

プラナリア～記憶物質の分布と正体の探究～

大西 汀紗 河本 玲

1. 要約・概要

プラナリアの記憶について調べるために、プラナリアに条件反射を成立させ、その条件反射が再び成立するまでの日数が短縮されれば、記憶が存在すると判断することにした。実験の内容としては、条件反射を成立させたプラナリアを①そのまま放置、②頭部・腹部・尾部にほぼ同じ大きさに切断し再生させる、③RNA分解酵素で処理して、他のプラナリアに食べさせるという方法で、再び条件反射が成立するまでの日数を調べた。①の結果より、条件反射が再び成立するまでに要する日数が短縮されたので、プラナリアには記憶が存在すると結論づけた。そして、その記憶に関わる物質を記憶物質と仮定した。さらに②の結果より、条件反射が再び成立するまでに要する日数は、切断した各部分で同じであったので記憶物質は全身に均等に分布していると結論づけた。また、切断片の大きさが小さくなるほど条件反射が再び成立するまでに要する日数は増加した。この結果から、切断によって体内の記憶物質の量が減少するが、再び条件付けをして、ある一定の量に達したときに条件反射が成立すると推測した。③の結果より、記憶物質の正体は、RNAの可能性はあるのではないかと考察した。しかし、本当にRNAが分解されたかは確認できておらず、RNA以外の物質も分解されてしまっている可能性もある。よって、今後の課題はプラナリアの体内のRNAのみを確実に分解する方法を探求することだ。

2. 問題提起・研究目的

プラナリアとは扁形動物門ウズムシ綱動物の総称で、淡水・海水及び湿度の高い陸上に生息している。再生能力が動物の中で特に優れており、100個の断片に切ると100匹のプラナリアに再生したという逸話があるほどだ。私たちは、切っても、切っても生き続けるプラナリアの生態の中で特に記憶について興味を持ったので、『プラナリアの記憶について調べよう』というテーマの下に実験を進めていくことにした。

プラナリア

- ・体長 約1cm
- ・腹面中央に咽頭があり、消化管は体内に前後に伸びている
- ・脊髄のないかご状神経系をもつ
- ・有性生殖と無性生殖ができる
- ・目は杯状眼でありレンズはないが、光を感じることはできる
- ・脳を持つ生物として最も原始的である
- ・再生の際は、各部から残りの部分が正しい方向で再生させる“極性”が存在する

プラナリアの採集

プラナリアの生息場所の環境などを知るために2012年9月にプラナリアの採取に行った。

<場所>

香川県 香東川中流（二級河川）

<準備物>

バッド、容器、スポイト、温度計、スコップ、軍手、ビニール手袋、筆、プラスチックケース



- ・水温23℃で水の流れはあまりない
- ・51匹のプラナリアの採取に成功した
(アメリカナミウズムシ46匹・ナミウズムシ5匹)

先行研究

マコーネル（アメリカ 1950～1960年代）

泳いでいるプラナリアに光を浴びせ電気刺激を与えると、プラナリアは電気刺激により縮む。これを何度か繰り返すと、光を浴びただけでプラナリアが収縮するようになり、プラナリアに学習が成立することを示した。また、訓練したプラナリアを未訓練のプラナリアに与えると記憶が他方へ移ることを証明した。

