

切断後のプラナリアにおける記憶の持続システム

静岡県立富士高等学校 自然科学部生物班

小林正直 安田 航 伊藤大幹

杉浦福丸 仙名大輝 渡邊雄介

1 動機

本校自然科学部生物班の先輩方が、過去3年間プラナリアの切断後の学習の差についての研究を行っていた。昨年までの研究では光と電気というプラナリアにとって嫌な刺激（負の刺激とする）を2つ用いた。そこで今年は刺激の組み合わせを変えて、光という負の刺激と餌という良い刺激（正の刺激とする）で実験をしても、プラナリアは学習するのか、また、学習させたときプラナリアは光の色を区別できるのか、切断後の頭部と尾部は記憶を維持できるのか、学習の方法によって記憶に差は出るのかという4つの疑問を解明する為に実験を行った。

2 仮説

- I：昨年度までの研究で、プラナリアには学習能力があることが示されたので、刺激の組み合わせが変わってもプラナリアは学習する。
 - II：昨年度の研究では、プラナリアは光の色（白色光と赤色光）を識別しないという結果が出たことから、プラナリアは光を認識しても色（赤色光と青色光）は識別しない。
 - III：頭部には脳があるが尾部には脳が無いということから、切断後のプラナリアの頭部は学習を維持するが尾部は記憶を維持できない。
 - iv：電気刺激も餌もプラナリアにとっては生死に関わる刺激であることから、刺激を変えて学習させても記憶に大きく影響しない。
- 以上の4つの仮説を立てた。

3 実験材料

プラナリア 60 匹 シャーレ LED 電球（赤・青）
鶏レバー 簡易暗室

4 飼育

プラナリアを半分程度まで生息地の水を入れたシャーレに1匹ずつ入れ、外部からの光を遮断した15℃の恒温器に入れて飼育した。切断後は頭部と尾部を別のシャーレに入れて同様の方法で飼育した。また、実験期間中は餌は与えなかった。

5 実験方法

- ①簡易暗室内をアルミホイルで2等分に仕切り、片方の端から赤色のLEDライトで照らし、プラナリアの入ったシャーレを仕切りの下に置き、シャーレ内の明暗を分ける。（写真1、2）



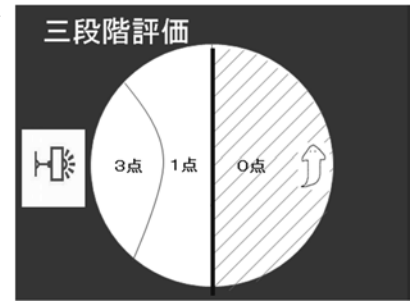
写真1 明るい側



写真2 暗い側

②明るい側のシャーレの端に餌の鶏レバーを設置し、プラナリアを暗い側に置き、プラナリアの動きを1分間観察し、以下のように基準を定め、点数化した後記録する。(右図)

- 3点…光源の近くまで来た、又はレバーを食した。
- 1点…光と影の境界線を越えたが光源までは来なかった。
- 0点…光源がある方へ寄ってこなかった。



なお、実験中に死亡する個体が現れることを考慮し、記録に公平を期すため、記憶割合の算出方法を、実験を行った各日ごとに、得点の合計をその日に取り得る最高得点で割ったものとした。

※例えば、x日のプラナリア生存個体数が25匹、合計得点が30点と仮定した場合計算式は、

【 $30 \text{ (合計得点)} \div (25 \times 3) \text{ (最高得点)} = 0.4 \text{ (記憶割合)}$ 】となる。よって記憶割合の最高点は1.0となる。

- ③これを18日間連続で行い、プラナリアが光の方向に来るように学習させる。
- ④記憶の傾向が見られた19日後に、餌が無くても光の方へ来るのか確認するために餌を用いずに赤色光だけを与えて実験を行う。
- ⑤同様に餌を与えず青のLEDライトを用いて1日、光だけを照射し実験を行い、色の識別ができるかを確認する。
- ⑥確認後、プラナリアを頭部と尾部に切り分け、頭部尾部の両方に同様の実験を餌を与えずに赤色光のみを与えて13日間連続で行い、点数化した後記録する。
- ①～⑥を30匹ずつ2回通り、合計で60匹を使い実験を行った。

