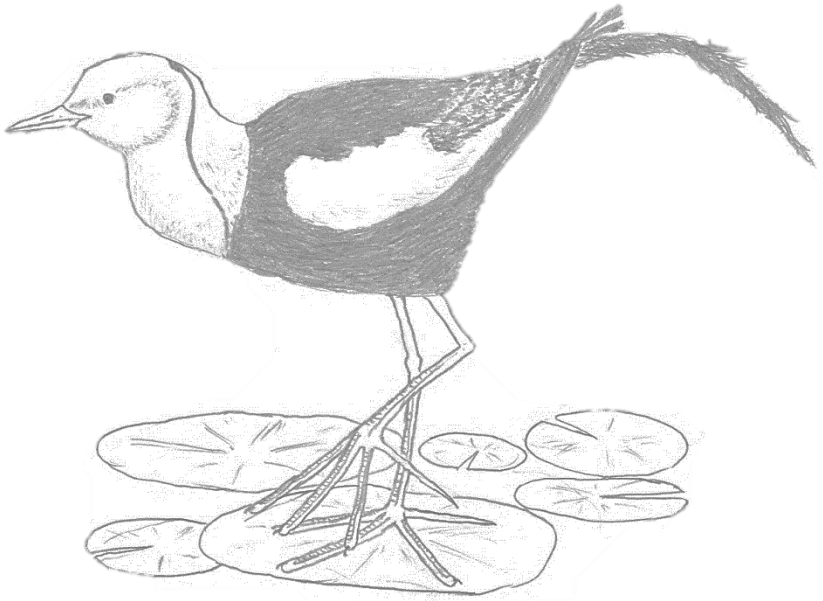
生物研究部部報

通巻第110号　　2022

110

電子版



Nada Biology Research Club

はじめに

―部報第 110 号発刊に際して―

春光麗らかな季節もいつの間にか過ぎ去り、街路樹の緑は日に日にその濃さを増してきました。依然として新型コロナウイルス感染症が猛威を振るう中、第 76 回灘校文化祭にお越しいただきありがとうございます。人数制限はあるものの、昨年に引き続き今年も校内で皆様に弊部の展示をご覧いただくことができ、誠に嬉しく思います。

昨年度を振り返ってみると、文化祭は実施できたものの、感染症拡大の影響を受け夏合宿など様々なイベントが中止となってしまい多くの悲しさや悔しさを感じた 1 年でした。しかしその中でも、観測や個人研究などを通して部員が主体的に活動し、多くの成果を上げることができました。特にフィールドでの活動では意欲的な部員が多く活動の幅も広げられたと感じています。また研究活動においても新中学 2 年生を含めた多くの部員が熱心に取り組んでいました。こうした活動を通して大きく成長した部員が今後部を牽引してくれることを非常に頼もしく思います。

この 1 年間僕が心がけてきたことは、これまで積み重ねてきたものをよりよくして次の世代に確実に引き継ぐということです。それを実現するために投網などの技術を継承したり『生研ゼミ』を導入したりすることで、教える側と教わる側の両方にとって活動しやすい環境を作ることができたと思います。灘校生物研究部には、中学生と高校生が同じ場所で活動しているという強みがあります。中学生が高校生の高度な技術や知識を早い段階からじっくりと学ぶことができる環境を活かして、今までの長い歴史を引き継ぎつつ新しいものを取り入れ、部員一丸となってこれからも頑張っていきたいと思います。

最後になりましたが、生物研究部を日頃から支えて下さっている顧問の宮田先生や保護者の皆様、生研 OB、及び弊部の活動にご理解、ご協力を賜りました全ての方々にこの場をお借りして心より感謝を申し上げます。

令和 4 年 5 月 2 日

灘校生物研究部　部誌編集担当　鈴木　海聖

目次

はじめに p.001
目次 p.002
個人研究・自由記事
朽木を掘って昆虫観察 三井康世
森元創心
I.A.
T.K.
ケンサキイカとマガキの比較解剖 大塚優音
グリセリンを用いた魚類液浸標本の作製 N.S.
ツマリカスベの解剖 三井康世
N.S.
匿名希望
チビクワガタの反射についての実験 森元創心
タマネギの根端の細胞分裂の観察 M.H.
アカハライモリの再生における優先部位 O.Y.
丹波篠山ほのぼの採集記とニホンアナグマの解体 O.Y.
H.H.
警報物質に対するキンギョの反応の観察 岡本龍太郎
PCR のすゝめ 佐々木慧
花粉管の観察未遂 荒木仁
合法的トビ方ノススメ 紀ノ岡秀
中野翔太
E.H.
mtk
カフェインが短期記憶に与える影響について S.T.
住吉川水生昆虫観測 2021 鈴木海聖
住吉川、武庫川における魚類観測結果 善明宗一郎
昆虫の擬態について 鶴見柑太
デグーの知能 N.M.
フロンティア軌道論で理解する生化学 越智幸祈郎
頭足類の比較解剖 T.S.
統計による多様性の可視化 N.S.
コラム：血液と血液凝固 N.Y.
コロナ感染記 H.K.

アントシアニン生合成関連酵素遺伝子中トランスポゾンの検出の試み
三田村大凱

校外活動記

日本生物学オリンピック 2020・2021 を軽く振り返る　三田村大凱

おわりに　p.137

朽木を掘って昆虫観察

中学２年　三井　康世
森元　創心
I.A.
T.K.

1．はじめに

昆虫採集、昆虫観察などの言葉を聞くと、多くの人は暑い夏の日に半袖短パンの子供が虫捕り網を振っている風景を想像するかもしれない。しかし、寒くて昆虫などとは無縁に思える冬にも、昆虫を観察することができるのである。我々が朽木を掘って観察できた虫たちを紹介しよう。

2．観察に必要なもの

・スコップ…朽木には硬いものから柔らかいものまであるため、掘る時はスコップを使用する。
・軍手…スコップで手を傷つけないようにはめておく。また、昆虫に噛まれるのを防ぐことができる。
・ピンセット…朽木の中の昆虫を傷つけないように取り出せる。小さな昆虫も扱いやすい。
・透明な収納ケース…見つけた昆虫を観察できる。仕切りがあるため、肉食の昆虫が他の昆虫を捕食するのを防ぐことができる。
・ポケット図鑑…見つけた昆虫の種類をある程度同定できる。

3．観察

六甲山のある地点(標高 71ｍ)において観察を行った。周りには広葉樹の林があって低木やササが生えており、地面には落ち葉が積もっていた。朽木もいくつかあった(写真 1)。

写真 1

4．観察できた昆虫たち

・肉食性のコメツキムシ類の幼虫 4 匹(写真 2)

コメツキムシはコウチュウ目カブトムシ亜目コメツキムシ上科コメツキムシ科に分類される昆虫の総称である。体長は日本産のものでは 1mm から 40mm まで様々であり、日本各地に広く生息している。幼虫の生活場所は地中や朽木の中など、種によって異なる。食性については肉食性の種も植食性の種もおり、植食性の種の中には幼虫が農作物に被害

写真 2

を及ぼすものもある。仰向けになると胸部を使って勢いよく跳ね上がることで知られ、この動きが米をつく時のものに似ていることが和名の由来になっている。今回観察できた幼虫の中には体長 50mm 以上の終齢幼虫がいた。

・コクワガタの幼虫 7 匹(写真 3)

写真 3

コクワガタ(*Dorcus rectus*)はコウチュウ目クワガタムシ科オオクワガタ属コクワガタ亜属の一種で、北海道、本州、四国、九州に広く生息する本土亜種と八丈島、屋久島、三島村、トカラ列島にそれぞれ生息している 4 亜種の計 5 亜種に分類される。体長は、オスは 20mm 前後のものから 55mm のものが、メスは 20mm 弱のものから 30mm のものがある。成虫は樹液を、幼虫は朽木を主食としている。日本で最もよくみられるクワガタムシの 1 つである。

・アオズムカデ(昆虫ではない)2 匹(写真 4)

写真 4

アオズムカデ(*Scolopendra subspinipes japonica*)は、オオムカデ目オオムカデ科に分類されるムカデである。体長は 80~100mm で、本州、四国、九州に生息している。暗い青色の体色と黄色い肢が特徴であり、昆虫を食する肉食性である。また日本産のムカデの中では強い毒を持ち、人を咬むことがあるため注意が必要である。朽木を掘っていると突然出てくることがあるので、採集時の軍手着用は必須である。

・ヤマトデオキノコムシ 1 匹(写真 5)

写真 5

ヤマトデオキノコムシ(*Scaphidium japonium*)はコウチュウ目ハネカクシ科デオキノコムシ亜科に分類される昆虫である。体長は 5~7mm で、北海道、本州、四国、九州の山林に生息している。キノコを食し、素早く動き回る。腹端の 3 節が前翅からはみ出るのが特徴。同じような名前のオオキノコムシという昆虫がいるが、こちらはオオキノコムシ科に分類され、近縁ではない。

・ヒゲジロハサミムシ 3 匹(写真 6)

ヒゲジロハサミムシ(*Anisolabella marginalis*)はハサミムシ目ハサミムシ科ハサミムシ亜科に分類される昆虫である。体長は18~30mm で、本州、四国、九州、沖縄に生息している。小型の昆虫や植物を食する雑食性で、翅を持たないため飛ぶことができない。

写真 6

・ツチバチ類の繭 1 匹(写真 7)

ツチバチはハチ目ツチバチ科ツチバチ亜科に分類される昆虫の総称である。体長は 20mm 前後の種が多く、日本各地の土の中に巣をつくる。成虫は単独で行動し、花の蜜を吸う。幼虫はコガネムシ類の幼虫に寄生する寄生捕食性で、メスは土や朽木を掘ってコガネムシ類の幼虫を探して麻酔し、卵を産み付ける。

写真 7

5. 考察

今回の観察ではコクワガタやコメツキムシ類の幼虫、ハサミムシが多くみられた。付近でいくつか他の朽木を掘ってみてもそのほとんどでハサミムシが多くみられた。一方、コクワガタや肉食性のコメツキムシ類の幼虫は他の朽木を掘っても腐食具合によって出てくるものと出てこないものがあった。これは、ハサミムシは冬をしのぎ産卵するために朽木に入るため、朽木を食べることがなく朽木の腐食具合にあまりこだわらないのに対し、コクワガタの幼虫は朽木を食べて生活するため食べやすい腐食具合の朽木を、肉食性のコメツキムシ類の幼虫は朽木を食べる昆虫を食べて生活するためそれらの昆虫が集まる腐食具合の朽木を、それぞれ選んでいるからだと考えられる。付近の他の朽木ではアシナガアリの集団やカミキリムシ類の幼虫なども見られ、多くの昆虫が越冬や生活に朽木を利用していることがわかった。

6. おわりに

以上のように、冬でも朽木を掘ることで多くの昆虫を観察できる。また朽木は菌の種類、腐朽具合によって生物相が大きく異なってくるため、どの朽木を掘るかによって多様な生物に出会えるのも魅力の 1 つだと我々は思う。しかし朽木は昆虫たちのすみかであり、掘りすぎることや過度に昆虫を持ち帰ることは生態系を破壊することにつながってしまう。これを読んで朽木観察に興味を持った方には、ぜひ生態系を破壊しないようマナーを守って朽木を掘っていただきたい。

写真 8(採集の様子)

7. 参考文献

・森元桂　林長閑「原色日本甲虫図鑑(Ⅰ)」保育社　1986
・上野俊一　黒澤良彦　佐藤正孝「原色日本甲虫図鑑(Ⅱ)」保育社 1985
・黒澤良彦　久松定成　佐々治寛之「原色日本甲虫図鑑(Ⅲ)」保育社 1985
・伊藤修四郎　奥谷禎一　日浦勇「原色日本昆虫図鑑(下)」保育社 1977
・佐藤仁彦「生活害虫の事典」朝倉書店　2003
・鈴木知之「朽木にあつまる虫　ハンドブック」文一総合出版　2009

ケンサキイカとマガキの比較解剖

中学２年　大塚　優音

１．はじめに

僕が比較解剖の材料としてケンサキイカとマガキを選んだ理由は２つある。１つは安価で買えていつも食べている生物を解剖してみたかったためで、もう１つは将来文化祭で解剖する練習をしたかったためである。ケンサキイカとマガキをスーパーで買ってきて、自宅で解剖を行った。

２．今回解剖する生物について

・ケンサキイカ(*Uroteuthis edulis*)

ツツイカ目ジンドウイカ科ケンサキイカ属に属する。関東では「マルイカ」と呼ばれていて、また大型のものは別名「弁慶イカ」とも呼ばれる。日本西部から東南アジア、オーストラリア北部に分布し、日本各地、主に日本海から東シナ海にかけて漁獲される。体長は２０㎝～４０㎝程度で、メスよりオスの方が大きくなる。生まれてすぐはプランクトンなどを食べるが、基本的には甲殻類や小魚を食べる。

・マガキ(*Crassostrea gigas*)

イタボガキ科マガキ属に属する二枚貝。岩などに固着して生活する。日本各地に分布し、国外では東アジア全域に分布する。殻長５cm、殻高10cm くらいのものが多いが、大きなものでは殻長 20cm を超えるものもある。海水を吸い込み、そこからこしとった植物性プランクトンを取り込み餌とする。

３．用意したもの

・ケンサキイカ(メス)
・マガキ(オス)
・ピンセット
・ハサミ
・まな板
・黒いビニール袋
・ゴム手袋

４．解剖手順

(1) ケンサキイカ

①イカをろうとが見えるように裏返し、胴体を切り開く。切り開いてみると分かるが、イカには胴体の前と背側にボタンのようなものがついている。この部分を外套軟骨器といい、なぜこのようなものがあるのかはまだはっきりとわかっていない。考察するとしたら、イカが水を噴射し

て泳ぐときに胴体が外れないようにするためだと考えられる。
②生殖器を取り除き、エラとその根元についているえら心臓、2 つのえら心臓の間にある本心臓を取り除く。イカには心臓が 3 個ある。
③墨袋を取り除く。横に直腸がくっついており、排泄物は直腸から漏斗を通って排泄されるようになっている。僕は失敗して破ってしまった。次挑戦するときは破れないように気を付けようと思う。
④頭を持ち肝臓を胴からはがし、胴からプラスチックのような軟骨を取り出す。
⑤足の間から目と目の間を通るようにハサミを入れ切り開き、口球の中のカラストンビをピンセットで取り、口球を取り除く(口球とはカラストンビを動かすための周りの筋肉のことで、その丸い形状から口球と名付けられている)。ちなみに、これがカラストンビと呼ばれる理由はカラスやトンビなどの鳥のくちばしに似ているからだといわれている。

写真 ： 口球の中のカラストンビ
(くちばしに似ているのがわかる)

⑥ゲソをハサミで切り取り解剖終了。

(2) マガキ

①平べったい蓋になっている方の殻(右殻)を手前に向けて上側をハサミで切り、少しナイフが通るほどの穴をあける。開いた隙間にナイフを入れ貝柱を切り、殻を開く。
②マガキを包む外套膜をハサミで切って除去する。すると発達したエラや心臓などが見えてくる。

写真 ： カキの内部の様子
(囲いは上がエラ、下が心臓)

③消化盲嚢の部分を切り開く。大体だが胃や腸を確認できる。水分をキッチンペーパーなどで取りながら切り開くとやりやすい。

5．考察

ケンサキイカとマガキにはたくさん異なる点があった。まずはマガ

キには入水部、出水部があるがケンサキイカには無いという点だ。これは食べているものの違いだと考えられる。マガキにこの器官が存在している理由は海水を吸い込み、こしとって植物性プランクトンを取り込むためである。一方、ケンサキイカは肉食性であり足でとらえて魚を口で食べるためにこの器官が無いと思われる。同じような理由で、マガキにはカラストンビやそれに相当する器官がないのだと思われる。ちなみにマガキは 1 時間で約 10L もの海水を取り込む。さらに、より多くプランクトンをこしとるためか、マガキはケンサキイカよりもエラが発達しているように見えた。イカは獲物を探し回る運動に酸素がかなり必要で心臓が 3 つあり、マガキは岩に固着生活し酸素をあまり必要としない生き方をしているため心臓が 1 つで済むのだと思われる。また、マガキは墨をはかないため、イカのように墨袋はない。マガキはイカのように墨をはいて逃げることができないため、殻で自分の身を守っているのだと思われる。

6. 感想

解剖を初めてしたため最初の方は緊張していたが、解剖していくにつれて緊張がほぐれていき、終わったころには「もう終わり？」と思ってしまうくらい楽しかった。この解剖を通して他の生物にも興味が湧き、また機会があったら他の生物を解剖したいと思った。来年はもっと準備期間を長めにとってより良い個人研究にしたい。また、結構簡単にできたのでみなさんにもぜひイカやマガキの解剖をやっていただきたいと思う。

7. 参考文献

・ケンサキイカ-水産庁　3/13 最終閲覧
https://www.jfa.maff.go.jp/j/koho/blog/category/ikapedia/ikazukan/kensaki.html
・「イカを楽しく解剖しながら部位別においしく食べる方法」を日本いか連合員が手取り足取り教えます　3/13 最終閲覧
https://www.hotpepper.jp/mesitsu/entry/michae-sanol/2020-00309
・マガキ-Wikipedia　3/13 最終閲覧
https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%9E%E3%82%AC%E3%82%AD
・カキ(牡蠣)の解剖　マガキ　高校生物実験　3/13 最終閲覧
https://www.youtube.com/watch?v=ZXAfWyj0yXI

グリセリンを用いた魚類液浸標本の作製

中学２年　N.S.

1．はじめに

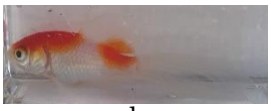
みなさんは液浸標本をご存じだろうか。液浸標本は様々な生物、特に水分の多い魚類を保存する方法として多用されており、剝製などと違い内臓などの内部組織も保存できるうえ、保存後の観察もしやすいという利点がある。その一方で、保存液として主に使われるアルコールやホルマリンにより、生物試料が脱色するなどの欠点がある。この問題を解決すべく小野(2004)はグリセリン浸透法によりグリセリンを使用した生物標本作製法を開発した。その後、廣田・中島(2014)が魚類のグリセリン浸透標本における固定期間とグリセリンの浸透方法について検討した。その際、ホルマリン固定後すぐにグリセリンを浸透させた試料では収縮、変形が激しいが、70%アルコールで長期間保存した後グリセリンを浸透させた試料では退色はあるものの、収縮や変形はほとんど見られないことを発見した。そこで今回はグリセリン浸透法を改良し、エタノールとグリセリンの両方を用いて収縮、変形、脱色の少ない液浸標本を作製しようと考えた。収縮、変形、脱色の少ない液浸標本を作るにあたりどのような方法が効果的なのかを調べるために、4 匹のコメットを使用してそれぞれ違った手順で液浸標本を作成し、表面状態の比較を行った。また、本実験では短期間で違いを出すために固定の段階は省略した。

2．準備したもの

(1) コメット(体長約 75~90mm)

コメットは欧米原産の金魚の品種であり、大きくたなびく尾ビレが特徴的である。また、今回の実験では展鰭直前に氷締めをした 4 匹のコメットを使用し、下のようにそれぞれ a、b、c、d とした。

a


b

c

d

(2) グリセリン(健栄製薬)

保存液として使用した。

(3) 70%エタノール

エタノールを 70%に希釈した水溶液を固定、保存に用いた。

(4) 保存瓶

密閉できるガラス製の保存瓶に保存液と生物試料を入れて保存した。

(5) 昆虫針

一般的に昆虫標本を作製する際に使用される昆虫針で展鰭を行った。

(6) 発泡スチロールの板

展鰭の際に使用した。

(7) 小筆

展鰭の際に 70%エタノールを鰭に塗るために使用した。

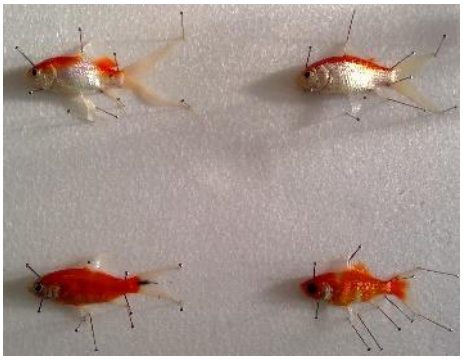
(8) ペーパータオル

試料の表面の水分をふき取るのに用いた。

3. 作成手順

(1) 展鰭

計測や計数などを観察しやすくするために各鰭を広げる作業を展鰭という。氷締めしたコメットを流水で洗ったあと、ペーパータオルで表面の水分をふき取り展鰭した。今回はグリセリンで保存したものとエタノールで保存したものとの違いがより明確に出るよう鰭のみに 70%エタノールを塗り、鰭以外の体表には塗らなかった。70%エタノールを塗ってから 5 分後に展鰭を終了した。



展鰭の様子

(2) 置換

腐敗を抑えるために生物試料の体内の水分をグリセリンや 70%エタノールなどの別の液に置き換える工程を置換という。a はグリセリンで、b~d は 70%エタノールで 6 日間かけて浸透させた。また、浸透中は室温で毎日液を交換した。

(3) 保存

a、b はグリセリンで保存した。また、c、d は 70%エタノールで保存を開始し、c のみ保存開始から 1 週間後にグリセリンでの保存に切り替えた。途中で 70%エタノールからグリセリンに切り替える b、c に関しては、切り替える際に流水で約 30 秒洗い、(2)と同様にして切り替えてから 6 日間毎日グリセリンを交換した。この 6 日間も保存期間と見なし、実験を行った。

4．結果

試料の状態を観察する際には、3 日目以降は浸透液または保存液から試料を一度取り出した。また、観察後は速やかにもとの保存液に戻した。

(1) 置換中

6 日間置換をしたが、そのうち最初の 4 日間は写真を撮って記録した。また、図 1~4 は上から順に 1 日目、2 日目、3 日目、4 日目の試料を撮った画像である。

グリセリン中で浸透させた a では 2 日目に目がくぼみ、3、4 日目には目がよりくぼみ、体に沿って皺が出始め、腹部が黒っぽくなった。また、収縮も見られた。5 日目以降はほとんど変化が見られなくなった。また、体色の変化は 6 日間を通してほとんど見られなかった(図 1)。

アルコール中で置換させた b、c、d では 2 日目には目が白くなり、日がたつにつれ赤い模様が薄くなっていった。また、グレセリン中で浸透させた a よりは薄いものの、腹部が黒っぽくなった。試料の変形はほとんどなかった(図 2、3、4)。

図 1．置換中の a の様子

図 2．置換中の b の様子

図 3．置換中の c の様子

図 4．置換中の d の様子

(2) 保存中

保存開始から 1 週間後、2 週間後、3 週間後に試料を液中から取り出し、観察をした。また、図 5~8 は上から順に保存開始時、1 週間後、2 週間後、3 週間後の試料を撮った画像である。

グリセリンで保存した a は 3 週間たっても保存開始時とほとんど変化はなかった。また、色彩は a~d の中で最もよく保持されていた(図 5)。

70%エタノールで置換、グリセリンで保存した b ではエタノールによる脱色が見られるものの、a のような体形の変化はほとんどなかった。

また、色彩に関してはaの次によく保持されていた(図6)。

70%エタノールで置換、1週間保存後、グリセリンで保存したcでは1週間後にエタノールによる脱色が一気に進み、体全体が白っぽくなったものの、グリセリンでの保存ではbと同様に体形の変化はなかった(図7)。

70%エタノールで置換、保存したdでは2週間で一気に脱色が進み、cよりも白っぽくなった。グリセリンで置換したときのような体形の変化は全く見られなかった(図8)。

図5. 保存中のaの様子

図6. 保存中のbの様子

図7. 保存中のcの様子

図8. 保存中のdの様子

(3)まとめ

グリセリンで置換、保存したaは最初の数日間は目がくぼんだり、体表に皺ができたりするなど変形、収縮が激しかったが、ある程度日が経つにつれてそれらは収まった。また、色彩は4つの中では最もよく保持されていた。

70%エタノールで置換、グリセリンで保存したbはエタノールによる脱色が見られるが、グリセリンで保存し始めると脱色が収まり、色彩は保持された。また、aに見られた変形や収縮はほとんどなかった。

70%エタノールで置換、70%エタノールで1週間保存後、グリセリンで保存したcではエタノールによる脱色が激しく、色彩は保持されなかった。しかし、aに見られた変形や収縮はほとんどなかった。

70%エタノールで置換、保存したdではエタノールにより3週間後にはほぼ完全に赤い模様が見えなくなり、色彩は保持されなかった。しかし、aに見られた変形や収縮はほとんどなかった。

5. 考察

グリセリンで保存する場合は試料の変形が大きいものの、色彩が保

持されやすく、70%エタノールで保存した場合は脱色しやすいことが分かった。また、グリセリン浸透法の最大の欠点である試料の変形や収縮は 70%エタノールで置換後に、グリセリンで保存すると解決されるものの、やはりエタノールによる脱色の影響が少なからずあることが分かった。

6. おわりに

本研究では小野(2004)のグリセリン浸透法を改良し、収縮、変形、脱色の少ない液浸標本の作り方を検討すべく、いくつかの手順で標本を作製し、作った標本を比較した。その結果、色彩をある程度保持し変形を抑えるためには 70%エタノールで置換後に、グリセリンで保存するという方法が有効であることが分かった。しかし、この方法により作製した標本にはエタノールによる脱色の影響が見られたため、色彩を完全に保持した標本を作るのはとても難しいと感じた。

本研究では特定の 1 種類の魚類のみを扱ったため、色彩の似ているものが多く、前述した方法が他種においても有効性があるのかどうかは不明である。よって、その方法が他種においても有効かどうか検証していく必要がある。また、グリセリンではどれくらいの期間色彩を保持できるかも不明であり、今後継続して観察を続ける必要がある。本研究では収縮、変形、脱色の少ない液浸標本を作製するという目的を果たすには至らなかったが、今後につながる有意義な結果が得られた。また、今後は色彩を完全に保持し、変形のない液浸標本を作る方法を模索したい。

最後まで読んでいただきありがとうございました。

7. 参考文献

(1) 小野榮子,グリセリン浸透法による生物標本の作成,第 36 回東レ理科教育賞受賞作品集,東レ科学振興会,2004

(2) 廣田大輔・中島経夫,魚類標本におけるグリセリン浸透法の検討,Naturalistae,2014

(3) 本村浩之,魚類標本の作製と管理マニュアル,鹿児島大学総合研究博物館,2009

ツマリカスベの解剖

中学２年　三井　康世
N.S.
匿名希望

1．はじめに

本研究ではツマリカスベというガンギエイ目に属するエイを解剖した。ツマリカスベを解剖しようと思ったきっかけは、魚類に属するエイの外見は扁形であり一般的な魚類と大きく異なっているため、他の魚類と構造上、どう違うのかを知りたかったからである。

図 1

2．ツマリカスベについて

ツマリカスベ(*Okamejei schmidti*)は軟骨魚ガンギエイ目ガンギエイ科コモンカスベ属に属している。三陸～千葉県外海域、東京湾～宮崎県沿岸の、水深 30m から 60m の砂泥地に生息しており、卵生である。

3．使用したもの

(1) 解剖用はさみ

エイの皮膚や内臓どうしをつないで固定している膜を切るために用いた。

(2) ピンセット

臓器を取り出すなど細かい作業をするために用いた。

(3) ポリ手袋

手が汚れたり、においがついたりするのを防ぐために用いた。

4．ツマリカスベの外観

本研究では全長 47cm、体盤の横幅が 32cm、縦幅が 30cm のメスの個体を解剖した。

図 2

背面には微小な暗褐色点がちらばり、体盤全体にほぼ均一に分布し、目立つ眼状斑が 2 つある(図 1)。

尾部は細く、その先端に小さな背鰭と尾鰭があることなどが特徴的である。また、5 列に並んだ小さく鋭い棘も見られるが、毒はない。この棘はオスの場合は 3 列に並んでいる(図 2)。

図 3

ツマリカスベを含むエイの仲間は口が腹側にあり、海底で呼吸すると砂が入ってきてしまうため、目のすぐ後ろにある噴出孔が発達した

(図 3)。

エイには嗅覚器官である鼻孔、歯、鰓孔、ロレンチーニ器官が腹側にある。エイの歯は物をすりつぶすタイプの歯であり、これはエサである貝類やカニの甲羅をかみ砕くのに都合がよいと考えられる。

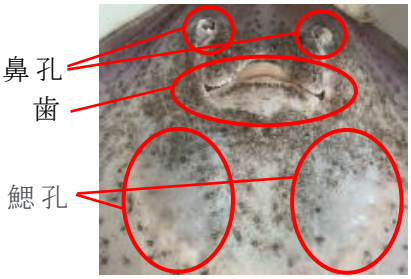


図 4

また、ロレンチーニ器官は獲物の発する微弱な電場を感じることができる器官で、エイ・サメ類に特有のものである。獲物の位置特定に使われていると考えられ、獲物の捕獲を視覚に大きく依存する傾向がある硬骨魚類に見られる器官とは異なる。ツマリカスベの場合、腹面に頭部を中心に分布する黒い斑点がこれにあたる(図 4)。

5. 解剖の手順

(1) 内臓を見える状態にする

内臓がよく見えるよう、解剖用はさみを用いて腹部を軟骨に沿って円形に切開した(図 5)。

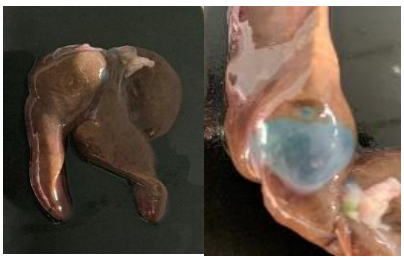
図 5

(2) 各臓器を取り出す

各臓器をピンセットを使い、丁寧に取り出す。

① 肝臓(図 6)

図 5 で見えている赤黒い部分が肝臓である。肝臓は 2 つあり、つながっていた。また、胆のうも 1 つに繋がっていた。肝臓は他の魚類と比べ非常に大きかった。エイの肝臓の機能は大きく 2 つある。1 つ目は、他の魚類と同様に栄養分を貯蔵して必要なときにエネルギーを提供すること、2 つ目は、水より比重の小さい肝油を貯蔵することにより浮力を調節することである。浮き袋のないエイはこの肝臓を主に使って浮力を調節している。


(左:肝臓　右:胆のう)
図 6

②消化管(図 7)

消化管は食道と胃の大きく 2 つの隣接する器官で構成されていた。

図 7

③卵巣・殻腺・卵管(図 8)

卵巣・殻腺・卵管は左右に分かれて 2 つあった。卵巣は顆粒状で黄色がかっていた。卵巣の後方には殻腺があり、これは精子を貯蔵できる特殊な器官である。殻腺の後ろには卵管があり、子宮とつながっていた。

図 8

図 9

④腎臓(図 9)

腎臓は尿の精製に関与している。暗赤色で半月型であった。

⑤直腸腺(図 10)

直腸腺は体液中の Na や Cl を濃縮し、尿として肛門から排出する塩類腺である。肝臓で多量の尿素を精製するサメ・エイ類にとって重要な器官である。またこの器官はサメ・エイ類に特有のものである。

図 10

図 11

⑥尿生殖洞(図 11)

2 つの子宮が結合して尿生殖洞を形成する。白色だった。

(3)心臓、エラを取り出す

解剖用はさみを用いて、鰓孔に沿うように円形に大きく穴を開けた(図 12)。

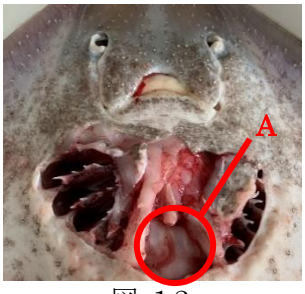


図 12

①心臓(図 13)

心臓は中央より左側の、図 12 の A の位置にあった。魚類の心臓は 1 心房 1 心室であり、酸素はエラを通じて取り入れている。

図 13

②エラ(図 14)

エラは他の魚類と同様に左右に 2 つあり扇状になっていた。

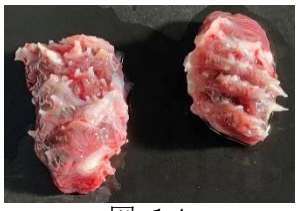


図 14

(4)水晶体を取り出す

摘出した眼球を切開し、水晶体を取り出した。水晶体は他の魚類と変わらない球体であったが、眼球は楕円形であった(図 15)。

(左:眼球　右:水晶体)
図 15

5．考察

扁形であるエイも、浮き袋を除いて魚類に一般に見られる臓器を備えていることが分かった。また、浮き袋の代わりに肝臓で浮力調節をするため、肝臓は一般的な魚類よりも大きかった。水晶体に関しては球の形をしているが、眼球は楕円形であることが分かった。

6．おわりに

本研究では一般的な魚類と外見が大きく異なるエイの構造はどうなっているのか気になり、解剖をした。その結果、他の魚類と似た器官も多くあるもののエイ特有の器官も見られ、非常に有意義な結果が得られた。特に肝臓が大きかったことが印象的であり、浮力調節に大きく関わっていることを実感することができた。また、本研究での反省点は事前の下調べの不足である。実際に解剖を始めると、分からない点が多く発生してしまった。今後はこの経験を活かし、様々な生物について理解を深めたい。

本研究を実施するにあたり、解剖の手順や研究の進め方に関して助言をくださった先輩方、そして校閲を担当してくださった先輩方にこの場を借りてお礼申し上げます。

7．参考文献

・ぼうずコンニャク株式会社，“ツマリカスベ”，ぼうずコンニャクの市場魚貝類図鑑，https://www.zukan-bouz.com/syu/ツマリカスベ，2022 年 3 月 28 日最終閲覧

・Canadian Shark Research Lab，“Skates and rays”,Fisheries and Oceans Canada,https://www.dfo-mpo.gc.ca/species-especes/skates/index-eng.html,2022 年 3 月 28 日最終閲覧

・サメの第 6 感　獲物をとらえる電気感覚，日経サイエンス，2007 年 11 月号，https://www.nikkei-science.com/page/magazine/0711/200711_042.html,2022 年 3 月 28 日最終閲覧

チビクワガタの反射についての実験

中学２年　森元　創心

１．はじめに

生物の授業で、接触刺激によるアメフラシのえらの引き込み反射において慣れや鋭敏化、脱慣れが見られるが、これは神経の働きによって起こされるものだと習った。飼っていたチビクワガタを触ると脚を引き込む動きを見せたので、神経の伝達の仕方が同じならばこの反射においてもアメフラシと同じ慣れや鋭敏化、脱慣れが起こるのではないかと思い、実験を行った。

２．仮説

チビクワガタでも慣れや鋭敏化、脱慣れが起こる。

３．慣れや鋭敏化、脱慣れとは

慣れや鋭敏化、脱慣れは反射において起こる現象であり、慣れは同じ部位に同程度の刺激を受け続けることで反応が弱まること、鋭敏化は一度違う部位に強い刺激を受けることにより弱い刺激でも敏感に反応するようになること、脱慣れは一度違う部位に刺激を受けることにより反応が復活することである。

４．チビクワガタ(*Figlus binodulus*)とは

写真 1(チビクワガタ)

チビクワガタはコウチュウ目カブトムシ亜目コガネムシ上科クワガタムシ科クワガタムシ亜科チビクワガタ属に分類される昆虫である。体長は１㎝程度で、日本全国の朽木の中に生息している。成虫は朽木の中にいる他の昆虫を食べる肉食性で、幼虫に噛み砕いた朽木を与える保育行動をとるため亜社会性昆虫に分類される。また、他のクワガタムシとの違いは交尾器を解剖しなければオスとメスの区別がつかないことである。

５．実験の手順

一般的にアメフラシを用いて行う実験と同じような手順で行う。

(1) 体の右側の胸部と腹部の間を竹串で弱く突く。

(2) (1)を繰り返す。この操作で慣れが起こるかどうか調べる。

(3) 左側の胸部と腹部の間を強く突く。

(4) (3)と同じ場所を弱く突く。この操作で鋭敏化が起こるかどうか調べる。

(5) (1)と同じ場所を弱く突く。この操作で脱慣れが起こるかどうか調べる。

6．実験に必要なもの

・チビクワガタ(採集したもの)

・竹串

・カメラ

7．実験結果

実験を行い、脚の引き込み具合を見ると、図 4 のグラフのような結果になった。グラフの縦軸の数値は脚の引き込み具合で、通常とほぼ同じ状態(写真 2 参照)を 1、脚がほぼ体の縁についているような状態(写真 3 参照)を 3、これらの中間の状態を 2 としている。

写真 2

写真 3

18 回目までは右側を弱く突いていて、段々と引き込み具合が小さくなっているので、慣れが起こっていると分かる。また、19 回目に左側を強く突くと引き込み具合が 3 にまで上がっており、20 回目に左側を弱く突いても引き込み具合が 3 であったので鋭敏化が起こっていると分かる。そして、21 回目に右側を弱く突くと引き込み具合が 3 だったので、脱慣れが起こっていると分かる。

8．結論

チビクワガタの触られると脚を引き込む反射においても慣れや鋭敏化、脱慣れは起こると考えられる。

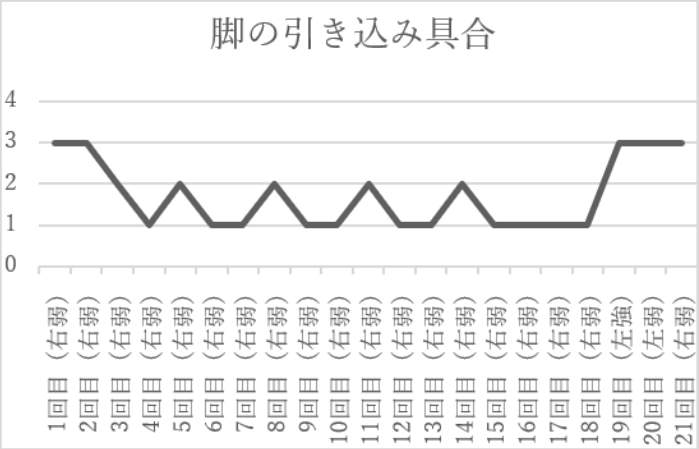


図 4

9．おわりに

チビクワガタに竹串で刺激を与え、立ち止まるときの脚の引き込み方に注目することで、チビクワガタの反射がアメフラシと同じように起こるということがわかった。実験の過程でいくつか興味深い現象を確認できたので、来年はそれらについても調べてみたい。

10．参考文献

・上野俊一　黒澤良彦　佐藤正孝「原色日本甲虫図鑑(Ⅱ)」保育社 1985

玉ねぎの根端の細胞分裂の観察

中学３年　M.H.