コーニック（アメリカ）

RNA分解酵素により、プラナリアの記憶が消失することを明らかにした。

3. 研究方法 4. 結果 5. 考察

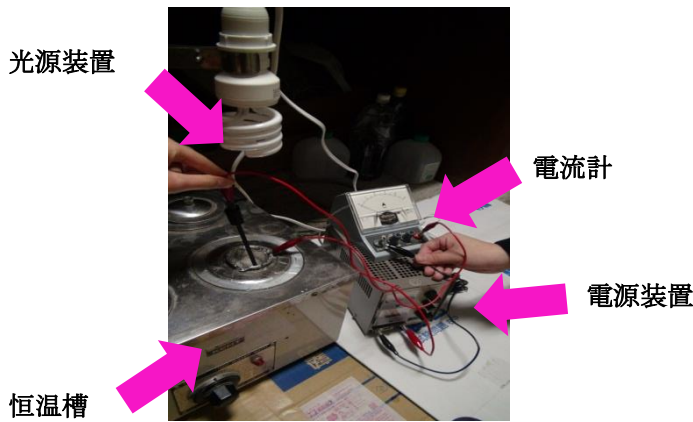
記憶の有無を調べるために、プラナリアが条件反射を記憶するかどうか注目した。

<準備物>

電球型蛍光灯ランプ 恒温槽 CARRY COOL 電流計 電源装置 炭素棒
 ビーカー 食塩水 ストップウォッチ わにロクリップ 温度計 延長コード 針金
 スイッチ付きコンセントアダプタ 赤外線ビデオカメラ

※夏には水温を下げるために CARRY COOL を、冬には水温を上げるために恒温槽を使った。

<実験の様子>

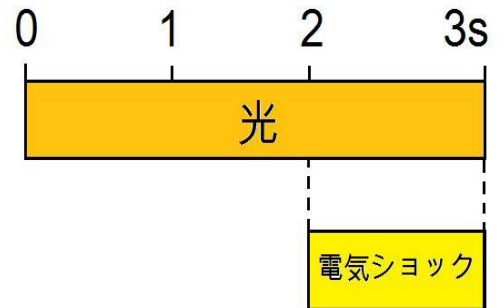


恒温槽にビーカーを入れ、電流計と電源装置に繋ぐ。ビーカーの上には光源を置く。ビーカーには電流を流すために、食塩水と炭素棒を入れた。また、実験は暗室で行った。

暗闇でもプラナリアの動きを確認するため赤外線ビデオカメラを使用し動画を撮影した。

※

条件反射を成立させる方法として、プラナリアの性質に注目した。プラナリアは、光に対して退行性がある。また、電気刺激を与えると縮む。その性質を用いて、0秒目から光を3秒間、2秒目から電気刺激を1秒間与える。光照射と電気刺激を30秒に一度、一日に30回プラナリアに与え、光が当たると電流が流れるということを学習させる。光があたった際に体を縮めると条件反射が成立したとみなすことにした。つまり、条件反射の成立していないプラナリアは2秒目で縮むが、条件反射の成立したプラナリアは0秒目で縮むことになる。この方法を用いて実験を進めた。



<食塩水の準備>

(準備物)

食塩 精密てんびん 三角フラスコ 汲み置き水

(作り方)

- ① 精密てんびんで食塩 0.1 g を測り取る。
- ② 三角フラスコに少量の汲み置き水を入れ測りとった食塩を加える。
- ③ 三角フラスコに汲み置き水を 200 ml の標線まで加える。
- ④ よく混ぜる。

※汲み置き水は、水道水をバケツに汲み1週間放置したものを使用した。

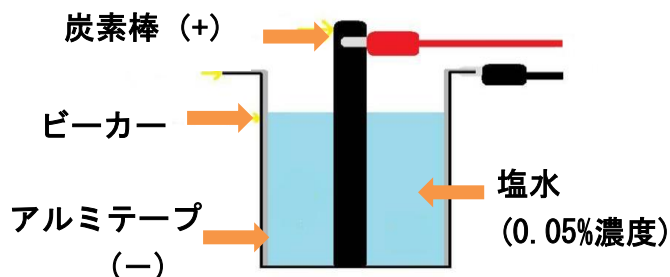
<ビーカーの準備>

(準備物)

ビーカー アルミテープ 修正ペン

(作り方)

- ① ビーカーの内側にアルミテープを隙間なく貼る。
 - ② ビーカーの底に外側から修正ペンで隙間なく塗る。
- ※実験中にプラナリアの居場所を目視で確認しやすくするため。