6 結果

図1のように、実験開始から4, 5日後に学習割合が増加し約50%が光に向かうようになり、以降は同程度を維持した。

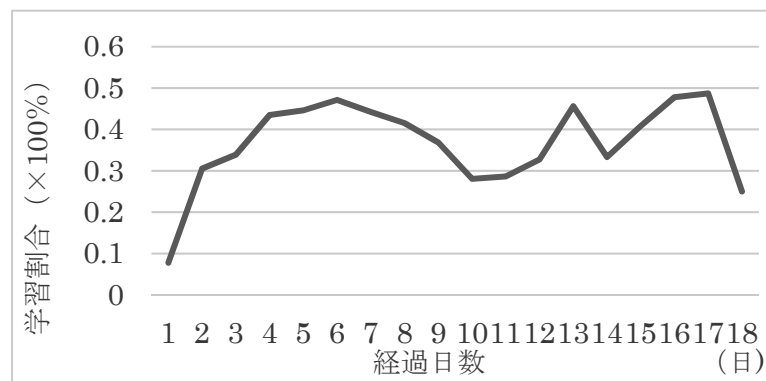


図1 レバーと赤色光による学習割合

実験④の餌を与えず赤色光のみを照射した結果は83.3%が光に向かってきた。

実験⑤の餌無しの青色光のみを照射したら結果は、13.3%しか光に向かってこなかった。

実験⑥の切断後の頭部と尾部の記憶割合は図2、3のようになった。

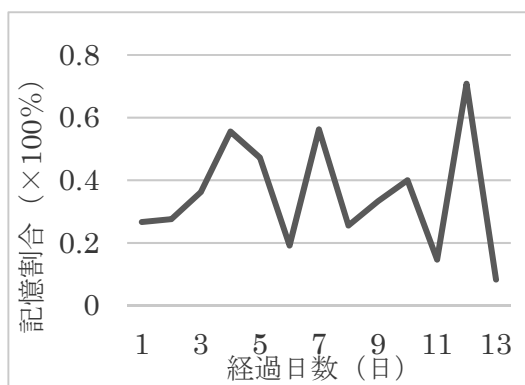


図2 切断後頭部の学習割合

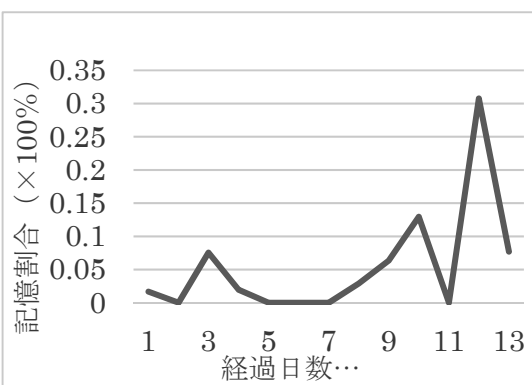


図3 切断後尾部の学習

割合

切断後の頭部は切断後1日目から餌を与えなくても切断前とほとんど同じ割合の個体が赤い光に向かった。

切断後の尾部は、7日目まではほとんど反応しなかったが、8日目から光に向かい始めた。

○今年度と昨年度との比較

次に、今年度と昨年度の実験を比較した。なお、昨年度は、光と電気刺激を同時に与えて、光を照射するだけで電気刺激に対する反応がおこるよう学習・記憶させた。その後、頭部と尾部に切断してそれぞれに光のみを与えてその記憶が持続するかを調べた。その比較を図4、5に示す。なお、縦軸は学習割合である。

