

# 線虫の香りの嗜好性と記憶の関係 Part3 土浦日本大学中等教育学校 5年 長尾祐希

## はじめに

香料は、ヒトの場合リラックス、集中力UP、不安をなくすなど精神面でさまざまなプラスの効果があることが知られている。そこで、私は他の動物、脊椎動物だけでなく、神経系の発達している無脊椎動物にもプラスの影響があるのではないかと考えた。そして、神経系の解明されているモデル生物を用いて、香り与健康、寿命の関係、特に、香りが神経系に及ぼすメカニズムを解明し、香りがヒトの健康に及ぼす効果を解明したいと考えている。様々な研究でも使われているモデル生物の中で、「線虫」はその嗅覚の優れた点からガン検査にも実用化されていて(文献1より)、神経科学、遺伝学などの研究材料とされ、その細胞系譜や神経系、全ゲノムが完全に明らかにされてきた。さらに、匂い物質(揮発性有機化合物)に対する走性を利用することで、記憶や学習の研究にも用いられている最もシンプルな多細胞生物である。そこで、この研究を行うのに、最適なモデル生物と考えた。

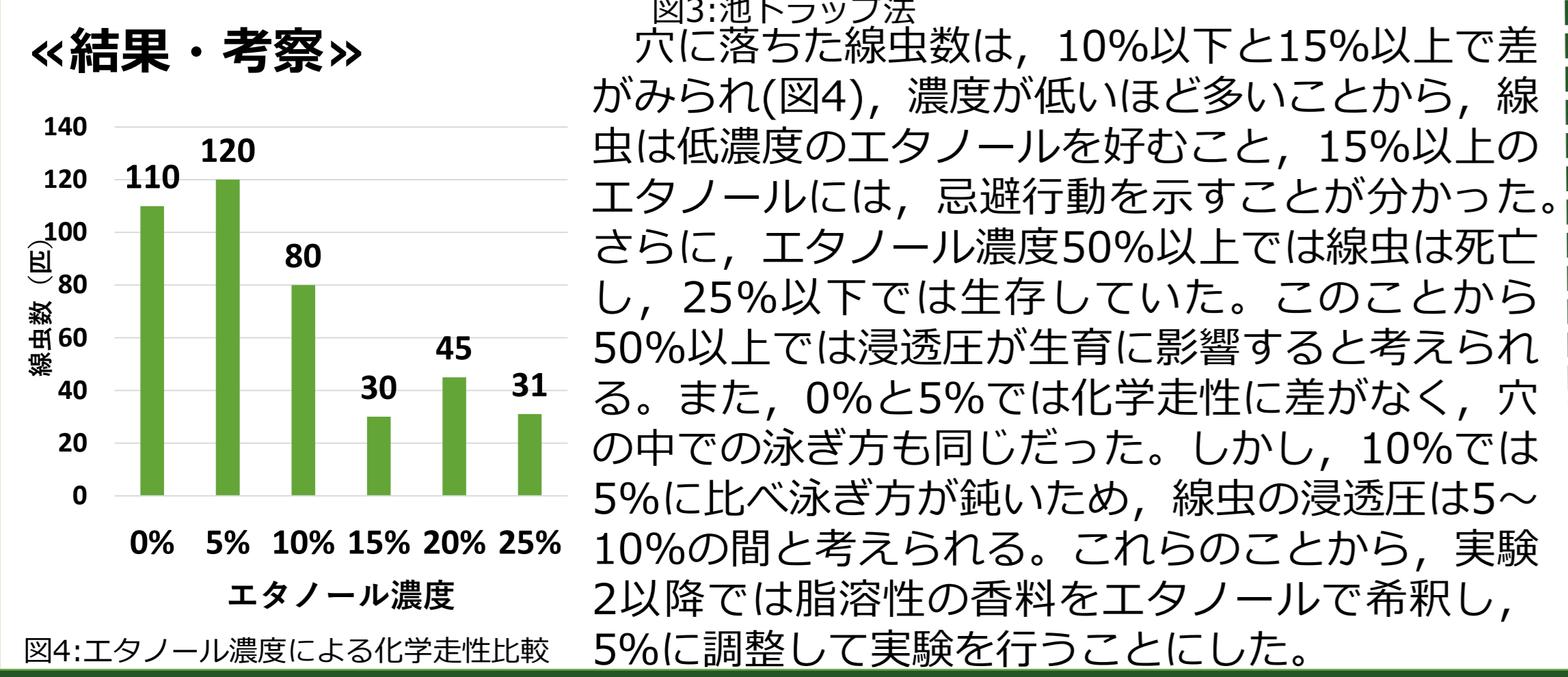
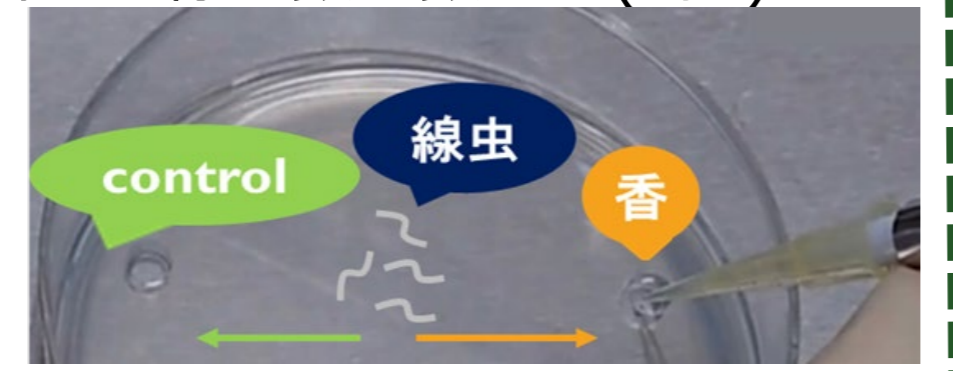
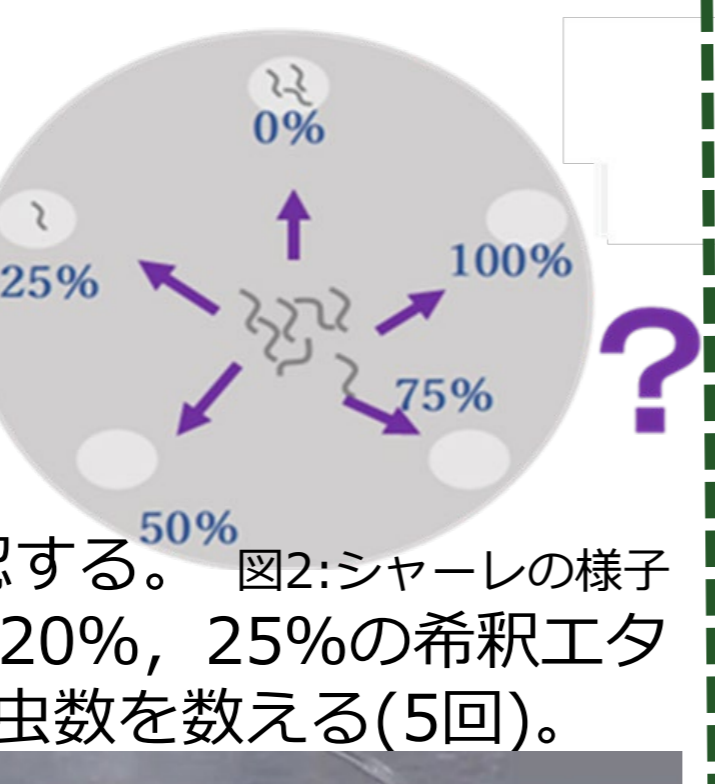