1．はじめに

生物の教科書や図説を読んでいたら、細胞培養に目が行った。だが、細胞培養を行うのは少し厳しかったので、その前段階として、細胞分裂について実験をしていくことにした。

2．実験に使ったもの

(1) 使用する生物

・タマネギ(*Allium cepa*)

ヒガンバナ科ネギ属の多年草。ネギ属の中でも大きく肥大した球根を持つ。

(2) 使用する薬品

酢酸、メタノール、塩酸、酢酸オルセイン溶液

(3) 使用する実験器具

顕微鏡、ビーカー、ピペット、スライドガラス、カバーガラス、ろ紙

3．実験手順

(1) 玉ねぎの根を水につけて発根させる。今回の実験では２日くらいで発根した。

(2) 発根させた根の根端を 2~3 ㎝切り取る。なぜ根端を使うのかというと、根端が一番成長する部位で細胞分裂が盛んに行われているからである。さらに、細胞分裂が盛んとなるのは午前 10 時~11 時ごろなので、その時間帯に実験を行う。今回は午前 10 時半に行った。

(3) 切り取った根端を酢酸とメタノールを１対３の割合で混ぜた液体に 5~10 分つけて固定する。固定とは、細胞の構造を保つための操作である。固定することで、細胞を生きているときに近い状態で保存できる。

(4) 固定した根を 3.5％塩酸に 10 分ほどつける。これによって細胞分裂が止まり、細胞同士が離れやすくなる。

(5) 解離の終わった根を軽く水洗いし、塩酸を流す。根はこの時点でかなり柔らかくなっており、気を付けて処理しないとつぶれてそのまま流されてしまうので注意が必要である。

(6) 根をスライドガラスに乗せ、酢酸オルセイン溶液を 1 滴たらして 4~5 分間染色する。

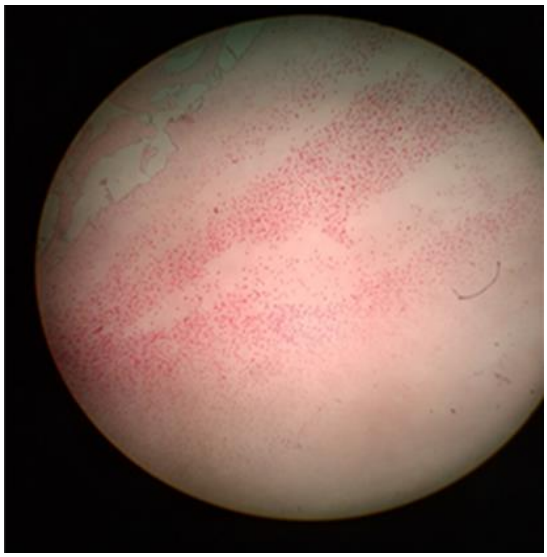
(7) 染色が終わったら、ろ紙で余分な酢酸オルセイン溶液をふき取り、カバーガラスを敷いてろ紙を被せ、親指の腹で静かに押しつぶす。

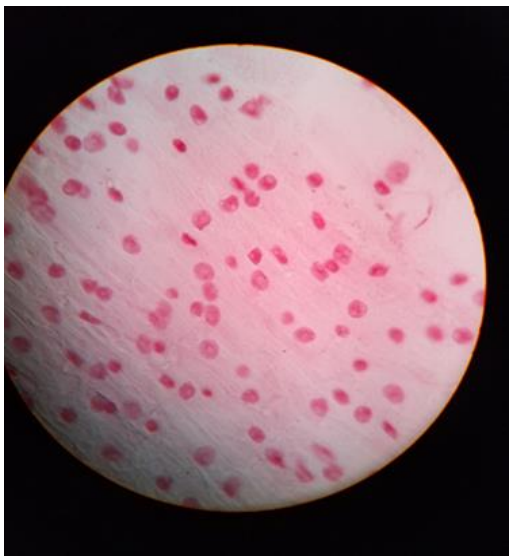
(8) 顕微鏡で観察する。まず低倍率で観察し、分裂が起こっていると思

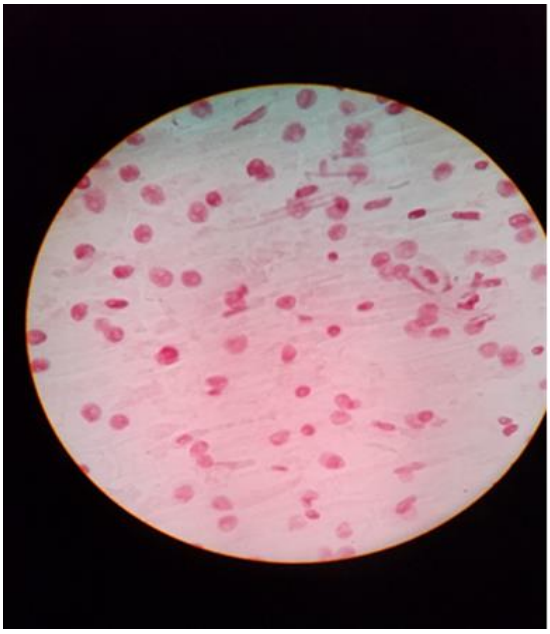
われる場所を探す。そしてその部分を高倍率で観察する。

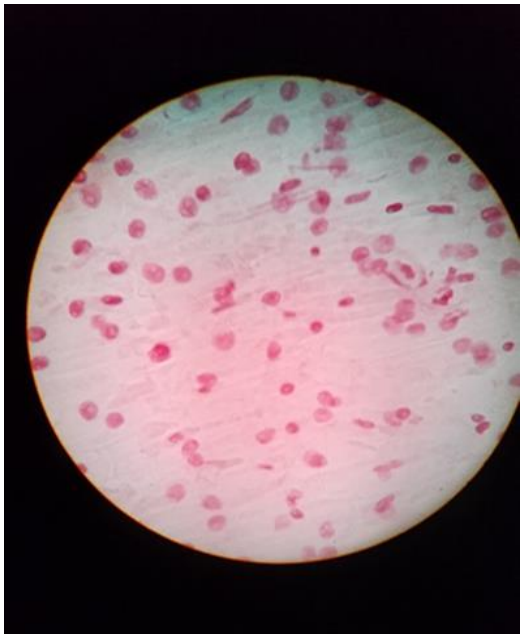
4．実験結果

顕微鏡で観察したのが下の画像である。左上が低倍率(15×4)で見た時のもので、残りの3枚が高倍率(15×40)で観察した時のものである。分裂しているところを探したが、分裂しているところがはっきりと写るように撮影することはできなかった。









5．考察

今回細胞分裂がうまくいかなかったのは、塩酸で根端を解離させるとき 60 度のお湯につける、または塩酸を 60 度に温めるという工程を今

回の実験では必要ないと判断し省いたため、それが影響した可能性があると考えた。つまり、細胞分裂は温度に関係する可能性があると言うことである。これを明らかにすべく、60度のときと80度のときとで比較する対照実験をしてみたいと思う。

6．おわりに

この実験をここまで見ているとすぐにできそうなのだが、この実験を行ったとき、僕は3日かけてしまった。理由として、最初に根を発根させる工程があったのだが、僕は玉ねぎに最初から生えていた根を使って実験を行ってしまったため、固定や解離の工程をしっかりやったのにもかかわらず染色されているはずの核が全く見えず、原因がわからないまま1日が終わるということがあったことが挙げられる。

次の日、実験を再開しようとしたら根が発根していることが分かり、僕が勘違いして発根していない根を発根した根だと思って実験に使ってしまっていたということに気づかされた。

その他にも、顕微鏡で観察したものを写真に撮るカメラが見つからないということがあった。そのため、この記事の写真はスマートフォンで無理やり撮影したものになってしまった。これを踏まえ、次回は準備を重点的にして手早く実験を行えるようにしたい。

7．参考文献

細胞分裂の観察(玉ねぎ)
http://www1.iwareed.jp/tantou/kagaku/h24_seibutsukiso/File/pdf/h24_0404_2_10pdf
(2021-3-28最終閲覧)

アカハライモリの再生における優先部位

高校１年　O.Y.

1．はじめに

みなさんは再生医療研究と聞いて何を思い浮かべるだろうか。iPS 細胞や ~~STAP 細胞~~など、近年話題になったキーワードを想起する人が多いかもしれない。しかし、飛び抜けた再性能を持つ生物の再生メカニズムについて研究することもまた立派な再生医療研究である。その飛び抜けた再性能を持つ生物として、イモリやサンショウウオといった生物(両生綱有尾目)が挙げられる。これらの生き物は生涯を通じて四肢や尾から脳までも再生することができ、再生医療研究において貴重な研究対象となっている。一方、ヒトでは胚段階でしか再性能が無く、カエルではオタマジャクシの段階で有していた再生能は変態後には失われてしまう。

本稿では、中でも特に捕獲しやすいアカハライモリについて、損傷する部位の違いによって再生メカニズムにどのような変化が起こるのかを調べるため、同じ環境下で部位を分けて切断を行い部位ごとの再生速度の比較を行った。

2．アカハライモリ(*Cynops pyrryhogaster*)について

アカハライモリ(*Cynops pyrryhogaster*)は日本の固有種で、脊椎動物門両生綱有尾目イモリ科イモリ属に分類される。流れの穏やかな本州から九州の水田や川に広く分布している。両生類、爬虫類特有の愛らしい見た目を保持している上(※個人の感想です)、厳重な温度管理や生きた餌を必要とする爬虫類と比べて水槽と与えやすい固形の餌で済むため飼育のハードルが格段に低く、かつ広く分布、流通しているため、ペットとして飼育されることも多い。体長は 10cm ほどで、その名の通り腹部に見られる赤と黒のモザイク模様が特徴である。この模様は個体によってさまざまであり、個体識別に有用である。例として、次ページの写真 1-1 の個体と写真 1-2 の個体では腹部に見られる模様に差異が認められる。その皮膚からはフグ毒と同じ神経毒であるテトロドトキシンが分泌されており、手で触れた後には手を水でよく洗う必要があるが、分泌量は少なく目を擦るなどしない限り問題はない。また、今回実験で使用するように突出した再性能を有していて、四肢や尾、皮膚はもちろん、脳や網膜までも再生したとする研究結果が残されている。なお、実験では 2022 年 2 月 8 日に兵庫県丹波篠山市で採集したアカハライモリを 7 個体使用した。

写真 1-1

写真 1-2

3．アカハライモリの再生について

アカハライモリの再生が研究者に注目され始めて約 4 世紀が経つ。未だにそのメカニズムの全容は解明されていないが、再生時の簡単な流れは明らかとなっている。

成体のイモリが肢を失うと、未分化の細胞が集合したふくらみができ再生が始まる。このふくらみを特に再生芽と呼ぶ。また、未分化とはさまざまな種類の細胞になる潜在能力をもっている状態のことである。驚くべきことに、イモリの再生で使われる未分化細胞は既に傷口の周辺部で組織を構成していた細胞が一旦その特徴を失い形成されたものである。この一旦特徴を失う(＝既に分化した細胞が分化前に戻る)過程は特に脱分化と呼ばれる。一般にヒトでは細胞を脱分化させることができず、ヒトがイモリのように再生できないのはこのためである。イモリの再生の中で、特に筋肉の再生を例にとってみる。筋肉は多数の細胞が融合されて構成されているため複数の核を一細胞内に有する多核細胞であるが、切断が起こると切断面から核を 1 つだけ持つ細胞が分離して、先端部への移動及び分裂による増殖を繰り返し再生芽が形成される。そして再生芽内の細胞が増殖しながら再び分化を行い、筋肉が再生されていく。この場合であれば途中で起こった分離が脱分化にあたる。

このように、イモリは再生において特徴的な様相を呈するのである。

1．実験方法

(1) 目的と概要

後足と尾を切断した個体群(A とする)、後足、尾のみを切断した個体群(それぞれ順に B、C とする)を飼育し、B、C で部位ごとでの再生の様子と速度を観察、A では B、C の再生過程をもとに尾と後足の再生における優先度合と速度の変化を調べる。

(2) 飼育

アカハライモリを大きさと切断方法で A-大、A-中、A-小、B-大、B-中、C-大、C-中に分類し、A-大、A-中を個体群 A、B-大、B-中を個体

群 B、C-大、C-中を個体群 C とする。1 つの切断方法において複数個体で行うのは個体差や実験途中での死亡や病気などのアクシデントを考慮し結果の正確性をできるだけ上げるためである。個体差については同じ環境に置かれた個体は再生速度に関して一定のポテンシャルを持っていると仮定しても問題ないと考えられる。

切断後は 7 匹を同じ 1 つの水槽で飼育し、水槽は採光窓の設けられた冷暗所に設置する。餌は冷凍赤虫を 4 日ごとに一定量与え、同時に水の交換も行う。

(3) 切断及び観察

切断方法は A から C までの 3 パターンを設定し、体長と尾長を測定した上で解剖バサミを用いて切断する。A から C については、A は左後足の関節部と尾の中央部の 2 箇所で切断を、B は左後足の関節部の 1 箇所で切断を、C は尾の中央部の 1 箇所で切断を行う。尾の切断は写真 2-1 のように、左後足の切断は写真 2-2 のように行う。

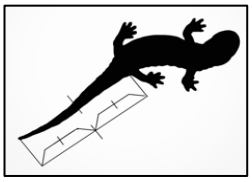


写真 2-1

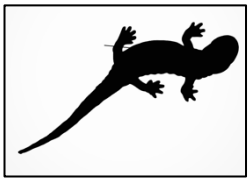


写真 2-2

観察は数日おきに行い、個別に観察ケースに移して真上からと傷口の写真を撮影する。

5. 仮説

アカハライモリの尾は泳いだり体をコントロールしたりする際に必要なため、生存において片側の後足と比べ重要であると考えられる。よって、後足に比べ尾が優先的に再生されるように、個体群 A では後足の再生は停止するかまたは非常にゆっくりと起こり、尾が優先して再生されると考える。また、個体群 B 及び C と比べて個体群 A に含まれる個体は切断箇所が 2 箇所と損傷が大きいことから、各部の再生がゆっくりと起こると考えられる。

6. 実験結果

(1) 切断

個体群 A、個体群 B について切断し終わった後に、個体群 C に分類する予定であった個体 C-中に右前足の欠損が発見された。採集時には右前足の欠損は確認されなかったため、移動途中もしくは切断までの飼育中に何らかの影響で欠損したのだと考えられる。そこで、個体 C-中を個体群 D の個体 D とし、この個体には切断を施さずにそのまま経過を観察することとした。よって、個体群 C には個体 C-大のみが含まれることとなり、この個体は個体 C とした。アカハライモリの尾骨は想像より

も固く、切断には多少苦労を要した。

切断時の出血の様子と切断した部位、元の体長と尾の長さ及び尾を切断した場合は切断後に残った尾の長さを以下の表１にまとめた。数値の単位は全てｃｍである。

表１	切断した部位	体長	尾の長さ		出血
個体名			切断前	切断後	
A-大	尾と左後足	12.10	6.00	3.00	なし
A-中	尾と左後足	8.20	4.80	2.40	あり
A-小	尾と左後足	7.05	3.80	1.90	あるが微小
B-大	左後足	10.20			なし
B-中	左後足	9.85			なし
C	尾	10.80	4.80	2.40	多い
D	右前足欠損	8.80			

(2) 経過観察

観察はスケジュールの都合もあり 2/17、21、25、28、3/5、11、16、22 の 8 日間行った。

①尾の再生

尾の切断を行った個体群 A と C の 4 個体における日毎の尾の長さを下及び次ページの表 2 にまとめた。長さの単位は全てｃｍである。なお、尾の傷口すべてにおいて白い膜は見られなかった。ここで、個体ごとの尾の長さの伸長率(その日の尾の長さ÷初期値)を求め小数第 5 位を四捨五入したものを、長さの横の欄に記載した。そして、その値を縦軸に、月日を横軸にとって 4 個体の伸長率グラフを作成すると次ページのグラフ１のようになった。

表 2	個体群 A						個体群 C	
	A-大		A-中		A-小		C	
月日	長さ	比率	長さ	比率	長さ	比率	長さ	比率
2/17	3.20	1	2.40	1	1.90	1	2.40	1
2/21	3.42	1.0688	2.51	1.0417	1.90	1	2.61	1.0875
2/25	3.65	1.1406	2.55	1.0625	1.91	1.0053	2.77	1.1542
2/28	4.01	1.2531	2.67	1.1125	1.91	1.0053	2.94	1.2250
3/5	4.12	1.2875	2.79	1.1625	1.93	1.0158	3.15	1.3125
3/11	4.18	1.3063	2.87	1.1958	1.99	1.0474	3.34	1.3917
3/16	4.26	1.3313	2.96	1.2333	2.00	1.0526	3.52	1.4667
3/22	4.46	1.3938	3.01	1.2542	2.14	1.1263	3.91	1.6292

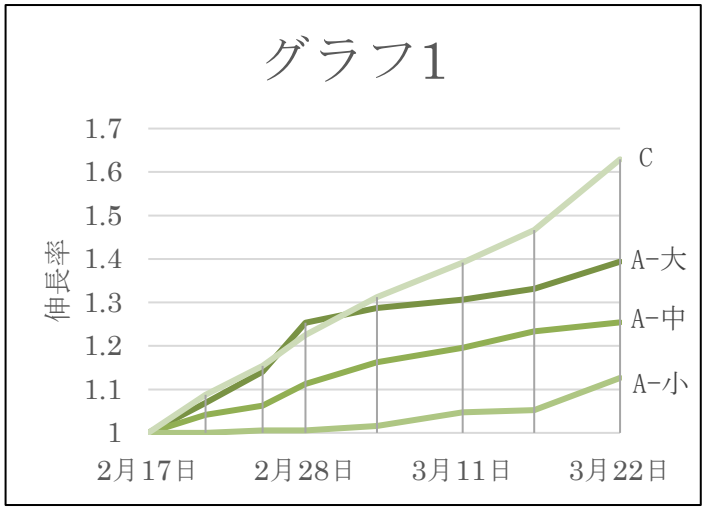
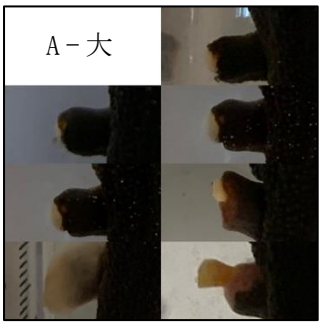


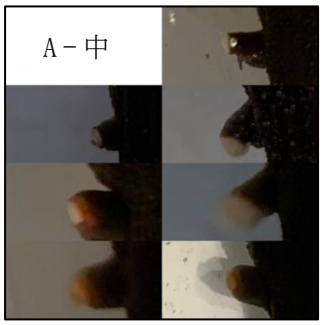
写真 3

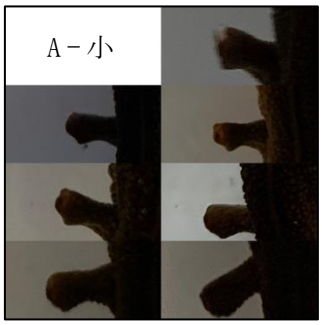
②足の再生

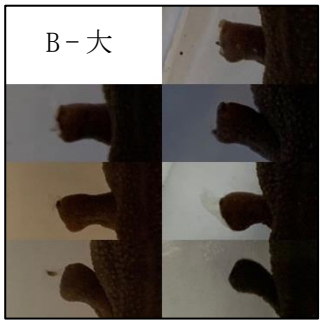
左後足の切断を行った個体群 A と B について、再生の様子はそれぞれ以下の写真 A-大、A-中、A-小、B-大、B-中のようになった。また、右前足を欠損していた個体群 D の個体 D については、期間中常に患部に右上の写真 3 のように白い膜(傷口から水カビ病を発症したと考えられる)を形成し、3/11 時点で水槽内での死亡が確認された。

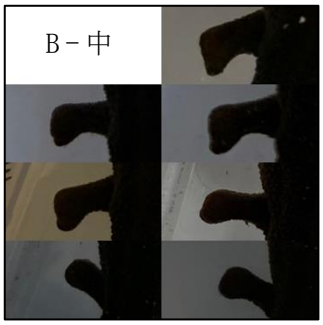
なお、写真の配置は右下の表を参照のこと。











個体名	2/21
2/25	2/28
3/5	3/11
3/16	3/22

7．考察

(1) 尾の再生

グラフ1において、棒グラフの傾きが緩やかであることは再生速度が遅いことを意味している。よって、個体群Aは個体群Cと比べて尾の再生速度が遅いこと、また体長が大きい個体の方がより再生速度は速いことが読み取れる。

個体群Aの再生速度が個体群Cと比べて遅いことは、仮説で述べた通り、切断箇所が2箇所と損傷が大きかったためであると考えられる。また、体長の大きい個体の方がより再生速度が速いことは、体長の大きい個体の方がより成熟しきっていたため、つまり成長に必要な栄養量が少なく患部の再生に充てられる割合が大きかったためであると考えられる。水槽に与えた餌は常に一定量で、観察毎にほぼ全て無くなっていたので、生存に必要な栄養と再生に必要な栄養に加えて成長のための栄養が必要となると、必然的に再生に充てられる栄養の割合が小さくなるということである。ただし、この考察は個体の体長が成熟度に依存するという前提に基づいており完全なものとは言えない。出血量との相関は認められなかった。

(2) 足の再生

まず個体Dの実験途中での死亡について、写真3のように傷口から水カビ病を発症し衰弱して死に至ったものと考えられる。次に個体群Aについて、個体A-大と個体A-中については再生はおろか、傷口の癒合すら完了していない。特にA-大については傷口周辺の筋肉組織が日毎に減っていっている。個体A-大と個体A-中についてはDと同じ水カビ病の発症を繰り返しており、その度に筋肉組織が減少していることが観察されるため、観察結果としては不適である。個体A-小については、傷口の癒合は終了しているが、再生には至っていない。切断方法Aの結果としては個体A-小の癒合はするが再生は認められない、ということを採用することとする。個体群Bについて、個体B-大と個体B-中の2個体ともに傷口が癒合している。さらに、B-中は写真の白い丸部分若干の再生が認められる。B-中の3/16と3/22の写真はまるで足が縮小しているように見えるが、これは撮影ミスによって足が下を向いているためである。ここで、個体群Aでは再生が始まっていないが、個体群Cに含まれる個体では再生が始まっているのは、尾と同様に切断箇所が2箇所と損傷が大きかったためであると考えられる。出血量との相関は認められなかった。

(3) 先度について

(1)と(2)より、両方の部位で切断を行った個体群 A では尾の再生は認められたが左後足の再生は認められず、かつ個体群 B、C 共にそれぞれ切断した部位で再生が認められた個体が存在したことより、仮説通りアカハライモリの再生においては左後足よりも尾が優先されると考えられる。理由も仮説で述べた通り、尾が左後足と比べて生存においてより必要性が大きいからであると考えられる。このような部位による再生の順位付けが存在することは、アカハライモリの再生において順位付けを調節している遺伝子系が存在していることを示している。

8. 結論

アカハライモリの再生において尾は左後足よりも優先されると考えられる。

9. おわりに

今回の実験ではアカハライモリの再生について再生速度に関する非常に興味深い知見を確認することができた。ただ、実験途中で病気を発症する個体が発生し個体群 A の尾の結果は個体 A-小のもののみから判断することとなった点、そして実験の着手が遅く再生期間を 1 ヶ月弱ほどしか設けられず完全再生まで至らなかった点は反省すべきことである。

アカハライモリの再生に関しては研究のテーマとなりうることが数え切れないほど存在するので、機会があれば取り組んでみたいと思う。

10. 参考文献

・千葉親文「イモリの肢再生のしくみは変態によって切り替わる
～250 年来の謎に迫る発見～」筑波大学 HP
https://www.tsukuba.ac.jp/journal/images/pdf/160330chiba1.pdf
(2022/03/26 最終閲覧)

丹波篠山ほのぼの採集記とニホンアナグマの解体

高校１年　O.Y.
H.H.

1．はじめに

皆様いかがお過ごしでしょうか。生物研究部の部誌は堅苦しい内容が大半を占め、お疲れの読者も多いと思います。読んでいて疲れるならば当然書いている側も疲れている訳で、本記事では読み手にも書き手にも優しいものになるよう心がけていこうと思います。

さて、タイトルの通り丹波篠山へ採集に行ってきたわけですが、~~魚類を採集するはずが中型哺乳類を採集するなど~~その愉快な１日を振り返り、後半ではその際に得たニホンアナグマの解体について書いていくので、コラム感覚で読んでいただければ幸いです。

2．採集までの経緯

本採集は採集遠征の一環として春休み初め、3 月 20 日に 2 人で行ったもので、新しい採集スポットの開拓が目的でした。と言うのも、これまでシーズンごとの観測を行ってきた武庫川では大きな工事が入り、生き物を取り巻く環境が激変してしまいました。水の主な流路である澪筋にも手が加えられ、川の三面がコンクリートに変貌した箇所もありました。その結果、生き物の種数や個体数が大幅に減少してしまいました。仮に生研が文化祭で展示するだけの個体数を捕り去ったとすると、生態系に取り返しのつかない悪影響をもたらしてしまいます。これらの理由から武庫川の定期観測は継続しつつも、新たな観測ポイントの検討が急務となっていて、今回の採集へと至ったわけです。

向かうこととなったスポットは篠山川支流の X 川(JR 篠山口駅から北東へ 11.7km)と Y 地区(X 川からさらに北東へ 12.1km)の 2 箇所で、Y 地区は過去に採集記録のある希少種のオヤニラミを狙っての設定です。

目的地が決まったとなると当然周辺のバス停と時刻表を探します。運良く 2 箇所とも付近にバス停が見つかり一安心したのも束の間、驚くべきことに運行時刻が登下校のタイミングしかないということが発覚.....え？　そんな大自然を感じる時刻表ですからバスは使えず、悩みに悩んだ末に目的地の最寄り駅(JR 篠山口駅)にレンタサイクルを発見。期せずして総走行距離フルマラソン越えのサイクリング採集が決行されることとなったのです。

サイクリング採集！聞こえは実に素晴らしく楽しそうですが、採集にはウェダー(防水の胴長)やバケツ、網など多くの荷物が必要となるた

め、実際は「積載物法律スレスレサイクリング採集」です。特に問題なのは網で、あの長い柄の部分は~~街中でヤバい人感を出すだけでなく~~自転車に積む際も足を引っ張ります。網を自転車に合法的に乗せるとなると籠に縦に突き刺して固定する以外に方法がなく、こうすると~~まるで貧相な大名行列のような~~大変奇妙な集団が発生します。当日見かけた方は忘れてください。なお、道路交通法及び兵庫県道路交通法施行細則第7条によると積載物について、

・幅は積載装置の幅に0.3メートルを加えた数値以下であること
・長さは積載装置の長さに0.3メートルを加えた数値以下であること
・高さは積載装置に積んだ時に地面から2メートル以下であること

と記載がありますから、高さに関しては本当に法律ギリギリな訳です。

さて、経緯はこのくらいにして、まずは採集当日の愉快な1日について振り返っていきます。

3．採集

9時過ぎに最寄りである篠山口駅に到着し、無事にレンタサイクルを借りることができました。この際、係のおじさまに「レンタサイクルの返却時刻を超過したらどうなるのか」という旨の質問をしたところ「超過したらダメ」というごもっともなご指摘をいただきました。この瞬間、『走れメロス』の実写化が確定したのです。

篠山城跡

X川の様子

初めに向かったのはX川で、道中で運良く史跡である篠山城跡を横に眺めながらの移動となりました。~~決してわざと見える道を通った訳ではありません。~~篠山城跡を通り過ぎて十数分走ったのち、突然の豪雨に見舞われました。一時雨宿りするために停車したものの停車した瞬間に雨がやみ、嬉しいのか虚しいのかよくわかりません。そうして辿り着いたX川ですが、いざ採集！と意気込んで始めたものの降りるとオオカワジシャをはじめとした外来水草の楽園。早々に未来が見えました。

数十分採集して得られたのは4匹のアカハライモリのみ。カワムツとカワヨシノボリはたくさん採れましたが、それ以外は何も採れませんでした。ハズレです。

これ以上X川で採集しても何も得られないと察し、早々にY地区に向

かうことになりました。そのとき H.H.に事件が。サイクリングの準備をしていた時のことです。ウェダーを脱ぎ、

問題の電気柵

靴に履き替えようと自転車のサドルと農地の柵に手をかけた瞬間、突如として彼の左手から心臓を通り右手へと衝撃が駆け巡ったのです。その直後の彼は硬直と痺れで思考が停止していました。ふと我に返った時、手をかけた柵が電気柵であったことに気がついたのです。よくもまあこんなところに電気柵を設置したな、看板くらい立てろよ、そんな文句の 1 つでも言いたいものでした。しかしよくよく考えてみると、雨が降りしきる中、自転車のサドルと電気柵に手をかけ感電する人間なんて普通居ないですよね、~~彼が全て悪いです~~。

ニホンアナグマ

ここで H.H.がスマホを開くと、なんと充電 2%。充電残量の推移を確認すると、60%から 2%へ垂直に落下した崖のようなグラフが見られました。~~これだから旧機種は。~~さて、X 川から Y 地区までは前述した通り 12.1km ですが、その道中、国道沿いを走行していると本採集最大の功績とも言える発見がありました。そう、中型哺乳類、ニホンアナグマのご遺体です。このご遺体はまだ硬直も始まっていない死にたてホヤホヤの素晴らしい状態で、ロードキル(自動車との事故死)にあった個体でした。この段階で回収すると後の移動に響くためまた帰りに訪れることとしました。可愛いアナグマにお別れした後、心臓破りの山道をヘロヘロになりながら乗り越え、途中のコンビニで軽く昼食を済ませて Y 地区に到着しました。

Y 地区には今回の目玉であるオヤニラミをはじめとした渓流魚が生息しています。採集を始めるために降りる場所を探しました。が、そこは頑丈な護岸の渓流。よくよく考えてみると降りられる場所などあるわけもなく。支流から降りようかとも考えましたが、本流との合流部近くに金網が張られ我々の侵攻を阻止しています。それより本流側は道路の橋で、立ち尽くすしかありません。そこで一言、「この金網降りられるの

では？」。ここは行ける！そう確信し、いざ採集開始。.....ハイ、またハズレです。オヤニラミはおろか、魚の生命感がまるで感じられません。マドジョウらしき魚は1匹だけ捕獲できましたが網の穴から抜け出し幻になり、結果的な成果は読んで字の如く0です。ロケーションこそ命感じる美しい渓流でしたが、見掛け倒しでした。再び数分の集中豪雨にも見舞われ、採集の意欲を完全喪失してしまった一行は意味もなく支流の遡上を開始。途中アミメアリの大群に遭遇したり、隣接していた田んぼのマスを探る悪あがきをしたりしたものの、結局帰路に着くことになりました。来た道をそのまま引き返し、アナグマと感動の再会を果たします。所持していたゴム手袋を用いてアナグマを回収し、二重にしたビニール袋に入れてなんとか漕ぎ出したまでは良かったものの、時刻を確認するとなんと返却最終時刻の 30 分前！期待通りの『走れメロス』状態です。行きと全く同じ道にも関わらず幾度となく道に迷うという苦難を乗り越え、なんとか3分前に到着し返却を果たした感動ストーリーは全米の涙を誘います。以下、到着時の係のおじさまとの会話です。

おじさま「（アナグマ入り袋を指して）それはなんや？」

私たち「ヤバいやつです。」

おじさま「ヤバいやつか。ハッハ」

理解のある大人で助かります。アナグマを途中で購入したクーラーボックスに移し替え、電車に乗車して帰宅しました。~~二度と開けたくない。~~

こうして成果がイモリとアナグマという結果に終わった採集遠征ですが、開拓の難しさを実感させられることとなりました。次の章では、なんとかして持ち帰ったアナグマの解体について述べていきます。

4．アナグマの解体

(1) 解体の目標

本解体の目的は剥製と骨格標本の2つを作製することです。アナグマは中型哺乳類で取り除かなければならない筋肉や脂肪が多く、特に複数の段階を踏むことが必要な剥製では完成までに長期的なスパンを見据えなければなりません。

~~ちなみにアナグマは非常に皮下脂肪が多く美味であることが知られています。~~

また、アナグマの全長、つまり鼻から尾の先までの長さを計測したところ 78.5cm でした。

なお、アナグマの体内にはどんな未知のウイルスが潜んでいるかわからないので、解体の際にはゴム手袋を2枚以上装着し、白衣を着用し

て行いました。

(2) 3 月 22 日

さて、このアナグマを処理するためには、まず部に持ち込まなければなりません。電車に持ち込む相手は外気温に完全に依存して保管された、腐敗している可能性が非常に高い代物です。まだ冬の寒さが残る春とはいえです。ただ持ち帰ったのが夜であったことや、急遽購入したクーラーボックスに保管していたことよって、夜の寒さが常に充満していた可能性もわずかにあります。そこに賭けるしかありません。

解体前のアナグマ

さあ部室に着きました、パンドラの箱を開けるときです。鼻を近づけます。獣臭が漂いますが、そこまでではありませんでした(慣れてしまっていた可能性もあります)。

仰向けのアナグマ

部室内で 2 日間常温放置されたアナグマを解体するのは流石にはばかられたので、風通しが良く日光の遮蔽された部室手前でビニールシートを敷いて行いました。流血や体表のダニなどの除去も含め一度洗った方が良いと考え、水を汲んだクーラーボックスへの入浴、そしてお湯をかけての殺菌を行いました。最初こそ~~まるでアッサムティーのように~~赤く染まっていた湯船も、水を入れ替えて 4 回ほど入浴させるとその色は薄くなり、給湯ポット 2 台体制でお湯をかけて殺菌も行ったアナグマはよりいっそう可愛さを増しています。

