の変成を防いでいると考えられている。乾燥に2日間以上かけることで、すべてのネムリユスリカがクリプトビオシス状態になり、復活することができる。

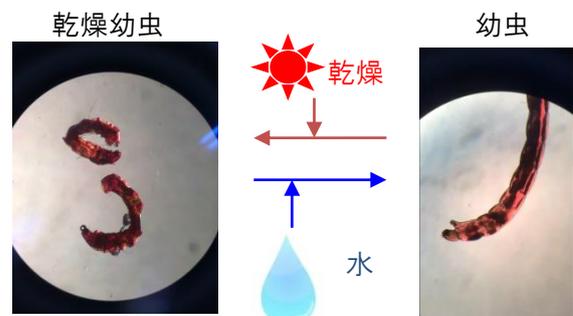


図2 ネムリユスリカのクリプトビオシスの仕組み

1. 4. トレハロースについて

トレハロースとは、2つのグルコースが結合してできた二糖類である。自然界の多くの動植物や微生物中にあり、動物ではエビや昆虫類に含まれている。体内に大量に存在しても無害であり、体内での合成や分解が比較的簡単にできる。高濃度になるとガラス化という現象を起こし、成分中の分子の運動が極端に安定な固体状態になる。

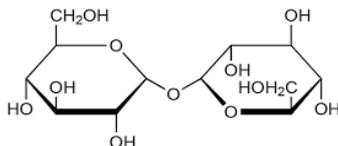


図3 トレハロース構造式

2. 本実験の概要

ネムリユスリカと同じユスリカ類のアカムシユスリカ (*Tokunagayusurika akamusii*)、セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*)を、トレハロース水溶液につけた状態で完全に乾燥させたのちに、水を加え、復活したかどうかを確認した。

乾燥にかかる時間を2日間以上と設定した。水を加えたのちに2時間観察し、さらに、完全に死んだと判断できる状態になるまで、1日おきに観察した。

3. 仮説

他のユスリカ類は、極限環境下(今回は乾燥環境下)であっても、トレハロースを急激に大量に生成する能力がないため、クリプトビオシスを行うことができない。

そのため、体外からトレハロースを作用させることで、人為的にクリプトビオシスに近い状態を作り出せるのではないかと考えた。

4. 実験条件の設定

・トレハロースは最低でも水10gに対してユスリカ1個体につき40×(ネムリユスリカに対するユスリカの体積の比)(μg)を使用した。この値を基準値とした。これは、ネムリユスリカがクリプトビオシスを行う際に1個体が必要とするトレハロース量40 μg を参考にした。

アカムシユスリカ25個体の基準値を0.02mg、セスジユスリカ25個体の基準値を0.01mgとした。

- ・本来ネムリユスリカは、1時間程度で復活するが、今回使用するユスリカは体積が大きいうえ、本来は復活しない個体のため、時間設定を2時間とし、さらにその後ユスリカが確実に死んだと判断できる、真っ黒や緑色の状態になるまで1日おきに観察した。
- ・復活したかどうかは、ユスリカの体の動きを目視で確認して判断した。

5. 予備実験

5. 1. 予備実験①

予備実験1

1. シャーレに水を入れ、デシケーター、冷蔵庫、脱気器(Linicon Lv140)の3つの手段を用いて、2日間かけて乾燥させた。
2. 乾燥前と乾燥後で減少した水の量から、3つの手法の乾燥速度を調べ、それに基づいて乾燥に2日間以上かけるためにはじめに加える必要がある水の量を決定した。

予備実験2

1. シャーレに水、ユスリカ、トレハロースを入れ、2日間かけて乾燥させた。
2. 乾燥させたのち、水を加えた。その後2時間以上かけ、復活したか判断した後ユスリカが確実に死んだと判断できる状態になるまで1日おきに観察した。