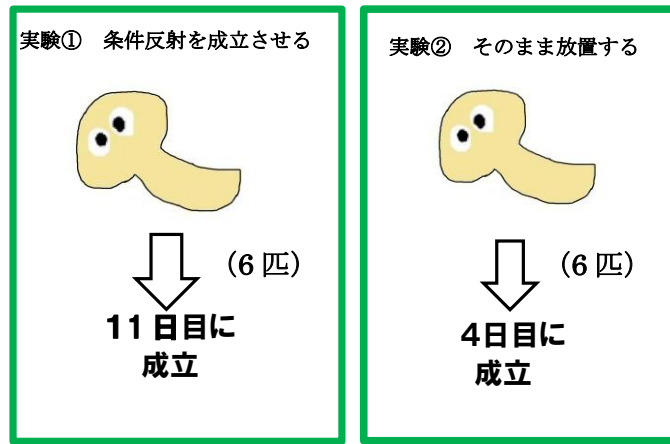
実験 I 【成立した条件反射は記憶されるのか】

(方法) ① プラナリアに光照射と電気刺激を与え条件反射を成立させる。

② 再生に必要な10日間放置し、再び条件反射が成立するまでの日数を調べる。

(仮説) 成立した条件反射は記憶される。

(結果) 初めてプラナリアに条件反射が成立したのは、11日目だった。条件反射が成立したプラナリアを10日間放置すると、4日目に再び条件反射が成立した。2つの結果を比較してみると①より②のほうが、日数が減少していることが分かる。



(考察) なにもしていないプラナリアに条件反射を成立させるより、1度条件反射が成立したプラナリアのほうが条件反射成立までにかかる日数が減少しているため成立した条件反射は記憶されている。よって、成立した条件反射が記憶されたことにより、プラナリアには記憶が存在することが分かった。そこで、プラナリアの記憶に関わる物質を記憶物質と名付け、プラナリアには記憶物質が存在すると仮定した。

全体の仮説

プラナリアは切断するとそれぞれ別の個体として生存するので、記憶物質は全身に分布しているのではないかと考えた。またコーニックの研究を参考に、記憶物質はRNAであると仮定して実験を進めていくことにした。