腹部を開いた様子

さあ、洗い終えたらいざご開帳です。サバイバルナイフと解剖バサミを使用して解体していきますが、まずは仰向けにしたアナグマの内臓が見えるようにサバイバルナイフで腹部の皮と身を切って開きます。腹部に切れ込みを入れ、皮と筋肉の間に刃を入れて開いていきます。内臓がよく見えるくらいまで皮を剥ぎ、腸

に付随する血管や膜を取り除いてみると、想像以上に内臓がぐちゃぐちゃです。ここらへんから腐敗臭がかなり強くなってきて、~~この臭いは腐ったイチゴの臭いが強力になった状態にかなり似ています。~~名称が判断できる臓器は肺、心臓、胃、腸とかろうじて肝臓のみでした。あまりにも乱れているため内臓の特定を諦め、内臓は全てそのまま取り出すこととしました。

乱れた内臓

肋骨に隠されている心臓と肺以外の内臓をあらかた出し終えたら、ここからは地獄の作業が待っています。そう、除肉です。除肉は皮や骨の周りの筋肉や脂肪を除去していく作業で、皮と骨を両方きれいな状態で確保する必要のある今回の製作では避けては通れません。前述した通りアナグマにおいて必要な除肉量は非常に多く、これ以降の日の作業は当分除肉になります。取り出した肉はほぼ馬刺です。~~美味しそうですね。~~また皮下脂肪の厚みが想像以上で、この部分を切り出す際は非常に快感で至高の時となります。しかし調子に乗っていると皮も一緒に切ってしまい穴が開いてしまいました。

内臓を摘出した様子

この日行った部位は主に右後足ですが、肉球部分をそのままのこして皮を剥ぐのに苦労し結局その部分をクリアできないまま帰宅となりました。

(3) 23 日

22 日終了時

22 日からは冷凍庫で保存していたのですが、ここでアナグマを凍らせて保存すると解凍にかなり時間がかかり作業時間が短くなる上、筋肉がシャーベット状になって除肉をしにくくなるということが判明します。とはいえ、保存方法は冷凍庫以外になく、かつ凍らせると臭いが比較的抑えられるという利点もあったのでこれ以降も作業時以外は冷凍庫にて保存しています。この日は主に肋

骨の除肉を行いました。

(4) 26 日

24 日に神戸市立博物館にて開催されていたミイラ展を観に行ったことが影響し、脳を鼻腔から摘出できるのではないかと迷走していましたが、そもそも鼻孔が狭すぎるので諦めました。除肉を全て行ってくれるような優しい「現代に生きるミイラ技師」はいないのでしょうか。

またこの日は背骨周辺の除肉を行いました。この際神経と骨の違いがつかず、冷や汗をかきながらの作業となりました。背骨の裏、背中の貫通を目指しましたが、このとき冷凍によって我々を拒絶するように固まってしまった前足やシャーベット状の筋肉が障害となり、この日中の開通は遂に成し遂げられることはありませんでした。

休日返上で睡眠時間を切り詰めて除肉を行う生活は最高です。今年の新語流行語大賞は「除肉」で間違いありません。

(5) 28 日

この日は行き詰まっていた肉球部分を解決するため、本職の剥製技師が剥製を作製している動画を視聴しましたが、ここで驚愕の事実が判明します。その動画ではなんと肉球部分を維持するために足の膝関節部分で骨を切断し、剥製において脛骨はそのまま足の中に残していたのです。剥製と骨格標本の両立が非常に怪しくなってきましたが、「肉球部分も少しずつ手作業で除肉する」という気が遠くなるような方針でとりあえずは進めることにしました。~~これでは現代に生きるミイラ技師どころか、現代を象徴する社畜です。~~

28 日終了時

また、この日は背骨の周りの除肉も行い、遂に背中側が貫通しました。非常にめでたいことです。

さて、この除肉作業において一番辛いことはなんでしょうか？臭い？作業量？いいえ、腰痛です。本来なら吊り下げて行うはずの解体作業を、器具と排水の都合上アナグマを地面に置いて行っているため、作業中は常にしゃがんでいることになります。長時間しゃがんだまだと当然腰がバッキバキになりますし、28 日に至っては実験の待ち時間で暇になった S 君が背中に乗りかかってきてもう最悪です。この劣悪な労働環境を改善するため、椅子を 2 つ並べてその上に俯く形で横になって除肉を行うという作業体勢が編み出されます。しかしこの「スーパーマン飛行体勢」には致命的な欠点があ

って、遠目から見るとはっきり言って完全に変人なのです。目撃した文化委員の方は忘れてください。お願いします。また、話しながら作業していると当然笑うこともあるわけで、俯いた体勢で笑うと肋骨が圧迫されてとても安定して作業している場合ではなくなります。みなさんも人生で一度くらいは陥った経験があるのではないのでしょうか。いや一緒にすんな~~しばくぞ~~とお思いになった方はすみません。

(6) 今後

4 日間解体に取り組みましたが、まだまだ除肉すら終わっていない状況です。目標である骨格標本、そして剥製の完成を目指し、今後も頑張っていきたいと思います。

5. おわりに

あなたがこの文章を読んでいるということは、この記事は無事採用されたのでしょう。果たしてこれは採集記なのかという話はさておき、無事に記事を書き終えられたことに安堵しています。

問題の骨格標本及び剥製が今年の文化祭で展示されていることを願いつつ、このあたりで筆を置かせていただきます。最後までお読みいただきありがとうございました。

警報物質に対するキンギョの反応の観察

高校１年　岡本　龍太郎

1．はじめに

部の水槽で泳ぐキンギョ
（撮影 ： 筆者）

私は、吉田将之氏の著書『魚だって考える』を読み、骨鰾上目と呼ばれる分類群の魚はウロコの外側にある表皮の中に警報物質というフェロモンを持つということを知った。この警報物質の流出は表皮を傷つける捕食者の存在を意味し、警報物質を受容した魚は恐怖を覚え、水底を這うように泳ぐ、仲間と密な群れを作る、動きを一時的に止めるなどの行動を見せるという。この実験では、前述の骨鰾上目に分類されるキンギョを用いて、キンギョの表皮から抽出した警報物質に対する反応を調べた。

2．今回使用した生物について

・キンギョ(*Carassius auratus*)

飼育魚としてポピュラーなコイ科フナ属に属する魚。野生の魚と異なり臆病ではないため、魚に刺激を与える実験に向いている。今回の実験では、大型魚の餌として飼育されることの多い子赤という品種を用いた。

3．実験 1

(1) 用意したもの

・キンギョ 5 匹

・メス、乳棒、乳鉢、実験用の水槽、フナ用の餌

(2) 実験手順

①実験に入る前に、キンギョの 1 分間のエラの開閉を計測する。

②警報物質を採取するためのキンギョを 1 匹水槽から出す。

③出したキンギョの表皮をウロコごとメスで採取し、乳棒で潰す。

④実験用の水槽に潰した表皮を入れる。

⑤実験用の水槽に餌を入れる。

⑥4 匹のキンギョを一匹ずつ実験用の水槽に入れ、反応を見る。

(3) 実験結果

エラの開閉は手順⑥から 1 分後までのデータである。食欲並びにキンギョの行動は長くても 10 分後までの観察によるものである。

	エラの開閉(/分)	食欲	キンギョの行動
実験前	18 回	旺盛	特に異常なし
1 匹目	34 回	減衰 (すぐ回復)	端に固まる 急な突進
2 匹目	56 回	旺盛	口の開閉多い 壁に向かって止まる
3 匹目	77 回	旺盛	特に異常なし
4 匹目	40 回	旺盛	端に固まる 胸鰭激しく動く

(4) 考察

まずエラの開閉についてであるが、キンギョなどの被食者は普通恐怖を感じると心拍数や呼吸数が減少するということが先行研究で分かっており、今回の実験結果はそれに矛盾している。この原因について、キンギョが新しい水槽に移されたために興奮しエラの開閉が増加したのではないかと考察できる。

食欲については、1 匹目では減衰しているもののすぐ回復し一時的に餌を口にしなかっただけであり、他のキンギョの実験結果を見る限り警報物質がキンギョの食欲に影響を及ぼしているとは考えにくい。

キンギョの行動については、端に固まる、壁に向かって止まるなど逃避行動と認識できる反応もあったが、急な突進や胸鰭の激しい動きなど、ただ新しい水槽に移されたために興奮していると考えられる反応も見られた。3 匹目に至っては普段と何も変化なく泳いでおり、個体によって様々であることからキンギョが警報物質に対してどのような反応を示すかという問題に対して結論を出すことは難しい。2　匹目の口の開閉については、水槽内での酸素の不足が原因として考えられるが、他のキンギョがそのような行動を見せていないためエサを求めていたものと考えられる。

この結果を受けて、新しい水槽に移されたことによる興奮が実験結果に大きく影響していると考え別の実験を行った。

4．実験 2

(1) 実験手順

①実験に入る前に 4 匹のキンギョを実験用の水槽に移し替え、しばらく泳がせて水槽に慣れさせる。

②1 匹を取り出し、メスで表皮に 2 ㎝ほどの切れ込みを入れる。

③水槽に戻し、他の 3 匹のキンギョの反応を見る。

(2) 実験結果

次ページの写真 1～4 の順に、表皮に切れ込みを入れられた個体を水槽に戻してから 10 秒後、1 分後、3 分後、4 分後に撮影したものである。黒い矢印が指しているのは表皮に切れ込みを入れられた個体である。

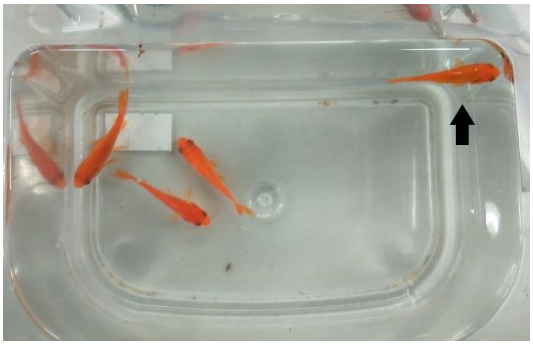


写真 1

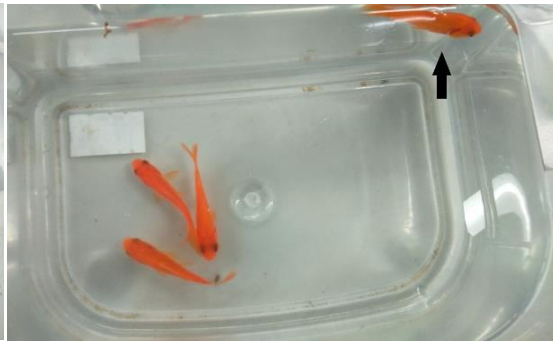


写真 2

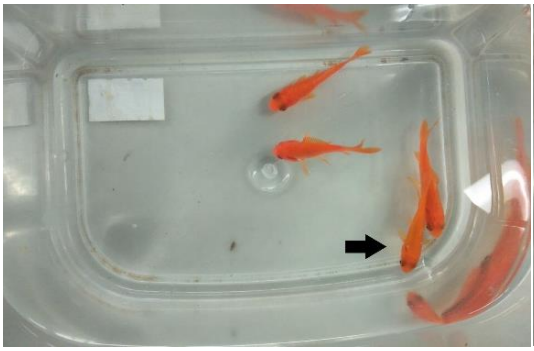


写真 3

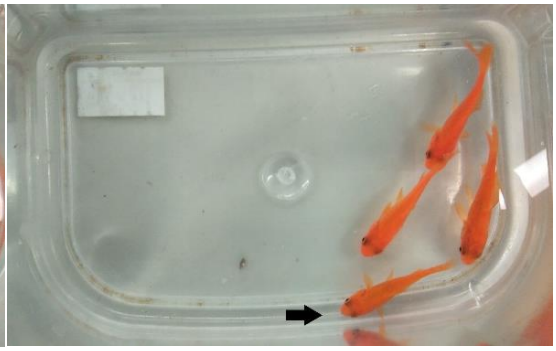


写真 4

(3) 考察

写真 1、2 から分かるように、切れ込みを入れられたキンギョは他の 3 匹から離れたところで固まっている。この実験ではこの状況が 2 分ほど続いていた。

しかし、切れ込みを入れられたキンギョは水槽に移されてから 5 秒ほど経った後、自主的に端へ移動していた。他の 3 匹は切れ込みを入れられたキンギョの表皮から流出する警報物質に何の反応も示さず、実験前と変わらぬ様子で泳いでいた。一方で切れ込みを入れられたキンギョも 2 分ほど端で固まっていたものの水面に近い表層のところにおり、水上の捕食者からも狙われる小魚の行動としてこれを逃げていると認識することは難しい。しかも写真 3、4 からわかるように、切れ込みを入れられたキンギョはその後何もなかったかのように他の 3 匹と群れている。

5．おわりに

1つ目の実験と2つ目の実験のどちらでも、キンギョは警報物質に恐怖を感じていないと考えられる結果が出ている。もしかすると、常に飼育下に置かれていたキンギョは同じ群れの個体でも警報物質に反応しないのかもしれない。

今回の実験で参考文献、及び先行研究に書かれていた内容と大きく乖離した結果が出て非常に困惑している。また、この部誌を書きながらこうなってしまった原因を模索しているが、なかなか思いついていない。

また、この記事を書き終わったのは4月2日で提出期限から4日も経ってしまっていた。他の生物研究部員の方々、特に校閲者の方に多大な迷惑をかけてしまったことをこの場を借りて深くお詫び申し上げたい。

6．参考文献

吉田将之『魚だって考える』 築地書館 2017

吉田将之“魚類における恐怖・不安行動とその定量的観察”
https://www.jstage.jst.go.jp/article/hikakuseiriseika/28/4/28_4_317/_pdf/-char/ja
(2022-4-2 最終閲覧)

PCR のすゝめ

高校 1 年　佐々木　慧

1. はじめに

新型コロナウイルスでよく聞く(もう聞かないかもしれないが)PCR とは何をやっているのか、あまり理解していない人も少なくないだろう。そこで今回は、お酒に強いか弱いかの判断材料となる ALDH2(2 型アルデヒド脱水素酵素)遺伝子を PCR で増幅させながら、PCR の理論も説明していこう。

2. DNA とは

PCR とはつまるところ、DNA を増幅する作業である。では、そもそも DNA とはなんだろうか。DNA(デオキシリボ核酸 Deoxyribonucleic acid)は遺伝情報を担う物質であり、人間の体を構成するタンパク質の設計図である。細胞内の核の中には染色体があり、その中に DNA がある。DNA は、デオキシリボースという糖と、リン酸と塩基から構成されており、塩基にはアデニン(A)、グアニン(G)、チミン(T)、シトシン(C)の 4 種類がある。これらの塩基は図 1 に示すように A と T、G と C がそれぞれ水素結合により相補的に結合をしており、二重らせん構造を取る。

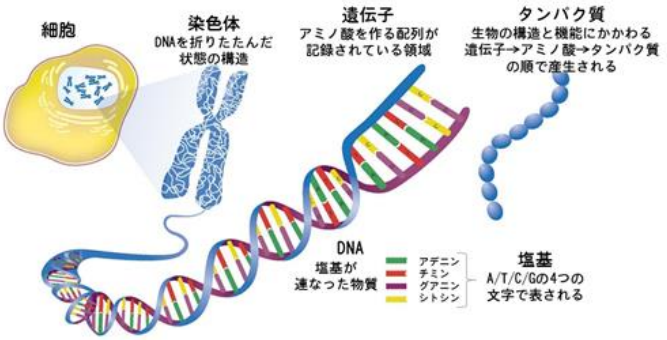


図 1　DNA の構造

3. DNA 抽出

まず PCR を行うには、増幅したい DNA (鋳型 DNA と呼ぶ)を採取する必要があるので、ISOHAIR EASY というキットを用いてヒトの毛髪からヒト DNA を回収する。この段階で回収した DNA は そのまま PCR に使うことが出来る。

以下にプロトコルを示す。

(1) −20°C で保存してある ISOHAIR EASY を室温で融解し、転倒混和した後スピンダウン(数秒間遠心分離をし、チューブ内の溶液をチューブの底に集めること)して氷上に静置する 。

(2) DNA を抽出する毛髪を用意し、不純物を取り除く。

①1.5ml チューブにエタノールを 300μl 加える 。

②はっきりと毛根が認められる毛髪を 3 本採取する(自然脱毛した毛髪

では上手く抽出できない可能性があるので、その場で引き抜く)。

③採取した毛髪 3 本は、毛根部から 1.5 cm 程のところで切断し、エタノールを加えたチューブに毛根部 3 本をピンセットで入れる。

④チューブを数回転倒混和して毛根部を簡単に洗浄した後、毛根部をキムワイプ等の上に取り出してエタノールを蒸発させる。

(3) 毛根部から DNA を抽出する。

①0.2ml チューブに ISOHAIR EASY を 50μl 加える。

②さらに 3.(2)で得た毛根部をチューブに加える。

③サーマルサイクラーを用いて、チューブを 55°C で 20 分間と 94°C で 10 分間インキュベートする。インキュベート後は速やかに 4°C に冷却する。

④ピペッティングした後、不溶物をとらないように上清を 1.5ml チューブに移し、DNA 抽出液を得る。

⑤これで鋳型 DNA が採取できた。

4. PCR

(1) 理論説明

抽出した DNA サンプルを用いて PCR を行う。この PCR では、135bp(塩基対のこと)の領域を増幅する。反応液の調製は氷上で行う。PCR では、まず温度を約 95°C に上昇させることで二本鎖の鋳型 DNA の水素結合を切断し、一本鎖に熱変性させる。次に、60°C 程度に下げる。この時、DNA 鎖は二本鎖に戻ろうとする。しかし、反応液に加えたプライマー(DNA を伸長する際、DNA の合成開始点になる物)は、元の DNA よりも短く、量も多いため、元の DNA が二本鎖に戻るよりも優先して鋳型の DNA に結合する。この際、プライマーは塩基の A-T、G-C の相補性によって増幅したい領域の末端にくっつく。この段階をアニーリングという。次に、約 70°C にし、DNA ポリメラーゼを活性化させることで、プライマーから元の DNA の相補鎖を合成する。この段階を伸長反応という。これで DNA 量が 2 倍になった。つまり、理論上はこの操作を n 回行うと DNA 量は 2^n 倍になる。

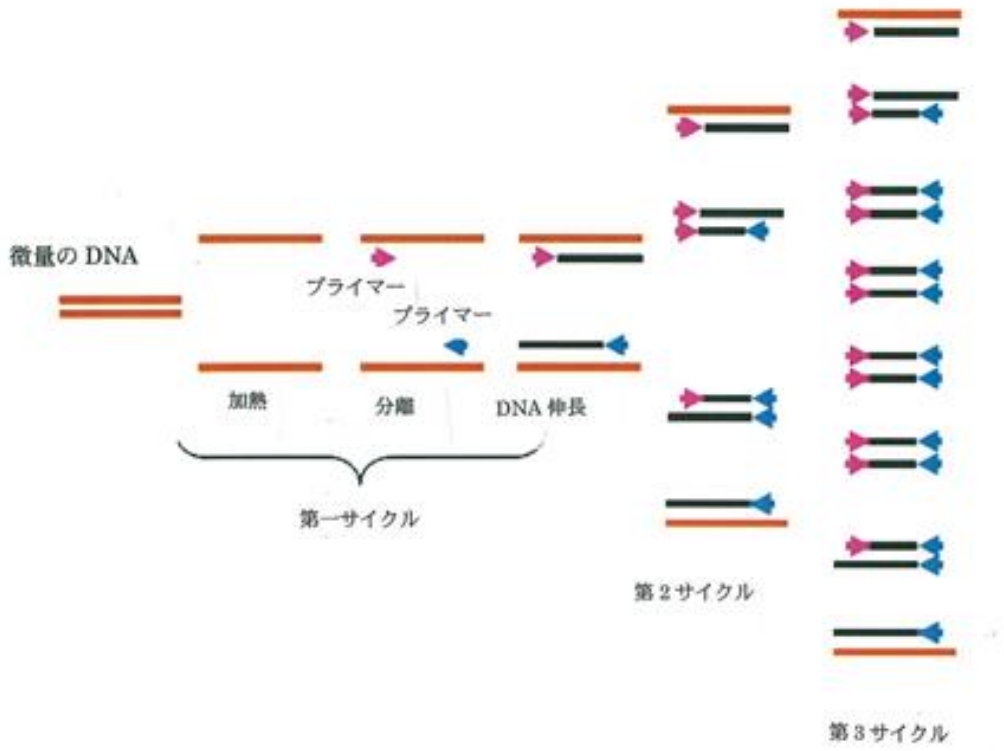


図 2　PCR サイクルの説明

(2) PCR に必要な物

①鋳型 DNA

これがないと増幅はできない。

②プライマー

鋳型 DNA に相補的な塩基配列を持つ合成オリゴヌクレオチド(短い一本鎖 DNA)である。増幅したい領域を挟む 2 か所に結合するものを使用する。

③DNA ポリメラーゼ

伸長反応の際 DNA を合成する酵素。

④バッファー

DNA ポリメラーゼが最適な環境で働くことができるよう pH や塩濃度を整えるために必要。

⑤マグネシウムイオン(Mg^{2+})

耐熱性 DNA ポリメラーゼが働くために必要。

⑥dNTP

DNA を合成するために必要な原料。dATP、 dGTP、 dCTP、

dTTP の 4 種類からなる混合物である。

(3) プロトコル

①凍結したバッファーやプライマーは室温で融解して混合し、氷上に設置する。すべての試薬類をスピンダウンする。

②1.5ml チューブに表 1 の通り(鋳型 DNA 以外の)試薬を加え、マスターミックスを作る。本実験では 2 種類のプライマーセットを使うことに注意する。つまり、Primer Fw(Forward)と Primer Rv(Reverse)-N を使って野生型アリル(対立遺伝子、親から子へ遺伝子が伝えられる時にお互いにどちらか一方が選ばれるような関係にある遺伝子のこと。例えば、ヒトの ABO 式血液型の A 遺伝子、B 遺伝子、O 遺伝子など)の有無を調べる。また、Primer Fw と Primer Rv-M を使って変異型アリルの有無を調べる。

表 1　PCR 反応液の組成

滅菌水	30.1μl
10x Gene Taq Universal Buffer	5.0μl
dNTP Mixture	4.0μl
Primer Fw(100pmol/μl)	0.2μl
Primer Rv-N または Primer Rv-M(100pmol/μl)	0.2μl
Gene Taq NT	0.5μl
鋳型 DNA	10μl
Total	50μl

チューブ内の溶液が飛散している場合はスピンダウンする。

③マスターミックスを穏やかにピペッティングして、0.2ml チューブに入れる。

④鋳型 DNA を加える。

⑤以下の条件で PCR を行う。チューブの蓋をしっかり閉めないと、溶液が蒸発してしまうので留意する。

98℃	1 分	
98℃	20 秒	35 サイクル
60℃	20 秒	
72℃	45 秒	
72℃	5 分	

⑥これで DNA が増幅できた。

5．電気泳動

(1) 理論説明

増幅したDNA サンプルをアガロースゲル電気泳動にかけ、DNA を分けることで目的の遺伝子が増幅できたかどうか確かめる。なぜ DNA を分けることができるのだろうか。まず、アガロースを緩衝液(TAE バッファー)に溶かし、固めるとアガロースが網目状になる。

そして、右の図3が電気泳動装置である。黒色のコードが陰極で、マイナスに帯電している。

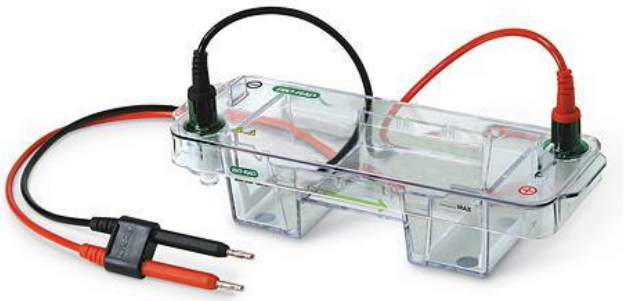


図 3　電気泳動装置

DNA を構成しているヌクレオチドは図 4 のようにリン酸残基によりマイナスに荷電している。アガロースゲルに DNA を添加し、緩衝液(TAE バッファー)中で電気を流すと、DNA は陽極(赤色のコード)に移動する。この時、大きい DNA はアガロースゲルの網目構造に引っ掛かりやすくゆっくりと動くのに対して、小さい DNA はより速く動く。この原理を利用して DNA を分離する方法がアガロースゲル電気泳動である。

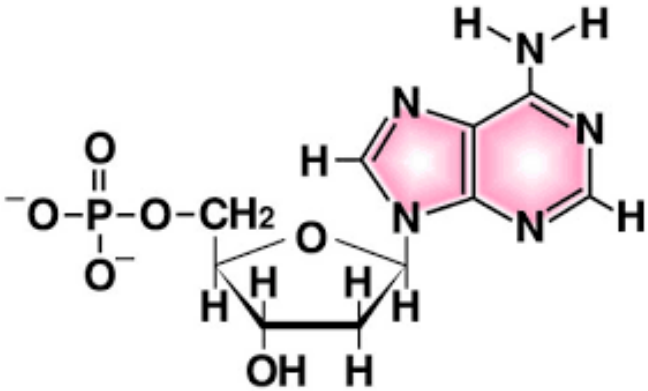


図 4　ヌクレオチドの構造

(2) プロトコル

①3%アガロースゲルを用意する。

②ゲルを泳動槽にセットして、1×TAE バッファーを注ぐ。

③PCR 反応液とローディングバッファーを 5:1～10:1 の割合で調整する。

④ウェルに合わせて 10～20μl アプライする。

⑤100V で電気泳動する。ローディングバッファーの紫色がゲル端 1 ㎝

に来たらやめる。

⑥Gel Green(核酸染色色素)で後染めする 。

⑦波長 470nm のライトで照射してバンドを撮影する。

6. 実験結果

4. (3)の実験をしたものを電気泳動したところ、図 5 の結果が得られた。右からラダーバンドごとに DNA の塩基数が決まっており、試料 DNA の塩基数がわかる。筆者の N(野生型)、筆者の M(変異型)、筆者の父の N、筆者の父の M、筆者の母の N、筆者の母の M)。ラダーの一番下のバンドのあたりに、ずらっと 6 個うすくバンドが出ていることが確認できる。これは図 6 にあるように筆者、筆者父、筆者母ともに MN 型(NN 型はお酒に強く、MN 型はお酒に強くも弱くもない。そして MM 型はお酒に弱い。)である可能性もあるが、PCR がうまくいかずプライマーが残っており、それがバンドとなって出ている可能性がある。その

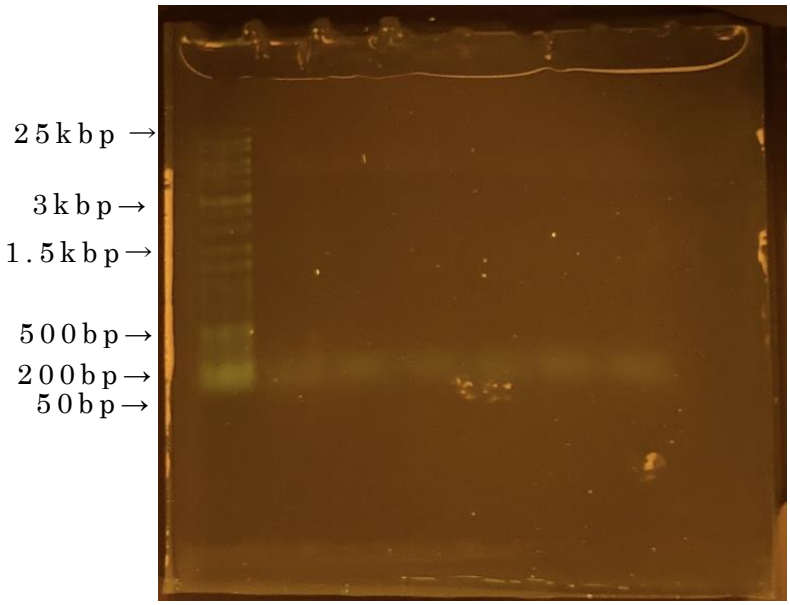


図 5　電気泳動結果

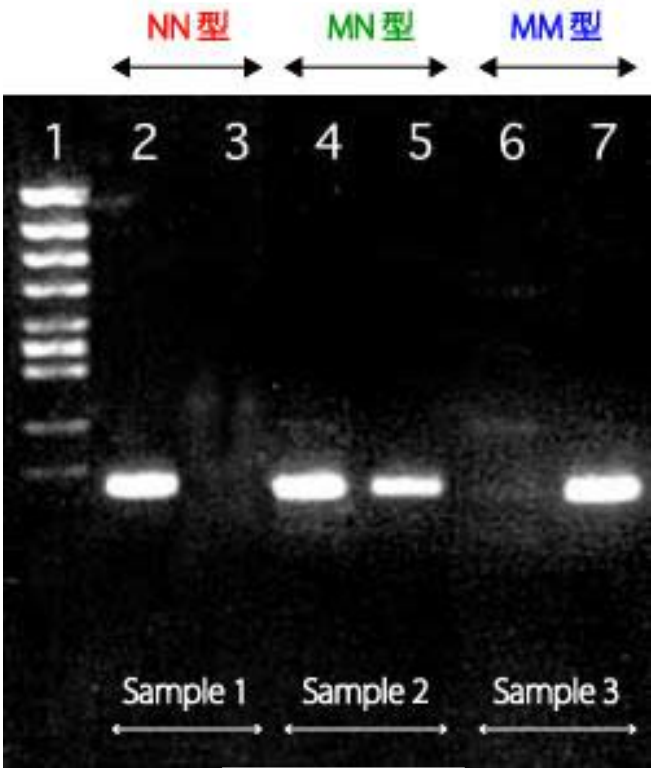


図 6　増幅例

可能性を調べるために、分光光度計で DNA が本当に抽出できているか調べた。

7. 分光光度計

(1) 分光光度計とは

分光光度計とは、分光器と光検出器を組み合わせた構造をもち、波長を順次変化させながら単色光ごとの光の強さを検出してスペクトル分布を測定する装置である。これを使うと資料のスペクトル分布を調べることができ、スペクトル分布を見れば目的の物質の有無や量が分かる。

(2) 結果

図 7 は、3.(3)で得られた試料を分光光度計にかけた結果である。図 8 は DNA のスペクトル分布である。両者を比較すると、おそらく 3.(3)で DNA は抽出できていたものの、濃度が非常に薄かったと思われる。その結果 PCR がうまくできず、プライマーの余りが図 5 の 2～7 列目バンドの正体であり、3 人とも MN 型であるから前述の結果が出たのではないかと推測される。

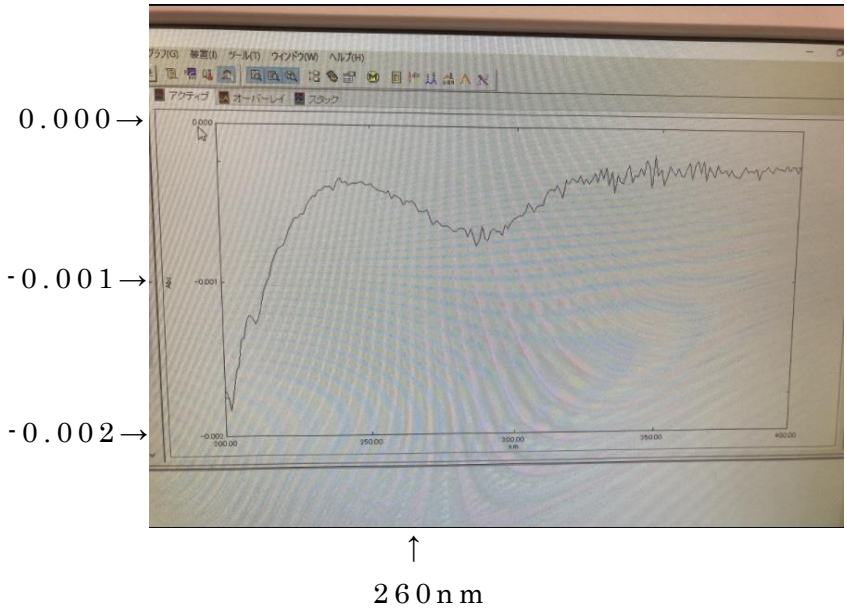


図 7　3.(3)試料のスペクトル分布

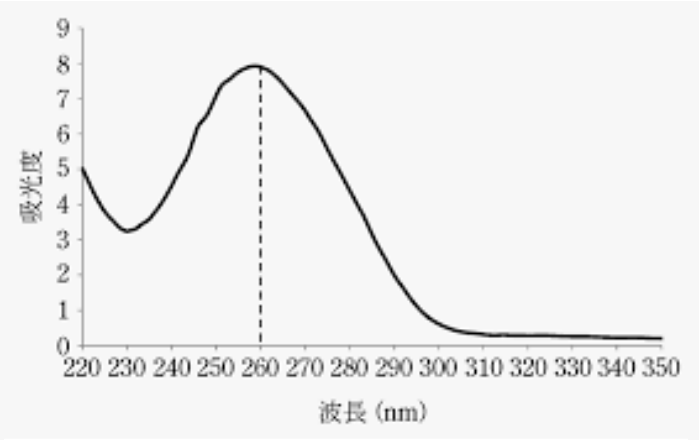


図 8　DNA のスペクトル分布

8．おわりに

今回はおそらくDNA抽出の時点でうまくいっていなかったため失敗してしまったと思われるが、PCRは目に見えないDNAの違いを可視化してくれるすごい技術である。今後、DNA抽出をやり直し、それでも結果が出なければDNA抽出方法のアプローチを変えて実験を続けていきたい。

9．参考文献

タカラバイオ　PCR実験の手引き
https://www.takara-bio.co.jp/research/kensa/pdfs/book_1.pdf
(最終閲覧日 2022-3-31)

花粉管の観察未遂

高校２年　荒木　仁

１．はじめに

「今年の部誌のテーマは何にしようかな」と考えながら駅から学校まで歩いていると、ふと目に留まったのは咲き始めのサクラでした。そんなサクラからインスピレーションを受けた今年の部誌のテーマは「花粉管の観察」です。

本記事では、採取した花粉の花粉管を顕微鏡を用いて観察する実験を行います。使用する花粉は、校門前に咲いているソメイヨシノと、生物研究部の部室前に咲いているアセビのものです。

２．植物の受精の仕組み

成熟した花粉は花粉管細胞と雄原細胞からなります。花粉がめしべの柱頭に付着すると発芽し胚珠の方向に花粉管を伸ばします。多くの被子植物では、花粉管内で雄原細胞が分裂し２個の精細胞が生じます。２個の精細胞のうち一方は卵細胞と合体して受精卵となり、もう一方は中央細胞と合体して胚乳細胞を形成します。これを「重複受精」と呼びます。

胚珠が裸出している裸子植物では雄原細胞から繊毛をもった２個の精子が形成されます。２個の精子のうちの１個が胚のう内の卵細胞と合体することで生じた受精卵が発生して胚を形成します。重複受精は起きず、胚乳は胚のう内の細胞が増殖することで形成されます。

3.今回使用した植物について

(1) ソメイヨシノ（*Prunus × yedoensis*）

ソメイヨシノは日本でもっともよく知られているサクラで、エドヒガンとオオシマザクラの雑種です。全国各地に木が植えられており、神戸では毎年３月下旬から４月上旬にかけて薄ピンク色の美しい花を咲かせます。

(2) アセビ(*Pieris japonica*)