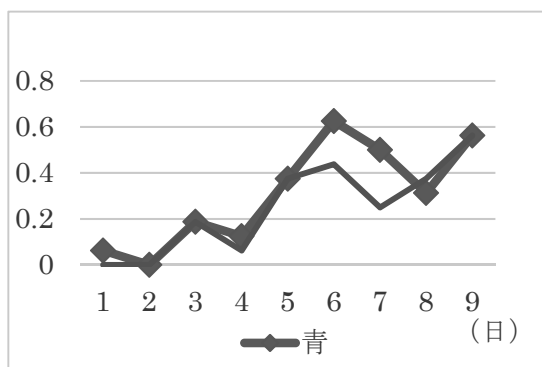


図4 切断前の学習（昨年度）

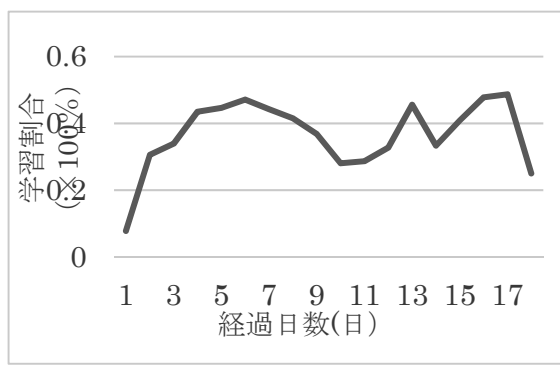


図5 切断前のレバーと赤色光による学習（今年度、図1と同じ）

昨年も今年も6日程で学習割合が0.5近くまで上昇した。

次に、昨年度と今年度の切断後の記憶の維持の差を図6、7に示す。

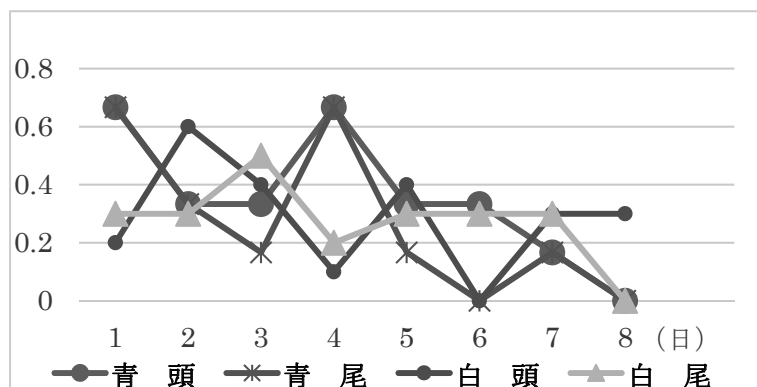


図6 切断後の学習（昨年度）

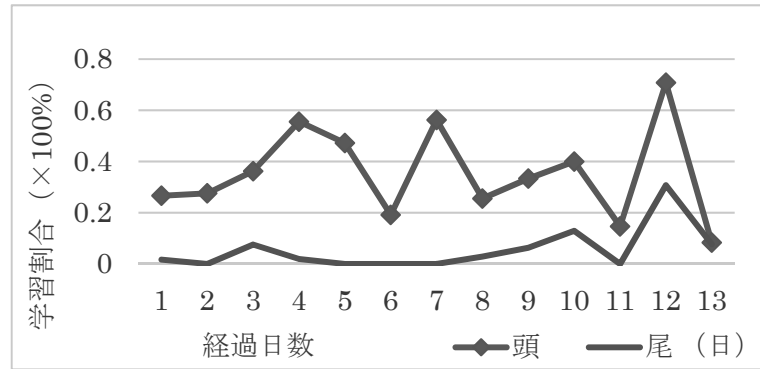


図7 切断後の記憶割合（今年度）

昨年度は8日後にほぼ記憶は消えた（図6）が、今年度は切断後8日目以降も記憶が維持された。

7 考察

- ①学習させたことで、負の光走性に反して光に寄って来た。このことから、プラナリアにとって正の走性を示す餌の刺激の方が負の走性を示す光の刺激より強いと言える。餌のある方向に来るようになったプラナリアに、同じ赤色光のみを与えたところ光の方向へ来たので、プラナリアは光の方向に餌があるということを学習したと言える。
- ②また、青色の光には、ほとんど寄ってこなかったもので、プラナリアは赤と青の光の色を区別することができると言える。あるいは、青色光を感じていない可能性もある。昨年度は白色光と赤色光の2種類だったが、白色光は赤色光の波長が入っているため光による差は出なかったと思われる。今年は、赤色光と青色光なので単色光であれば2種類の違いを認識できると言える。
- 餌のにおいがなくても、光で餌の場所を認識していると言える。
- ③切断後の頭部は切断直前とほとんど同様の学習割合を示したことに より、切断後の頭部は記憶を維持できていると言える。（図7）
- ④切断後の尾部は7日目まで光に反応しなかったが、8日目から光に向かって移動し始めた（図3）ことから、以下のことが考えられる。
 - ・尾部が7日目まで反応しなかったのは、光を感じる眼点がまだ再生されていなかったため。
 - ・切断8日目以降、光の方向に移動したという事は、学習が残って いたという事が言え、尾部には脳が無いのでその学習は脳以外の神経で記憶をしていた。

