

オニクマムシの乾眠導入と蘇生に関する研究

～季節の変化によって受ける生態的影響～

愛媛県立今治西高等学校 生物部 秋山綾子 瀬川美和 池内明香 佐伯悠 指導教諭 中川和倫

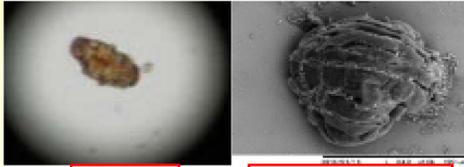


研究要旨

クマムシは乾眠時に極めて強い極限環境耐性を有する。私たちは、クマムシの種によって耐性の強さが異なる原因を確認した。また、夏になるとオニクマムシの蘇生率が低下したことから、乾眠導入時と蘇生時の温度の違いによって蘇生速度と蘇生率が影響を受けることを突き止め(新規発見)、その要因について考察した。

クマムシとは

- ・緩歩動物門: 約1200種: 陸上種と水生種があり、陸上種は乾燥により休眠＝乾眠
- ・8本脚でそのそと歩くことから、英語名はwater bear
- ・陸上種はコケの中や表層土壌に生息
- ・乾燥時に休眠して樽状のtun状態になる
- ・**tun状態の時に強い極限環境耐性を持つ**
- ・種により-273℃(絶対0℃)～151℃で生存
- ・人の致死量の約)1000倍 の放射線耐性
- ・宇宙空間での暴露でも生存(ESA, 2007年)



tun状態 電子顕微鏡写真



発見したクマムシ: いずれも体長約0.2mm、tun状態で約0.1mm

tun状態からの繰り返し蘇生率の変化

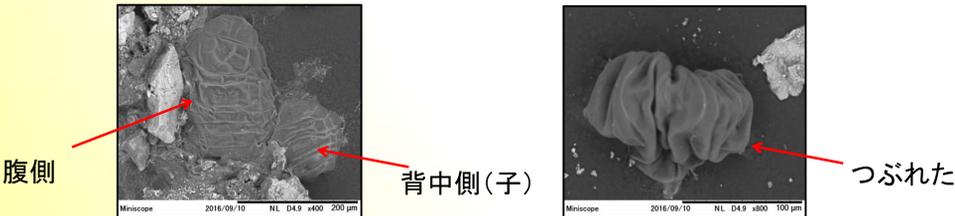


オニクマムシ>チョウメイムシ(シロクマムシ)

tun状態での極限環境耐性 オニクマムシ>チョウメイムシ

種	オニクマムシ	チョウメイムシ	○活動再開 ×死滅
高温	煮沸5分: ○、15分: ×	煮沸5分: ×	
低温	冷凍庫1週間: ○	冷凍庫1週間: ×	
真空	真空パック1週間: ○	真空パック1週間: ×	
電磁波	レンジ5分: ○、10分: ×	レンジ5分: ×	

種によるtun状態の違い: 含水率(電子顕微鏡写真)



tun状態のオニクマムシ

tun状態のチョウメイムシ

- 電子顕微鏡で撮影したtun状態のオニクマムシとチョウメイムシ
- ・光学顕微鏡の撮影では2種ともtun状態は樽状であった
 - ・電子顕微鏡(真空)での撮影ではチョウメイムシだけ脱水してつぶれた
 - ・tun状態の真空での耐性...オニクマムシ>チョウメイムシ
 - ・体表のクチクラ層の強度...オニクマムシ>チョウメイムシ
 - ・tun状態での含水量...オニクマムシ<チョウメイムシ

クマムシの極限環境耐性物質: タンパク質

従来の学説: **トレハロース**に注目

最近

HS(熱ショック)タンパク質
LEAタンパク質(グループ3)

ネムリユスリカ幼虫の休眠耐性物質(タンパク質分子の周囲をガラス状に固めて極限環境での変性を防止)オニクマムシには存在しない

乾燥によるタンパク質分子の変性を防ぐ抗凝集性タンパク質として機能(αヘリックス構造で周囲を固める)