アセビは３月から５月にかけて、複総状の花序を垂らし、白色やピンク色の花を咲かせます。常緑樹であり、公園や道路沿い等に飢えられていることが多いです。

３．準備した物

・水 100mL
・寒天粉 1g
・砂糖 11g
・ソメイヨシノとアセビの花粉

4．実験方法

(1) 水 100mL に寒天粉 1g と砂糖 11g を加え、かき混ぜながら温めて寒天粉と砂糖を溶かします。

(2) (1)で作った溶液を数滴スライドガラスに乗せて冷え固まるのを待ち、人工培地を作ります。

(3) 花粉をスライドガラス上の人工培地に乗せます。

(4) 花粉管が伸びる様子を顕微鏡で観察します。

5．実験結果

図 1、図 2 のように花粉を観察することはできましたが、花粉管を観察することはできませんでした。

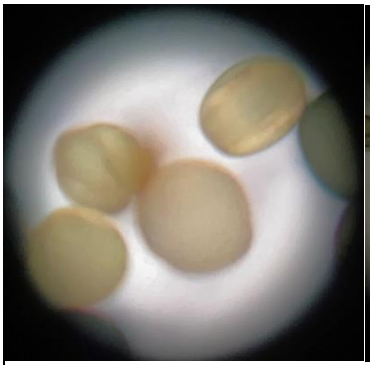


図 1(サクラの花粉)

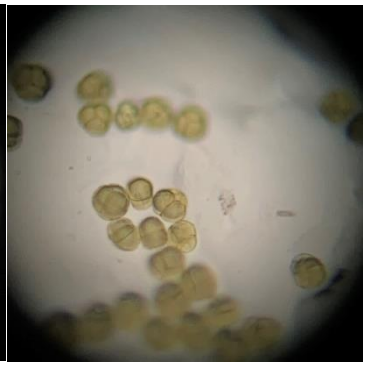


図 2(アセビの花粉)

6．おわりに

今回の実験では花粉管の伸びている様子を観察することはできなかったので、次回は寒天粉や砂糖の量を調節し、人工培地をより柱頭に近い環境にすることで、花粉管の伸びている様子を見たいと思います。

ちなみに、本記事を執筆しているのはちょうど桜が満開の頃です。え、もうその頃は部誌の提出期限を過ぎてるって？~~気にしたら負け~~

最後まで読んでくださりありがとうございました。

7．参考文献

・吉里勝利ほか 20 名『高等学校改訂生物』第一学習社　2021 年 2 月 10 日発行

・“花粉管は核がなくても胚珠に辿り着く ～世界で初めて核を持たない花粉管の作出に成功～”横浜市立大学 https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2021/202104maruyama_NatCommun.html, 最終閲覧日 2022 年 4 月 7 日

合法的トビ方ノススメ

高校２年　紀ノ岡　秀
中野　翔太
E.H.
mtk

1．はじめに

人間は色々な物に頼って生きている。中でも薬や漢方は人間の体に作用し体の調子や精神を整えたりすることができ、吉にも凶にも働く。

今回我々は花屋に普通に置いてある花や草にもそのような作用を持つものが多くあることを知り、その作用を確かめてみることにした。

なお実験の内容は喫煙行為には該当しないので違法ではないが、喫煙に類似する行為があるため、公の場に示すにはよくないと思い念のため中野の成人済みの従兄弟 1 人に協力してもらうことにした。そしてこの記事は未成年のタバコやアルコールなどの薬物や、大麻などの違法薬物の摂取を推奨する物ではないので以下の実験内容は絶対に真似しないようにしていただきたい。

写真 1(ロベリアの花)

2．実験内容

(1) 概要

煙を冷やしゴミを取り除くために、ボングやシーシャと呼ばれる喫煙具と同じ構造をした物を作り、ロベリアという興奮作用や多幸感や嘔吐の作用があるとされる植物を乾燥させて粉々にした物を、火皿の部分に乗せライターで炙って吸った。その効果を報告する。

写真 2(上の花を乾燥粉砕したもの)

ロベリアは別名インディアンタバコと呼ばれ、昔のアメリカでは嘔吐剤として使われていた。ロベリンという物質には気管支を広げる作用があり、使いすぎると低血圧にな

り最悪死に至る。とは言っても、塩にも砂糖にも、どんな物にも致死量はあるものだ。どうやらアホみたいな量でなければ死んだり救急車で運ばれたりすることはないようだ。しかし我々は万が一に備え、少量から徐々に量や回数を増やして実験することにした。

(2) 用意したもの

・ペットボトル 1 つ
・タピオカ用ステンレスストロー2 本
・生クリーム絞るときに使う金具 1 つ(写真 3)
・グルーガン
・ライター
・目の細かいザル(写真 4)
・水
・成人済みの従兄弟

写真 3

写真 4

※金属部分のパーツには絶対に変な塗装が使われているもの、銅や鉛のような毒性の強い金属を含むものを使わないようにする必要がある。

(3) 実験手順

①熱した金属棒を使いペットボトルの蓋の部分と側面に 1 つずつ穴を開ける。
②2 つの穴にステンレスストローを差し込みグルーガンで接着する。
③蓋の部分のステンレスストローに、ちょうどよく加工した生クリームを絞るときに使う金具を差し込みハンマーで叩き接着する(火で炙るため絶対にグルーガン、プラスチック、接着剤などでくっつけてはいけない)。
④目の細かいザルの底を切り取りちょうどいい大きさに切りとる。③で作った部分にちょうどよく収まるように差し込む(ロベリアが火皿からペットボトルに落ちないようにするため)。
⑤ペットボトルに水を入れる。
⑥火皿部分にロベリアを乗せライターで炙りブクブクと吸う。

写真 5(完成した装置)

(4) 実験結果

従兄弟によると、多幸感や興奮をはっきり感じることはなかったが、いつもと違う感じが少しだけしてふわふわした気分になったようだ。もしかしたら気持ちよかったかもしれない。また、同時にほんの少し吐き気を感じていたかもしれない。

左：写真 6(ロベリアを乗せた後の様子)
右：写真 7(火を点けた後の様子)

(5) 考察

ロベリアの中のロベリンという物質が水によく溶けるため、上記の装置では水に溶けてしまいあまり効果を感じることが出来なかったのかもしれない。なので、巻きタバコ用の巻紙を使うとより効果が得られるかもしれない。

また、情報が少ないため、君子危うきに近寄らずということで躊躇し、少ない量で試したのが良くなかったのかもしれない。

3. おわりに

我々が実際に経験したわけではないのでわからないが、従兄弟は面白かったと語っていた。今後も、法に触れない物で似たようなことをしても面白いだろう。最後まで読んでいただきありがとうございました。

カフェインが短期記憶に与える影響について

高校２年　S.T.

1．はじめに

私はカフェインがマウスの短期空間記憶に与える影響について研究を行っています。特に昨年は諸般の記憶評価法についてその仔細をまとめ、比較の上遅延空間 win-shift 課題で以て評価を行うことを決めました。その後研究を進め、成果を得ることができたため本稿にて報告します。

2．記憶についての概要

記憶には大きく「記銘(符号化)」「保持」「想起」の３つの過程が存在し、これらのいずれか１つでも欠けると記憶として成立しないと考えられています。記銘は情報を取り込んで記憶情報として形成するまでの過程を、保持は情報を貯蔵する過程を、想起は情報を思い出す過程を指します。これに基づくと、例えば私達が「特定の物事を認識していながらもその名前を思い出す事ができない」状態は、「記銘と保持はできているが想起ができていない」状態だと言い換えることができるのです。

また、記憶は保持できる期間に応じて「短期記憶」と「長期記憶」に分類される場合があります。初め、全ての記憶は短期記憶として記銘されますが、固定化という手順を踏んで長期記憶へと変化します。長期記憶には一度想起されると再び不安定な状態になるという特徴があるほか、短期記憶の容量には制限があるのに対して長期記憶の容量には制限がないという差異も認められています。

一方で、環境に対する主観的なイメージに関する記憶は空間記憶と呼ばれ、これは短期記憶、長期記憶のいずれであるかに依りません。更に、空間記憶の評価法として主に用いられる８方向放射状迷路課題(Olton & Samuelson (1976)による)を遂行する上で用いられる記憶行動として、空間記憶は空間作業記憶と空間参照記憶に分けられる場合があります。８方向放射状迷路課題では例えば、試行間で共通の複数走路の先端に報酬となる餌ペレットを配置し、これらを選択させる手法がとられますが、この場合動物が効率よく課題を解決するには、自身が既にその試行で進入した走路はどれであるか、或いはどの走路に報酬が配置され、どの走路に報酬が配置されないかという２つの事項を記憶する必要があります。以下では前者に関する記憶を空間作業記憶、後者に関する記憶を空間参照記憶とし、また以下でこれらの用語が使用された場合は例外なくこの定義に従うものとします。

3．実験内容

(1) 実験に用いたもの

実験を行うにあたって使用したものは以下の通りです。

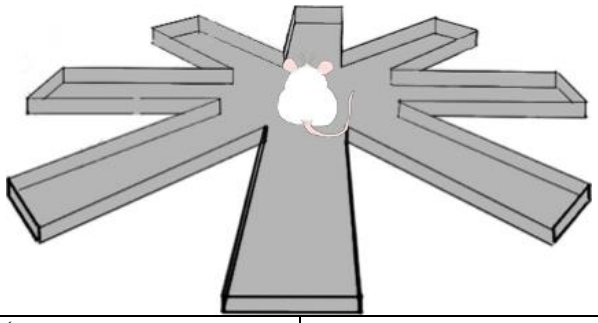
・8 方向放射状迷路

・カフェイン水和物粉末

・マウス用給水器

・餌ペレット

なお、8 方向放射状迷路には各走路への進入口にギロチンドアを、各走路の先端に餌ペレット用のカップを備え付け、中央のホーム区画からはカップの内部の餌ペレットの有無を確認できないようにしました。大きさについての詳細は以下の通りです。



走路長さ	300mm
走路幅	80mm
走路ガード高さ	20mm
ホーム区画大きさ	200mm*200mm
土台高さ	400mm

(2) 使用動物

実験は 4 月齢のマウス *Mus musculus*（いずれも JF1 系統と考えられるが、近交系であるかどうかは不明）をコントロール群とカフェイン摂取群に分けて行いました。両群は共に同じ温度、湿度並びに昼夜サイクルの下で飼育し、実験開始 7 日前まで水並びに餌を自由に摂取させ、以降は給餌量を制限し体重を制限前の 85%に保ちました。また、カフェイン摂取群では実験開始 3 日前に給水器内の水を濃度 0.8mmol/L のカフェイン水溶液に交換し、カフェインを継続的に経口摂取させました。なお、カフェイン摂取群において、この変更以前と以後では給水器からの摂取量に変化は見られませんでした。

(3) 実験手順

今回、空間作業記憶ならびに空間参照記憶を評価するにあたってマウスに課した課題は遅延空間 win-shift 課題と呼ばれるもので、特に第2章にて言及した8方向放射状迷路課題と比較してより短期的な空間参照記憶を評価することができるとされています。具体的な手順は以下の通りです。

①学習訓練

遅延空間 win-shift 課題は空腹状態の動物による餌の探索行動を利用したものであるため、当該課題にあたらせたマウスには事前に食餌制限を課し、実験が終了するまで体重を平常時の 85%程度に保ちました。また、学習訓練として全ての走路の先に餌ペレットを置き、ギロチンドアを全て解放した状態の8方向放射状迷路をマウスに探索させる試行を1個体あたり1日1回、計10日間繰り返し、迷路への馴化を図りました。この間、迷路の周囲には目印となる物体を多数配置し、実験が終了するまでこれらは動かしませんでした。

②訓練試行・保持試行

学習訓練を行ったマウスには1個体あたり1日1回、遅延空間 win-shift 課題を課しました。当該課題では訓練試行を行った後マウスをケージに戻し、5分経過したのち保持試行を行います。訓練試行の具体的な手順は以下の通りです。

(a) 全走路の先端に報酬として餌ペレットを配置する

(b) ギロチンドアで任意の4走路への進入を制限する

(c) マウスを中央のプラットフォームに置く

(d) 進入可能な4走路にある報酬を採り終えるか5分経過するまで探索させる

保持試行の具体的な手順は以下の通りです。ただし報酬の位置は動かさないものとします。

(e) 全てのギロチンドアを開放する

(f) 残っている報酬を全て採り終えるか5分経過するまで探索させる

ここで、訓練試行エラー数、試行間エラー数、試行内エラー数の3数値を計測し、訓練試行エラー数及び試行内エラー数を短期空間作業記憶の指標として、試行間エラー数を短期空間参照記憶の指標として用います。なお、この3数値の定義は以下に従うものとします。

訓練試行エラー数 = 訓練試行において一度進入した走路に再進入した回数

試行間エラー数 = 保持試行において訓練試行で進入した走路に再進

入した回数

試行内エラー数 = 保持試行において一度進入した走路に再進入した回数

(4) 統計の手法

両群の各エラー数は全て正規分布に従うと仮定し、この下で各エラー数についてウェルチの t 検定を用いて比較します。

ウェルチの t 検定では、まず比較する両群 $X_1,\ldots,X_m$ および $Y_1,\ldots,Y_n$（それぞれサンプルサイズは m、n）について標本平均$\bar{X}$および$\bar{Y}$、ならびに不偏分散U_XおよびU_Yを求め、検定統計量 t_0 を $t_0 = \frac{|\bar{X}-\bar{Y}|}{\sqrt{\frac{U_X}{m}+\frac{U_Y}{n}}}$ によって算出します。また、t 分布の自由度νは $\nu = \frac{\left(\frac{U_X}{m}+\frac{U_Y}{n}\right)^2}{\frac{U_X^2}{m^2(m-1)}+\frac{U_Y^2}{n^2(n-1)}}$ によって算出されますが、これは小数値を取りえるので、ν が 10 以上の場合は小数部を切り捨て整数部のみを使用し、10 未満であれば少数自由度の t 分布表を利用します。

以上の計算から得られた自由度ν及び事前に定めた有意水準αを t 分布表に照らし合わせて t 値の臨界値を導き、これと t_0 を比較することで以て、2 群間で得られた差異が有意であるか否かを判断します。なお、以下では $\alpha = 0.05$ として結果を算出しています。

自由度m ＼ α	0.1	0.05	0.025	0.01
1	3.078	6.314	12.706	31.821
2	1.886	2.920	4.303	6.965
3	1.638	2.353	3.182	4.541
4	1.533	2.132	2.776	3.747
5	1.476	2.015	2.571	3.365
6	1.440	1.943	2.447	3.143
7	1.415	1.895	2.365	2.998
8	1.397	1.860	2.306	2.896
9	1.383	1.833	2.262	2.821
10	1.372	1.812	2.228	2.764
11	1.363	1.796	2.201	2.718
12	1.356	1.782	2.179	2.681
13	1.350	1.771	2.160	2.650
14	1.345	1.761	2.145	2.624
15	1.341	1.753	2.131	2.602
16	1.337	1.746	2.120	2.583
17	1.333	1.740	2.110	2.567
18	1.330	1.734	2.101	2.552
19	1.328	1.729	2.093	2.539
20	1.325	1.725	2.086	2.528
21	1.323	1.721	2.080	2.518
22	1.321	1.717	2.074	2.508
23	1.319	1.714	2.069	2.500
24	1.318	1.711	2.064	2.492
25	1.316	1.708	2.060	2.485
26	1.315	1.706	2.056	2.479
27	1.314	1.703	2.052	2.473
28	1.313	1.701	2.048	2.467
29	1.311	1.699	2.045	2.462
30	1.310	1.697	2.042	2.457
31	1.309	1.696	2.040	2.453
32	1.309	1.694	2.037	2.449
33	1.308	1.692	2.035	2.445
34	1.307	1.691	2.032	2.441
35	1.306	1.690	2.030	2.438

t 分布表 ：株式会社サイエンス社
公開 PDF(本稿末尾に記載)より一部抜粋

4. 実験結果

(1) 訓練試行エラー数、試行間エラー数、試行内エラー数

計測された両群の訓練試行エラー数、試行間エラー数、試行内エラー数は以下の通りです。

コントロール群				カフェイン摂取群			
ID	訓練試行er	試行間er	試行内er	ID	訓練試行er	試行間er	試行内er
1	1	3	0	1	0	1	1
2	0	2	0	2	0	1	0
3	1	0	0	3	0	1	1
4	1	2	0	4	1	2	0
5	0	2	0	5	1	0	0
6	0	2	0	6	0	1	2
7	4	3	3	7	0	1	1
8	2	1	5	8	0	1	1
9	1	2	3	9	0	3	0
10	0	2	0	10	1	0	0
11	0	2	1	11	0	2	0
12	1	1	0	12	0	3	1
13	1	3	0	13	0	0	0
14	0	2	*	14	1	0	0
				15	0	1	0
				16	0	1	1
				17	2	3	0
				18	1	0	0
				19	0	1	1
				20	2	1	2
				21	0	1	0
				22	0	0	0
				23	0	0	0
				24	0	1	0
				25	1	2	1
				26	0	3	1
				27	1	3	1
				28	0	1	0

ここで、*をつけたサンプルはコントロール群における試行内エラー

数のUCL(上方管理限界)である6.5を上回るため、外れ値として除外して計算します。

①訓練試行エラー数

コントロール群における訓練試行エラー数の標本平均は0.857143、不偏分散は1.208791、またカフェイン摂取群における訓練試行エラー数の標本平均は0.392857、不偏分散は0.395503ですから、検定統計量 $t_0 \approx 1.465$、自由度 $\nu \approx 17$が得られます。このとき t_0 は$\nu = 17$、$\alpha = 0.05$のときのtの臨界値1.740を下回るので、両群の訓練試行エラー数の差異は有意とは言えません。

②試行間エラー数

コントロール群における試行間エラー数の標本平均は1.928571、不偏分散は0.686813、またカフェイン摂取群における試行間エラー数の標本平均は1.214286、不偏分散は1.063492ですから、検定統計量 $t_0 \approx 2.421$、自由度 $\nu \approx 32$が得られます。このとき t_0 は$\nu = 32$、$\alpha = 0.05$のときのtの臨界値1.694を上回るので、両群の試行間エラー数の差異は有意と言えます。

③試行内エラー数

コントロール群における試行内エラー数の標本平均は0.923077、不偏分散は2.74359、またカフェイン摂取群における試行内エラー数の標本平均は0.50、不偏分散は0.407407ですから、検定統計量 $t_0 \approx 0.891$、自由度 $\nu \approx 14$が得られます。このとき t_0 は$\nu = 14$、$\alpha = 0.05$のときのtの臨界値1.761を下回るので、両群の試行内エラー数の差異は有意とは言えません。

5．考察

(1) 実験結果から示唆されること

第4章にて示されたように、本実験では、カフェイン摂取群における試行間エラー数はコントロール群における試行間エラー数と比較して有意に小さな値をとったものの、訓練試行エラー数ならびに試行内エラー数については有意な差は見られませんでした。第3章の②を踏まえると、以上の結果はカフェインの継続的な経口摂取が短期空間参照記憶を優位に働かせる一方、短期空間作業記憶には大きく影響しないことを示唆していると言えます。

(2) 遅延空間win-shift課題の問題点

マウスが遅延空間win-shift課題にあたる際、時計回り、ないし反時計回りの向きに隣り合う走路のみを順に選択しているような行動が確

認されました。このような行動をとっている時、マウスは自身の空間記憶に基づかずに走路選択を行っている場合があります。本実験においてこのような行動は稀でしたが、頻度によっては実験結果に大きな影響を及ぼす場合も考えられるため、サンプルの精査が必要だと考えられます。

6. おわりに

本稿ではカフェインがマウスの短期空間記憶に与える影響について、その研究成果を述べました。しかし、動物実験が「マウスを始めとする種々の動物はヒトと生命原理を同じくしており、それらから得られた知見は、多少の差異こそあれ基本的に人間にも適用することが可能である」という事実に基づいて行われていることを鑑みれば、今回の実験を通して得られた知見もまた人間に応用できると考えられます。

他方、認知症の進行緩和や治療法に注目が集まっている現在、記憶分野の研究もまた盛んにおこなわれています。近い将来、記憶分野の研究が進み、様々な成果が挙げられることを期待します。

7. 参考文献

・迷路 - 脳科学辞典（最終閲覧日 2021/3/25）
https://bsd.neuroinf.jp/wiki/迷路
・学習・記憶行動の評価法（最終閲覧日 2021/3/24）
https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/130/2/130_2_112/_pdf
・放射状迷路を用いた Delayed spatial win-shift 課題による空間作業記憶の評価（最終閲覧日 2021/3/23）
https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/129/6/129_6_457/_pdf
・記憶の分類 - 脳科学辞典（最終閲覧日 2021/3/20）
https://bsd.neuroinf.jp/wiki/記憶の分類
・Welch の t 検定 | 統計学の時間 | 統計 WEB（最終閲覧日 2022/3/28）
https://bellcurve.jp/statistics/course/9936.html
・t 分布表：-株式会社サイエンス社（最終閲覧日 2022/3/28）
t_distribution.pdf (saiensu.co.jp)
・マウス画像データベース（最終閲覧日 2022/3/30）
http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/AnimalCenter/mouseDB/index2.html

住吉川水生昆虫観測 2021

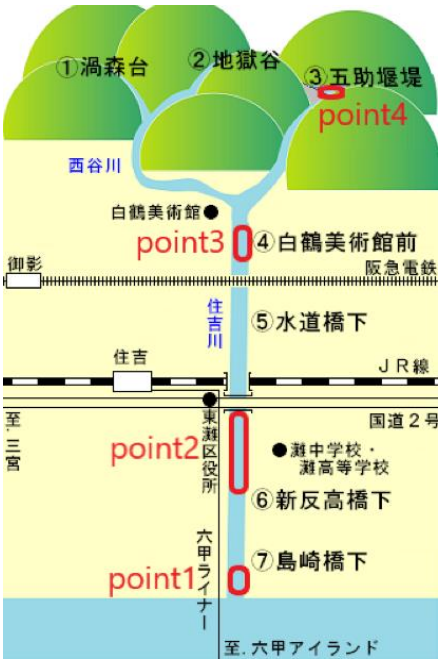
高校 2 年　鈴木　海聖

1. はじめに

住吉川とは六甲山地を水源とし、灘校のすぐ西を通って大阪湾へと流れ込む二級河川である。この記事は 2021 年度に住吉川で 1 年間継続的に行った水生昆虫観測の結果をまとめたものである。

2. 住吉川の環境

住吉川は六甲山の山間部を通り抜けると扇状地を形成し天井川となり大阪湾に注ぐ。流れが非常に急で長さが短いという特徴を持つ。生活排水が直接流入することがないため都市を流れる川とは思えないほど水がきれいである。きれいな水に生息する生物が多く見られ、都会に残された貴重な自然といえる。



図：住吉川の概略

3. 観測地点

今年度は 4 つのポイントに分けて調査を行った(ポイントの位置は右の地図を参照)。以下、各ポイントについて詳しく説明する。

(1) 河口付近(point1)

島崎橋付近から河口までの間。浜は含まない。いわゆる汽水域にあたるため住吉川では最も多くの魚種が生息しているが水生昆虫はほとんど見られないので、原則として本記事では扱わない(ただし 5 月 24 日は上流から流されたと思われる水生昆虫が見られたため観測記録に含めた)。

写真：point2 の様子
(2022 年 3 月筆者撮影)
(次の 2 枚も同じ)

(2) 中流域(point2)

国道 2 号線の下から反高橋までのエリア。灘校の西隣に位置している。瀬と淵が繰り返しており、岸はブッシュ(アシ原)で覆われている。ほとんどの場所で水深は 10cm から 30cm 程度だが、落ち込み部分では 70cm から 80cm 程度に達する。ここでは月に 1 回のペースで調査を行った。

(3) 上流域(point3)

白鶴美術館横のエリア。基本瀬のみで全体的に流れが急である。かつては全域がブッシュで覆われていたが、昨年の 11 月頃に下流側を中心にブッシュが刈られた。また、川幅が狭いため普段は水深 10cm から 30cm 程度であるが雨が降ってから数日は水位が普段と比べて10cm以上上がることもある。ここでも月に 1 回のペースで調査を行った。

写真：point3 の様子

(4) 源流域(point4)

五助ダム付近のエリア。住吉台くるくるバスの終点「エクセル東」で降り、そこから登山道を 20 分ほど歩いたところに位置する。上流側はほとんど草むらもなく流れが急で水深もかなり浅いが、下流側は淀んでおり場所によっては流れがほとんどない。今年の 3 月の調査では一部で草むらが刈り取られているのが確認された。ここではシーズンに 1 回のペースで調査を行った。

写真：point4 の様子

4. 観測方法

タモ網を使用し、石の裏や草むらの下を中心に観測した。人数は 7 人ほど、観測時間は 1 時間から 1 時間半を目安に行った。

5. 採集道具

・タモ網…川底の水生昆虫を取るには底に網を当てる必要があるためフレームの形は円よりもD型の方が好ましい。

・バット…採集した水生昆虫を入れるのに用いる。仕切りがあると捕食性の種と他の種を隔離でき観察にも便利である。

・拡大できるカメラ…標本にすると体色が変わる個体も多いためカメラがある方が望ましい。スマホでも代用可。

・小さめの容器(タッパーなど)…水生昆虫を持って帰るのに使用する。持って帰る際は水を入れるより湿らした落ち葉などを入れた方が水生昆虫の生存率が上がる。

6．観測結果

表の 10~はその種を容易に採集できると思われるものを表している。また 20~、30~、50~、100~は容易に採取でき 10~と示されている種類と比べ明確に多く採集されていると思われるものを表している。コカゲロウに関しては基本的に相当数が捕れるので数は記していない。

A	観測日	4月22日	4月26日	5月24日	5月31日	6月2日	6月7日	6月28日	7月20日	7月25日	9月15日
B	観測場所	2	3	1	3	2	2	4	3	2	2
C	気温	15.8	15	23.5	24.3	26.8	--	--	32.8	34.5	--
D	水温	17.3	11.3	17	18	19.2	--	--	24.2	26.5	--
E	天候	晴れ	晴れ	くもり	くもり	くもり	くもり	くもり	くもり	晴れ	くもり
1	コオニヤンマ		1		6	8	10~	1	1	3	4
2	コヤマトンボ	3	1		5	10~	7	1	10~	10~	6
3	オジロサナエ	2			2	1	4	8	1	1	2
4	ダビドサナエ		3		1	2	2	4	4	3	10~
5	キイロサナエ	3	1			1	4	1			1
6	アサヒナカワトンボ										
7	ハグロトンボ			1	1	2		1	1		
8	コシボソヤンマ	2	2	1		8	6	2			10~
9	フタオカゲロウ科										
10	ヒラタカゲロウ科	3					2				
11	マダラカゲロウ科	7	10~								
12	モンカゲロウ科	3	5					5			
13	チラカゲロウ科		5		6		1	5			
14	コカゲロウ科	○				○	○			○	○
15	カワゲラ科	10~	20~		2		1	10~			1
16	アミメカワゲラ科										
17	ニンギョウトビケラ科	1						2		2	
18	ナガレトビケラ科					5		10~			
19	ヒゲナガカワトビケラ科										
20	カクツツトビケラ科					1					4
21	カクスイトビケラ科	1									
22	アシエダトビケラ科										
23	ケトビケラ科					1					
24	ヘビトンボ	3	4	2	2	4	6	5	3	1	1
25	マダラガガンボ						2				
26	プユ科	3									
27	ヒラタドロムシ科										
28	マルガムシ										
29	モンキマメゲンゴロウ	2	3		1	4	6		2	2	1
30	ホタル科	1				2					
31	ミズムシ	1	10~				3				
32	イシビル	2	2								
33	ナミウズムシ	2	10~								
34	ユスリカ										
35	モクズガニ				5	5			5		5
36	サワガニ				3			2			
37	ミナミヌマエビ	20~	20~		50~	50~	20~	5	20~		10~
38	カワニナ	5					1		1		1
39	イシマキガイ					2					
40	ミミズ		1								
41	タゴガエル							4			
42	ツチガエル							4			

図：2021 年度上半期観測記録

水温は水面下 10 ㎝で統一して測った(温度計の故障等により気温、水温を測定できなかったことが何度かあった)。

7．水生生物の概要

ここでは今回の調査で確認された代表的な生物種を紹介する。

A	10月4日	10月21日	11月1日	11月3日	11月25日	12月13日	12月18日	2月7日	2月9日	3月16日	3月28日	3月28日
B	3	2	3	2	3	4	2	3	2	2	4	3
C	23.1	16	20.5	14.2	12.2	7.2	6	6.8	6.2	19.6	14.2	13
D	19.8	14.2	15.1	16	10.9	8	8.2	3.5	8.8	17.2	9.4	9.6
E	晴れ	くもり	くもり	晴れ	くもり	くもり	晴れ	くもり	くもり	晴れ	くもり	くもり
1	5			3	1	2		1			1	
2	7	7	6	3	3	5	1	3		1	3	
3	5		1	2		3		1	3		2	
4	20~		5	3	1	6	3	2	1	2	3	
5	1			1	1						1	
6			9	3	1	6	1	1	1		2	
7		2		3		1					2	1
8	10~	4	2	9	3			1				
9			2					5			4	
10				1		10~	1	7	10~	5	4	6
11		1				3	1	10~	4	5	30~	10~
12	4		3		10~	10~	4	7	5		10~	2
13						20~			1		9	2
14		○	○	○		○	○	○	○	○	○	○
15	8	3	10~	6	3	20~	20~	20~	50~	4	20~	
16					1			1			1	
17	2		1					1				
18	4		2	1		3					5	
19											3	
20	10~		1									1
21												
22								1				
23									1			
24	1	1	5			8	3	4	2	2	8	2
25	1		1			7		30~			1	
26						1		2				
27		1		1					1			
28	1											
29	2	1		2	1							
30												
31	2		2				3		1			
32		1		1						1		2
33												
34								1				
35	1	9	2	9			4		2			
36			1			1					1	1
37	50~	30~	50~	50~	100~	10~	50~	6	10~	20~		
38				4							3	50~
39						2						3
40												
41												
42												

図：2021 年度下半期観測記録

・トンボ目(表中 1~8)

コオニヤンマ(1)は「小さなオニヤンマ」という意味の名前だが、オニヤンマ科ではなくサナエトンボ科に属する。枯れ葉に擬態している。コオニヤンマ(1)はコヤマトンボ(2)と形態が似ているが触角の形で判別できる。オジロサナエ(3)、ダビドサナエ(4)も同様に判別できる。キイロサナエ(5)は細長く黄色がかっている。アサヒナカワトンボ(6)とハグロトンボ(7)では、後者の方が触角が長い。コシボソヤンマ(8)は捕獲されると背中を反らし動かず擬死状態になる。

写真：コオニヤンマ(1)(左)
コヤマトンボ(2)(右)

写真：オジロサナエ(3)(左)
ダビドサナエ(4)(中)
キイロサナエ(5)(右)

・カゲロウ目(表中 9~14)

フタオカゲロウ科(9)はすべてヒメフタオカゲロウ属だと思われる。ヒラタカゲロウ科(10)は平らな体をしており石の表面を滑るように動く。マダラカゲロウ科(11)は多くの種が一年一化(1 世代の周期が 1 年)なので 1 年のうち冬から春にかけてのみ幼虫が多く見られる。モンカゲロウ科(12)は砂地で多く見られ、住吉川には 2~3 種類生息していると考えられるが、今年度はほとんどが写真のモンカゲロウで一部フタスジモンカゲロウが見られた。チラカゲロウ科(13)は流れの速い場所の石の底に生息する。泳ぎが非常に上手であり、体をクネクネさせながら泳ぐ姿は非常にかわいらしい。

写真：ヒラタカゲロウ科(10)(左)
モンカゲロウ科(12)(右)

写真：チラカゲロウ科(13)

・カワゲラ目(表中 15~16)

カワゲラ科(15)の多くは写真のフタツメカワゲラだと考えられる。アミメカワゲラ科(16)には頭部後縁から各腹節の背面中央に 1 本の線状の斑紋がある。

写真：カワゲラ科(15)

・トビケラ目(表中 17~23)

ニンギョウトビケラ科(17)などは石で巣を作りその中で生活する。ナガレトビケラ科(18)の中にはいくつかの種が含まれるがムナグロナガレトビケラ、トランスクィラナガレトビケラが多く確認された。ヒゲナガカワトビケラ科(19)は巣を作り河床環境を変化させる。

写真：ニンギョウトビケラ科(17)

・その他の昆虫(表中 24~32)

ヘビトンボ(24)は羽が大きくカゲロウに似ており頭部が強く発達した頑丈な顎をもつ肉食昆虫である。ブユ科(26)はきれいな水に生息し、カよりも小さいが刺されると大きく腫れる。ヒラタドロムシ科(27)は甲虫で幼虫は水中の岩の裏などに生息する。住吉川に最も多くいるのはマルヒラタドロムシ属だが他の属がいる可能性もある。ナベブタムシは源流域にのみ生息する飛べない昆虫であり、例年 point4 で見られるが今年度は見られなかった。マルガムシ(28)は幼虫・成虫ともに観察された。ホタル科(30)はゲンジボタルだと思われる。放流の可能性もある。

写真：ヘビトンボ(24)

・昆虫以外の生物(表中 31~42)

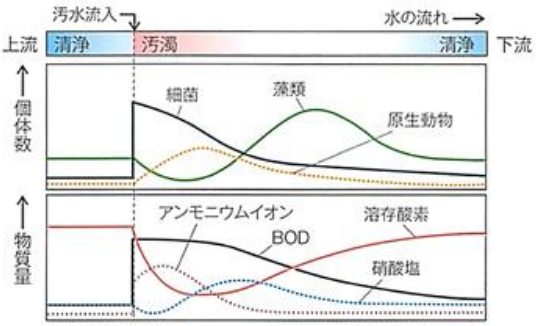
ミズムシ(31)は水生のワラジムシの 1 種で汚い水の指標となる。ナミウズムシ(33)はプラナリアと呼ばれきれいな水の指標となる。また切っても再生する性質がある。サワガニ(36)は日本固有の純淡水生のカニできれいな水の指標となる。カエルについては、タゴガエル(41) 、ツチガエル(42)の他にカジカガエルが過去に確認されている。

8．考察

住吉川では、過年度のデータと比較すると生物相の変化が見られる。変化の原因としては、上流のダムなどからの土砂の流出による草むらの減少、砂地の増加と河川工事の2点が主に挙げられる。前者については砂地に生息するサナエトンボ(3~5)などの水生昆虫の増加が、後者についてはブッシュの消失によるブッシュに住む水生昆虫の減少や水質変化に弱いナミウズムシ(33)やナベブタムシなどの減少などが影響として挙げられる。近年ブッシュが減少している箇所が見られる。

9．住吉川における付着藻類の増加について

昨年の秋頃から住吉川の河床で付着藻類の増加が見られている。これらの藻類は呼吸や河床からの剥離により水質を悪化させる可能性がある。ここではこの増加の要因について考察する。大きく分けて富栄養化、流速の変化による光の量の変化などが原因として挙げられるが、やはり上流部における地形の変化が関係していると考えられる。富栄養化による影響を調べるにはアンモニウムイオンや硝酸塩の濃度を測定する必要があるが、現段階では調査データが少なくはっきりした結果を得ることができなかったため詳細は割愛する。また、化学的酸素要求量(COD)や溶存酸素量(DO)を測定すると河川の環境を詳細に知ることができるため、藻類の増加の原因調査に役立つと考えられる。



図：自然浄化の模式図
(教科書より引用)

10．放流について

今年度は見られなかったが、住吉川では過去にキンギョ(ギベリオブナ)、オオクチバス、ブルーギル、ヒメダカ、コイ、ミシシッピアカミミガメなどが外来種として確認されている。住吉川は川の流れが速く確認されている個体数が多くないので、これらが定着する可能性が低いと思われるが、在来種への被害はないとは言えない。捕獲次第処分するようにしている。これらの生き物は住吉川に生息していてはいけない生き物であり対策の必要がある。