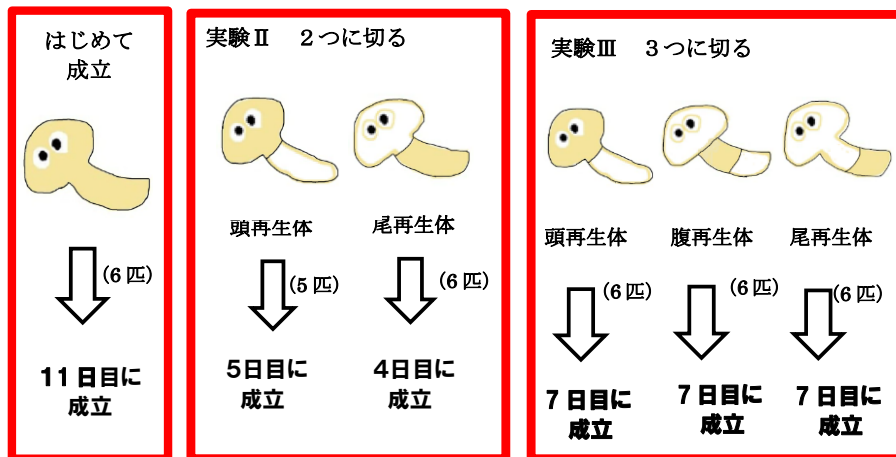
実験Ⅱ・Ⅲ 【記憶物質はどのように分布するのか】

(方法) 実験Ⅱ 実験Ⅰ-①のプラナリアを頭部と尾部に切断して再生させ、再び条件反射が成立するまでの日数を調べる。

実験Ⅲ 実験Ⅰ-①のプラナリアを頭部・腹部・尾部に切断して再生させ、再び条件反射が成立するまでの日数を調べる。

(仮説) プラナリアは切断するとそれぞれ別の個体として再生するので、記憶物質は全身に分布している。

(結果) 実験Ⅱは初めて条件反射が成立したのは11日目だった。また、再び条件反射が成立したのは、頭部では5日目、尾部では4日目だった。実験Ⅲでも、初めてプラナリアに条件反射が成立したのは、11日目だった。また、再び条件反射が成立したのは頭部、腹部、尾部ともに7日目だった。



(考察) 実験Ⅱでは頭部・尾部がほとんど同じ日数で、実験Ⅲでは頭部・腹部・尾部が同じ日数で再び条件反射成立したことより、記憶物質は全身に均等に分布していると考えた。また、実験ⅡとⅢを比較してみるとより小さく切断したほうが条件反射成立までにかかる日数が増加していることから、1つ1つの断片に含まれる記憶物質が減少したのではないかと考えた。

予備実験1 【RNA分解酵素がプラナリアに及ぼす影響について】

(方法) RNA分解酵素を $10\mu\text{g/ml}$ に希釈する(これをRNA分解酵素溶液とする)。プラナリアをRNA分解酵素溶液の中に入れ、25分間 37°C で培養する。対照実験として汲み置き水を使った。









RNA分解酵素として、リボヌクレアーゼA溶液を利用した。

[リボヌクレアーゼA溶液(=RNA分解酵素溶液)]

一本鎖RNAを分解し、 $3'$ リン酸基を含むモノヌクレオチドあるいはオリゴヌクレオチドを生じる反応を触媒する酵素

(組成) 10mg/ml Ribonuclease A
 10mM Tris-HCl (pH7.6)
 15mM NaCl
 50(v/v)%Glycerol

(結果) 10分後では、汲み置き水のプラナリアには変化はなかったが、RNA分解酵素のプラナリアは激しく動くなど異常な動きをみせた。25分後には、汲み置き水のプラナリアは伸びたまま動かなくなったが、生きていた。RNA分解酵素のプラナリアは丸まったまま動かなくなったが、こちらも生きていた。1日後では、どちらも生きていたが、2日後にはどちらも死んでいた。

時間	汲み置き水 (2匹)	RNA 分解酵素 (3匹)
10分後	 変化なし	 激しく動く 丸まる
25分後	 伸びたまま 動かないが 生きている	 丸まって 動かないが 生きている
1日後	 生きている	 動かないが 生きている
2日後	 死んで しまった	 死んで しまった

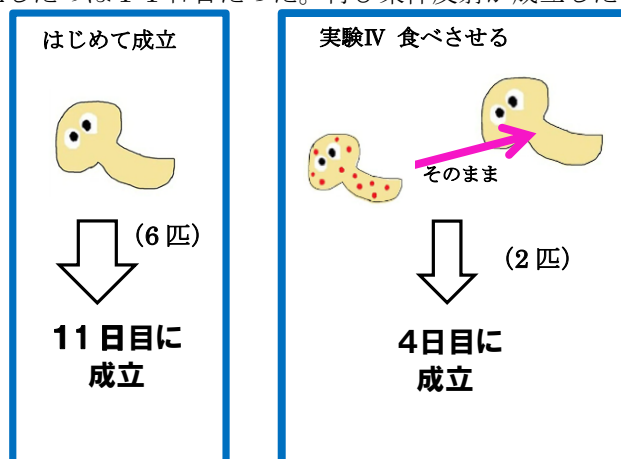
(考察) 汲み置き水のプラナリアも死んだことから、RNA分解酵素の働く37℃ではプラナリアは生きていけないことが分かった。条件反射の成立したプラナリアを条件反射の成立していない別のプラナリアに食べさせるという方法をとることにした。