脳以外の末梢神経系に記憶が保存され、脳が再生された後、末梢神経の記憶が脳に伝えられて、記憶に従って行動すると考えられる。

文献に掲載されていた、「脳の完全な再生には14日間かかる」ということから、8日目から反応が見られたのは、脳が再生され始めた時期と考えることができる。また、記憶を発揮するには、脳が存在しなければならないとも考えられる。

以上のことから、切断後の尾部は脳以外の場所で記憶を維持することができると言える。そして、脳が再生されるとその記憶が脳に移って発揮されると考えられる。

- ⑤昨年との比較を考えてみる。切断前の学習の割合に大きな差が無く、学習割合が約6日で50%程度まで上がった。（図4、5）（今年の実験では、学習割合は、6日目以降の上昇は認められなかった。昨年の実験では、6日以降も学習割合の上昇は続いた。）一方、切断後の記憶の維持については、昨年の電気刺激の記憶の維持は8日目ではほぼ消えたが、今

年の餌の記憶は8日目以降も維持できた(図6、7)。これらのことから、学習方法によって、学習する速度には差がないが、切断後の記憶の維持については負の刺激(電気刺激)よりも正の刺激(餌)の方が記憶をより維持できるという興味深いことが言える。

8 仮説の検証

- ・刺激の組み合わせが変わっても切断前のプラナリアは学習したので、仮説Ⅰは検証された。
- ・学習後、赤色光には寄って来たが、青色光には寄って来なかったのも、色は識別しない、という仮説Ⅱは否定された。
- ・切断後8日目以降に学習した行動が見られたことから、切断後の尾部は記憶を維持できない、という仮説Ⅲは否定された。頭部が学習を維持できる、という仮説は検証された。
- ・切断前に学習の差はなかったが、切断後の記憶には差があったので、刺激を変えて学習させても記憶に大きく影響しない、という仮説Ⅳは否定された。

以上、仮説Ⅰ以外は否定されたが、それにより以下の3つの新しいことを見出すことが出来た。

- ・プラナリアは赤色光と青色光を区別することができる。
- ・切断後の尾部は脳以外のところで記憶を維持することができる。さらに、その記憶が、脳が再生されると脳に移り行動として発揮される。(今年の実験で一番興味深い発見)
- ・与える刺激により学習の記憶の維持に差がある。

9 今後の課題

- ・個体差によるデータの不安定さを考慮して、60匹という多くのプラナリアを使用した。それでも、途中で死んだり、はっきりした傾向が見えにくかったりと、生物実験の難しさを実感した。飼育方法等の工夫をしていきたい。
- ・切断後の尾部について、より長い期間で実験を行う。
- ・プラナリアは青色光を感じる事が出来るのかを調べる。
- ・個体の再生時間に学習の有無は関係するのかを調べる。
- ・脳以外で記憶を持続しているということが示唆されたが、脳以外の場所を取り除いて実験を行う等は実現不可能なので、実際どこで記憶が維持されているというところまでは明らかにすることができなかった。それが残念ではあるが、少しでも解明できる方法を模索していきたい。その場所が、脳以外の神経か、あるいは神経以外の場所が関与しているのか、という疑問も残っている。

10 参考文献

- ・プラナリアの学習と切断後の持続性
(富士高校自然科学部生物班 2013 年論文)
- ・切断後のプラナリアにおける記憶・学習の差
(富士高校自然科学部生物班 2015 論文)
- ・再生中のプラナリアにおける学習能力の低下
(富士高校自然科学部生物班 2016 論文)
- ・キャンベル生物 丸善出版
- ・ An automated training paradigm reveals long-term memory in planarians and its persistence through head regeneration (Tal Shomrat, Michael Levin, The Journal of Experimental Biology 216, 2013)