11．おわりに

この記事を書くにあたって多くの部員に協力してもらった。まずはそのことに感謝を申し上げる。昨年度に続き今年度の一番の反省点は知識

量の不足である。この記事では科までしか同定できない個体も多かったので、今後は図鑑等を活用してよりレベルの高い考察ができるようにしたい。また、今年度は調査から次の調査までの期間が長く空いてしまうことがあったが、来年度以降はペースを守って調査を行いたい。さらに、現在使用している網より目の細かいものを使用した調査や１つの水生昆虫についての研究、生物相の変化の要因についてのより詳しい考察にも挑戦したいと思う。この拙い文章に最後までお付き合いいただいたことを感謝したい。

12．参考文献

尾園暁 川島逸郎 二橋亮「日本のトンボ」文一総合出版 2012

谷田一三 丸山博紀 高井幹夫「原色川虫図鑑〈幼虫編〉」全国農村教育協会 2016

刈田敏 「水生昆虫ファイルⅠ」つり人社 2002

刈田敏 「水生昆虫ファイルⅡ」つり人社 2003

刈田敏 「水生昆虫ファイルⅢ」つり人社 2005

刈田敏三 「水生生物ハンドブック」文一総合出版 2010

水生昆虫写真館

https://www.eonet.ne.jp/~suiseikontyu/index.html

(最終閲覧日 ： 2022 年 3 月 28 日)

吉里勝利ほか 20 名 「改訂　高等学校生物基礎」第一学習社 2016

住吉川、武庫川における魚類観測結果

高校２年　善明　宗一郎

１．はじめに

今年も先輩方がやってこられた調査を引き継ぎ、灘校の真横を流れる住吉川にて観測を行った。また、一昨年度より続けている武庫川上流域での観測も行った。

２．観測を行った川

(1) 住吉川

六甲山南麓を起点とする全長約 3.5km の二級河川である。生活排水の流入がないため、都会を流れる河川とは思えないほど透明度が高い。護岸工事により両岸をコンクリートで固められているため、淡水魚の種類は少ない。

(2) 武庫川

丹波篠山市にて田松川と真南条川が合流する場所を起点とし、大阪湾に注ぎ込む全長約 66km の二級河川である。支流を含む流路延長は約 260km である。源流は愛宕山の西、標高約 500m の山中。調査回数が少ないため、今回の調査では個体数は調べず生息種のみ確認する。

３．観測地点

(1) 住吉川

４ポイントに分けて観測を行った。

①河口：河口(島崎橋)から砂浜の間

汽水~海水のため多くの種が生息する。水深は潮位によって変動するが観測時の潮位は平均 90cm 程度、水深は最も深い場所で 50cm 程度であった。カキ殻が散在し石をひっくり返す時に手を切らないように注意が必要である。

②中流：住吉橋から反高橋の間

灘校の真横のポイントである。ポイント全体がブッシュに覆われている。夏には水遊びをする親子が多く見られる。アユが遡上しているのもよく確認される。

③上流：白鶴美術館の横

川幅が狭いため、雨の後の数日は流れが速くなる。昨年の 11 月頃、下流側を

図：住吉川の観測地点

中心に一部でブッシュ(川岸のアシ原)が刈られた。

④源流：五助ダム付近

五助ダムは 1957 年に作られた砂防ダムで現在は土砂で埋まり、役目を終えている。水生昆虫が多く見られるポイントである。

(2) 武庫川

生態系保持(乱獲防止)のため、詳しい地点は明記しないが上中流域である。

4．調査方法

タモ網を使用して、ブッシュや石の下などの生き物が潜んでいそうな場所を中心に採取した。7 人程度で 1 時間半を目安とした。

5．調査結果

(1) 住吉川

①河口

日程	5/24	7/25	10/6	1/3	1/24	2/27	3/16
気温℃	23.5	34.5	20.5	13.2	5.2	4.7	19.8
水温℃	17.0	29.1	21.0	14.4	7.0	6.7	17.9
二ホンウナギ		2	1	2			
ボラ		3	4	20↑			30↑
スミウキゴリ	6		2	20↑		5	1
チチブ	13	1	5	3	8	30↑	4
マハゼ		9	6	1			
ヒナハゼ				3			
ミミズハゼ類	16	10↑	4	20↑		5	1
クロダイ		3	2	1			
イシガレイ							1

②中流

日程	4/22	6/2	6/7	7/25	9/15	10/21	11/3	12/18	2/9	3/16
気温℃	15.8	20.8		34.5		16.0	14.2	6.0	6.8	19.6
水温℃	17.3	19.2		24.2		14.2	16.0	8.2	3.5	17.2
カワムツ	40↑		15↑	20↑	20↑	50↑	40↑	25↑	4	1
タカハヤ	3	1	6	7	8	8			1	
スミウキゴリ	4									
カワヨシノボリ	20↑	50↑	30↑	30↑	20↑	20↑	30↑	40↑	20↑	30↑

③上流

日程	4/26	5/31	7/20	10/4	11/1	11/25	2/4	3/28
気温℃	15.0	24.3	32.8	23.1	20.5	12.2	6.8	13.0
水温℃	11.3	18.2	24.2	19.8	15.0	10.9	3.5	9.6
カワムツ	30↑	20↑	10↑	20↑	10↑	10↑	2	6
タカハヤ	4	15↑	1	1	1	20↑		1
カワヨシノボリ	20↑	20↑	8	30↑	10↑	6	20↑	10↑

④源流

日程	12/13	3/28
気温	7.2	9.4
水温	8.2	14.2
カワムツ	8	1
タカハヤ	4	
カワヨシノボリ	10↑	10↑

6．魚種

(1) 住吉川

①ニホンウナギ

河口域で稀にクロコ(体長10~15cm)サイズの個体が見られる。1年に1,2匹程、体長30~50cm程の若魚が採集される。サギ等に捕食されている様子がしばしば確認されている。

②カワムツ

数年前までは、稚魚や若魚が多く見られたが、ここ数年中流域にタカハヤが増え、本種の採集数が減少している。雄は成熟すると臀鰭が発達し、繁殖期には頭部前半部に追星が現れる。

③タカハヤ

上流域で多く見られる。ここ数年、中流域でも多く見られるようになった。カワムツと違い本種は全体的に茶褐色である。

④アユ

日本の清流を代表する魚である。住吉川でも、文化祭頃から遡上する様子が確認出来る。今回採集することは出来なかったが、多くの個体が目視されたため記しておく。

⑤ボラ

毎年３月頃になると、巨大な群れとなって河口に現れる。ハク→オボコ→イナ→ボラ→トドと、成長段階によって呼び名が変わる出世魚として知られている。幼魚は体が側扁していて、成魚とは見た目が大きく異なる。

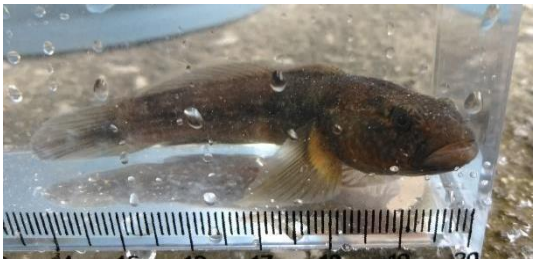
⑥スミウキゴリ

平べったい頭をしているのが特徴の魚である。河口域で多く見られる傾向がある。第１背びれの後縁に黒色斑が無いことで他のウキゴリ類と見分けることが出来る。

⑦カワヨシノボリ

住吉川で最も多く見られる魚類。石の下に潜んでいることが多い。他のヨシノボリ類と違い稚魚が海に降りないという特徴がある。

⑧チチブ



体が太く長いのが特徴。似た種にヌマチチブがいるが、本種は頭部の斑点が密に分布するため見分けることができる。縄張り意識が強く、単独で見られる。水槽に複数個体入れると縄張り争いが起きる。

⑨マハゼ

河口で多く見られる一般的なハゼ。天ぷらにすると美味であるため釣り人にも人気の魚である。水質汚染に強く、都会の川にも多く見られる。

⑩ヒナハゼ

成魚でも体長 3~4cm と非常に小さなハゼである。堆積した枯葉や貝殻の裏などに産卵する。そのため流れの少ない溜まりに多く見

られたが、昨年の海岸工事で溜まりがなくなり、あまり見られなくなった。

⑪ミミズハゼ類

ミミズハゼ類には現在 10 種程度が属するが、将来的には更に分類が進められると考えられる。また、既に分類されている種同士も鰭の形状に細かい違いがあるだけで同定が非常に難しいため、今回はまとめてミミズハゼ類とした。

⑫クロダイ

キチヌと酷似するが、鰭の下端色、背鰭・側線間の鱗の枚数等で見分けることが出来る。幼魚には明確な立縞がある。

⑬イシガレイ

砂浜などで良く見かけられるカレイ。マコガレイに比べると味は劣るものの大型化するため、釣り人に人気である。

(2) 武庫川

①スナヤツメ(南方種)

ヤツメウナギ類は成体になると、外洋の大型魚類に吸血することで有名だが、スナヤツメは純淡水性のため、成体になると摂食しない。

②ギンブナ

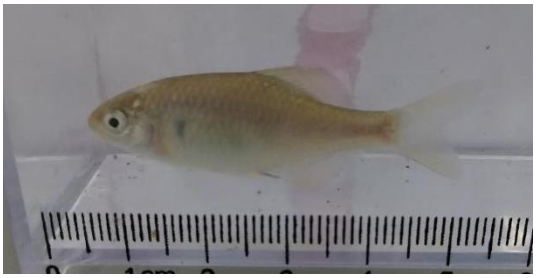
3 倍体のメスが多くオスがほぼいないと言われており、雌性発生することで知られている。しかし、精子による刺激が無いと発生が始まらないため、他のフナ類の精子を利用していると考えられている。

③タイリクバラタナゴ

ハクレンに混入して移入されたことで有名な外来種だが、綺麗であるため鑑賞用として販売されている。雌の産卵管がとても長く体長の 2 倍ほどある。1 年で成熟するということもあって生息域を急激に拡大しており、他のタナゴ類との競合が懸念されている。ま

た、ニッポンバラタナゴとの交雑が確認されている。

④アブラボテ



他のタナゴ類に比べ、全体的に褐色がかっている。また繁殖期である 4~8 月には褐色が濃くなり、雄の臀鰭に橙色の縦帯が現れる。また、ヤリタナゴとの交雑が確認されている。

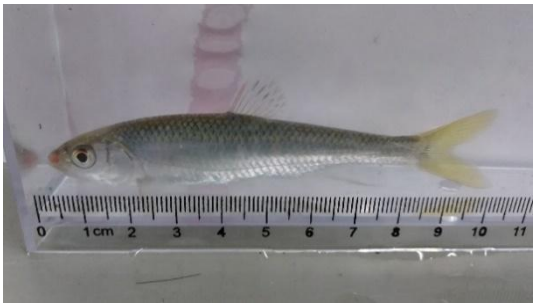
⑤ヤリタナゴ

タナゴ類の中では体高が低く、細長い。雌の産卵管は短く、繁殖時でも臀鰭の後端を超えない。

⑥カワヒガイ

体は細長く、頭長は短い「短頭型」である。また川鰉という字で書かれるが、これは明治天皇が食した際に好まれたためである。

⑦オイカワ



ある程度汚い川でも生息する。婚姻色が出るととても綺麗である。オスは成熟すると臀鰭が発達し、また少しの衝撃や温度変化で弱るので、飼育や搬送には注意が必要である。

⑧カワムツ

住吉川を参照。武庫川ではヌマムツと棲み分けを行っていて、カワムツはより流れの速い所に多い。

⑨ヌマムツ

分類前はカワムツ A 型と呼ばれていた。鰭の端が赤いことで、カワムツと見分けることが出来る。また、カワムツより鱗が細かい。生息域が開発の影響を受けやすいため、カワムツより減少率が大きい。

⑩ムギツク

ドンコやオヤニラミに托卵することで有名で、体側の黒い筋が特

徴である。幼魚期と繁殖期には群れていることが多い。

⑪タモロコ

河川の澱んだ場所や中下流域で多く見られる。

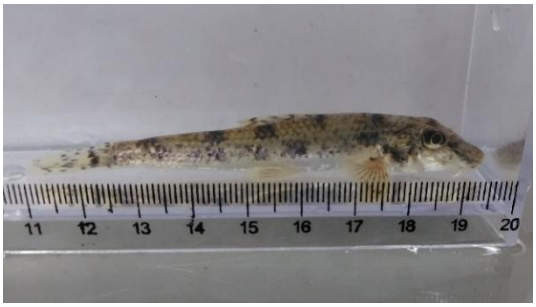
⑫ズナガニゴイ

ニゴイに似るが小型で体に黒色の斑紋が散らばる。また名の通り吻と頭が長い。河川本流に多く生息しているため、河川工事の影響を受けやすいということから、各地の地方版レッドデータブックに記載されている。

⑬ナマズ

マナマズと言われる日本で１番多く見られるナマズ。最大 70cm 程度まで成長する。繁殖は氾濫原など一時的水域で行われることが多いため、開発された河川ではあまりみられない。

⑭カマツカ

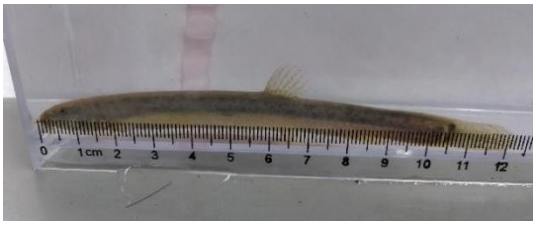


底砂の汚れに非常に弱く、飼育は難しい。2019 年に 3 種類に分類されたが、スナゴカマツカは分布より、ナガレカマツカは口髭と吻の形状より除外されるため、武庫川の個体は何も付かない「カマツカ」だと思われる。

⑮ドンコ

西日本の多くの川で見られる獰猛なハンターである。口に入る生物なら基本何でも襲う。ムギツクに托卵される。一部のハゼ類、カジカ類もドンコと呼ばれることがあるが、標準和名がドンコなのは本種だけである。

⑯ドジョウ



日本のマドジョウ。よく似た種にカラドジョウがあるが触覚の長さ等で判別出来る。泥底を好み、昼間は泥に潜って隠れていることが多い。

⑰チュウガタスジシマドジョウ

口髭は 3 対ある。背中線上には斑点列が並び、それらの間には左右 2 個の小斑点がある。

⑱オオシマドジョウ

他のシマドジョウ類と比べ大型化する。背面には不明瞭な暗色斑が、側面には明瞭な暗色斑が 1 列に並ぶ。

⑲ブルーギル

オオクチバスと並んでよく知られる特定外来生物であり、繁殖力がとても強く食欲が旺盛である。本ポイントではまだ数は多く無かったが、充分脅威となりうるため適切に処分した。

7. 最後に

昨年度は新型コロナウイルスの影響を受けつつも一昨年度と比較すると多くの観測を実施出来た。今年度も影響はあると予想されるが、可能な範囲で回数を増やしたいと思う。最後に観測に協力してくれた部員に感謝する。特に観測に皆勤で来てくれた高 2 の鈴木君には深く感謝する。最後までお読みいただきありがとうございました。

8. 参考文献

細谷和海「日本の淡水魚」(山と渓谷社、2019)

日本淡水魚愛護会：https://tansuigyo.net/[最終閲覧日 2021/02/21]

昆虫の擬態について

高校２年　鶴見　柑太

1．はじめに

この部報を手に取られているみなさんのほとんどが擬態というものをご存知だと思う。擬態にはいくつか種類があり、その事例に触れた後に擬態をする生き物の代表格とも言えるコノハムシを使った実験を紹介する。

2．擬態について

そもそも擬態とは、他の生物や無生物などとそっくりの形や色彩、行動をもち、第三者をだます現象のことである。その擬態にもいくつか種類があり、背景に似せ目立たなくする隠蔽的擬態と、目立つことにより捕食者、獲物を欺く標識的擬態がある。また、獲物を得る為に擬態するものを攻撃擬態と呼ぶ。

自身に毒を持つ生物のなかには、警戒色によって周囲に危険を知らせるものがあるが、それらの生物とは違う種が同じ警戒色を用いて捕食されないようにすることをベイツ型擬態と呼ぶ。

またその一方で、毒を持つ生物が互いに似通った体色をもつ擬態のことをミューラー型擬態と言う。ハチの仲間などが同じ黄色と黒色のストライプの体色をしていることなどが例として挙げられる。

ミューラー型擬態の中には特殊なケースとして、危険な生物がより危険が少ない生物に擬態しているように思われるメルテンス擬態というものである。ある強力すぎる毒を持つ生物が捕食されると捕食した側が死んでしまうので捕食者側には学習してもらえない。したがって、あえて死なない程度の毒を持った生物に擬態することで捕食を逃れていると考えられる。

また、ごく稀な例としてオーストラリアのハンマーオーキッドというランは、その花がある種のハチのメスの姿に似ていることで有名である。その種のオスがこの花を見つけると、花に抱き着いて交尾をしようとして、この時に花粉媒介を行う。

一般には、擬態は外見がモデルによく似ることをさすが、モデルが動物などの動くものの場合、動きが似ていなければ、外見が似ていても効果が薄い。そこで、擬態するものの動きや行動が、モデルそっくりになるものもよく見られる。

写真１：アリグモ

例えば、アリに擬態するアリグモ(写真 1)は、ハエトリグモの仲間であるにもかかわらず跳ねたりせず、せわしなく動く。また、本記事で紹介するコノハムシは危険を感じると体を前後にユラユラと動かし、木の葉がゆれるように見せかける。

2．コノハムシの生態について

コノハムシ科(*Phylliidae*)は現在 4 種類が確認されているが、中でも今回はコノハムシ(*Phyllium pulchrifolium*)を使って実験を行った。本種は東南アジア、インド、スリランカに生息しグアバやマンゴーの葉を主な餌としている。本種の名前の通り木の葉に擬態しており(隠蔽擬態)、その見た目は木の葉そっくりである。また単為生殖をすることができる昆虫としても知られている。

写真 2 ： コノハムシの幼

飼育下ではレモンリーフの葉を餌として与えている。また、本種は植物防疫法により国外からの輸入、国外への輸出が禁止されているため、今回実験で使った個体は国内で繁殖されたものを購入した。

3．実験

今回行う実験はコノハムシの葉の食事部分を検証するものである。

(1) 使用したもの

・レモンリーフ数枚

・コノハムシ

(2) 実験方法

飼育ケースに葉に欠損のないレモンリーフを数枚入れ温度と湿度を一定に保ちコノハムシを中に入れて飼育する。

2 週間ごとに葉を交換しどの部分がよく食されているかを観察した。

次の表では葉の欠損部分を表側から見て右の図 1 のように表すものとする。

例えば、写真 2 の葉の欠損部分を表にすると以下のようになる。

左	右
CD	ABD

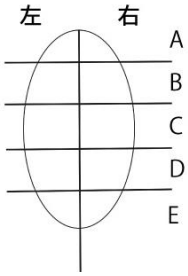


図 1

写真 2

以下、計 29 枚の葉を同様の表記で示した。

(3) 実験

葉の捕食された部分を図 1 にならい、表にした。

写真 3 の葉(上から順に)

左	右
なし	なし
なし	BCDE
なし	なし
なし	なし

写真 4 の葉(上から順に)

左	右
CD	CDE
ABCDE	B
ABDE	なし
ABDE	AB

写真 5 の葉(上から順に)

左	右
ACD	ABCD
なし	C
BCD	BD

写真 6 の葉(上から順に)

左	右
なし	なし
BCDE	なし
BCD	C
ABC	BCD

写真 7 の葉(上から順に)

左	右
なし	なし
なし	なし
なし	AB
A	ABC

写真 8 の葉(上から順に)

左	右
なし	C
なし	なし

写真 3

写真 4

写真 5

写真 6

写真 7

写真 8

写真 9 の葉(上から順に)

左	右
BCD	B
なし	ABCDE
なし	なし

写真 10 の葉(上から順に)

左	右
BCD	BCD

写真 11 の葉(上から順に)

左	右
BCD	B
ABC	ABC
なし	なし

今回の実験で使用したコノハムシ(写真 12)を 1 枚の木の葉に見立て上にならって表にすると以下のようになる。

左	右
CDE または ABC	CDE または ABC

写真 9

写真 10

写真 11

写真 12

(4) 実験結果

実験結果をまとめると以下のようになった。

左					右				
A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
7	10	9	12	4	7	14	10	8	3

結果から、左側では B,D が、右側では B,C が多く食べられていたことが分かる。なお、各部分を多く食べられていた順に並べると

右 B→左 D→左 B,右 C→左 C→右 D→右 A, 左 B→左 E→右 E

となる。

4. 考察

実験結果からコノハムシは葉を食する際、端から食べるのではなく、真ん中あたりから食べ始めることがわかった。上の表より今回の実験で最も良く食された葉の部分はコノハムシ自身の「右 BC・左 BC」という形と似ているように見える。

わざとこのような葉の食べ方をし、葉を自身の姿に近づけることでより自身を見つけられにくくしているのではないかと考察される。

5．おわりに

ここまでの文章を読んでくださってありがとうございました。拙い文章でしたが、私が伝えたいことが伝わっていれば幸いです。是非、身近にいる擬態する生き物に対して少しでも興味を向けてみてください。

6．参考文献

ウィキペディア「擬態」
https://ja.wikipedia.org/wiki/擬態
コトバンク「擬態」
https://kotobank.jp/word/擬態-50808
ウィキペディア「コノハムシ科」
https://ja.wikipedia.org/wiki/コノハムシ科

デグーの知能

高校 2 年　N.M.

1. はじめに

こんにちは。今回僕は、家で飼っているデグーという動物の知能について実験を行いました。デグーは高い知能を持っているという話を父から聞いたのですが、実際家で飼っているデグーはどれほど賢いのかが気になったので 2 つの実験を行って調べてみることにしました。最後までお読みいただけると幸いです。

2. デグーって？

デグーという名前を初めて聞いたという方も多いでしょう。デグーは齧歯類に属している小動物です。小さなカピバラのような見た目をしていてハムスターともよく勘違いされますが、どちらとも異なる種類です。前歯が特徴で、口を開けているときには大きな歯を見ることができます。原産地はチリの山岳地帯のアンデス高原で、山肌や岩壁に巣を作って群れで生活します。用途に応じて部屋を分けたりするようで、そこから知能の高さを垣間見ることができます。近年では世界中でペットとしての人気が高く、品種改良で作られた様々な色の種類があるようです。我が家では、「サンド」という明るい茶色の種類の子を飼っています。可愛いですね(下の写真はどちらも同じ個体です)。

3. 実験

家で飼っている個体(3 歳、雄)を使って次の 2 つの実験を行いました。

(1) 実験 1

自作した迷路の途中の決まった数か所(次ページ図参照、青い▲の位

置)におやつの大麦を置き、それを追って迷路をゴールするまでにかかる時間を計測しました。実験はこの迷路を用いて、時間を空けずに 4 回行いました。

予想 ： デグーはおやつの置かれている場所を記憶し、回を追うごとにゴールに要する時間が短くなるのではないか。

結果：1 回目に 1 番早くゴールするという、予想と真逆の結果となりました。複雑な道順を記憶することは困難であるようです。各回での詳しい結果は以下の通りです。

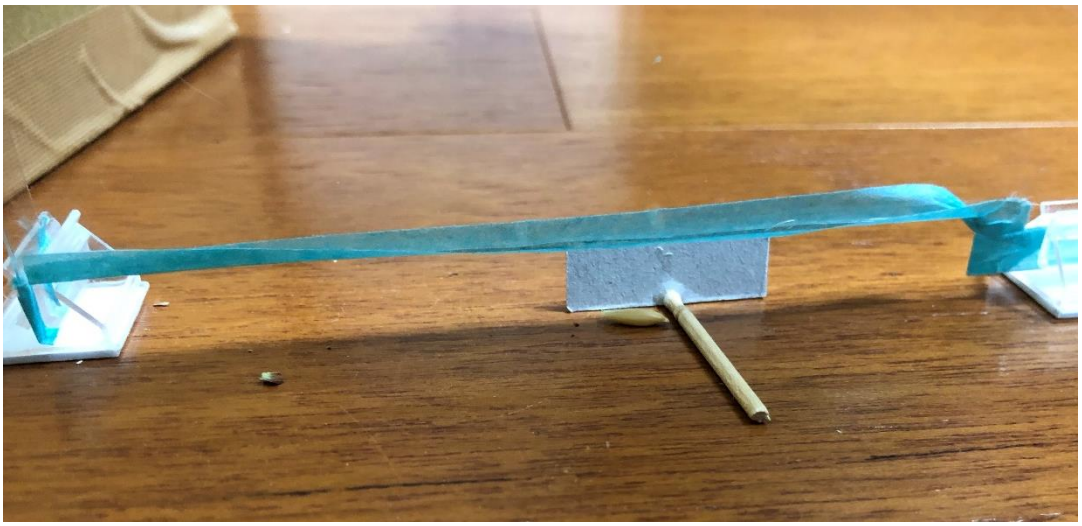
1回目	2回目	3回目	4回目
1分でゴールした。完全に正しい道を通っていた。	中間地点までは正しい道を進んだがその後逆走、最後には脱走してしまった。	序盤から逆走を繰り返し、中間地点付近で脱走してしまった。	逆走したものの、2分半かけてゴールにたどり着いた。

(2) 実験 2

デグーが道具を扱えるのかどうかの実験を行いました。

① 熊手

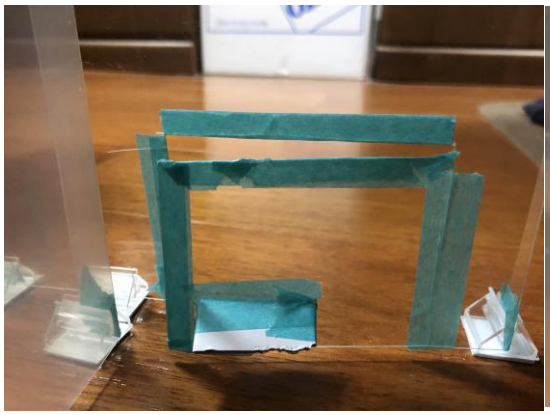
写真のように熊手の手前に実験 1 と同様のおやつを置き、熊手を使って引き寄せないとおやつを得ることができない仕掛けを作りました。実験にあたっては事前に熊手を使って引き寄せる様子をデグーに見せ、同じことを自分でできるかどうかを試しました。



結果：熊手に反応を示し触っていたものの、引っ張ろうとする様子は見られずかじってしまいました。

②引き扉

写真のように、ドアを引っ張って開けるとドアの向こう側のおやつを得ることができる仕掛けを作りました。ドアを開け閉めする様子を見せ、自分でできるかを試しました。



結果：引き扉を触り向こう側に行こうとしましたが、熊手の時のように扉をかじり始めてしまい、結局扉を開けることはできませんでした。

4．結果まとめ

実験の結果から、家で飼っているデグーは報酬を用意しても複雑な道を記憶することは困難であり、短時間のデモンストレーションを見て道具を自分で使えるようになる能力は備わっていないということが分かりました。

5．考察

もっと動きや構造を見せる回数を増やすこと、複数日に渡って覚え

させること、もしくは幼少期から訓練を積んでおくことが、本来持つと言われている知能を開花させるのに必要なのでしょう。

また実験に使用した個体は3,4歳でありデグーの生涯の中で壮年期に位置するため、学習させるには若い個体を用いるべきだったとも思います。通常の生活を送るだけではできるようにならないことをできるようにするには幼少期からの訓練が必要であるのかもしれません。今後年齢別での生き物の知能の変化についても調べてみたいと思いました。拙い文章ですが最後までお読みいただきありがとうございました。

6. 参考文献

・デグーと暮らすライフスタイル “野生のデグーはアンデスでどんな暮らしをしているの?”
https://www.degu-lifestyle.com/entry/2018/08/09 , 2022-3-26 最終閲覧

・MOFFME “デグーの色は 10 種類以上？それぞれの見た目や値段を全種類紹介！”
https://hoken-room.jp/pet/7822 , 2022-3-25 最終閲覧

・理化学研究所 “ネズミの一種“デグー”を訓練して道具機能を理解させることに成功 - 脳の高次認知機能を研究するための新たな実験モデルを確立 –“
https://www.riken.jp/medialibrary/riken/pr/press/2008/20080326_1/20080326_1.pdf , 2022-3-25 最終閲覧

・Wikipedia ”デグー”
https://ja.wikipedia.org/wiki/デグー , 2022-3-25 最終閲覧

フロンティア軌道論で理解する生化学

高校３年　越智　幸祈郎

１．はじめに

皆さんはフロンティア軌道論というものをご存じだろうか。フロンティア軌道論は有機電子論に対するもう１つの考え方として近年注目が集まっている。有機電子論では理解し難い現象もフロンティア軌道論を使えば理解できることも多いので、今回はフロンティア軌道論で生体内の反応を解釈していこうと思う。

２．２つの考え方

まず有機電子論とフロンティア軌道論について説明する。有機電子論とは簡単に言うと、反応を価電子の移動で説明したものである。それに対しフロンティア軌道論は電子の存在範囲を立体的に示し、それによって反応を理解する考え方である。有機化学の教科書によく出てくるのは有機電子論であり、紙とペンさえあれば反応機構が書けるので非常に有用である。だが、電子は必ずしもその位置に留まっているわけではなく波として存在しており、フロンティア軌道論を使えばより体系的に反応を理解することができるというのだ。

３．原子軌道とは

右の図１は炭素原子の電子配置を表したものであるが、正確にはこれは誤りである。電子はシュレディンガー方程式を解くことによって得られる軌道上に存在しており、「電子が確実にここに存在している」と断言するのは不可能だからだ。正確には図２(炭素原子の 2p 軌道)のようにこの範囲に電子が存在していることを示すような図が用いられる。高校のカリキュラムでは図２ような解釈を少し扱うものの、基本的には図１のような解釈がされている。

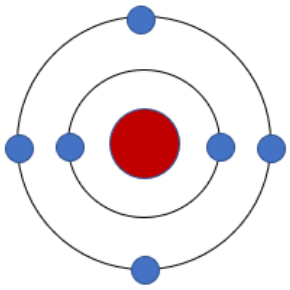


図１

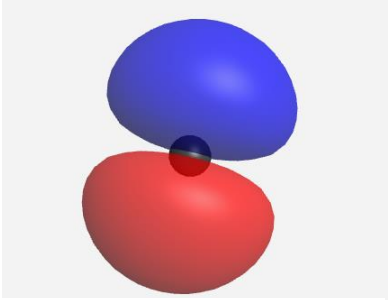


図２

４．シュレディンガー方程式とは

波動方程式とド・ブロイの式を組み合わせることでシュレディンガー方程式というものが導かれる。そしてこの方程式を解けば波動関数が分かり電子状態などが明らかになる。ただし、この事実はここではそれほど重要ではないので電子が波動性を持つことだけ頭に入れていただければよい。

方程式を解いて得られた情報によると電子のエネルギー準位は右の図3のようになっている(矢印は電子を表している)。図 3 は炭素原子のものであるため矢印の総数は6個である。横線が表しているのは軌道で、電子が入る部屋のようなものである。1つの部屋には電子は2つまでしか入らない。矢印の向きは単純に波動関数の正負が逆であることを示しているだけなのでどちらが上向きか下向きかは重要ではない。原子同士が相互作用して分子を作ると、このエネルギー準位はさらに複雑になる。ここで波動関数の正負の話が出たので次の章では波の干渉について説明する。

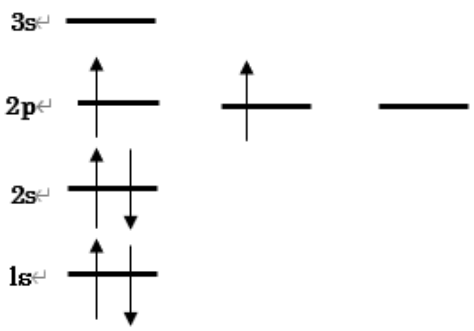


図 3

5. 波動関数の重なりについて

初めに断っておくが、この章は興味のある方向けなので飛ばして頂いて構わない。

波動関数が重なる、つまり結合が生成するときは波動関数の正負が大きく関係してくる。波動関数が重なるときはそれぞれの波動関数の足し算で、重なったあとの関数が求まる。頭の中で平面的な2つの山を想像してほしい。これが2つの波動関数だとする。2つの山が重なる場合を考える。重なった部分は大きく盛り上がるはずだ。次に1つの山と、それと同程度の大きさの1つの穴を想像してほしい。山と穴を重ねたとき重なった部分の中に丁度 0 になる場所ができるはずだ(関数で言うと、波動関数が x 軸と交わるところ)。また、波動関数をφとすると電子の存在確率は|φ|^2に比例することが知られていて、上の2つの例で山と山を重ねた場合は波動関数の重なった部分の絶対値が大きいので電子密度は高くなる。それに対し山と穴を重ねたときは重なった部分の電子密度が0になる場所が存在する。核から遠ざかることで電子は安定化するので山と山を重ねた場合の方がエネルギーが低いことが分かる。電子密度は波動関数の絶対値の2乗に比例することから分かるように、安定化するには山と山でなく穴と穴の重なりでもよい。つまり、同位相の波を重ねるときは軌道のエネルギーが下がり安定化し、逆位相の波を重ねるときは軌道のエネルギーが上がり不安定化する。そして、結合が形成する場合は、波動関数は同位相で重なっている。これがこれから話す内容すべてに通じることなので覚えておいて頂きたい。

6．フロンティア軌道とは

軌道論は高校化学の範囲を大きく超えているのでここまで説明するのにかなり時間がかかった。5 章で説明した内容を要約すると、同位相の波は相性がよく逆位相の波は相性が悪いということだ。そして、同位相の波が重なるときは結合が形成する。

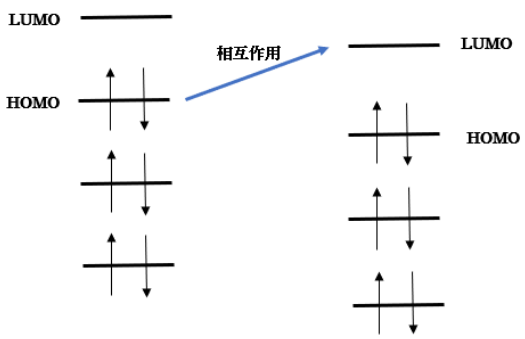


図 4

これらを踏まえてフロンティア軌道を説明する。4 章でエネルギー準位の話をしたが、ある分子におけるエネルギー準位は定まっているものとして話を進めることにする(原子同士の結合によるエネルギー準位の変化も同位相、逆位相の考え方を使えば導ける)。まず、フロンティアという単語の意味だが、「辺境」、「最先端」などがある。軌道論でいう「辺境」とはどこなのだろうか。それは、電子が入っている軌道の中で最もエネルギーの高い軌道と、電子が入っていない軌道の中で最もエネルギーが低い軌道のことである。前者を HOMO(Highest Occupied Molecular Orbital)、後者を LUMO(Lowest Occupied Molecular Orbital)という。日本語では HOMO は最高被占軌道、LUMO は最低空軌道という。そして、分子間で共有結合を形成する際には、HOMO と LUMO の相互作用が重要になってくる。2 つの分子が反応するので HOMO と LUMO はそれぞれ 2 つずつあるが、反応に関係するのは最もエネルギー差の小さい HOMO と LUMO の組み合わせである。電子受容体の LUMO が電子供与体の HOMO を同位相で受け入れることで結合が形成される。また、軌道の相互作用は軌道同士の重なりが大きいほど強くなる。これは感覚的にも分かりやすいのではないだろうか(図 4、5 を参照)。

