

プラナリアに条件反射を確実に成立させる方法 The method that makes planarian learn conditioned response

都留 羅那 吉田 那由
Rana Tsuru, Nayu Yoshida

1. 要約概要

電気ショックと光照射による条件反射をより確実に成立させる方法の研究を行った。体長 10mm 程度のナミウズムシに 6V、7mA の電流を、30 周期、最低 11 日間以上、体軸に平行で一方向に流すことで、この条件反射が成立しやすくなることが示唆された。

2. プラナリアとは

扁形動物門の三岐腸目に分類されている。再生能力が非常に高く、餌を食べなくても自分の体の一部を栄養として利用できる。

3. 研究動機

プラナリアの驚異的な再生能力や学習能力に興味を持ったため。また、高松第一高校の先輩が条件反射の成立したプラナリアを、未成立のプラナリアが食べることにより、条件反射成立までの時間が短くなるという結果があり、本当にそれが起こるのか確かめてみたいと思ったから。

4. 先行研究

- ・プラナリアを、6V、1日に30周期、11日間、電気刺激と光を同時に当て続けると条件反射が成立する。ビーカーの内側にアルミテープを貼って一極にし、ビーカーの中心に炭素棒を立て、+極として使用していた。
- ・プラナリアには電気刺激に対し電流と垂直の向きだと反応を示しにくいのにに対して、平行の向きだと反応を示しやすい(図1)。

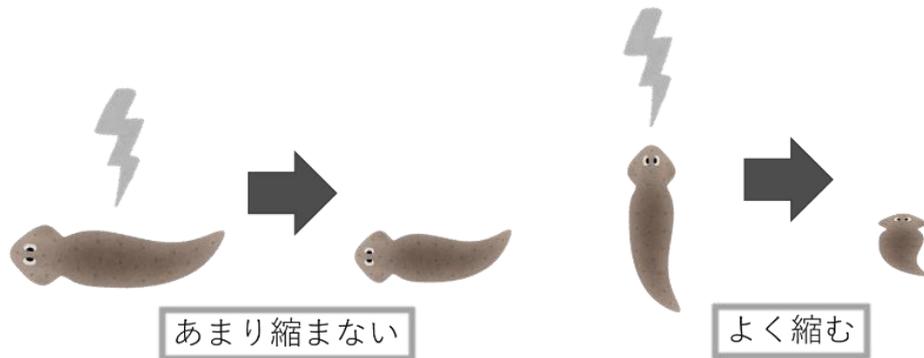


図1 電流の向きに対するプラナリアの縮み方

- ・共食いすることによって記憶が引き継がれることから、プラナリアは全身に記憶物質が散在していると思われる(図2)。

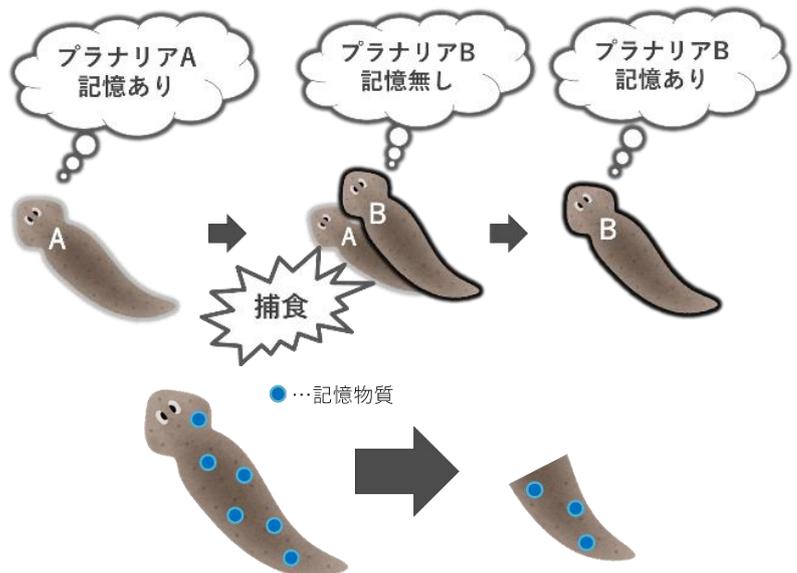


図2 プラナリアの記憶について

5. 研究目的

プラナリアに光照射と同時に電気ショックを与え続けると条件反射が成立し、光照射だけで縮むようになることが知られている。私たちは条件反射が成立したプラナリアを未成立の個体が食べた場合、食べた量の違いによって、条件反射成立までの時間はどう変化するかを確かめようと考えた(図 3)。追実験を行ったが、条件反射を成立させることが困難だと分かり、研究目的を条件反射成立のための方法を確立することに変更した。