※乾燥したかどうかは、目視で確認した。

※セスジユスリカ、アカムシユスリカ、ネムリユスリカを使用して行った。

ネムリユスリカでは、

①の条件をデシケーター、冷蔵庫、脱気器で、

セスジユスリカでは、

①、②、④の条件を冷蔵庫で、

アカムシユスリカでは、

①、②、④の条件を冷蔵庫で実験を行った。



図4 冷蔵庫乾燥時の様子



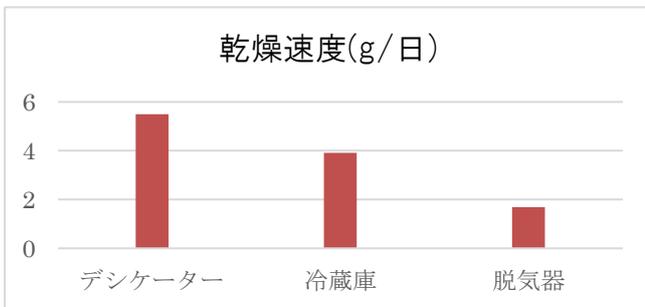
図5 シャーレの様子

予備実験3

1. ユスリカをシャーレに入れ、完全に乾燥させた。
2. 乾燥前と乾燥後のユスリカの質量を比較し、体内の水分の割合を調べた。

5. 2. 予備実験①結果・考察

予備実験1



デシケーターは乾燥の際に毎回シリカゲルを乾燥する必要があり、脱気器は乾燥に時間がかかってしまうという欠点があるため、本実験では基本的に冷蔵庫を用いるものとした。

予備実験2

	ネムリユスリカ
デシケーター	4個体/8個体
冷蔵庫	0個体/35個体
脱気器	0個体/12個体

	セスジユスリカ	アカムシユスリカ
①	0個体/25個体	0個体/25個体
②	0個体/25個体	0個体/25個体
④	0個体/25個体	3個体/25個体

冷蔵庫、脱気器では、ネムリユスリカは、クリプトビオシスになる前の状態では環境耐性が高くないため、クリプトビオシス状態になる前に死んでしまったと考えられた。

セスジユスリカとアカムシユスリカの実験について、この2種の間でアカムシユスリカのほうに優位な結果が見られ、セスジユスリカは高価なうえに、入手にも時間がかかり、今後実験を続けるにあたって不便だと考え、本実験ではアカムシユスリカを使うこととした。

また、上部の予備実験1で測定した結果から、最も乾燥速度が速かったデシケーターが、2日間で乾燥できる水の量を基準として投入した。

予備実験3

	乾燥前	乾燥後	減少率
アカムシユスリカ	0.78g	0.13g	83.33%

よって、アカムシユスリカの体内の水分の割合は、83.33%である。

5. 3. 予備実験②

予備実験4

予備実験2の結果より、冷蔵庫での乾燥中に乾燥以外の要因で死ぬことを考え、アカムシユスリカの場合①の水を20gにし、水が完全に乾燥する前に取り出し、観察した。

5. 4. 予備実験②結果・考察

予備実験4

3日後;1個体死亡した。

結果より、アカムシユスリカはネムリユスリカよりも通常状態での冷却への耐性が高いと考えられる。

また、冷蔵庫での乾燥の際にはこの実験と同様に死ぬものとし、死ぬ個体を考慮して実験結果から復活率を計算した。

6. 本実験

6. 1. 実験方法

実験1

1. シャーレにユスリカ, トレハロース水溶液を入れ, 2日間以上かけて乾燥させた。
2. 乾燥させたのち, 水を加えた。その後2時間以上かけ, 復活したか判断した後ユスリカが確実に死んだと判断できる状態になるまで1日おきに観察した。

※乾燥したかどうかは, ユスリカの体内の水分を考慮したうえで, 乾燥前と乾燥後の重量を比較して判断した。

※シャーレ内に入れるものは, 以下の条件に基づいたトレハロース水溶液10g, ユスリカと, とした。

- ①. トレハロース基準値0倍
- ②. トレハロース基準値1倍
- ③. トレハロース基準値2倍
- ④. トレハロース基準値4倍
- ⑤. トレハロース基準値8倍

実験2

1. 水にトレハロースを4.70g溶かして飽和水溶液(液温0℃)にし, 溶液とユスリカをシャーレに入れ, 冷蔵庫とデシケーターの2つの手法を用いて乾燥させた。
2. 乾燥させたのちに水を加えて実験1と同じように観察した。

6. 2. 結果

実験1

	アカムシユスリカ
①	0個体/35個体
②	0個体/75個体
③	0個体/100個体
④	0個体/75個体
⑤	0個体/75個体

実験2

	アカムシユスリカ
冷蔵庫	0個体/25個体
デシケーター	0個体/10個体

トレハロースが, ガラス化する前に析出した。

7. 結論と展望

本実験では復活した個体が現れなかったが, 予備実験の個体で復活が起こったことから, 乾燥への耐性を向上させる可能性がある, と考えられる。

今後は復活した条件での実験を繰り返し, より多くのデータを取りたいと思う。

8. 謝辞

本研究を進めるにあたり, 監督, 教示して下さった本校教諭片山貴夫先生, ご意見をいただきました大阪市立大学の後藤伸介教授, 東京大学大学院の黄川田隆洋教授, 後藤伸介教授をご紹介いただきました大阪大学の志賀向子教授に, 厚く御礼申し上げます。

[参考文献・参考 URL]

1. Sleeping Chironomid*ネムリユスリカって?*
<http://www.naro.affrc.go.jp/archive/nias/anhydrobiosis/Sleeping%20Chironimid/about-yusurika.html>
2. ネムリユスリカの極限的な乾燥耐性とトレハロース
奥田隆
http://www.netsu.org/j+/Jour_J/pdf/33/33-1-04.pdf
3. ネムリユスリカの極限的な乾燥耐性のしくみ なぜ干からびても死なないのか 十亀陽一郎、黄川田隆洋
https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/54/4/54_248/_pdf/-char/ja