## 実験1 「エタノール濃度の測定」

「目的」溶媒のエタノール濃度が濃いと浸透圧により線虫が死ぬため、線虫に害のないエタノール濃度を池トラップ法で求める。

「方法」エタノールを純水で希釈(0~100%)し、穴に滴下して中央に置いた線虫の移動を10分後に確認する。その結果をもとに0%(control)、5%、10%、15%、20%、25%の希釈エタノールを5方向の穴に滴下し、10分後に穴に落ちた線虫数を数える(5回)。

「結果・考察」エタノール濃度による化学走性比較。図4: エタノール濃度による化学走性比較。線虫は低濃度のエタノールを好むこと、15%以上のエタノールには、忌避行動を示すことが分かった。さらに、エタノール濃度50%以上では線虫は死亡し、25%以下では生存していた。このことから50%以上では浸透圧が生育に影響すると考えられる。また、0%と5%では化学走性に差がなく、穴の中での泳ぎ方も同じだった。しかし、10%では5%に比べ泳ぎ方が鈍いため、線虫の浸透圧は5~10%の間と考えられる。これらのことから、実験2以降では脂溶性の香料をエタノールで希釈し、5%に調整して実験を行うことにした。

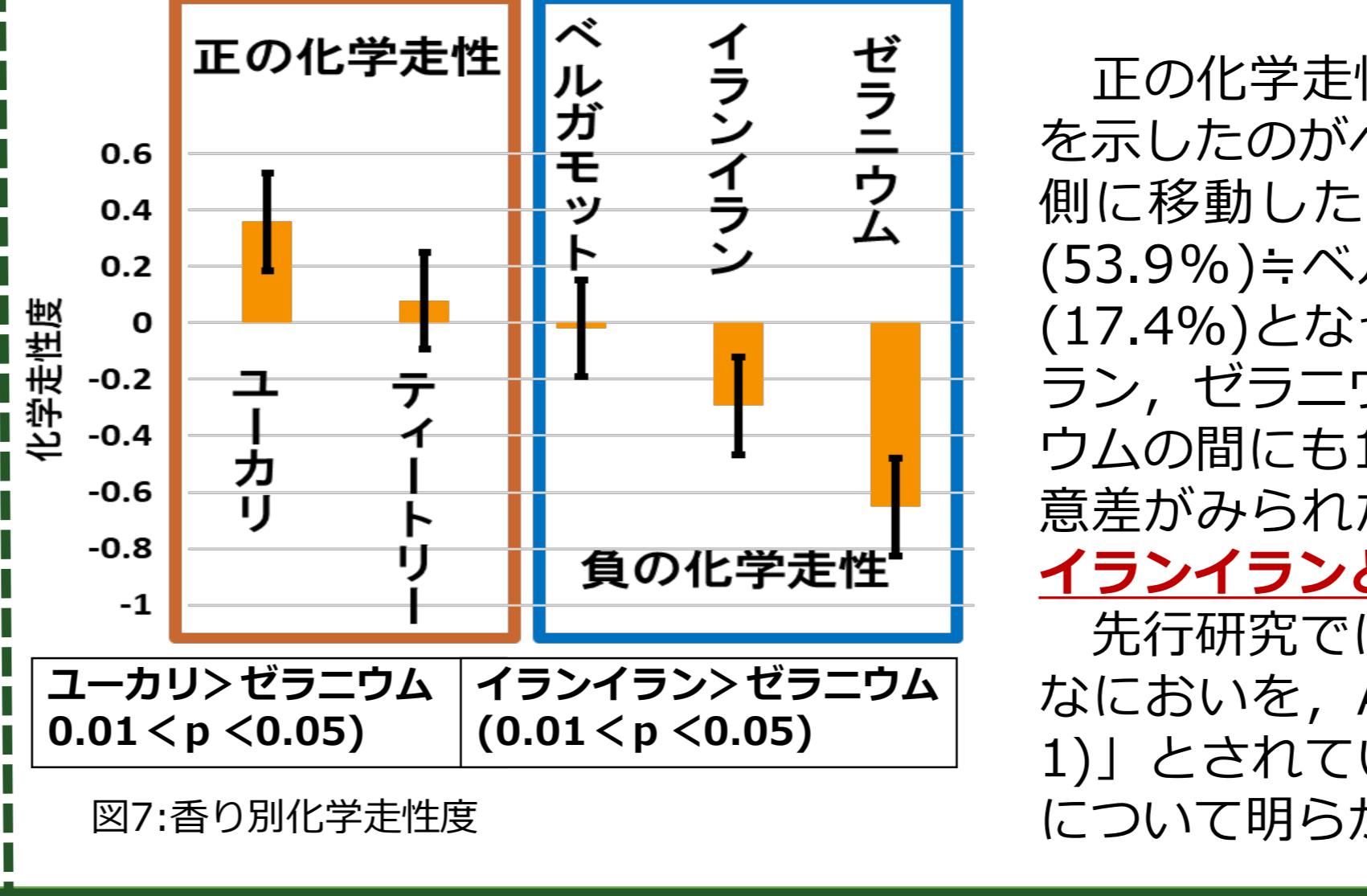
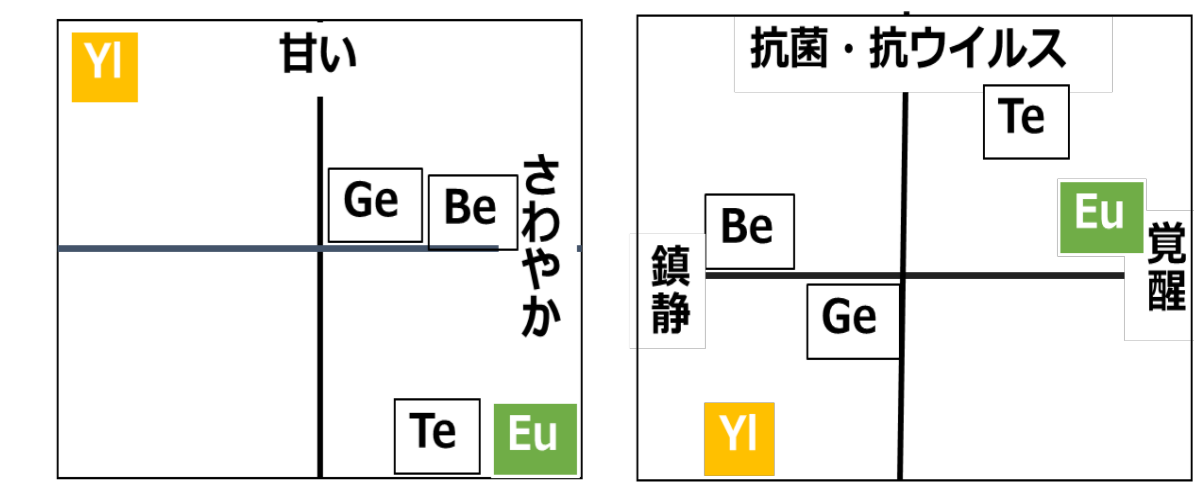