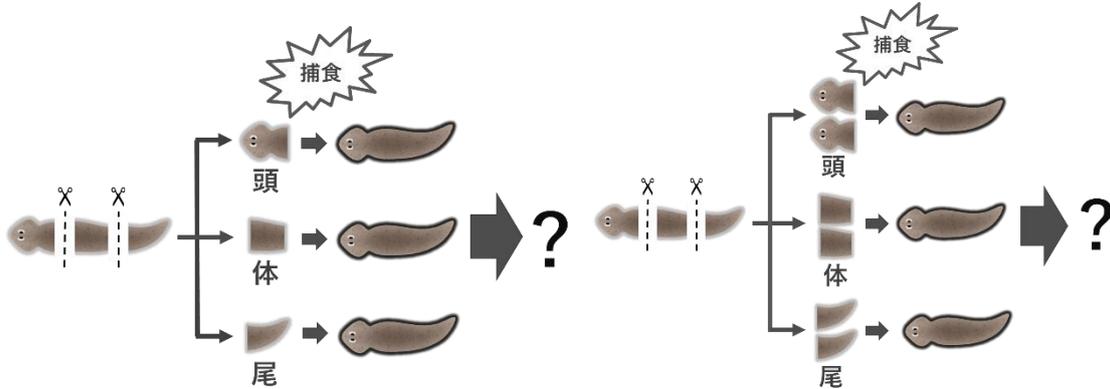


図 3 捕食実験の予定図

6. プラナリアの入手場所

H29 5 月 香川県高松市の香東川(図 4)にて 21 匹のプラナリアを採集した(図 5)。



図 4 香東川にて採集



図 5 採集されたプラナリア

H29 11 月 5 月に行った採集場所が埋め立てられていた。
上流まで行ってみたがプラナリアはほとんどいなかった。

H29 12 月 Amazon でナミウズムシを増子水景さんから購入した(図 6)。



図 6 購入したナミウズムシ

7. 実験方法

<準備物>

プラナリア、LED ライト、電源装置、ストップウォッチ、ワニロクリップ、食塩水
電流計、電圧計、温度計、恒温器(温度を保つため)

[実験 A] ガラスシャーレ(直径 9cm の円)、アルミテープ、分銅(銅製)

[実験 B] 炭素棒(長さ 7.5cm、直径約 6mm)、プラスチックシャーレ(横 8.5cm、縦 5.5cm の長方形)

<方法>

プラナリアは電気ショックを与えると縮む。光の照射だけでは縮まない。

光の照射と電気ショックを同時に与え続けると学習し、光の照射だけで縮むようになる条件反射が現れる。その性質を利用し実験を行った（図 7）。

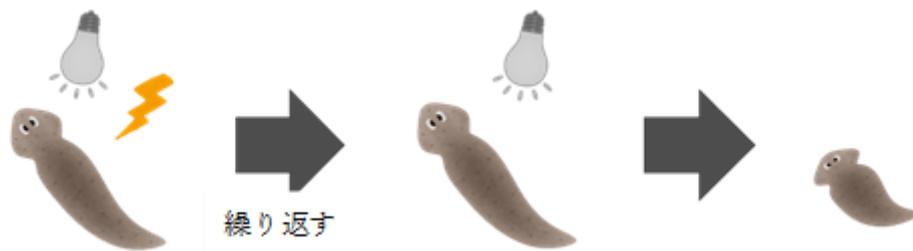


図 7 実験方法

LED ライトを用いて光照射を行った。0 秒から 3 秒の間光を照射する。その内、2 秒から 3 秒の間電気を流した。その後 30 秒インターバルをおいた(この組み合わせをこれ以降、周期と呼ぶ)。そして再び光の照射と電気ショックを行った(図 8)。

1 日 1 回実験を行った(例...電圧 6V、インターバル 30 秒、周期 30 回を 1 回とする)。実験は毎日行えないときもあったが、2 日以上実験を行わない日はなかった。