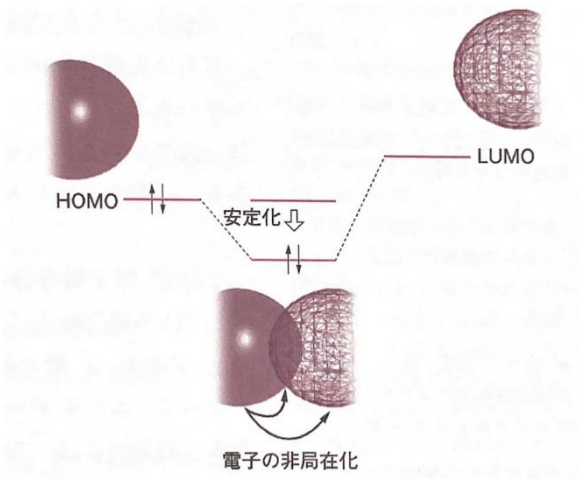


図 5(フロンティア軌道論で理解する有機化学 p.27 より引用)

7．フロンティア軌道論の有用性

有機化学の教科書などで一般的に用いられているのは有機電子論であるが、今回はフロンティア軌道論による解釈もしてみようと思う。同じ反応を有機電子論とフロンティア軌道論の 2 通りの考え方で見つめなおす。

今回取り上げる反応は、ベンゼン環への求電子置換反応だ。他にもディールス・アルダー反応やクロスカップリング反応などフロンティア軌道論で考えると面白い反応はたくさんあるが、軌道位相の連続条件(興味がある方は調べてみて頂きたい)などを考えないといけないので今回は割愛する。

(1) 有機電子論による解釈

フェノールでの求電子置換反応を有機電子論で理解していく。

フェノールに臭素が付加する反応を考える。下の図ではフェノールのパラ位に臭素が付加しているが、その際に経由する中間体の中にオクテット則を満たすものが存在するためこの中間体は安定だと分かる。同様に、オルト位に付加する際の中間体の共鳴構造を書けばオクテット則を満たすものが存在するので安定だと分かる。しかし、メタ位に付加する際の共鳴構造を書くと、オクテット則を満たす中間体が存在しないのでオルト位とパラ位に比べて不安定な中間体を経由すると分かる。したがって、フェノールはオルト-パラ配向性を示す(図 6 を参照)。

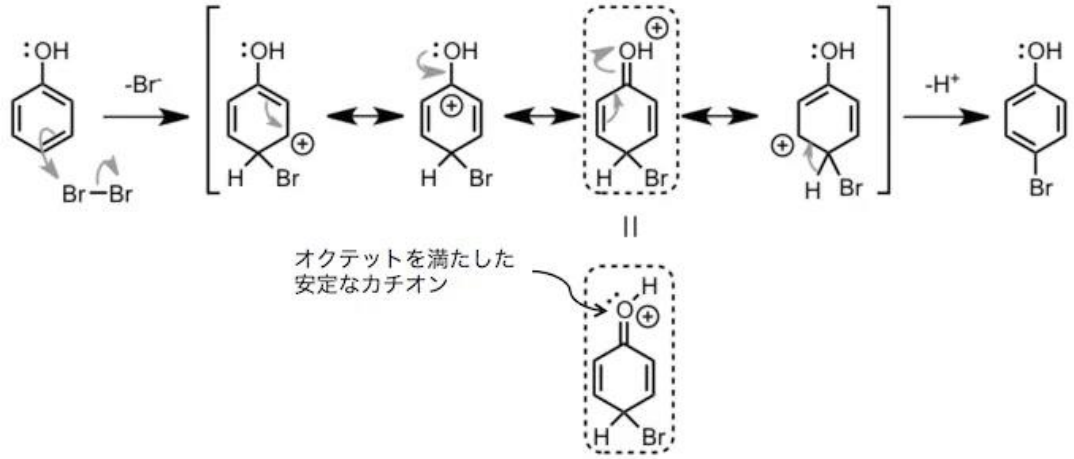


図 6(Chem-Station より引用)

(2) フロンティア軌道論による解釈

この反応においてフェノールは電子供与体なので、フェノールの HOMO を調べる。ここで活躍するのが WebMO というサイトである。分子構造を入力すれば軌道を計算してくれるので非常に便利である。右の図 7 がフェノールの HOMO である。見て分かる通り、オルト位とパラ位の軌道の膨らみが大きくなっている。重なりが大きいほど安定化するのでオルト位とパラ位で反応が起こりやすいことが分かる。(1)で示した有機電子論による解釈だと、求電子剤が付加した際の共鳴構造をオルト位、メタ位、パラ位の場合でそれぞれ書かないと配向性が分からないのに対し、フロンティア軌道論による解釈だと一瞬で配向性が分かる。

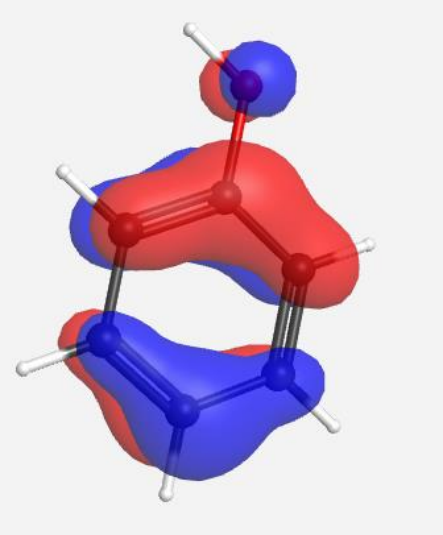


図 7

(3) 余談

完全に脱線してしまうが、面白いものをここで 1 つ紹介する。右の図 8 はトルエンの HOMO である。トルエンもオルト-パラ配向性を示すが、オルト位やパラ位よりもベンジル位の反応性が高い。有機電子論でこれを説明すると、ベンゼン環は安定なので、ベンゼン環を保ったまま反応が進みやすいためである。フロンティア軌道論でこれを説明すると、オルト位やパラ位よりもベンジル位の軌道の膨らみが大きくなっているからである。このように、フロンティア軌道論を用いると視覚的に反応を理解することができる。

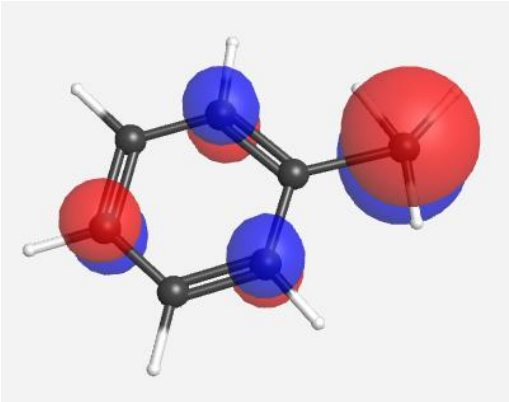


図 8

8. 生体内での反応

本題の生体内の反応に入る。今回取り上げる有機反応はオルニチン回路である。この章では、(1)で有機電子論的な考え方に加え、フロンティア軌道論による解釈を織り交ぜながらオルニチン回路の反応機構を予想し、(2)で正しい反応機構を説明する。

(1) 反応機構の予想

初めに、この項で話す内容には誤りもあると思われるが、素人の予想なのでご容赦頂きたい。

オルニチン回路とは以下の図 9 のような回路である。肝細胞内で尿素を合成するもので、有毒なアンモニアを無毒な尿素に変換する。

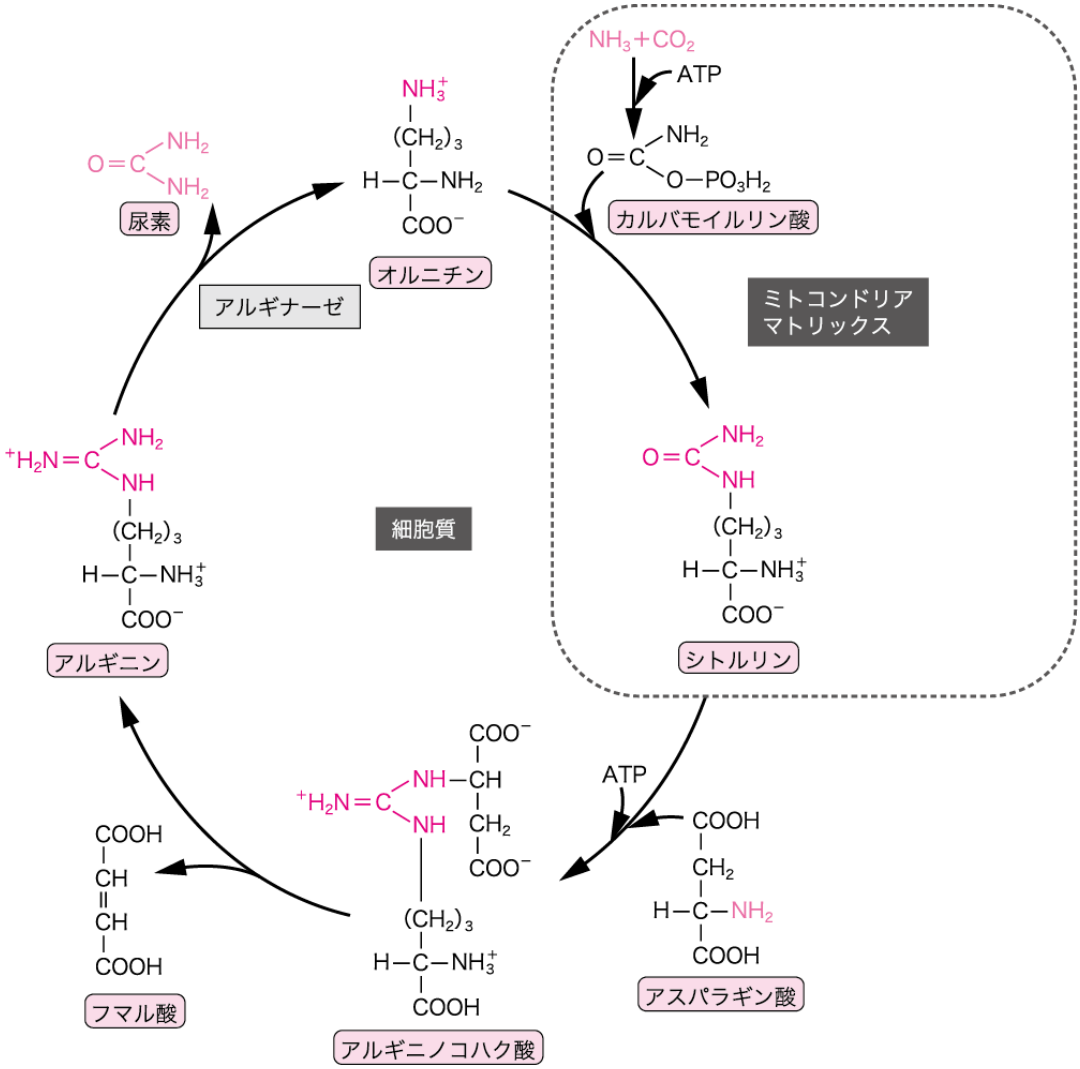


図　9(https://www.nutri.co.jp/nutrition/keywords/ch2-3/keyword6/より引用)

予想した結果、下の図 10 ようになった。

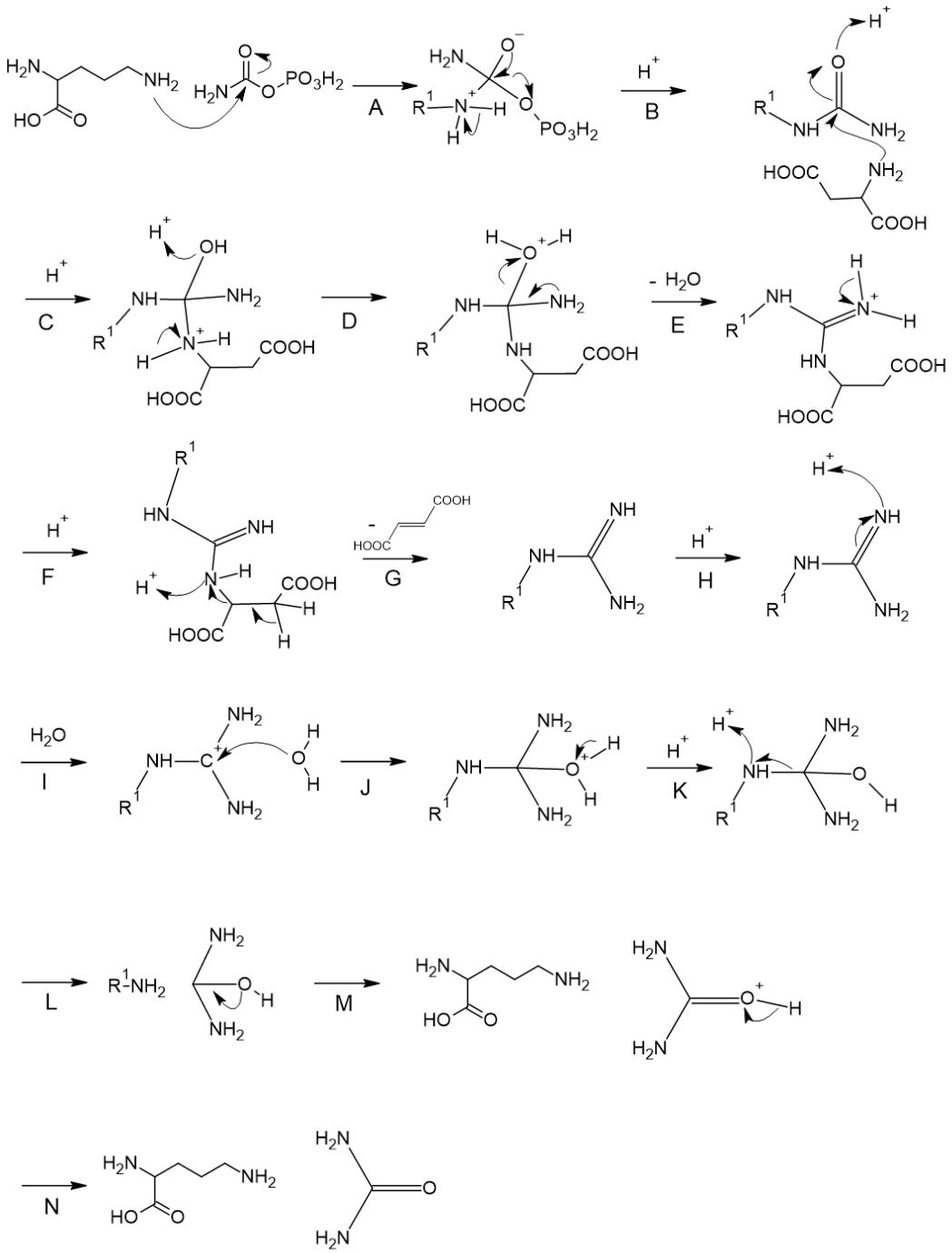


図 10

私自身有機化学を少しかじっていたので、反応機構の予想自体はそれほど難しくはなかった。以下、上の反応機構の予想について説明してい

く。A は窒素の非共有電子対によるカルボニルの炭素の攻撃。B ではリン酸基の脱離能が高そうだったのでリン酸基の脱離を考えた。C は窒素の非共有電子対によるカルボニルの炭素の攻撃。E は水の脱離。G はフマル酸の生成。I は水の付加。L はオルニチンの再生成。また、この反応全般に言えることだが、酸性条件下で起こったと仮定して考えた。正直、この反応では有機電子論で事足りる気がしなくもない。しかしフロンティア軌道論を使えば、反応機構を書いたことがない方にも分かりやすいと思うのでフロンティア軌道論による解釈も行う。以下では炭素原子を灰色、酸素原子を赤色、窒素原子を青色、リン原子をオレンジ、水素原子を白色で表記する。

A についてだが、この反応における電子供与体はオルニチンで、電子受容体はカルバモイルリン酸である。オルニチンの HOMO とカルバモイルリン酸の LUMO はそれぞれ右の図 11、12 のようである。オルニチンの 4 番炭素に結合している窒素における HOMO の膨らみが大きくなかったのは意外だった。にもかかわらずこの反応機構になる理由を説明するならば、1 番炭素に結合している窒素と結合しようとすると窒素上の軌道と重なる際に 1 番炭素における軌道との逆位相の重なりができ、エネルギーが高くなってしまうからだと思われる。カルバモイルリン酸はカルボニル炭素における LUMO の膨らみが大きく、こちらに関しては反応機構に矛盾しない。

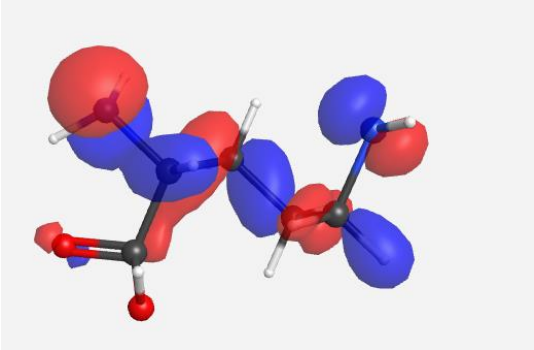


図 11

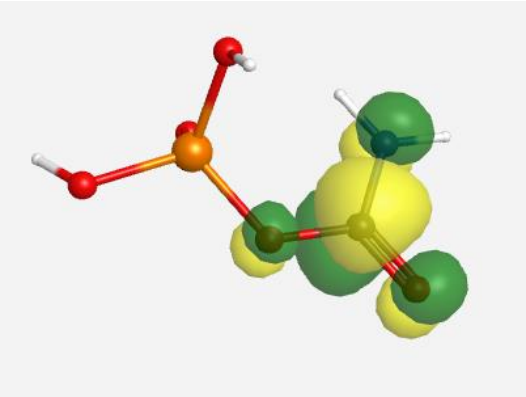


図 12

C についてだが、図 13、14 にアスパラギン酸の HOMO とシトルリンの LUMO をそれぞれ示した。アスパラギン酸の HOMO は窒素で膨らみが大きいので予想した反応機構に矛盾しない。しかし、シトルリンの LUMO では反応が起こると予想した炭素に全く膨らみがない。そこで、フロンティア軌道を考え直す。LUMO では反応が起こりそうにないので、LUMO より 1 つ分エネルギーの高い空軌道である LUMO+1 を見る。図 15 に LUMO+1 を示した。LUMO+1 は予想した炭素原子上で膨らみが大きい。これは予想に矛盾しない。完全に予想なのだが、シトルリンの LUMO が電子を受け取る際にはオルニチン回路には含まれない別反応、または錯体の形成のどちらかが起こっているのだろう。

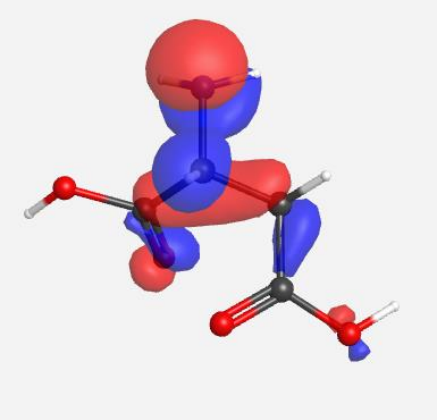


図 13

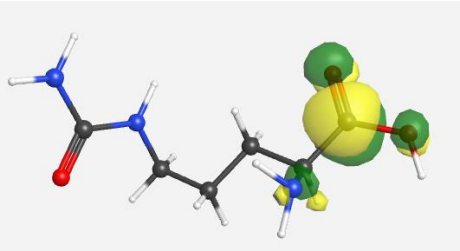


図 14

J については、図 16 に電子受容体の LUMO を示した。正電荷を持った炭素原子上で膨らみが大きくなっているので予想に矛盾しない。

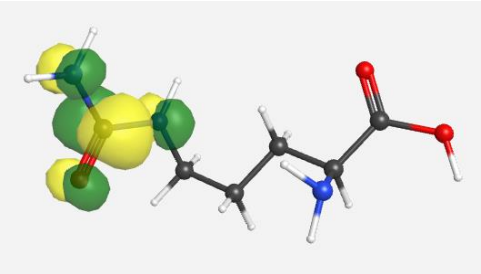


図 15

(2) 正しい反応機構

予想した反応機構ではシトルリンにアスパラギン酸が付加してアルギニノコハク酸が生成する際(C、D、E)に ATP を考慮することができていなかった。それ以外に関しては正しかった。そこで ATP を考慮したうえでフロンティア軌道論で反応機構を説明しようと思ったが、今の自分の実力では厳しそうだった。というのも、この反応では ATP にマグネシウムイオンが配位しているのだが、

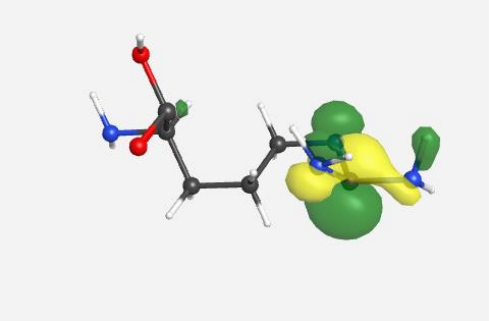


図 16

その複合体モデルは複数考えられており明らかになっていない部分も多いからだ。そこで、有機電子論による解釈を下の図 17 に示す。

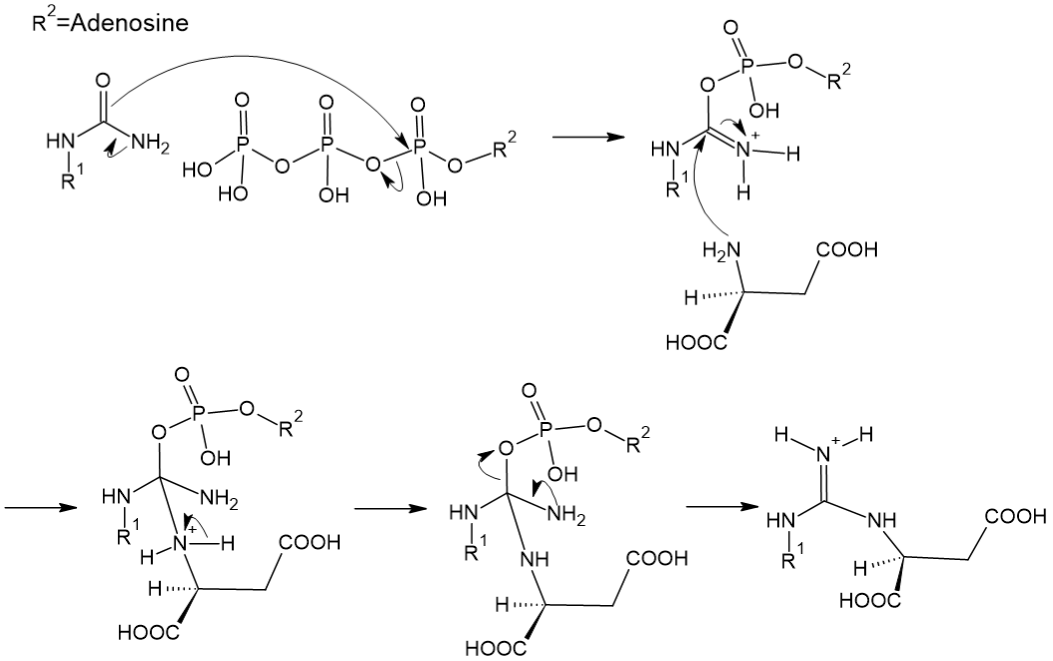


図 17

また、二酸化炭素とアンモニアと ATP からカルバモイルリン酸が生成する反応が面白かったので反応機構を図 18 に追記しておく。

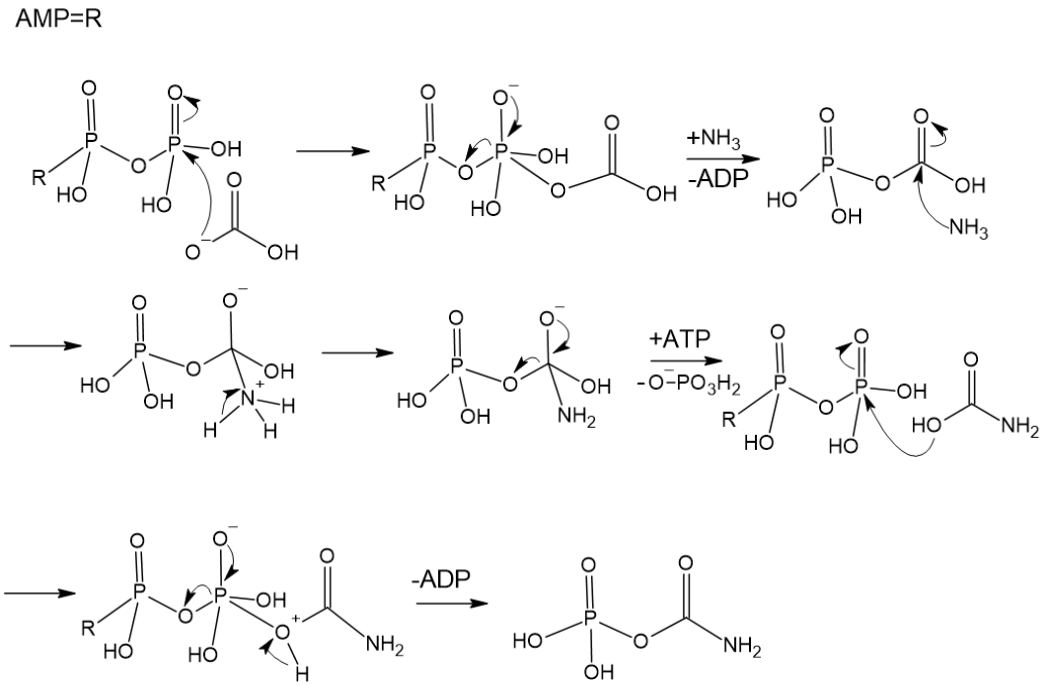


図 18

9．感想

慣れていないせいもあり、反応機構をパソコンで書くのはかなり苦労した。また、マグネシウムイオンの ATP への配位についての私の知識が乏しく、有機電子論による便宜的な解釈しか行うことができず申し訳ない。マグネシウムイオンが配位した際の電子状態を説明できれば、反応をより深く理解できるようになりそうだ。計算方法を習得していつか挑戦してみたい。今回のようにフロンティア軌道論だけでは説明し難い場合もあるので有機電子論と組み合わせるのが良さそうだ。

10．おわりに

今回はフロンティア軌道論を使って生体内の反応を理解したが、軌道論の有用性をお分かりいただけただろうか。反応機構を予想する際に少し有機電子論に偏りすぎてしまったり、軌道論による解釈が後付けのようになってしまったのは反省点だ。ここで軌道論をすべて説明するのは難しいので手短な説明になってしまい申し訳ないが、興味があれば是非ご自分で調べて頂きたい。フロンティア軌道論についての本はまだまだ少なく有機化学の教科書でもあまり取り上げられないのが事実だが、ここでおすすめの本を 1 冊紹介する。「フロンティア軌道論で理解する有機化学」(化学同人)だ。様々な有機反応が簡潔にまとめられており、近年注目されている本の 1 つである。この本から次の表現を引用する。

「分子を作るのは木組みを組み立てるのと同じである。凸が HOMO、凹が LUMO である。この 2 つが組み合わさって分子が完成するのだ。(一部改変)」

まさにその通りだと思う。軌道を調べるのは楽しいし、新しい発見があるので勉強する価値は十分にあると思う。視覚による理解というものは論理による理解と同じくらい重要だと思うので、生物、化学を勉強するすべての学生の助けになるだろう。軌道論が高校化学に取り入れられる日を楽しみにしている。最後に、ここまで読んでくださりありがとうございました。ご協力いただいたすべての方に感謝申し上げます。

11．参考文献

・K.P.C.Vollhardt　N.E.Schore 著　古賀憲司　野依良治　村橋俊一監訳『ボルハルトショアー現代有機化学　第 8 版』(化学同人) 2019
・真船文隆著『量子化学　基礎からのアプローチ』(化学同人)　2008
・稲垣都士　池田博隆　山本尚著『フロンティア軌道論で理解する有機化学』(化学同人)　2018

・J.McMurry　T.Begley 著　長野哲雄監訳『マクマリー生化学反応機構　第 2 版』(東京化学同人)　2018
・高橋聖和　栗田典之著『密度汎関数法による ATP、ADP、AMP、GTP 及び Mg2+との複合体の電子状態解析』Journal of Computer Aided Chemistry　2006
・ニュートリー株式会社 HP より「キーワードでわかる臨床栄養」
https://www.nutri.co.jp/nutrition/keywords/ch2-3/keyword6/ (最終閲覧 2022 年 3 月 31 日)
・WebMO より https://www.webmo.net/(最終閲覧 2022 年 3 月 31 日)
・Chem-Station より「有機反応を俯瞰する ―芳香族求電子置換反応 その 2」
https://www.chem-station.com/blog/2016/11/snar2.html(最終閲覧 2022 年 3 月 29 日)

頭足類の比較解剖

高校３年　T.S.

1．はじめに

我々生物研究部は、毎年文化祭でイカの解剖を行っているが、そこで使われているのはいつもスルメイカである。スルメイカと他の頭足類では体の構造がどのように違うのか気になったので実際に解剖して比較し、それらの墨の性質を調べようと試みた。

2．使用した頭足類について

今回の比較解剖では、市場で購入した以下の４種類の頭足類を使用した。

・スルメイカ(ツツイカ目アカイカ科 *Todarodes pacificus*)
・カミナリイカ(コウイカ目コウイカ科 *Sepia Lycidas*)
・ヤリイカ(ツツイカ目ヤリイカ科 *Heterololigo bleekeri*)
・マダコ(八腕目マダコ科 *Octopus sinensis*)

今回解剖したマダコは小さい個体であったため、十分な量の墨が得られず、墨の性質を調べていない。

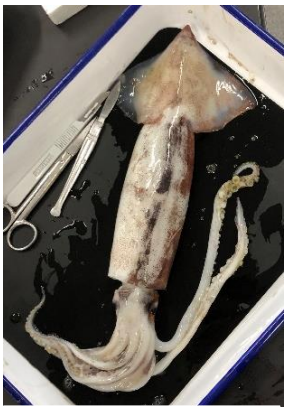
また、スルメイカについても墨を採取するのに失敗したため、墨の性質を調べていない。

3．比較解剖

2.で挙げた頭足類をそれぞれの種について１個体ずつ解剖し、比較した。なお、解剖はメス及び解剖ばさみを用いて腹側(漏斗があり、イカでは甲がない側)の外套膜を切り、開いて内臓を観察するという形をとった。

(1) スルメイカの解剖

解剖した個体は雄であった。

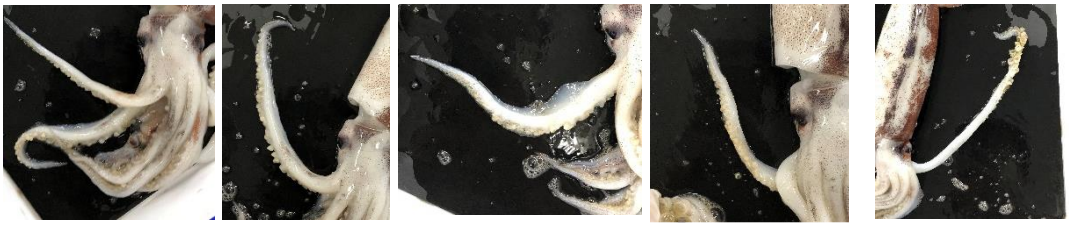


↑全身(背側から見たもの)

↑外套膜を開いたもの

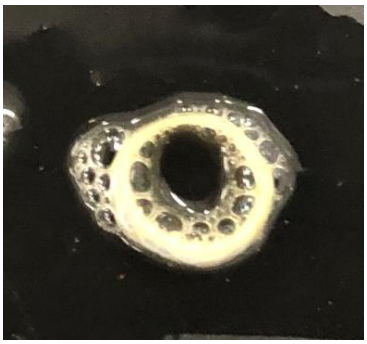
↑外套膜の中の内臓

↑貝殻



↑腕(左から順に第 1,2,3,4 腕、触腕である)

←吸盤
(左が第 1 腕の吸盤、右が触腕の吸盤である)



角質環→
(触腕の大きな吸盤の角質環である)

(2) カミナリイカの解剖

解剖した個体は雄であった。

↑全身(背側から見たもの)

↑全身(腹側から見たもの)

↑外套膜を開いたもの

↑墨汁嚢以外の内臓

↑腕(左から順に第 1,2,3,4 腕、触腕である)

←貝殻
(左が背側から見たもの、
右が腹側から見たものである)

↓吸盤
(左が第 1 腕の吸盤、
右が触腕の吸盤である)

←くちばし

(3) ヤリイカの解剖

解剖した個体は雄であった。

↑外套膜を開いたもの
(左が背側、右が腹側)

↑貝殻

↑墨汁嚢以外の
内臓

←吸盤
(左が第 1 腕の吸盤、右が触腕の吸盤である)

↑腕(上段は左から順に第 1,2,3 腕
下段は左から順に第 4 腕、触腕である)

↑くちばし

(4) マダコの解剖

マダコは体表のぬめりが強く、そのままではメスや解剖ばさみで切ることが難しかったので、塩もみをし、ぬめりを落とした上で解剖した。

↑全身(左が背側、右が腹側)

↑外套膜を開いたもの

←
内臓

↑くちばし

肝臓及び墨汁嚢→

↑腕(左から順に第 1,2,3,4 腕、右端は第 1 腕の吸盤)

(5) それぞれの種の違い

まず、全体的な形として、スルメイカとヤリイカは流線型の胴を持ち、スルメイカに比べてヤリイカは細長い体型だった。一方、カミナリイカは丸みを帯び幅が広い体型をしていた。マダコは鰭を持っていなかったが、イカ 3 種は持っており、カミナリイカの鰭は胴体の横全体についていたが、スルメイカとヤリイカは三角形の鰭が尾部の背側から生えていた。

触腕以外の腕では、いずれのイカでも小さく角質環を持った吸盤が見られたが、マダコではそれらに比べて大きく角質環を持っていない吸盤が見られた。

触腕の吸盤は、カミナリイカ及びヤリイカでは触腕以外の腕の吸盤とあまり変わらないように見受けられたが、スルメイカでは 2 種類の吸盤が見られた。スルメイカの 2 種類の吸盤のうち一方は触腕以外の腕の吸盤よりも小さいもので、もう一方は触腕以外の腕の吸盤に比べ大きいものだったが、いずれも角質環を持っており、後者の角質環には鋭い突起があることが確認できた。また、マダコには触腕が見られなかった。

カミナリイカは胴体の大きさに対して触腕以外の腕が太く短かった。また、ヤリイカは胴体の大きさに対して触腕を含むすべての腕が短かった。

イカ 3 種類では貝殻(甲)は背側の外套膜に埋まっており、内臓の背側をほぼ覆っていた。その中でも、カミナリイカの貝殻は特に発達していた。一方、マダコの貝殻は小さく、胴体の頭部から最も離れた位置より少し背側あたりに 1 対存在していたが写真を撮り忘れた。

鰓は、胴体の大きさと比較して考えると、スルメイカと比べてカミナリイカ及びマダコのものは大きく、ヤリイカのものは小さかった。鰓心臓は、鰓の大きさと比較して考えると、スルメイカのものに比べてカミナリイカのものは小さく、マダコのものは大きかった。ヤリイカについては、鰓心臓の大きさを確認できる記録が残っていなかった。

墨汁嚢は、胴体の大きさと比較して大きい順にカミナリイカ、スルメイカ、ヤリイカ、マダコであった。マダコの墨汁嚢は肝臓に埋め込まれていたが、イカ 3 種のものは肝臓に埋め込まれてはいなかった。

肝臓は胴体の大きさと比較してスルメイカのものが大きく、ヤリイカのものが小さかった。

スルメイカでは、背側の外套膜の内側に巨大神経線維が確認できた。

ヤリイカでは、内臓の大部分を黄色く透明な液体が入った臓器が占めていた。これは恐らく胃であると思われる。

マダコは鰓及び鰓心臓を除く内臓の大半が膜に覆われていた。また、腎臓が発達していた。

4. 墨の比較

2.でも述べたように、墨の性質を調べられたのはカミナリイカとヤリイカのみである。また 3.でも述べたように、カミナリイカの墨汁嚢は他の解剖した種と比べ非常に発達しており、採取できた墨の量も多かった。

なお、3.で行った解剖の後実験をする時間が取れず、冷蔵庫でそれぞれの種の墨汁嚢を数日間保管した後に実験を行ったため、腐敗や自己消化などによって墨の性質が変化している可能性がある。

(1) 水への溶解

採取したそれぞれの墨を少量とり、多量の純水に加えた。するといずれの墨も加えた当初は少し分離していたが、徐々に拡散していき、溶液を加えた容器を振ると速やかに拡散した。

(2) (1)の溶液の遠心分離

(1)でできた溶液を、それぞれ遠心分離機を用いて 1 分間に 1450 回転、30 分間遠心分離したところ、いずれの溶液の底にも黒色沈殿が生じ、上澄み液は無色透明となった。その後、しばらく経った後に溶液の

入った容器を振ったところ、沈殿は再び溶液中に拡散した。

(3) エタノールへの溶解

採取したそれぞれの墨を(1)と同様に少量とり、多量のエタノールに加えた。その結果、それぞれの溶液の底に黒い沈殿が生じ、上澄み液は無色透明となった。溶液の入った容器を振っても、沈殿は固体のようにふるまい、溶液中に拡散しなかった。

(4) (1)の溶液への電解質の添加

(2)で使用したものとは別に、(1)で作成したものと同様の溶液をそれぞれの墨について用意し、電解質である塩化カリウムを飽和するまで添加したところ、いずれも液面付近の色が若干薄まったように思えたものの、依然として墨は溶液中に拡散したままであった。

5. 考察

図鑑で調べたところ、スルメイカとヤリイカは近海の表層から中層に生息するとあった。この2種の流線型の体型は、こういった環境で外敵に襲われたときなどに素早く逃げることができた方が有利であり、水の抵抗が少ない流線型の胴を持った個体が生き残ったと考えられる。また、薄い貝殻はそのような体型を維持することに寄与していると考えられる。

一方、カミナリイカは沿岸から水深 150m の砂泥底に生息するとあった。海底で過ごすことの多いカミナリイカは、上から外敵の攻撃を受けることが多く、背側に内臓を覆うように発達した硬い貝殻を持った個体が有利となったと考えられる。

マダコは潮間帯から大陸棚の水深 200m に生息し、昼間は岩陰に隠れているとあり、岩陰に隠れる際に硬い貝殻がなく体の形を自由に変えられる方が有利になるため、貝殻によって体の形を支えられておらず胴体が丸くなったと考えられる。

また、図鑑によるとスルメイカは回遊を行うようである。スルメイカの比較的大きな鰓心臓は回遊するために継続して泳ぎ続けるのに役立っている可能性がある。

カミナリイカの墨袋が大きいのは、スルメイカやヤリイカのように素早く泳げるわけでも、マダコのように岩の隙間に逃げ込んだり岩に擬態できたりするわけでもないため、外敵から逃れるのにより多く墨を使用する必要があったからだと考えられる。

4.で墨が水には拡散したがエタノールには拡散しなかったことについては、水は極性が大きな物質であるのに対し、水に比べてエタノールは極性が小さいことに起因している可能性が考えられる。

6. 反省と今後の展望

本来は 4.(1)で「イカの墨はねばねばとしていて水中で拡散しづらく固まっておとりのように働き、タコの墨は水中で容易に拡散し煙幕のように働く」とされていることが事実なのを確かめたかったが、今回の実験ではタコの墨を使用できなかったのが悔やまれる。次にやるときがあれば、より大きなタコを用意したい。また、イカやタコの生息環境を考えると、4.(1)の実験では海水や人工海水を用いる方が適切だったのではないかと思う。

タンパク質分解酵素を墨に作用させるとどうなるかも調べてみたいところである。

他にも、4.(3)で生じた沈殿以外の成分が水中への拡散に寄与していたかどうかを調べるために、(3)の沈殿を取り出して乾燥させ、その後純水に加えるなどの実験をしてみたい。

7. 謝辞

最後になったが、実験を手伝ってくれた N.Y.君にはここでお礼申し上げる。

8. 参考文献

・広島大学生物学会『日本動物解剖図説』第 1 版,森北出版株式会社,1971

・奥谷喬司『新編世界イカ類図鑑』第 1 版,東海大学出版部,2015

・『小学館の図鑑 NEO 水の生物』初版,小学館,2005

・Ian G. Gleadall, "*Octopus sinensis* d'Orbigny, 1841 (Cephalopoda: Octopodidae): Valid Species Name for the Commercially Valuable East Asian Common Octopus", 2016, https://www.jstage.jst.go.jp/article/specdiv/21/1/21_31/_article

統計による多様性の可視化

高校３年　N.S.