## 実験2 「香りの嗜好性の確認」

「目的」線虫の生育に影響を及ぼさないエタノール濃度5%を使用し、5種類の香料に対する嗜好性を調べる。

「方法」1. 香りの特徴と効果2つの尺度で、対極に位置する香料を5つ選ぶ。2. 各香料(500倍希釈・エタノール濃度5%)と5%エタノール(control)を左右の穴に入れる。3. 中央に線虫を置き、10分後に各位置に移動した線虫数を計測する。(3回)

「結果・考察」化学走性指数 = (香り側の線虫数 - control側の線虫数) / 合計線虫数。図7: 香り別化学走性度。ユーカリ > ゼラニウム (0.01 < p < 0.05)、イランイラン > ゼラニウム (0.01 < p < 0.05)。



香りに対して誘引行動の度合いを正の値で表し、忌避行動の度合いを負の値で表したものを示したのが、ユーカリとティートリーで、負の走性度を示したのがベルガモット、イランイラン、ゼラニウムだった(図7)。香料側に移動した線虫の割合で比較するとユーカリ(67.9%) > ティートリー(53.9%) > ベルガモット(49.0%) > イランイラン(35.3%) > ゼラニウム(17.4%) となった(>5%水準、≒有意差なし)。また、ユーカリvsイランイラン、ゼラニウムの間に1%水準で、ティートリーvsイランイラン、ゼラニウムの間にも1%水準で、ベルガモットvsゼラニウムの間にも1%水準で有意差がみられた。このことから、**線虫はユーカリを好む匂いとして識別し、イランイランとゼラニウムには忌避反応を示すことが確認された。**

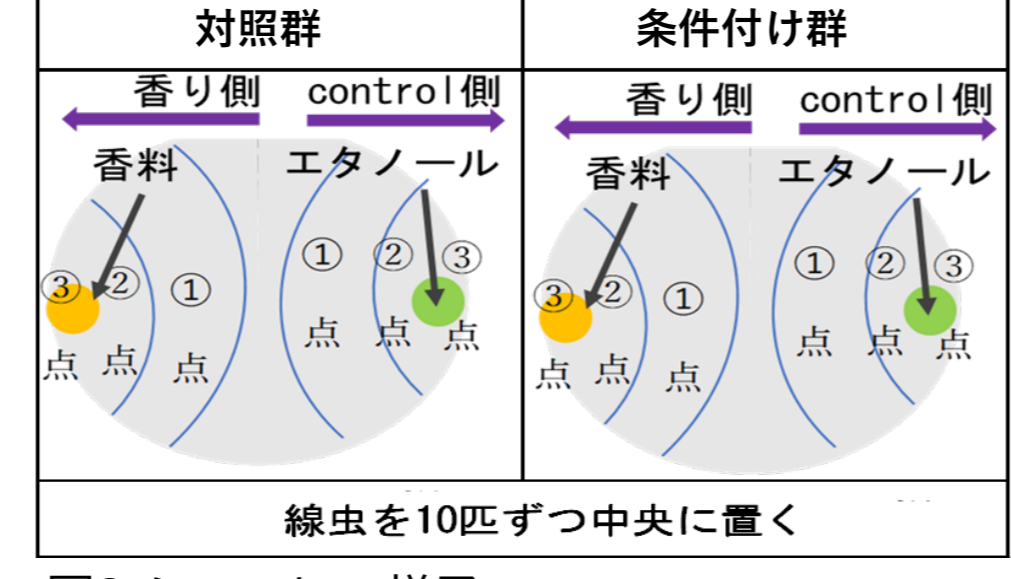
先行研究では、「線虫の嗅覚神経は5つあり、AWA, AWCは主に好きなにおいを、AWB, ASH, ADLは主に嫌いなにおいを受容している(文献1)」とされていた。好む香りと嫌いな香りへの反応を調べ、神経系の違いについて明らかにしたい。

