熱障害で粘菌の行く手を阻めるか??

チーム名:モジホコリ組

メンバー: 久保田恒喜、尹儁赫、林美月(山梨大学工学部応用化学科2年) 亀井章弘、川村翔、原和生、平山超也(同1年)

〒400 - 8511 山梨県甲府市宮前町 7 - 32 山梨大学クリスタル科学研究センター TEL 055 - 220 - 8625 E-mail t12ac022@yamanashi.ac.jp

I はじめに

粘菌(モジホコリ目の一種)とは、真核生物の中で原生生物界に属する変形菌のことであり、いくつかの分類に分けられる。その中でも真正粘菌はアメーバ状の細胞質の集団で移動して栄養を摂取するなど、変形して移動することや、熱や光を嫌うという特性を持っていることで知られている。

また、2008年に北大電子科学研究所の中垣俊之准教授が粘菌に迷路を解かせる研究でイグ・ノーベル賞を受賞し、注目を浴びた。これは餌がおかれた迷路の最短経路を粘菌が見つけ出すという研究であった。(図 - 1)

私たちは、粘菌の「熱を嫌う性質」と「迷路の最短距離を 見つけ出す性質」に着目し、粘菌の経路選択が熱によって最 短距離からどのように変化するのかを調べてみることにした。

Ⅱ 目的

- ・ 粘菌がどの程度の温度までなら最短ルートを選択できるのかを確認する。
- ・最短ルート以外を選択した場合の温度条件を確認する。

Ⅲ 研究内容

i 実験期間 平成 25 年 7 月 1 日~12 月 9 日

ii 実験場所

山梨大学大学院医学工学総合研究部附属クリスタル科学 研究センター

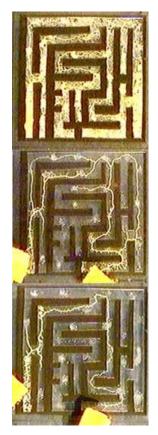


図-1 迷路を解く粘菌 上から「迷路全体に広がった 粘菌」「餌を置いた4時間後、 まだ複数の経路が残る」「さ らに4時間後、最短経路だけ に残った粘菌」

iii 器具および試薬

ビーカー(100 ml、200 ml)、マッチ、ガスバーナー、三脚、粉末寒天、ピンセット、滅菌シャーレ、ループ、薬包紙、薬さじ、電子天秤、スパーテル、温度制御装置八光シリコンラバーヒーター、アルミ柱(Φ 5 mm)、オートミール、殺菌用エタノール(70%)、ブラックライト、滅菌水、粘菌(菌核状)、銀板、耐熱レンガ、割りばし、接着剤、アルミテープ、発泡スチロール

iv 実験装置作製

熱伝導棒の作製

図 - 2 に示したようにアルミ柱(Φ 5 mm)を 7 cm に切り、切断面をグラインダーで平らにした。これを熱伝導棒として使用した。



図-2 アルミ柱

・ 培地の容器の作製

図 - 3 に示したようにシャーレに熱伝導棒が通る大きさの穴 (Φ 5 mm) をあけた。

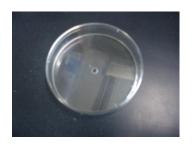


図-3 本実験用シャーレ

・ ラバーヒーターと熱伝導棒先端の温度変化の測定(校正値)

ラバーヒーターの中央に熱伝導棒を立ててヒーターの中央付近に熱電対を 置き、出力を制御した。熱伝導棒の上端にも熱電対を置き、ヒーターの温度 変化に伴う熱伝導棒先端の温度変化を空気中で測定した。表 - 1 と図 - 4 に示 したこの温度関係を校正値として本実験での温度設定の参考とした。

表 - 1 校正温度のデータ

ラバーヒーターの温度(℃)	50	80	100
熱伝導棒先端の温度 (℃)	32	39~40	42~45

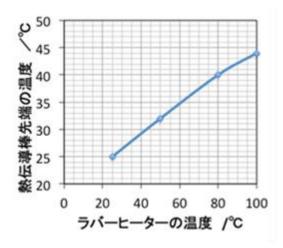


図-4 校正温度のグラフ

• 装置組立

熱伝導棒を穴をあけたシャーレの底から 9 mm 程度挿入し、接着剤で固定した。熱伝導棒の先端に温度計を固定した。

シャーレを支える為の台を割り箸で製作し、図 - 5 のような装置を組み立てた。ラバーヒーターの熱が熱伝導棒以外の経路から侵入するのを防ぐ為、台の隙間に断熱材として発泡スチロールを挿入した。



図-5 実験装置

v 培養菌体

モジホコリカビ <u>P. polycephalum Schweinitz</u> (変形性粘菌フィザルム)

vi 実験方法

· 培地作製

寒天 2 g に水 100 ml を加え加熱し、沸騰したらシャーレに入れ常温で放冷した。

· 殺菌方法

作製した培地に1週間ブラックライトを照射した(紫外線殺菌)。また、エサのオートミールも紫外線殺菌をした。

・ 粘菌の培養

殺菌後、培地にオートミールを少量撒き、その付近に粘菌の菌核を播種して粘菌を培養した。(図-6)

粘菌の移植

培養された粘菌が密集している部分の培地を5 mm×5 mm四方にピンセットで切り取り、あらかじめオートミールを撒いた新しい培地(殺菌済み。本実験と予備実験で装置が異なる)に移植した。ピンセットは、火炎滅菌をして滅菌水で放冷したものを使用した。