1．はじめに

皆さんは多様性と聞くと何について思い浮かべますか。人種や宗教、性別などの多様性は勿論のこと、SDGs に代表されるように環境志向の高まる今日では生態系の多様性を思い浮かべる人も多いはずです。生態系を考えるには、個体の生理や行動、集団、群集、そして生態系全体と様々なスケールで分析することが必要です。この記事では、複数の状況を仮定して、群集と集団のスケールから統計的な分析を行いました。群集と集団の特徴を知ることは、環境に対応した生態系の変化を予測する上での基本的な課題です。なお、記事の構成の観点から一部の数式の途中式を省略して記載しております。

2．用語解説

この記事に出てくる一部の生物学の用語とその定義です。

・生態系

ある空間において相互に作用しあう物理的因子及び生物の集合体。

・集団（個体群）

同一空間の生息する単一種からなるグループ。

・群集

同一空間に生息する複数種の個体からなるグループ。

・片利共生

一方が利益を享受し、他方は利益も害もない関係。

・寄生

寄生者が宿主に害を与えて自らは利益を享受する関係。

3．実験①　海岸生物群集の特徴

以下のデータについて考えます。

群集 A		群集 B	
種	個体数	種	個体数
(a) ヒトデ	13	(j) シオマネキ	2
(b) マテガイ	18	(k) フジツボ	18
(c) フナムシ	13	(l) イソギンチャク	15
(d) ウニ	12	(m) ナマコ	2
(e) シオマネキ	11	(n) ヤドカリ	5
(f) 巻貝	8	(o) 巻貝	8
(g) カキ	12		
(h) トビハゼ	9		
(i) イソギンチャク	10		

合計	106	合計	50

但し、この実験に本質的に関係のないため、細かな種の同定は行っておりません。

(1) 相対的優占度 Pi

Pi は群集を構成する様々な種の相対的な割合を示します。

①Pi の計算方法

Pi=(個体数)/(合計の個体数)

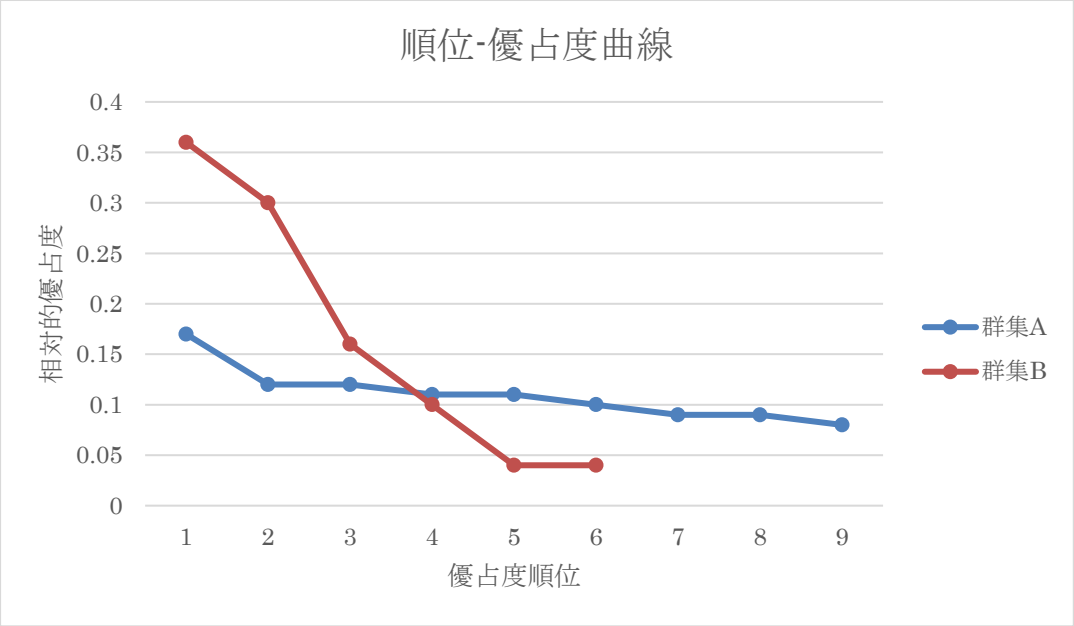
但し、各値は上表を参照します。小数第 3 位を四捨五入します。

②Pi の計算結果(i は上表のアルファベットに対応しています。)

Pa	0.12	Pe	0.10	Pi	0.09	Pm	0.04
Pb	0.17	Pf	0.08	Pj	0.04	Pn	0.10
Pc	0.12	Pg	0.11	Pk	0.36	Po	0.16
Pd	0.11	Ph	0.09	Pl	0.30		

(2) 順位-優占度曲線

順位-優占度曲線は、群集内での相対的優占度が高い種から順に並べて、群集の構成種と豊富さを示した図のことです。(1)で求めた値を縦軸に、優占度の順位を横軸にとってまとめました。



(3) Shannon-Wiener の多様度指数 H'

①H'の計算方法

$H' = -\sum_{i=1}^{n}(piInpi)$

pi：i 番目の種、In(pi)：pi の自然対数、n：群集の種数とします。

また、小数第 3 位を四捨五入するものとします。

②H’の計算結果(計算過程を省略しています。)

群集 A：$H' = 2.15$

群集 B：$H' = 1.51$

(4) 結果の考察

①順位-優占度曲線から分かること

群集 B より群集 A の方が、優占度が種間でより均等です。また、群集 B より群集 A の方が、種数が豊かです。

②Shannon-Wiener の多様度指数 H’から分かること

H’とは種数に個体数分布を加えた指標として考え出されたものです。H’の値は、種数が増加すると大きくなり、ある種だけが集中して出現すると小さくなる特徴があります。(3)の②の計算結果では、群集 B より群集 A の方が大きい値をとり、①の結果と合致しています。

4．実験②　異種間の相互作用

巻貝と二枚貝の相互作用を知るために、生息地における分布を調べます。以下のデータについて考えます。

存在数の表

巻貝 / 二枚貝	存在する	存在しない
存在する	15	12
存在しない	6	16

期待値の表

巻貝 / 二枚貝	存在する	存在しない
存在する	11.6	15.4
存在しない	9.4	12.6

(1) カイ 2 乗検定

①カイ 2 乗値(X^2)の計算方法

$$X^2 = \sum \frac{(\text{観測数} - \text{期待値})^2}{\text{期待値}}$$

②X^2 の計算結果

X^2=3.96　(四捨五入の都合上、3.89 でも良いです。)

③データの自由度 df

今回は、df=1 とします。

④帰無仮説の設定

帰無仮説とは、ある仮説が正しいかどうかを判断するための仮説のことです。今回は、「2 種は互いに独立に分布している。」とします。

⑤有意水準(p)の設定

有意水準とは、ある仮説を棄却するかどうかを決定する基準となる確率です。今回は、p=0.05 として帰無仮説を検定します。

⑥帰無仮説の棄却判断

設定したデータの自由度と有意水準の値を参考に、下記のカイ 2 乗表における X^2 の値と求めた X^2 の値とを比較して、帰無仮説を棄却するかどうか決定します。

カイ 2 乗分布の境界値表

自由度	確率：p				
	0.99	0.95	0.05	0.01	0.001
1	0.000	0.004	3.84	6.64	10.83
2	0.020	0.103	5.99	9.21	13.82
3	0.115	0.352	7.82	11.35	16.27
4	0.297	0.711	9.49	13.28	18.47
5	0.554	1.145	11.07	15.09	20.52

p=0.05 とすると、3.96(3.89)>3.84 であるから、帰無仮説の内容は頻繁に起こりうることだと判断できるので、帰無仮説は棄却しません。

(2) 結論

ここで、元の分布パターンからは、片利共生か寄生の関係であると推測できます。つまり、「2 種は互いに独立に分布している。」と結論づける帰無仮説に反することになります。しかし、(1)では帰無仮説を棄却しませんでした。この矛盾は、統計的にどのくらいのずれを有意と認めるかによるものとも考えられますが、カイ 2 乗値とカイ 2 乗分布に小さな誤差があることから、本来は有意差が認められないのに有意差があるという間違いが生じるリスクが生じているが故の結果とも考えられます。これを解消するために Yates の連続補正を行います。

(3) Yates の連続補正をしたカイ 2 乗検定

①X^2 の計算方法

$$X^2 = \sum \frac{(|\text{観測数} - \text{期待値}| - 0.5)^2}{\text{期待値}}$$

カイ 2 乗値が小さくなると p 値が大きくなるので、有意差が出にくくなることを利用し、誤差の割合を小さくしています。

②X^2 の計算結果

X^2=2.89 となります。

③帰無仮説の棄却判断

p=0.05 とすると、2.89<3.84 となるため、帰無仮説の内容は稀に

しか起こりえないことだと判断できるので、帰無仮説を棄却します。

(4) 結論

帰無仮説を棄却したため、2 種間の相互作用を認めることになります。ちなみに、②で求めた X^2 から求めると p=0.089 となり、確かに有意差は認められませんでした。

5. 終わりに

この記事では、簡単な統計的手法によって群集の多様性や異種間の相互作用の捉え方を記しました。生態学は数を扱う学問なので、統計が必要不可欠であり、様々な解析方法が確立されています。私は、まだまだ浅学寡聞ですが、統計学を学び生物学だけでなく様々な学問分野で利用する中で統計の面白さや奥深さを知りました。皆さんもぜひこの記事を機に統計について調べてみてください。また、多様性の捉え方も様々ありそれを知ることで、生物学に限らず自分のあらゆる物事の見方を広げることができます。拙い記事で分かりづらい部分も多かったと思いますが、最後までご高覧いただきましてありがとうございました。

6. 参考文献

・池内昌彦,伊藤元己,箸本春樹,道上達男監訳『キャンベル生物学　原書 11 版』,丸善出版, 2020 年

・小島寛之,『完全独習統計学入門』,ダイヤモンド社,2006 年

・統計 Web,“カイ 2 乗分布”,BellCurve, https://bellcurve.jp/statistics/course/9208.html,最終閲覧 2022-2-18

・野村港二,岩本浩二編『生物学オリンピック問題集［実験編］』,みみずく舎,2015 年

・日本生態学会編,『生態学入門(第 2 版)』,東京化学同人,2012 年

コラム　血液と血液凝固

高校３年　N.Y.

1．はじめに

以下は血液の組成に関する基本的な事項や、血液凝固の仕組みについてまとめたコラムになります。

2．血液の構成要素

血液の成分は大別して血漿(しょう)と血球の２種類に分けられます。

(1)　血漿

血漿の約 90%は水で構成されており、その他にはイオンや血漿タンパク質、血液により運ばれる成分が含まれています。主な働きとしてはイオンや血漿タンパク質による浸透圧の維持や pH の緩衝剤としての機能が挙げられ、その他にも免疫グロブリンによる免疫や、フィブリノーゲンによる血液凝固などの働きがあります。

(2)　血球

血球には赤血球や白血球、血小板が含まれます。

①赤血球

赤血球は直径 7~8 マイクロメートル、中凹状の小さな円盤状の構造をした核を持たない細胞です。主に酸素の運搬を担っています。中央にへこみがあるという赤血球の形状は表面積を大きくし酸素の運搬速度を高めるのに役立っています。また１つの赤血球中には約２億 5000 万分子のヘモグロビンが含まれています。１つのヘモグロビンはヘム分子とグロビン分子それぞれ４つずつから成り立っており、α鎖β鎖の２つずつからなります。ヘム分子の中心には鉄原子があり、これが酸素１分子と結合するため各ヘモグロビンは４分子の酸素と結合することができます。そのため、赤血球は１つ当たり約 10 億分子の酸素を運搬することが可能です。

②血小板

血小板は直径 2~4 マイクロメートルほどの核を持たない細胞です。これは骨髄の細胞の破片であり、血液凝固に対し働きます。

③白血球

白血球は直径 6~15 マイクロメートルほどの核を持つ細胞です。免疫に関する細胞で、微生物を食作用などで殺すものや抗体を産生するものなど、さまざまな種類があります。食作用とは細胞が老化した自己の細胞や病原体をエンドサイトーシスで取り込む作用のことです。その後取り込まれたものはリソソームに含まれる酵素によって分解されます。

以下は上記の内容をまとめた表です。表中のリンパ球や単球、マクロファージ、好中球はいずれも白血球の一種です。他にも白血球に含まれる細胞はありますがここではそのうちの主なものを紹介しています。

成分	・大きさ(マイクロメートル) ・数	形成、破壊場所	働き
赤血球	・7~8 ・380~570万個	骨髄で形成され脾臓、肝臓で破壊	酸素運搬
リンパ球	・6~10 ・1000~3600個	骨髄、胸腺で形成	免疫
単球	・10~15 ・100~500個	骨髄で形成され、脾臓で破壊	免疫 マクロファージに分化後食作用
好中球	・10 ・1600~6300個	骨髄で形成され、脾臓で破壊	免疫 感染部位での食作用
血小板	・2~4 ・15~40万個	骨髄で形成され、脾臓で破壊	血液凝固

3．血液凝固

血管が傷つくと、血液中の成分が反応し血液凝固がおこります。その際、まずは傷口に血小板が集まりその後血ぺいが形成されます。血ぺいとはフィブリンと呼ばれる繊維状の物質に血球が絡み合ってできるものです。

血液中には血漿タンパク質としてフィブリノーゲンが含まれています。これがフィブリンとなることで血ぺいができますが、この変換を引き起こすためにはトロンビンと呼ばれる物質が必要です。このトロンビンは普段はプロトロンビンとして存在しています。カルシウムイオンや血小板の因子、傷ついた組織や細胞からのトロンボプラスチンなどが引き金となり、不活性型のプロトロンビンから活性型酵素であるトロンビンへの反応が引き起こされます。こうしてトロンビンが生成されるとフィブリノーゲンがフィブリンになり血ぺいが形成されます。

またこの時生成されるトロンビンは、プロトロンビンをトロンビンへと変化させる一連の酵素反応を促進しており、これは正のフィードバックとなっています。

4．血液凝固を防ぐ

血液凝固を防ぐには様々な方法があります。クエン酸ナトリウムを加えカルシウムイオンを沈殿させる方法、ヘパリンを加えトロンビンの生成を阻害する方法、ヒルジンを加えトロンビンの作用を阻害する方法、

低温に保ちトロンビンの酵素活性を低下させる方法、撹拌することでフィブリンを除去する方法などがその例です。

5．繊維素溶解

フィブリンによってできた血ぺいを溶かす作用のことを繊維素溶解(繊溶)と言います。血液中にはプラスミノーゲンという物質が存在しています。これが血ぺいに取り込まれると、血管の内皮細胞が分泌する物質によってプラスミンとなります。こうしてできたプラスミンはフィブリンを溶解するため、血ぺいが溶かされます。

6．おわりに

ここまでお読みいただきありがとうございました。普段けがをしてもいつのまにか血が止まっているということは多々ありますが、単純そうに見えるその裏には複雑な回路が存在しているということを知っていただけたのではないでしょうか。これをきっかけに血液に関することだけでなく身近な体の機能についても興味を持っていただけましたら幸いです。

7．参考文献

Minoesky Jane B. Reece 著　池内昌彦　伊藤元己　箸本春樹　道上達夫監訳　平成 30 年「キャンベル生物学」丸善出版

コロナ感染記

高校３年　H.K.

1．まえがき

タイトルを見て何故か１つ実験でも研究でもなさそうな記事が混ざっていると思った方、まさにその通りです。去年の自分の記事がただの生物紹介になってしまった反省から、文化祭が終わった頃は「来年こそは何か研究らしい研究をして、灘校生活最後の記事にしよう」と考えていました。

しかし月日が流れるのは早いもので、余裕をもって研究を終わらせておこうと思っているうちに夏休みは終わり、そろそろ始めねばと思っているうちに冬休みも過ぎていきました。そして気づけば冬休み、記事の提出締め切りまでもう数週間となりましたが、僕は実験案すら思いついていませんでした。生物研究部にいながら物理選択の僕にすぐに面白い実験が思いつくはずもなく、しかし何か書かなければいけない、そんな中で思いついたことがありました。

僕は１月末にコロナにかかっていたのです。これに頼ろう。

というわけで、生物研究部での最後の部誌には僕の自宅療養とその後について印象深かった出来事などを、思い出しながらだらだらと書いていきます。コロナに感染してどんな生活になったかを書いた記事なのでこの記事には生物学、疫学的に有益な情報は一切登場しません。既に感染した方も、まだ感染していない方も楽しんで読んでいただければ幸いです。

2．感染判明直前

それは忘れもしない、１月 27 日のことでした。

その日僕はいつも通りに起き、やや体調の悪さを感じながらもおそらく寝不足のせいだろうと思い込み、いつものように学校に向かう電車に乗りました。しかし電車に乗ってすぐに、立っているのがやっとなほどのだるさに襲われました。後から考えると病気としか思えない状態だったのですが、その時はまさか自分がコロナのはずがないという正常性バイアスからでしょうか、寝不足のまま駅まで走ったせいだと結論付けてしまいました。不思議なことに学校まで半分を過ぎるとだるさは嘘のように消え、学校に着いた時にはいつもと全く変わらない体調になっていました。

そして１限の体育が始まったのですが、何か普段と様子が違います。どういう訳か教頭先生が、その後には学年主任までグラウンドに現

れました。この時僕を含む生徒一同はあることを察します。そして案の定、欠席者が多すぎるので学年閉鎖だと伝えられました。そのとき既に中学は閉鎖になっていたので、この日から(当時の)高 3 を除いた全学年が閉鎖となりました。自分も感染しているとは全く思っていなかった僕は、ついに高 2 も学年閉鎖かと思いながら友人と下校したのでした。

3．感染判明

帰宅した後母親と相談し、念のため近所に抗原検査を受けに行こうということになりました。母親は入院中の祖母の着替えを病院まで運ばなければならなかったので、万が一僕がコロナを持ち帰っていると大変だったからです。

もしかすると感染しているかもしれない、と思ったのはこの時になってからでした。一度そう思うと不思議なもので、一気に不安になっていきます。しかし検査に行かない訳にもいかないので、ためらいはあるものの「流石に感染してはいないだろう」と自分に言い聞かせつつ検査を受けることにしました。

検査を受けてしばらく待ってから、母親が検査を担当していた看護師の方に「大丈夫そうですか」と聞くと、「息子さんは大丈夫じゃないですね」という返事が返ってきました。この言葉は一生忘れられないことでしょう。聞いた瞬間やっぱり感染していたか、と思うと同時に、引き返さずに学校に行ってしまったことを深く後悔しました。マスクもしていて距離もとっていたから大丈夫だろうとは思うものの、数時間前まで一緒にいた友人にうつしてしまっていないだろうかと心配になります。結果的には友人は感染せずこの心配は杞憂となりましたが、よく考えると自分はどこでうつされたのかがよくわかりません。普段からマスクはきちんとしていたし、家に帰ればすぐに手洗いうがいにアルコール消毒もしていた上にワクチンだって 2 回打っていたのに、なぜか感染してしまったのです。オミクロン株の感染力に驚くしかありませんでした。

こうして感染が判明した僕は学校や塾に連絡し、いそいそと家に帰ったのでした。ここからは長い引きこもり生活の始まりです。

3．自宅療養

自宅療養と言っても 27 日の時点では母親は感染していなかったため、隔離のために僕は狭い仏間で 10 日間を過ごすことになりました。布団と机だけで部屋の大半が埋まってしまうため、日中は畳 1 枚分程

度の隙間に座って過ごさざるを得なくなり、僕は運動不足解消とエコノミークラス症候群対策のためラジオ体操を日課にしました。

学校が再開されて授業が見られるようになるまでの 7 日間は、だらだらと勉強しつつ、たまに動画を見漁りながら過ぎていきました。その間の数少ない癒しの 1 つが毎日窓際にやってくる野良猫を眺めることで、これは毎日同じ部屋に閉じこもったままのストレスを和らげるのに大いに役立ちました。

部屋の中から見た野良猫

学校が再開されると授業がオンラインで配信されるようになり、1 限までに起きて授業を受けるという生活リズムが生まれました。なおそれまでは寝たくなったら寝て目が覚めたら起きる日々だったので、いくらかは健康的な生活に戻るのかと思いきや、睡眠時間が短くなってしまったので昼間に眠くなるようになってしまいました。家にこもった生活は良くないですね。ちなみに学校に行けるようになると不思議なことに以前と同じ時間に起きられるようになり、我ながら感心しました。

オンラインの授業についてですが、普通に授業をしている教室の黒板をタブレットから配信していたので、画質が悪くて板書の内容が見にくくあまり内容が頭に入らないなというのが正直な感想でした。もちろん何もないよりはある方が良いものの、やはり授業は生で受けるのが一番だなと思います。休み時間にはタブレットを通して友人と話してみたりしたこともあり、これはとても楽しかったです。タブレットを置きっぱなしにしておいてくれた学校、ありがとう。

4．母親感染

僕の感染が確認されてからは母親からは常にドアで閉め切った別室にいることで隔離していましたが、あいにく風呂やトイレや洗面台が何個もあるような豪邸ではないので、水回りはタイミングをずらして使うという、不安感のある隔離となりました。そのこともあってか僕の感染が判明してから 6 日後に喉に異変を感じ翌日検査、その次の日に感染が判明し、幸か不幸か僕の隔離生活は終わりを迎えることとなりました。

困ったことといえば待機期間の計算で、自宅待機のルールがわかりにくかったため、一時は母親の療養期間が終わってから 10 日間の待機

をさせられそうになりました。この計算は保健所に問い合わせた結果誤りだったとわかりました。高校入試の日程上学校に行けるようになるまでの日数は変わりませんでしたが、外に堂々と出られるようになるだけでも気分は晴れ、食材を買いに行けるようになったおかげでご飯も豪華になり、それだけでも十分ありがたかったです。

5．社会復帰とその後

感染判明から 18 日、晴れて自宅待機から解放された僕でしたが、困ったこともありました。学校のプリントは溜まったままになっていましたし、宿題の提出も迫っていました。しかしそんなことはまだましな方で、僕にはより深刻なことがあったのです。

それは、咳が止まらないということです。自宅療養中は症状の 1 つだろうとしか思っていませんでしたが、普通の生活に戻っても収まる気配はなく、病院で薬をもらっても治りません。一時は胸の辺りが痛くなるほどにもなりました。このご時世マスクをしているとはいえ外で咳をするのははばかられますし、周囲の人に不安感を与えかねません。何としてでも治したかったのですが、一向に治らないまま 1 ヵ月が経ちました。このままでは一生咳をし続けることになるのではないかと思った僕は、薬が合っていないのではないかと考え耳鼻咽喉科に行ってみました。

そこで疑われたのは逆流性食道炎でした。もっと大きな理由かと心配していた僕は拍子抜けしてしまいましたが、調べてみるとなるほど、コロナの後遺症の中には逆流性食道炎もよくあるようです。そして処方された薬を飲むこと数週間、もうすぐ感染してから 2 ヵ月になろうという頃に咳はようやく落ち着きました。同じ時期に感染した同級生と比べても一番長く咳をしていただろうと思います。それだけに咳が治った時の喜びはひとしおでした。一生忘れない思い出になるでしょう。こうして僕はコロナの影響から解放されたのでした。

6．おわりに

ここまで僕のコロナに感染してからの出来事を書きましたが、いかがだったでしょうか。僕としては嬉しくはないものの一生の思い出になる体験だったと前向きに考えているのですが、一方で亡くなる方こそ減ったもののまだわからないことも多く、コロナはできればかかりたくはない病気であることに変わりはありません。皆様どうかお気をつけて元気でお過ごしください。拙文ですがここまでお読みいただきありがとうございました。

アントシアニン生合成関連酵素遺伝子中トランスポゾンの検出の試み

高校 3 年　三田村　大凱

1. はじめに

被子植物の花は色や形に関してバリエーションに富んでおり、しばしば我々を魅了する。特にバラやカーネーションといった植物の花弁はアントシアニン色素に由来する赤色や紫色を呈するものが多く、様々な園芸品種が作出されている。また、花弁は一部が周りとは異なった色になって独特の模様を示す場合があり、その色の違いをもたらす遺伝的機構の 1 つとしてトランスポゾンと呼ばれる DNA 配列の移動が知られている。本稿では、花の「絞り模様」(図 1)に関与するトランスポゾンに着目し、カーネーションなどの花でアントシアニン生合成を担う酵素の遺伝子に挿入されたトランスポゾンを PCR&電気泳動によって確認する実験を行った結果について記す。

図 1 絞り模様の椿

2. アントシアニンについて

(1) アントシアニンとは

一般に色素は特定の波長の光を吸収し、それらの波長の光を除いた反射光が色を構成する。植物の色素は主にフラボノイド、カロテノイド、ベタレイン、クロロフィルの 4 グループに分類され、例えばトマトの赤色や人参の橙色はカロテノイドに、葉の緑色はクロロフィルに起因する。アントシアニンが属するフラボノイドはフラバン(図 2)を基本骨格に持つ植物由来のフェノール性化合物のグループであり、紫外線をよく吸収し太陽光に含まれる紫外線から植物細胞の DNA を保護することで植物の陸上化に寄与していると考えられている。さらにフラボノイドは抗酸化作用や他の生物に影響を及ぼすアレロパシー活性などの効果を有することが知られており、多くの植物にとって重要な二次代謝産物となっている。フラボノイドにはお茶の苦味成分であるカテキンも含まれるが、フラボノイドのうちのアントシアニジンに糖鎖が結合した配糖体をアントシアニンと呼び、植物細胞内で赤色や紫色や青色を示す水溶性の色素として液胞内に貯蔵されている。

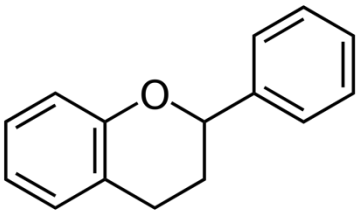


図 2 フラボノイドの基本骨格であるフラバン [出典 1]

(2) アントシアニンの生合成系・発色

アントシアニン生合成経路の一部を図 3 と図 4 に示す。アミノ酸の一種であるフェニルアラニンは、黄色色素のカルコン(テトラヒドロキシカルコン)を経て 3 種類のジヒドロフラボノールに変換され、そのそれぞれからアントシアニジンが合成される。アントシアニジンにメチル基や糖やアミノ酸が結合するとアントシアニンと呼ばれる。

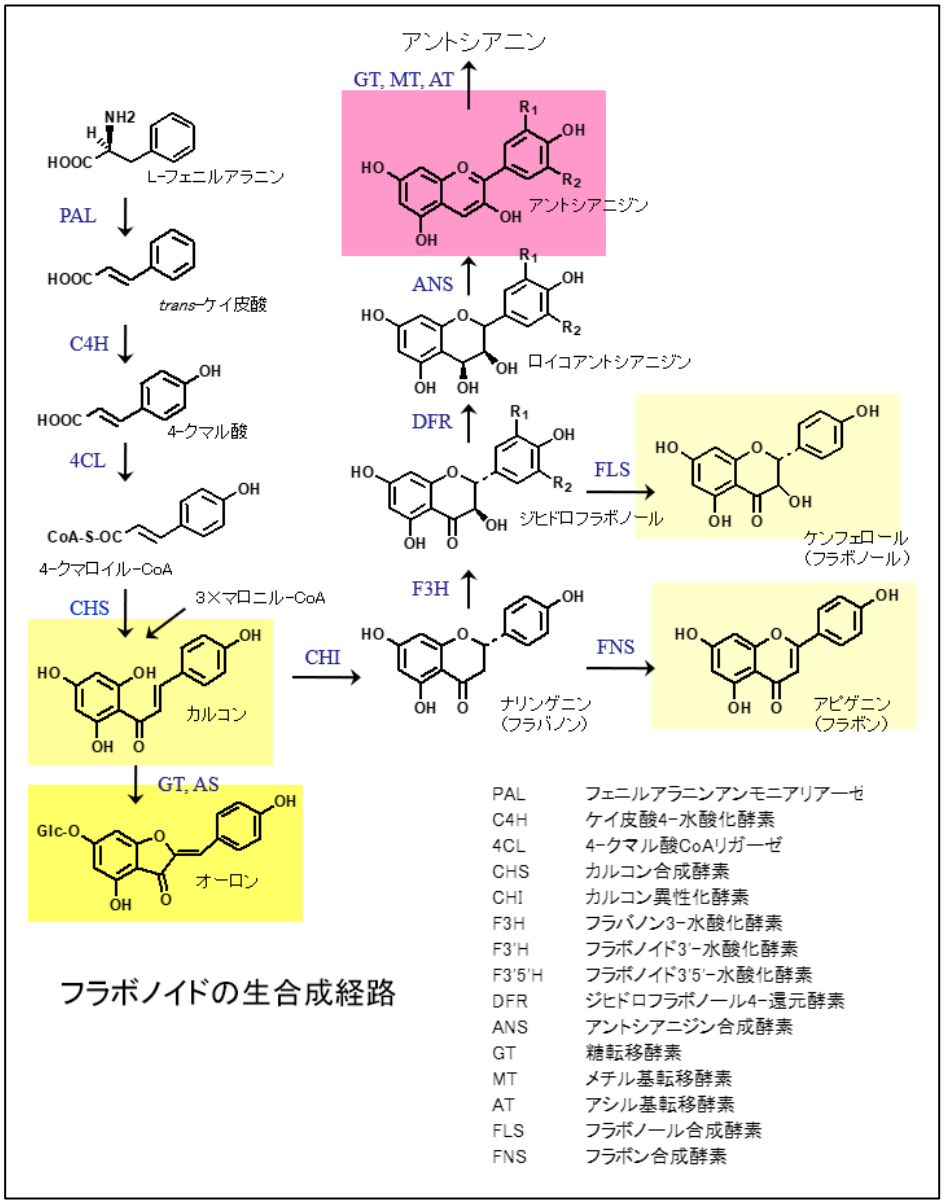


図 3 フェニルアラニンからアントシアニンまでの生合成経路[出典 2 より抜粋]

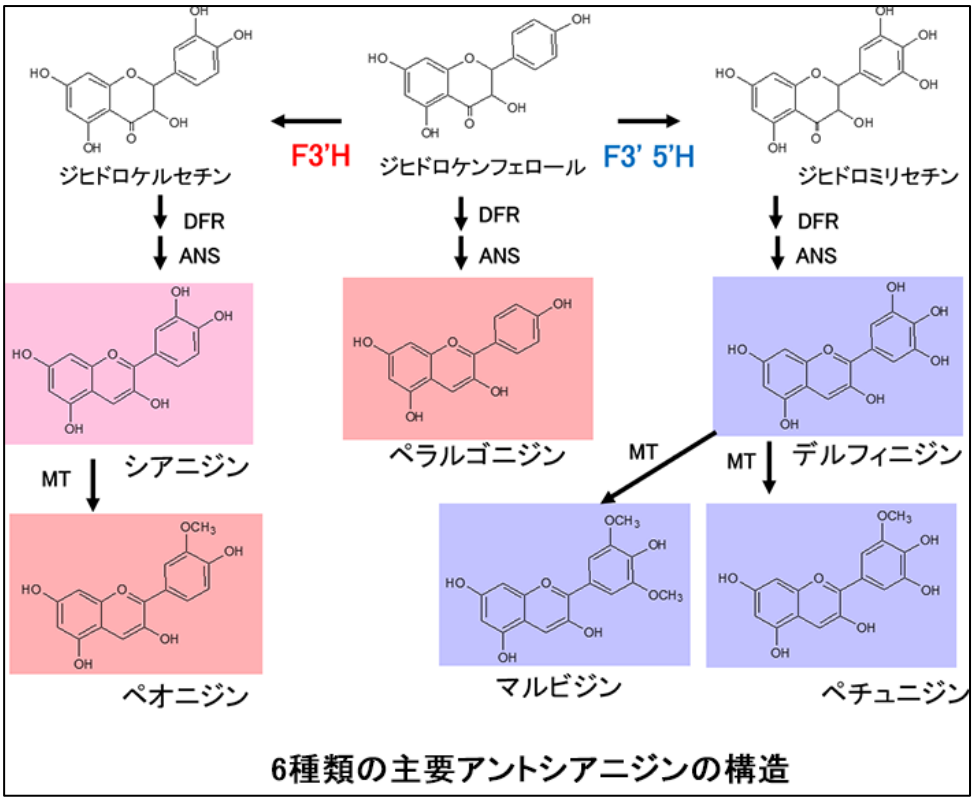


図 4 ジヒドロケンフェノールから各種アントシアニジンまでの生合成経路。ジヒドロケンフェノールはナリンゲニンから合成される(図 3 のジヒドロフラボノールに該当)。アントシアニジンの中央の環を構成する O 原子はオキソニウムイオンで正に帯電している。酵素名は図 3 を参照。[出典 2 より抜粋]