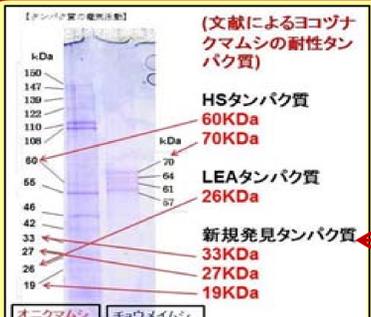
クマムシの耐性タンパク質

耐性の強いオニクマムシの方が、弱いチョウメイムシよりも耐性タンパク質の種類や量が多く、先行研究による抗凝集性タンパク質の分子量との一致も多い

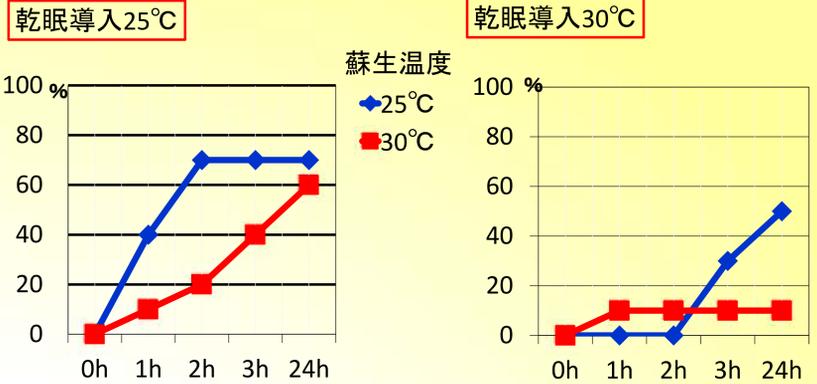


愛媛大学で実験(SDS-PAGE) 試料: tun状態のクマムシ各100匹

2010年、東大・國枝により発表された新規発見の抗凝集性タンパク質

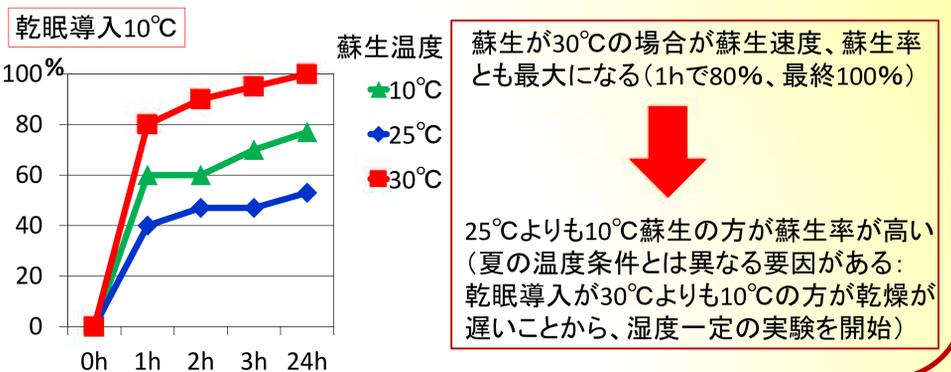


オニクマムシの温度変化による蘇生率(夏の条件)