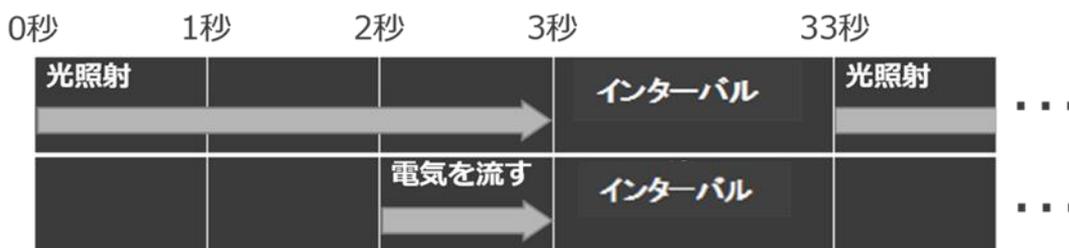


図 8 実験の周期について

〔実験 A〕

ガラスシャーレ(内側の壁にアルミテープを貼ったもの)の中心に銅製の分銅を置き、電流を流した。(＋極が Cu、－極が Al)電解質として 0.05%と 0.1%の食塩水を用いた(図 9)。

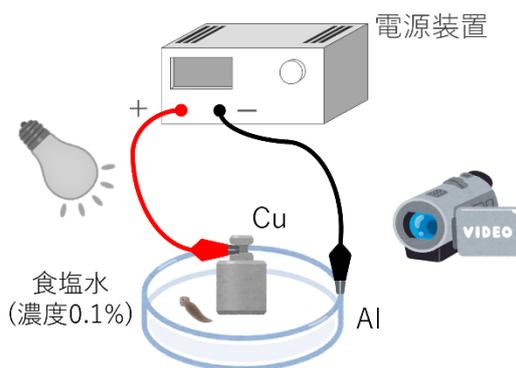


図 9 実験 A

〔実験 B〕

プラスチックケースの側面に穴を開け、炭素棒を取り付け接着剤で固定した。電源装置につなぎ、電流を流した。電解質として 0.1%の食塩水を用いた。シャーレから LED ライトまでの距離は 32cm で、光量は 3,130Lux であった(図 10)。

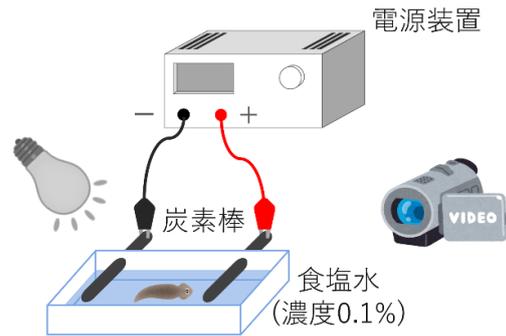


図 10 実験 B

8. 実験結果

[実験 A]

実験 No.	個体の大きさ (mm)	実験数 (匹)	電圧 (V)	電流 (mA)	周期 (回)	インターバル (秒)	日数 (日)	電流を流す方向	様子
I	5	1	7	—	60	30	2	不定	弱り, 継続不能
II	5	1	6	—	70	30	4	不定	弱り, 継続不能
III	10	3	5	—	40	30	14	不定	条件反射未発現
IV	10	20	6	—	30	30	7	不定	条件反射未発現
V	10	3	6	—	30	15	10	不定	条件反射未発現
		3				30			

表 1 実験 A の結果

* 実験 I ~ 実験 III は採集したプラナリアのみ、実験 IV ~ V はそれらと購入したナミウズムシを使用した。

* 実験 I ~ 実験 IV は食塩水 0.05%、実験 V は食塩水 0.1% を使用した。

食塩水の濃度を変更した理由として、プラナリアは流れる電流を大きくすると電気ショックによる収縮反応が大きくなる性質があるので、電流の値を大きくするためである。

* スポイトでプラナリアの体の向きを揃えていたが限界があり、電流に対して垂直になることやシャーレの壁に逃げられることが多かった。

* 電流は安定しなかったため計測できていない。

〈実験 I ~ 実験 II〉

- それぞれ 1 匹ずつ実験を行った。
- とともに頭がなくなり、弱ったため実験を続けることが出来なかった。



図 11 頭が無くなったプラナリア

〈実験 III ~ 実験 V〉

- 実験 III は 1 匹ずつシャーレに入れ計 3 匹、実験 IV は採集したプラナリア 10 匹、ナミウズムシ 10 匹をそれぞれまとめてシャーレに入れて計 20 匹、実験 V はインターバル 15 秒と 30 秒でそれぞれ 3 匹ずつシャーレに入れて計 6 匹、実験を行った。
- 元気ではあったが条件反射は発現しなかった。

[実験 B]