アントシアニンの発色はアントシアニジン部分の構造に大きく影響されるため、アントシアニジンの発色から紹介していく。炭素同士の単結合と二重結合が交互に連なった「共役二重結合」という構造がアントシアニジンの呈色の基本的な要因となっており、共役二重結合が長く連なるほど吸収する光の波長が紫外線領域から長波長側にシフトする(図 5)。また-OH 基が多いほど青みが増す傾向にあり、ペラルゴニジンは橙赤色、シアニジンは赤紫色、デルフィニジンは

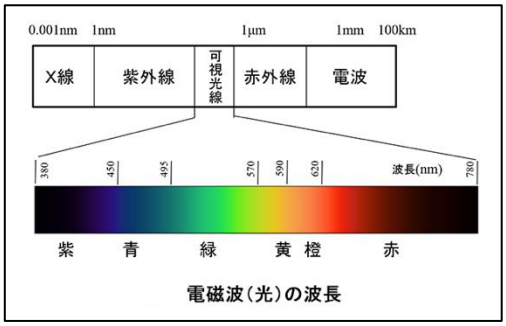


図 5 光の波長と色の関係
[出典 3 より抜粋]

青紫色を呈する。アントシアニンの発色はこの他、pH や金属イオンや分子の会合状態によって変化する。紫キャベツの色素(シアニジン由来)の色が pH によって変化することはよく知られているだろう。

バラやカーネーションに含まれるアントシアニジンとしてはペラルゴニジンとシアニジンが知られている。これらの植物は青系の色を示すデルフィニジンの合成に必要なフラボノイド 3'5'-水酸化酵素(F3'5'H、図 4 参照)を持たないため、花で青色を表現することができない。そのような理由で“blue rose”は英語圏で不可能の象徴とされてきたが、近年は F3'5'H の遺伝子を導入することで青いバラやカーネーションの作出が可能になっている。

3．トランスポゾンについて

(1) トランスポゾンとは

生物を構成するための遺伝情報は細胞内の DNA 分子に塩基配列として保存されている。このように全ての遺伝情報をコードした DNA 全体をゲノム DNA と呼ぶ(ここでは核内 DNA に限定する)。DNA の塩基配列は同一個体の細胞間では生殖細胞を除き基本的に一定であるが、驚くべきことに一部の DNA 領域はゲノム DNA 上の位置を変えることが知られている。こうした DNA 領域を転移因子(広義のトランスポゾン)という。

転移因子は主に 2 種類に分けることができる。1 つは DNA トランスポゾン(狭義のトランスポゾン)と呼ばれ、トランスポザーゼという酵素の働きによって切り取られゲノム DNA の他の部位に挿入される。すなわち「カット&ペースト」の様式でゲノム DNA 上での位置を変える。もう 1 つはレトロトランスポゾンと呼ばれ、自身にコードされた逆転写酵素の働きによって、自身から転写された RNA 鎖から DNA 鎖(cDNA)が逆転写され、この DNA 鎖がゲノム DNA の他の部位に挿入される。つまり「コピー&ペースト」の様式でコピーを増やしていく DNA 領域である。転移因子やそれに関連する反復配列はヒトゲノム DNA の中でも大部分を占めている(図 6)。

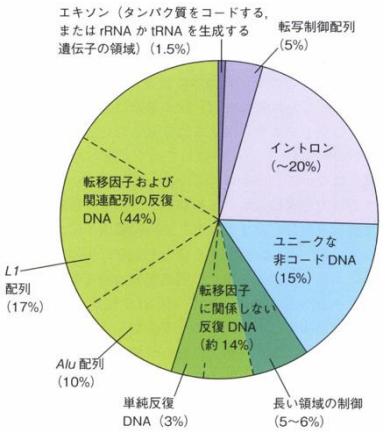


図 6 ヒトゲノム DNA の構成[出典 4]

これ以降、「トランスポゾン」は DNA トランスポゾンを指すものとする。

(2) トランスポゾンと花色の関係

トランスポゾンは前述の通りゲノム DNA 上の位置を変えて移動するが、その移動先が遺伝子となればトランスポゾンの挿入によって遺伝子が破壊されて機能しなくなってしまう。逆にトランスポゾンが挿入されている遺伝子からトランスポゾンが抜けると遺伝子の機能が復活する。

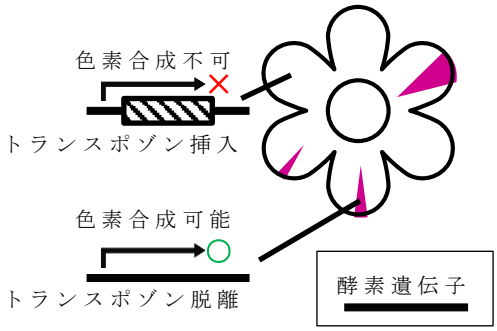


図 7 トランスポゾン挿入の有無と色素合成や花弁の発色の関係

いくつかの花の模様はトランスポゾンの転移によって形成されることが知られている。例えばアサガオやカーネーションのある品種では、特定のアントシアニン色素の合成に必要な酵素遺伝子にトランスポゾンが挿入されておりその色素が合成できない。しかし、花弁の細胞が細胞分裂を繰り返す中で、トランスポゾンが酵素遺伝子から脱離し色素を合成できるようになった細胞が出現し分裂することで、周りとは異なる色を持った部分が花弁に顕現する(図 7)。結果として「扇状模様」や「絞り模様」と呼ばれる複色の模様が形成される。

4. 本実験計画について

この章では本実験に至った経緯について簡単に説明させていただく。個人的な反省も含まれるが何卒ご了承いただきたい。

PCR(詳しい説明は他の文献に委ねる)でとある遺伝子を増幅する場合、トランスポゾンがその遺伝子に挿入されると増幅される DNA 領域の長さが長くなることが期待されるため、PCR の増幅断片の長さを電気泳動で確認することで転移因子の挿入を示唆できるのではないかと考えたことが本実験のきっかけだった。その後調べるうちに、第 3 章(2)で述べたようなトランスポゾンと花の模様の関連性に興味を持ち、アントシアニンの生合成に関する遺伝子をテーマにした実験を計画し始めた。

アントシアニン生合成経路の酵素の遺伝子をいくつか選択し、絞り模様を持つ何種類かの花から抽出した DNA を対象として、選択した遺伝子の DNA 領域を PCR で増幅し増幅断片の長さを電気泳動で確認するというのが当初予定していた実験の概要であり、また花に加えて葉から抽出した DNA も用いて PCR を行うことで葉でのトランスポゾン転移

についても調べることを考えていた。比較的早期の段階から絞り模様の花を集めていたが、計画していた実験は(少なくとも私にとって)想定より難しいことが明らかになっていった。というより、私の想定が甘かったという方が正確かもしれない。

第一に、対象とする植物には互いに遠縁な種が含まれており、それらの種間でDNA配列の差が大きくなってしまう。集めた全ての植物で同じプライマーを使うことを考えていたが、こうなると保存されたDNA配列が見られにくくなり適切なプライマーも設計できなくなる。何種類ものバリエーションを有する縮重プライマーであれば遠縁な植物種を対象としたPCRを一括で行えるだろうが、私自身は縮重プライマーの設計に関する知識に乏しく、有識者に教えていただくには時期が遅すぎた。

そして第二に、遺伝子中のどこに挿入されているかも分からないトランスポゾンの存在を捉えるためには遺伝子のなるべく両端に結合するプライマーを設計する必要があるが、そうすると増幅長が長くなりPCRの難易度が上がってしまう。本稿と同じテーマを扱っている研究論文の1つには、アントシアニン生合成関連酵素遺伝子と挿入配列合わせて10kbp弱にも達するカーネーションの例が研究されていた。増幅長が分からない条件下で適切なPCRを見出すのは難しいと思われ、ましてやその長さが十分長くなってくるとさらに厳しくなるだろう。いくつかの論文では酵素遺伝子に対する縮重プライマーが記載されていたが、当然ではあるものの、遺伝子の一部のみを増幅するように設計されたものがほとんどであった。

以上で述べた点や自らの実験技術・知識や実験スケジュールなどを考慮した結果、対象とする植物はそのままで花を利用し、1つの論文に記載されていたF3'H遺伝子(図4参照)の縮重プライマーを用いたPCR実験のみを実施することにした。実験時期が遅くなってしまったこと及び私自身の浅慮を反省したい。

5．実験内容

(1) 概要

絞り模様や斑入りの花の花弁から抽出したDNAを鋳型DNAとして、縮重プライマーを用いたF3'H遺伝子のDNA領域をPCRで増幅し、アガロースゲル電気泳動によって増幅断片の長さを推定する。

(2) 対象とした植物種

各地の花屋で購入した絞り模様・斑入りの花を用いた(図8)。「?」

のついた品種名は、正確な品種を知ることができずインターネットの情報から推定した品種名である。

①スプレーマム *Chrysanthemum sp.*(ピップ?)

花弁は白に赤紫の差しが高頻度で観察される。

②黄カーネーション *Dianthus caryophyllus*(フィエスタコマチ?)

花弁は淡黄に赤みがかったピンクの差しが花弁の端部を中心に観察される。

③桃カーネーション *Dianthus caryophyllus*(ジュビリー?)

花弁は淡ピンクに赤紫の差しが観察される。

④ラナンキュラス *Ranunculus asiaticus*(オルレアン?)

花弁は白に紫の点が散在しており、花の中心の方に位置する花弁に紫の斑が観察される。

⑤バラ *Rosa sp.*(マジックダンス+? フラッシング?)

花弁は白にピンクの斑が観察される。

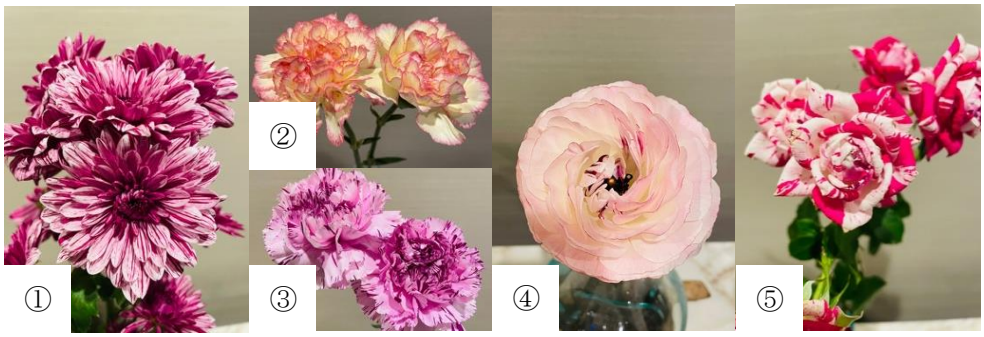


図 8 実験に用いた花

(3) 手順

①DNA 抽出

DNeasy Plant Mini Kit(QIAGEN 社)を用いて、各植物の花弁の一部から DNA を抽出した。抽出した 10 種類の DNA サンプルはそれぞれ、(a)スプレーマム花弁の白+赤紫の部分(b)黄カーネーション花弁の淡黄の部分(c)黄カーネーション花弁の淡黄+ピンクの部分(d)桃カーネーション花弁の淡ピンクの部分(e)桃カーネーション花弁の淡ピンク+赤紫の部分(f)ラナンキュラス花弁の白の部分(g)ラナンキュラス花弁の白+紫(散在する点)の部分(h)ラナンキュラス花弁の紫(斑)の部分(i)バラ花弁の白の部分(j)バラ花弁のピンクの部分に由来する。

②nested PCR

4 種類の縮重プライマーを用いて nested PCR*[1] を行った(表 1)。PCR 反応液に加える鋳型 DNA の割合は 3 パターン試し、また 2nd PCR では 1st PCR 産物をそのまま用いる場合と、100 倍希釈した 1st PCR 産物を用いる場合の 2 パターン試した。PCR 反応液に鋳型 DNA を 5μl、3μl、1μl 加えて行った実験条件をそれぞれ(Ⅰ)、(Ⅱ)、(Ⅲ)とし、さらに 2nd PCR で 1st PCR 産物をそのまま用いたか希釈したかで実験条件を(Ⅰ$_{\times 1}$)、(Ⅰ$_{\times 1/100}$)のように識別することにする。なお①で得た 10 サンプル以外に、純水を鋳型 DNA の代わりに加えて PCR を行ったネガティブコントロール(NC)も用意した。

*[1])nested PCR は、PCR で増幅したい領域を挟むように 2 組のプライマーを設計し、増幅領域からみてより外側のプライマーセットを用いて 1st PCR を行い、1st PCR 産物とより内側のプライマーセットを用いて 2nd PCR を行うことで、増幅の特異性を高める方法である。

A

F1(1st PCR)	5'-GGNTTCGTNSAYGTNGTNGT-3'
R1(1st PCR)	5'-GCCCKTTGNARNGTNAGNCCRTA-3'
F2(2nd PCR)	5'-AATTTCNNNAGYMGNCCACC-3'
R2(2nd PCR)	5'-CGNCCNGCNCCRAANGGDAT-3'

B

鋳型 DNA	5μl or 3μl or 1μl
dNTP	10μl
PCR バッファー	25μl
フォワードプライマー	3μl
リバースプライマー	3μl
PCR 酵素(KOD FX)	1μl
滅菌水	up to 50μl
合計	50μl

C

1st PCR	94℃	2min		2nd PCR	94℃	2min	
	98℃	10sec	×35		98℃	10sec	×35
	44℃	30sec			43℃	30sec	
	68℃	10min			68℃	10min	
	68℃	3min			68℃	3min	

表 1 nested PCR の詳細。(A)実験で用いたプライマー。参考文献 1 に記載されていたものを利用させていただいた。A・T・G・C 以外の塩基は縮重塩基を示す。(B)PCR 反応液の組成。各実験条件での鋳型 DNA の量は 1st PCR と 2nd PCR で共通である。(C)PCR 条件。

③アガロースゲル電気泳動

0.8%アガロースゲルを担体としてPCRの増幅産物を電気泳動する。泳動後ゲルを核酸染色試薬(GelGreen)で染色して青色光の下で撮影する。

6. 実験結果

電気泳動の結果を図9に示す。ここではDNAマーカーをM、(Ⅰ×1)の実験条件で増幅した(a)のDNAを($a_{Ⅰ×1}$)のように表すことにする。Aのゲルでは左からM、($e_{Ⅰ×1}$)、($e_{Ⅱ×1}$)、($e_{Ⅲ×1}$)、……、($e_{Ⅲ×1/100}$)、($j_{Ⅰ×1}$)、……、($j_{Ⅲ×1/100}$)とロードした。B~Eのゲルではそれぞれ(Ⅰ×1)、(Ⅱ×1)、(Ⅲ×1)、(Ⅰ×1/100)の実験条件でPCRを行ったサンプルをロードしており、例えばBのゲルでは左からM、($a_{Ⅰ×}$

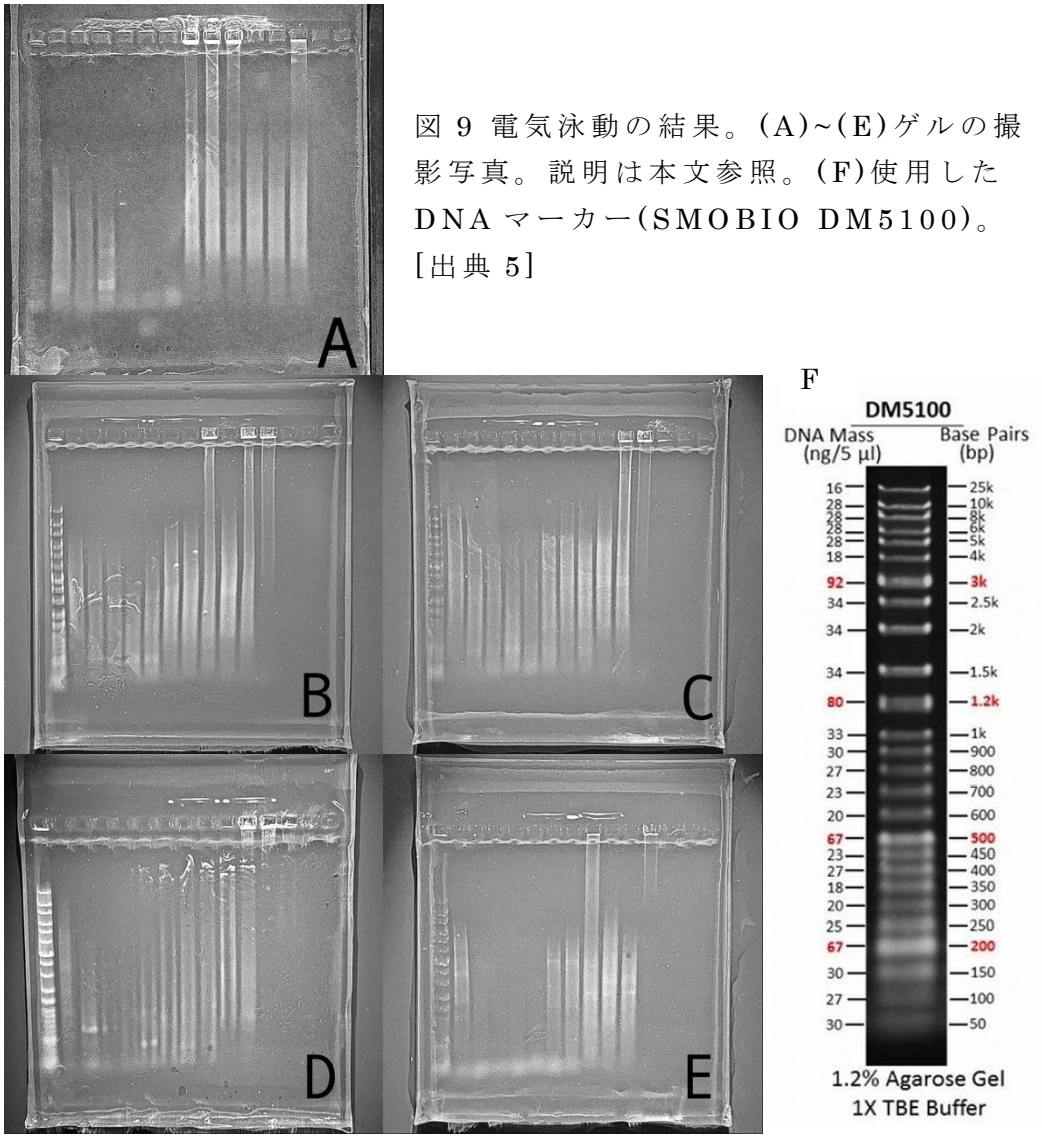


図9 電気泳動の結果。(A)~(E)ゲルの撮影写真。説明は本文参照。(F)使用したDNAマーカー(SMOBIO DM5100)。[出典5]

$_{1}$)、(b$_{\mathrm{I}\times1}$)、……、(j$_{\mathrm{I}\times1}$)、(NC$_{\mathrm{I}\times1}$)とロードした。(Ⅱ$_{\times1/100}$)と(Ⅲ$_{\times1/100}$)の条件でPCRを行ったサンプルの電気泳動結果は目立った増幅が観察されなかったので掲載していない。

7. 分析・考察

電気泳動の結果は全てスメア(縦にべったり塗られたような跡)が観察されてしまったが、そのなかでもバンドらしきものを見出すことができるため、そうした泳動パターンに着目してみることとする。

まずは実験条件について検討する。AやEのゲルの様子からカーネーションDNA (b)~(e)は1st PCR産物を100倍希釈した条件では十分に増幅されていないと考えられる。Dのゲルではカーネーション DNAのスメアが減ってバンドが観察しやすくなっており、一方Eのゲルではカーネーション DNAのバンドは観察されないがそれ以外のDNAでバンドらしきものがよく観察される。今回のプライマーセットでは(Ⅲ$_{\times1}$)や(Ⅰ$_{\times1/100}$)の条件でのPCRがバンドの観察に適切と思われる。

次にバンドの位置に着目していく。スプレーマムDNA(a)に関してはEのゲルで約2500bp、約1500bp、約1000 bpのバンドが見出せる。NCBIデータベースに登録されていた*Chrysanthemum x morifolium*のF3'H遺伝子(Accession No. GU249549)でのプライマーF2及びR2による推定増幅長は3194bpで、また3つもバンドが見られることからスプレーマムでは主に非特異的増幅が起きたと考えられる。黄カーネーションDNA(b)(c)に関してはDのゲルで約700bpのバンドが見出せ、桃カーネーションDNA(e)に関してはAやDのゲルで約1000bp、約400bpのバンドが見出せる。プライマー引用元の参考文献1によると今回のプライマーセットではカーネーションF3'H遺伝子から4000~5000bpの増幅が期待されるため、カーネーションでも望んだ増幅は見られないと考えられる。やはり遺伝子の増幅長が長くなってしまい上手く増幅されなかったのだろう。ラナンキュラスDNAについて、(f)と(g)ではEのゲルで約3000bpのバンドが見出せるが、(h)では代わりに約2000bpのバンドが見出せる。NCBIデータベースに登録されていたキンポウゲ科*Delphinium grandiflorum*のF3'H遺伝子(Accession No. LC441150)でのプライマーF2及びR2による推定増幅長は2794bpであり、(h)の約2000bpのバンドとはややずれる。しかし、ラナンキュラス花弁の白い部分(f)(g)では約1000bpのトランスポゾンが挿入した約3000bp

の F3'H 遺伝子が増幅され、花弁の紫斑(h)ではトランスポゾンが脱離した約 2000bp の F3'H 遺伝子が増幅された可能性が示唆される。バラ DNA(i)(j)については E のゲルで約 2000bp、約 2500bp のバンドが見出せ、花弁の色による差は見られなかった。

8. おわりに

今回は花の色素合成に関与するトランスポゾンの挿入に着目して実験を行ったが、縮重プライマーのみを用いたこともあり示唆できたことはごく僅かに限られてしまった。対象とする植物を限定して、mRNA を逆転写した cDNA を鋳型として PCR を行い配列を決定した上で種特異的なプライマーを設計するなど、より本格的な実験計画を立てるべきだったと反省している。絞り模様の花は多くの種で知られており、トランスポゾンの関与は興味深いトピックであるため、機会があれば今後もトランスポゾン挿入遺伝子の増幅を試したい。

9. 謝辞

今回試したような分子生物学実験が行えたのは、サーマルサイクラー(PCR を行う機械)や諸々の器具及び試薬の弊部への導入が昨年実現したおかげです。弊部の将来を見据えて機材等の購入を思い切って認め、進めてくださった生物研究部顧問の先生や本校理科実習助手の先生、そして弊部に寄付をしてくださった OB の方々に感謝を申し上げます。また蔓延防止等重点措置の影響で放課後が短縮される中、サンプル数も少なくない実験を行うのは厳しかったのですが、そのような状況下で実験の手伝いをしてくれた部員 4 人にも感謝します。最後に、実験対象の花探しに協力してくれた母親に感謝します。ありがとうございました。

10. 画像出典・参考文献

(1)画像出典

①Calvero., Public domain, ウィキメディア・コモンズ経由, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flavan_acsv.svg, 最終閲覧日 2022-4-1.

②“フラボノイド”. 農研機構, 野菜花き研究部門, https://www.naro.go.jp/laboratory/nivfs/kiso/color_shikiso/contents/flavonoid.html, 最終閲覧日 2022-4-1.

③“色素の基礎知識”. 農研機構, 野菜花き研究部門, https://www.naro.go.jp/laboratory/nivfs/kiso/color_shikiso/index.html, 最終閲覧日 2022-4-1.

④Campbell, N. A. ほか. キャンベル生物学. 池内昌彦・伊藤元己・箸本春樹・道上達男 監訳, 原書 11 版, 丸善出版, 2018, p519.
⑤SMOBIO Super Range DNA Ladder (50 bp-25 kb). http://docs.smobio.com/document/doc/PV/DM5100.pdf.
(2)参考文献
①百瀬眞幸(2014). 体細胞変異に寄与するトランスポゾンに関する研究, 東京大学博士論文.
②“花色の基礎知識”. 農研機構, 野菜花き研究部門, https://www.naro.go.jp/laboratory/nivfs/kiso/index.html, 最終閲覧日 2022-4-1.
③“光合成辞典”. 日本光合成学会, https://photosyn.jp/pwiki/, 最終閲覧日 2022-4-1.
④“アカキャベツ色素”. キリヤ化学, http://www.kiriya-chem.co.jp/tennen/kyabetu.html, 最終閲覧日 2022-4-1.
⑤“世界初！「青いバラ」への挑戦 誕生の秘密”. SUNTORY, サントリーグローバルイノベーションセンター, https://www.suntory.co.jp/sic/research/s_bluerose/secret/, 最終閲覧日 2022-4-1.

日本生物学オリンピック 2020・2021 を軽く振り返る

高校 3 年　三田村　大凱

1. はじめに

こんにちは！もうじきこの部から追い出されてしまう高 3 の三田村です。早速ですが、皆さんは日本生物学オリンピック(JBO)というイベントをご存知でしょうか？この記事では中 2 から JBO に参加している私が最初に JBO について簡単に紹介したあと、最近 2 年分の JBO の開催形態・試験形式について軽く振り返っていきます(参加した私の個人的な感想も含まれます)。JBO に興味のある人やこれから参加する予定がある人の参考になれば幸いです。

2. 日本生物学オリンピック(JBO)とは？

この世には、生物好きの中高生が生物学の面白さに触れ交流し合える、そんな素敵な大会があるんです。日本生物学オリンピック(JBO)は、生物学の知識や考察力を試す理論試験と実技試験が出題される、全国の中高生を対象としたコンテストです。主に予選と本選から構成されており、予選には毎年数千人の中高生が参加しています。弊部の部員も毎年積極的に JBO に参加しており、本選に進出している人も何人かいます。

コロナ禍前のスタンダードを解説すると、予選は全国の会場でマークシート形式の理論試験が 7 月に実施されて上位約 80 人が本選に出場し、本選は 1 つの大学で記述式の実技試験が 8 月に実施され、成績優秀者が表彰されます。「運動の」オリンピックとは異なってメダルの授賞対象には幅があり、金賞が 10 人、銀賞が 10 人、銅賞が 20 人です。そして高 2 以下の本選成績優秀者上位十数名は代表候補に選ばれます。というのも、実は生物学オリンピックには国際大会(IBO)があり、国際大会に出場できる日本代表選手を決める代表選抜試験を受ける資格が代表候補に与えられます。

この記事を読んでくれている生物好きの中高生は是非 JBO に参加してみましょう。予選はマークシートなのでとっつきやすく、過去問は解説付きで公式 HP に公開されています。また、こうした中高生向けコンテストは生物学以外に数学、化学、物理、地学、地理、言語学、脳科学など様々な分野で開催されているので、自分の得意分野のコンテストを探してみましょう。

3. JBO2020

(1) 本大会の中止

2020年のJBOは新型コロナウイルス情勢を鑑みて、一度中止の判断が下されました。しかしその後、JBO2020代替試験の実施が発表されました。

(2) 一次試験

代替試験の一次試験は11月にオンライン(Computer Based Testing)で実施されました。マークシート形式の理論試験なのは例年通りでしたが、問題数は12問と例年の半分、試験時間は60分と例年の2/3になっていました。問題の傾向に大きな変化は見られずやや易しめ(とはいえ私はいくつかミスを犯しました)でしたが、問題数が少ない分1問あたりの配点が大きくミスの影響が深刻になっていました。

印象的だった問題は問2です(過去問のリンクは記事の末尾に掲載しているのでそちらから閲覧してください)。DNA鎖やRNA鎖の塩基対形成に関する知識だけで解けてしまう問題ですが、最初見たときは何をすればいいのか分からずしばらく戸惑ってしまいました。

(3) 二次試験

代替試験の二次試験は全国のいくつかの会場で、一次試験の成績上位約120人を対象として12月に実地で実施されました。例年の本選とは異なり、マークシート形式の理論試験(2時間で30問)が出題されました。内容は知識問題と考察問題が混ざっていましたが当然ながら一次試験の問題よりも難しめでした。

印象的だった問題は第7問です。制限酵素がきちんと機能していないことを考慮しないと解けない問題だったので、答えに辿り着きにくいように感じました。

(4) 代表選抜試験の中止

二次試験の成績上位者が例年通り代表候補に選ばれたのですが、東京での緊急事態宣言発令の延長決定の影響で、東京で実地で行う予定だった選抜試験は中止になりました。結局日本代表は二次試験の成績で決められることになり、その年の国際大会はリモート開催になりました。

3. JBO2021

(1) 予選

新型コロナウイルスは2021年になっても人間に牙を剝き続け、この年のJBOは予選から本選まで基本オンラインで開催されました。

予選は7月に、2020年と同じくマークシート形式の理論試験がオンラインで実施されました。問題数は19問でコロナ禍前の形式に少し戻ったのですが、数理的な思考力を問う問題が目立っていました。作問者

側がオンライン試験を見越して不正が行いにくいセットにしたのかと勘繰ってしまいますが、弊部の部員もやや面食らったようです。

前述したような数理的思考力を問う問題は全体的に目新しく、個人的には難しくも面白かったです。問 15 や問 18 などが印象的でした。

(2) 本選

①概要

本選は 9 月にオンラインでの開催となったのですが、一言でいうとコロナ禍以前の本選の形式を残しつつリモートでイベントが進められる感じでした。T シャツや試験の解答用紙が事前に郵送で自宅に送られ、当日は参加者が自宅や学校から PC を通じて ZOOM のミーティングに参加し、2 日間の試験を受けました。ホスト会場の慶應義塾大学先端生命科学研究所(山形県鶴岡市)に運営本部が設置され、実行委員長の黒田裕樹先生が進行を務めてくださいました。試験は例年通り 3 つで、オンライン開催なので実技試験はできませんでしたが試験形式は工夫されていました。その他には鶴岡サイエンスパークのリモートライブツアーも行われました。

②大問 1

マークシート形式の理論試験(90 分で 17 問)で、形式は JBO2020 代替試験の二次試験とほとんど同じでした。問題冊子と解答用紙は事前に送られており、ZOOM で繋がっている試験監督(SCIBO)に見張られながら手元で解いていきました(この形式は他の問題も同様です)。

問題はモノに依りますが難問も多く、本選 1 日目にして JBO の洗礼を受けました。印象的な問題は第 3 問です。inverse PCR がテーマになっていますが PCR の常識に囚われない姿勢が必要で、これを試験中に思いつくのはかなり難しいのではないかと思いました。第 4 問の遺伝子系統樹も目新しい問題でした。

③大問 2

分子生物学実験の様子を写した動画を題材とした記述式試験で、リモート形式でも何とか分子生物学実験に関する知識や思考力を問いたいという出題側の尽力が感じられました。動画中の誤った実験操作を指摘していくのは漫才のツッコミをしているようで楽しかったです。

④大問 3

クマムシに関する紹介動画を題材とした記述式試験で、この試験は例年の本選試験に最も近かったように感じました。真面目な論述問題のみから成っており、広い解答欄に受験者の論述能力がはっきりと現れる試

験だったと思います。

⑤表彰式

表彰式は試験の 1 週間後にまたオンラインで行われました。手前味噌になりますが、私は副賞として特製のけん玉をいただきました。

(3) 代表選抜試験まで

①冬期特別教育

JBO の代表候補は 12 月に冬期特別教育に参加して、統計処理能力や実験技術を学びます。今年は 2 泊 3 日で、東京大学駒場キャンパスにて開催されました。内容は王道の分子生物学実験(PCR&電気泳動)、ニワトリ胚発生の観察、マウス脳の観察でした。

特筆すべきこととして、この冬期特別教育中には実技試験が実施されました。内容は今回の特別教育で学んだ技術を利用した実験で、納豆菌の DNA を PCR で増幅して考察したり、ニワトリ胚の循環系を観察して記述したりしました。JBO2019 以来の本格的な実技試験だったので緊張しましたが楽しかったです。特にニワトリ胚の循環系をスケッチしているときは地図を書いているようでワクワクしました。

②代表選抜試験

選抜試験は無事実施され、科学技術館(東京都千代田区)か所属校での受験となりました。試験はマークシート形式の理論試験で、例年の記述試験はありませんでした。

4. おわりに

この記事ではオンライン開催が中心となった JBO2020 代替試験と JBO2021 についてご紹介してきました。新型コロナウイルスの影響でイベントが無くなることも多い中で、このように中高生が試験を受け交流する機会を設けてくださっている運営の皆さんには感謝してもしきれません。JBO がますます大きな大会へと発展していくことをお祈り申し上げます。ここまで読んでくださりありがとうございました。

5. 参考文献

・JBO 公式 HP http://www.jbo-info.jp

【過去問リンク】http://www.jbo-info.jp/exam/index.html

・日本生物学オリンピック本選 2021 鶴岡大会 公式 HP

https://jbotsuruoka.iab.keio.ac.jp/index.html

おわりに

灘校生物研究部部報通巻第 110 号はいかがだったでしょうか。代々続く生物研究部の部報を今年も絶やすことなく皆様にお届け出来たことに安堵しています。コロナ禍は遂に 3 年目に突入してしまいましたが、ほとんど平時の落ち着きを取り戻したと言えるのではないかと思います。そのおかげもあり、昨年度からの人数制限は継続しているものの、ほぼ例年通りの文化祭の開催を迎えることが出来ました。昨年度の生物研究部の活動を振り返ると、夏休みの合宿が中止されるなど、コロナ禍の影響は確実に出ていました。しかしそんな中でも高校生が技術継承に心血を注ぎ、『生研ゼミ』という新たな活動をスタートさせ、多くの部員が生物学オリンピックに挑戦するなど精力的な活動が出来ていたと確信しています。また、この文化祭を機にこれまで生物研究部をリードしてきた多くの部員が引退し、残された者としてますます精進しなければならないと痛感しています。

最後になりましたが、顧問の宮田先生をはじめとする、弊部を支え、温かく見守って下さった全ての皆様に、この場を借りて心より感謝申し上げます。

令和 4 年 5 月 2 日

副部長　H.H.

2022 年 5 月 2 日 初版発行

無断転載禁止

生物研究部部報 通巻１１０号

発行者　鈴木　海聖
編集者　鈴木　海聖
表紙絵師　岡本　龍太郎
装丁　部員一同
印刷所　灘校生徒会印刷課
発行所　灘校生物研究部
〒658-0082
神戸市東灘区魚崎北町 8-5-1
TEL　078-411-7234(代)
公式 HP http://nbrc.client.jp/

灘校生物研究部

http://nbrc.client.jp/

表紙絵解説

和名；レンカク

学名；*Hydrophasianus chirurgus*

ユーラシア大陸南東部に生息し、日本ではよく南西諸島に迷鳥として飛来する。漢字で「蓮鶴」と書く通り、長い指で圧力を分散させ、ハスやヒシの葉の上を歩くことができる。