予備実験

粘菌が一方のオートミールからもう 一方のオートミールまで移動するかを 確認するために銀板で培地上に一本道 を作り、その両端にオートミールを撒い た。一方の端に粘菌を移植し、19℃程度 の室温で1週間、粘菌の移動を観察した。 (図 - 7)

本実験

装置のラバーヒーターの温度を80℃

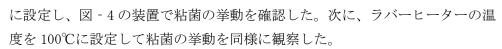






図 - 7 銀板で道を作った培地

IV 結果・考察

1. 予備実験

予備実験に使用した粘菌は培養開始から約5時間後に動いた様子が確認できた。 図-8に培養開始から約173時間後の粘菌の様子を示した。図中のAに示したよう に粘菌が最短距離を繋いだ跡が薄い線として確認された。これはこの実験中に、 隣の殺菌用の紫外線(図中紫の矢印)の漏れによって最短距離を繋いでいた粘菌の 細胞の一部が死滅したことを示している。図中の B に示したように生き残った他の細胞が最短距離から避けるという現象が確認された。これは環境の不備による偶発的な結果であるが、粘菌が刺激に対して反応することを示している。

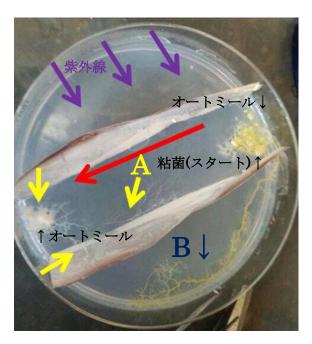


図 - 8 移動後の粘菌の様子 紫の矢印が紫外線の向き。赤い矢印が本来の粘菌の進む方向。黄色の矢印は紫外線により死滅した粘菌の死 骸を指す。

2. 本実験

① ラバーヒーターの設定温度を80℃とした場合

ヒーター部分の熱電対が示した温度(図 - 9 の②、④の PV 値)は 5 分程度の時間スケールで 73 $^\circ$ Cから 88 $^\circ$ C程度の範囲で繰り返し変化した。その変化に伴って培地に設置した熱電対の指示温度(図 - 9 の②、④の T/C1 値)は 33 $^\circ$ Cから 36 $^\circ$ Cの範囲で変化した。

培地中の粘菌の様子

図 - 9 の①、③は培養開始後それぞれ約 26 時間、51 時間経過した培地の様子である。写真中の黄色い部分は粘菌であり、その挙動は最短経路となる熱伝導棒直上を通過する場合と、熱伝導棒を避けた経路を通る場合の 2 通りの様子が観察された。これは上述したように熱伝導棒近傍の温度の時間揺らぎに起因している可能性が考えられる。

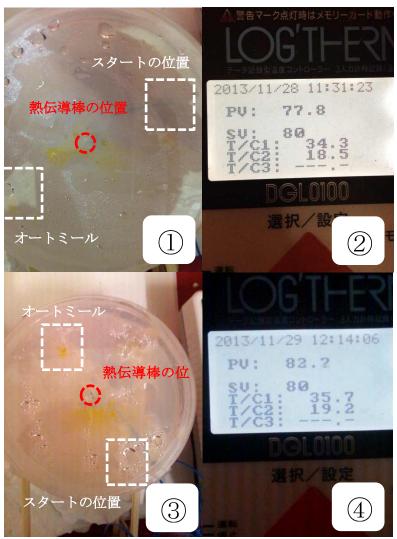


図 - 9 設定温度 80℃の場合の粘菌の挙動と培地の温度 ②、④はそれぞれ①、③の培地が観察された際のヒーターの温度制御装置 の表示。SV:設定温度、PV:ヒーター温度、T/C1:熱伝導棒の温度、T/C2:室 温

② ラバーヒーターの設定温度を100℃とした場合

ヒーター部分の熱電対が示した温度は 5 分程度の時間スケールで設定温度 が 80 の場合と同様の変化を示した。この時、培地に設置した熱電対の指示 温度は 51 C程度であった。

培地中の粘菌の様子

図 - 10 の左の写真は培養開始後、約 22 時間経過した培地の様子である。写真中の黄色い部分は粘菌である。粘菌は動き始めると期待される 5 時間を経過してもスタート位置から動かなかった。これは図 - 10 の右の写真に示した培地の温度(T/C1)が 51 と高すぎたことに起因していると考えられる。これらの結果から粘菌の挙動は熱伝導棒の温度が 34 C付近から阻害さ

れ始め、51℃では全く動かないことが分かった。



図 - 10 設定温度 100℃の場合の粘菌の挙動と培地の温度

V 反省、感想

菌の培養については教員も含め初心者が多いことに加えて、利用可能な機器も限られていたことから、培養の過程で雑菌汚染が頻発した。雑菌汚染を防ぐための適切な殺菌法の確立に時間がかかったため、当初想定していたよりも本実験にかける時間が限定的なものとなった。そのためラバーヒーターの温度設定を系統的に変化させることが困難となり、実施できたのは80°Cと100°Cの2通りのみとなった。理想的には10°Cごと、5°Cごとなどより細かく設定温度を変化させ、粘菌の挙動を詳細に調べるべきであった。

VI 謝辞

本研究は山梨大学工学部応用化学科の「発展ものづくりゼミ」の一環として行いました。本研究の実施にあたりご支援いただきました、株式会社八光電機のみなさま。並びにご指導ご助言をくださいました、田中先生、綿打先生、長尾先生に深く感謝申し上げます。ありがとうございました。

VII 出典

図 - 1 Doshin web 北海道新聞 現代かわら版(2008/10/10)

http://www.hokkaido-np.co.jp/cont/kawaraban/39680.html