- ・乾眠導入と蘇生がともに25℃だと短時間で蘇生、ともに30℃だと蘇生が困難
- ・乾眠導入と蘇生が25℃と30℃の組合せだと蘇生に長時間が必要になる

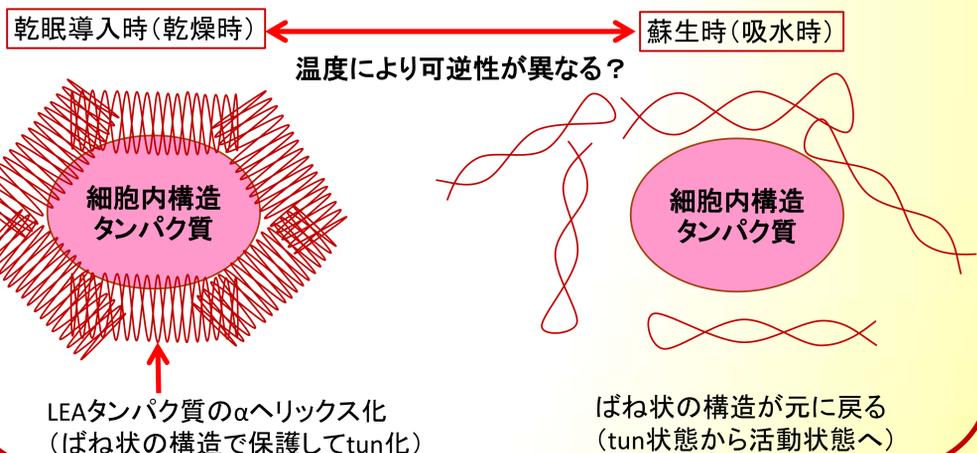
オニクマムシの温度変化による蘇生率(冬の条件)



蘇生が30℃の場合が蘇生速度、蘇生率とも最大になる(1hで80%、最終100%)

25℃よりも10℃蘇生の方が蘇生率が高い(夏の温度条件とは異なる要因がある: 乾眠導入が30℃よりも10℃の方が乾燥が遅いことから、湿度一定の実験を開始)

LEAタンパク質の温度記憶仮説



まとめと考察

- ① tun状態における極限環境耐性の強さは、休眠時に水分を失って化学反応が低下することに加え、抗凝集性に働くLEAタンパク質や分子シャペロンとして働くHSタンパク質の関与があり、耐性の強いクマムシ種ほどその種類や量が多い。tun状態からの蘇生率と蘇生可能回数、tun状態での極限環境耐性は **オニクマムシ>チョウメイムシ**
- ② 耐性タンパク質がαヘリックス化する分子構造の変化の可逆性には、温度の影響が大きい。乾眠導入と蘇生の両方とも25℃の場合は蘇生し易いが、ともに30℃の場合は蘇生し難い。両者の温度を変えると蘇生が長時間化する。<温度記憶仮説>
- ③ 耐性タンパク質の変化には温度だけでなく湿度(乾燥速度)の影響も考えられるので湿度を一定にした実験を開始している。<8月の全国高校総合文化祭で発表予定>

今後の展望と課題

- ・乾眠導入時の各温度における湿度(乾燥速度)の影響も確認する。<実験中>
- ・耐性タンパク質の分子構造の可逆性における「温度記憶」仮説を検証していく。
- ・将来的には、クマムシの耐性タンパク質やDNA修復能力を食品保存や医療に応用できる研究に発展させていきたい。<2016年9月: DNA保護タンパク質発見のニュース>

参考文献

- 「クマムシ?! 小さな怪物」鈴木忠 岩波書店2006
- 「クマムシ博士の最強生物学講座」堀川大樹 新潮社2013
- 「クマムシを飼うには 博物学からはじめるクマムシ研究」鈴木忠・森山和道 地人書館2008
- 「耐性の昆虫学」東海大学出版会2008「ヨコヅナクマムシの乾眠と極端な環境に対する耐性」堀川大樹
- 「ネムリユスリカのふしぎな世界」黄川田隆洋 ウェッジ選書2014
- 「クマムシゲノムプロジェクト」HP
- 「Sleeping Chironomid 耐性の研究」JHP
- 「極限環境生物学会誌」2002-2015
- 「極限環境生命」伊藤政博 コロナ社 2014
- 「極限環境生物学」岩黒常洋・編 岩波書店 2010
- 「クマムシ研究日誌」堀川大樹 東海大学出版部 2014

謝辞

- ・愛媛大学理学部・林秀則教授 SDS-PAGEの指導をしていただきました。
- ・慶應義塾大学・堀川大樹特任講師 実験について助言をいただきました。