実験 No.	個体の大きさ (mm)	実験数 (匹)	電圧 (V)	電流 (mA)	周期 (回)	インターバル (秒)	日数 (日)	電流を流す方向	様子
VI	10	4	6	7	30	30	13	不定	条件反射未発現
VII	10	4	6	7	30	30	11	体軸に平行	短期記憶成功

表 2 実験 B の結果

*実験VI～VIIはナミウズムシのみを実験に使用した。

*実験VI～VIIは食塩水 0.1%、30ml を使用した。

*ピンセットでプラナリアが傷つかない程度につついて電流と平行になるように実験を行った。実験は真っ暗にして行うと手元が見えず、プラナリアの向きをそろえるのが難しかったため手元の赤色灯ランプをつけて行った。

*電極を炭素棒に変えることで電流を安定させた。

〈実験VI〉

- 2匹ずつシャーレに入れて2回、計4匹で実験を行った。
- 元気ではあったが記憶は発現しなかった。

〈実験VII〉

- 2匹ずつシャーレに入れて2回実験を行うと4匹中1匹が光のみで反応した。残りの3匹に電流と光を同時に与えて、条件反射を思い出させると光のみで反応した。
- 実験を重ねるとプラナリアが電気ショックに対し反応が鈍くなる様子が見られた。
- 実験後、電気ショックと光に疲れたのか、えさを与えても食わず、動かないことが多かったため、光を当てても光のみで反応しているかどうか確認できるときとできないときがあった。
- 5日目には実験中、光のみで反応する個体もいた。実験後は反応を示さなかった。
- 8日目に実験後、光のみで反応を示す個体もいた。
- 実験前は光を当てても11日目まで反応を示す個体が現れることはなかった。
- 条件反射が成立した個体は、1週間後には条件反射が見られなくなった。
- 高松第一高校の先輩が成功していた条件反射の反応は光を当てた瞬間縮んでいたが、私たちの実験では光を当てて少し時間が経ってからゆっくり縮み、条件反射の反応に違いが見られた。

9. 考察

[実験 A]

〈実験 I～II〉 電圧が高い、周期が多い、個体が小さいなどから、プラナリアが体力負けたのではないかと。頭がなくなった原因はスポットで傷つけたのか電気ショックと光によるものなのかわからない。

〈実験 III～V〉 電流を流す方向が体軸に対して垂直や平行になり縮み方が統一されていなかった、もともと記憶しない個体であった、電流の大きさが不安定であった、などが考えられる。

[実験 B]

〈実験VI〉 電流の大きさは安定させたが、電流の流す向きを統一しなかったため、電気ショックによる収縮反応が統一されていなかった。

〈実験VII〉 一番縮み方が大きかった、頭から電流を流すことを統一したため記憶が発現したと考えられる。記憶が1週間後には消えていた理由として、11日間の実験日数では短期記憶は成功するが長期記憶には至らないと考えられる。

10. まとめ

- ・本実験において確認されたことは以下の通りである。
 - ①個体の大きさは 10mm 以上のものを使用する。
 - ②食塩水の濃度は 0.1% で、電圧は 6V、電流は 7mA とする。
 - ③電極は炭素棒を使い、流れる電流の大きさを安定させること。
 - ④電流を流す方向は体軸に対して平行になるようにすること(できれば頭→尾に統一)。
 - ⑤周期は 30 回程度とする。この条件で実験を行った場合、約 2 週間程度で条件反射が成立することが示唆された。
- ・実験に使用したプラナリアは+極側を尾にして流すときと+極側を頭にして流すときで縮み方に違いが生じた。+極側を頭にして電流を流すと縮み方が大きいと感じた。
- ・採集したプラナリアより日本原産のナミウズムシの方は横幅が広く、動きや大きさにおいて実験に使用しやすかった。

11. 参考文献

- 1) 高松第一高校. プラナリア～記憶物質の分布と招待の探求. SSH 課題研究論文集 vol.2. 2013
- 2) 神戸高校. プラナリアの記憶と再生. SSH 課題研究論文集. 2015
- 3) Tal Shomrat, Michael Levin. An automated training paradigm reveals long-term memory in planaria and its persistence through head regeneration. *Journal of Experimental Biology*. 2013
- 4) 阿形清和, 土橋とし子. 切っても切ってもプラナリア (新装版). 岩波書店

12. 謝辞

この実験をするにあたって指導して下さった蓮井先生をはじめ、高松第一高校の先生方ありがとうございました。