予備実験2 【プラナリアの記憶は移転するか】

(方法) 実験I-①のプラナリアを別のプラナリアに食べさせ、再び条件反射が成立するまでの日数を調べる。

(仮説) プラナリアは消化せずに吸収するので、記憶は移転する。

(結果) 初めて条件反射が成立したのは11日目だった。再び条件反射が成立したのは4日目だった。



(考察) 条件反射が成立した固体を別のプラナリアに食べさせると、実験I-①に比べ条件反射が成立するまでにかかる日数が減少していることより記憶が移転したと考えられる。この方法を用いてRNAに関する実験を進めていくことにした。

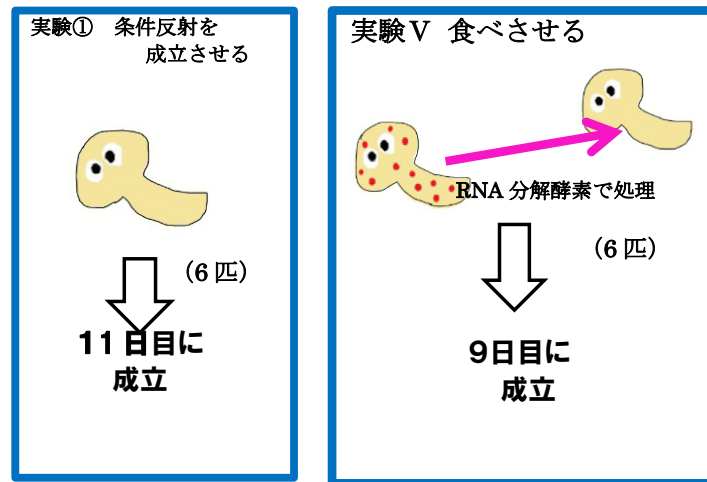
実験Ⅳ 【記憶物質の正体は何であるか】

(方法) 実験Ⅰ－①の条件反射が成立したプラナリアを RNA 分解酵素で処理し、条件反射の成立していない別のプラナリアに食べさせ、再び条件反射が成立するまでの日数を調べる。

(RNA 分解酵素…リボヌクレアーゼ A 溶液を利用)

(仮説) プラナリアの記憶物質の正体は RNA である(コーニックの研究を参考に)。

(結果) 初めて条件反射が成立したのは 11 日目だった。再び条件反射が成立したのは 9 日目だった。



(考察) 予備実験 2 よりも条件反射が成立するまでにかかる日数が増加していることから、RNA 分解酵素によって記憶物質は分解されたと考えた。しかし RNA が本当に分解されたかは確認できておらず、また RNA 以外の物質も分解されている可能性も否めない。

6. 結論

プラナリアには、記憶物質が全身に均等に存在しているのではないかと考えた。そして、条件反射は、その記憶物質がある一定量に達したときに成立すると考えられる。条件反射が成立したプラナリアを頭・腹・尾に切断し、再生させたもの、条件反射の成立したプラナリアを別のプラナリアに食べさせたもの、どちら条件反射成立までにかかる日数が大幅に減少していることから、その減少分が記憶として移転したのではないかと考えられる。そして、その記憶物質は RNA であると推測したが、RNA 分解酵素により RNA のみが分解されたかは確認できておらず、RNA 以外の物質が分解されている可能性もある。よって、記憶物質の正体ははっきりとはわからないが、私たちが利用した RNA 分解酵素を用いて、37℃で25分間処理すれば分解されるものではないか。しかし、文献を調査したところ、プラナリアの記憶物質は RNA のほかにタンパク質である可能性もあるようだ。

7. 参考文献

- ・切っても切ってもプラナリア (岩波書店)

8. 謝辞

担当の林先生、研究内容についてアドバイスしてくださった先輩方ありがとうございました。そして、さまざまなアドバイスやご指導をくださった多くの先生方に心から感謝しています。本当にありがとうございました。