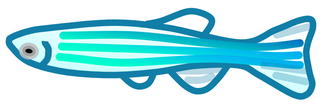
ゼブラフィッシュから出る警報物質の成分解明

神戸市立六甲アイランド高等学校　　21期　15班

Introduction



いずれもコイ科の淡水魚であるゼブラフィッシュやキンギョ、コイなど、多くの淡水魚の皮膚には警報物質が含まれている。敵に襲われたりして傷を負うと皮膚から警報物質が分泌され、仲間に危険を知らせる。仲間はその警報物質に反応して鱗が傷ついた個体から離れていく。しかし、その警報物質の成分が何であるかということと、それをどの細胞で分泌しているかについてはまだわかっていない部分がある。

本研究ではゼブラフィッシュを対象として、警報物質の分泌部位、警報物質の実態解明の2点を明らかにすることを目的としている。仮説として、鱗の細胞の中に分泌細胞が存在すると考え、死体や鱗を用いた実験を進めた。予備実験として、ゼブラフィッシュの鱗の抽出物を、他の個体が入った水槽に入れた。その結果、その個体は急に激しく泳ぎ回り、しばらくすると動きを止めた。この反応は、ゼブラフィッシュが警報物質から遠ざかるために激しく運動し、その後に動きを止めたのは、「フリージング」と呼ばれる、ゼブラフィッシュの恐怖行動であると考えられる。

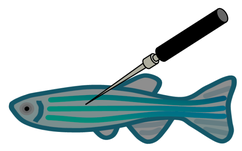
本研究の結果から、鱗の中に分泌細胞が存在し、顕微鏡で観察できる数十μm単位のサイズの小胞ごと放出していること、警報物質は加熱には強いため変性しにくいような低分子量のタンパク質または糖質であることが推察される。

【A】警報物質はいつ放出されるか？

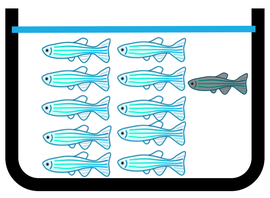
Method

【1】

① 弱っていたゼブラフィッシュの体表を柄付き針でつついて鱗を外し傷つけた。



② 10匹の個体を入れている水槽に①のゼブラフィッシュを入れた。

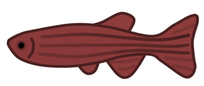


【2】

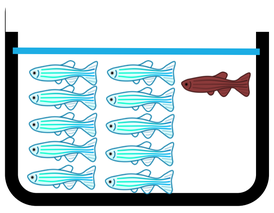
①ゼブラフィッシュの死体を２匹用意した。

Ⓐ１匹は死んでから長時間経過したもの

Ⓑもう１匹は死後数分のもの



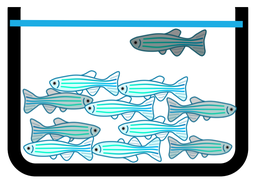
② 10匹の個体を入れている水槽に①のゼブラフィッシュを入れた。



Result

【1】

生きている個体が鱗を剥がした魚を避けるようになった。水槽にいる個体が地面を這い、水槽の中を激しく駆け回るような動きが観察できた。



【2】

Ⓐ長時間置いた死体　Ⓑ死後数分の死体

生きている個体は正常に泳いでいた。

生きている個体が興奮して激しく動き回る様子が観察できた。

傷ついた個体あるいは死の直後の個体から警報物質が放出されている

【B】警報物質の放出部位

Method

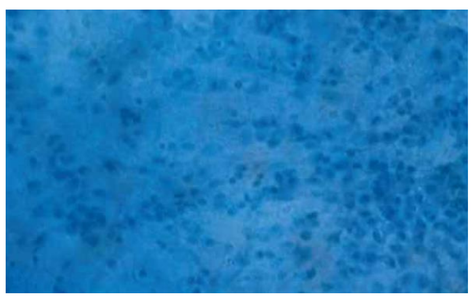
【1】

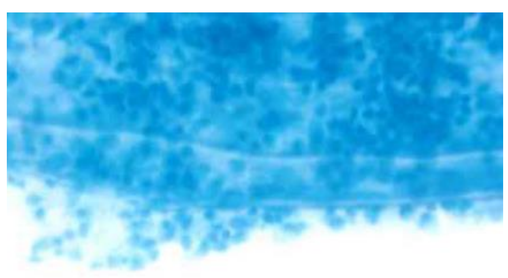
① ゼブラフィッシュの頭部、尾部の鱗を採取した。

② 採取した鱗をメチレンブルーで染色した。

③ 各部の鱗を微分干渉顕微鏡で観察して撮影した。

Result





頭部：小胞状の構造が多数見られた　尾部：小胞状の構造がうろこから脱離している様子が観察できた

この小胞状の構造が警報物質を含んでいると考えられる

【C】警報物質の濃度と効果

Method

①活きているゼブラフィッシュをシャーレの上に置き、鱗をすべて除去した。

②採取した鱗と、3mLの水を乳鉢に入れた。乳棒で液体状になるまですりつぶした。

③②でできた汁（以降鱗汁と表記）を、50mL入る蓋つきの容器に鱗汁１滴を１として$\frac{1}{50}$、$\frac{1}{40}$、$\frac{1}{30}$、$\frac{1}{20}$、$\frac{1}{10}$のように５種類の濃度に分けた。

④タンパク質かを調べるために鱗汁を90℃で加熱した（失活させるため）

⑤丸い水槽に8Lの蒸留水を入れて、そこへ20匹のゼブラフィッシュを入れた。（この時、ゼブラフィッシュは興奮状態で底にいるため、落ち着くまで待った）同じものを５つ用意した。

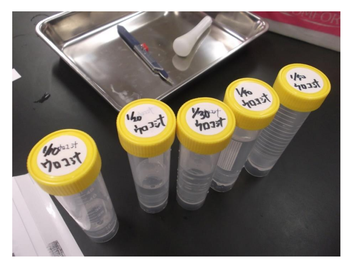
⑥５種類の鱗汁を一滴ずつ各水槽に入れた。

⑦ゼブラフィッシュの反応を観察した。

Result

５種類の濃度の鱗汁に対してはすべて動きが激しくなる反応が観察できた。

90℃で加熱したものはあまり反応が見られなかった。



５種類の濃度の鱗汁

死体から離れるゼブラフィッシュ

Discussion

今回の実験から得られた結果は次の２つである。
・ゼブラフィッシュは警報物質に反応している。
・ゼブラフィッシュの鱗から警報物質が出ている。
この結果から、やはりゼブラフィッシュはどこかの器官で警報物質を受容していることがわかった。

鱗に含まれている成分が原因！

参考文献
吉原良浩『匂いと行動。その間をつなぐ』(2014年3月、理研ニュース)