## 実験3 「餌での香りの条件付け」

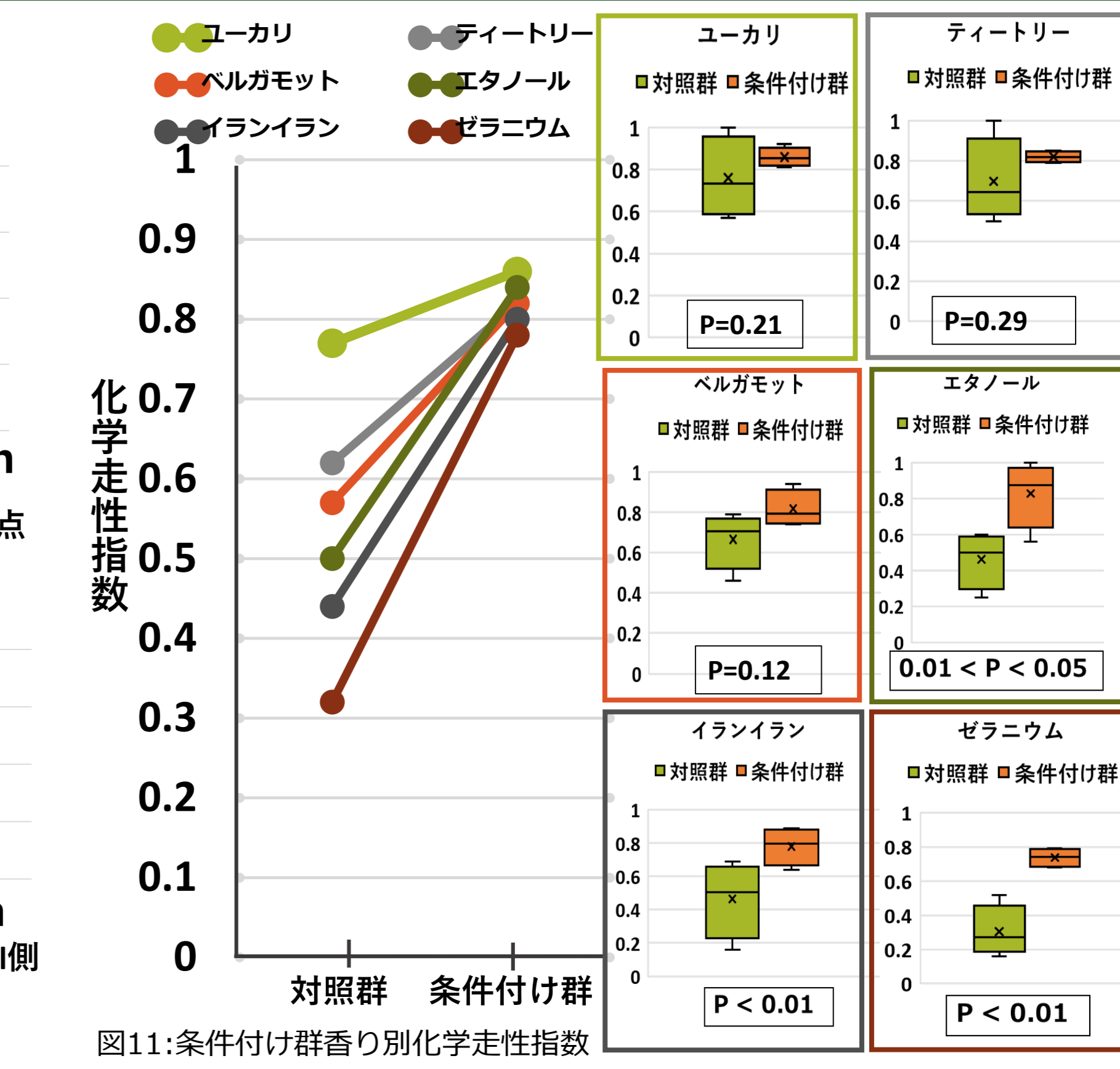
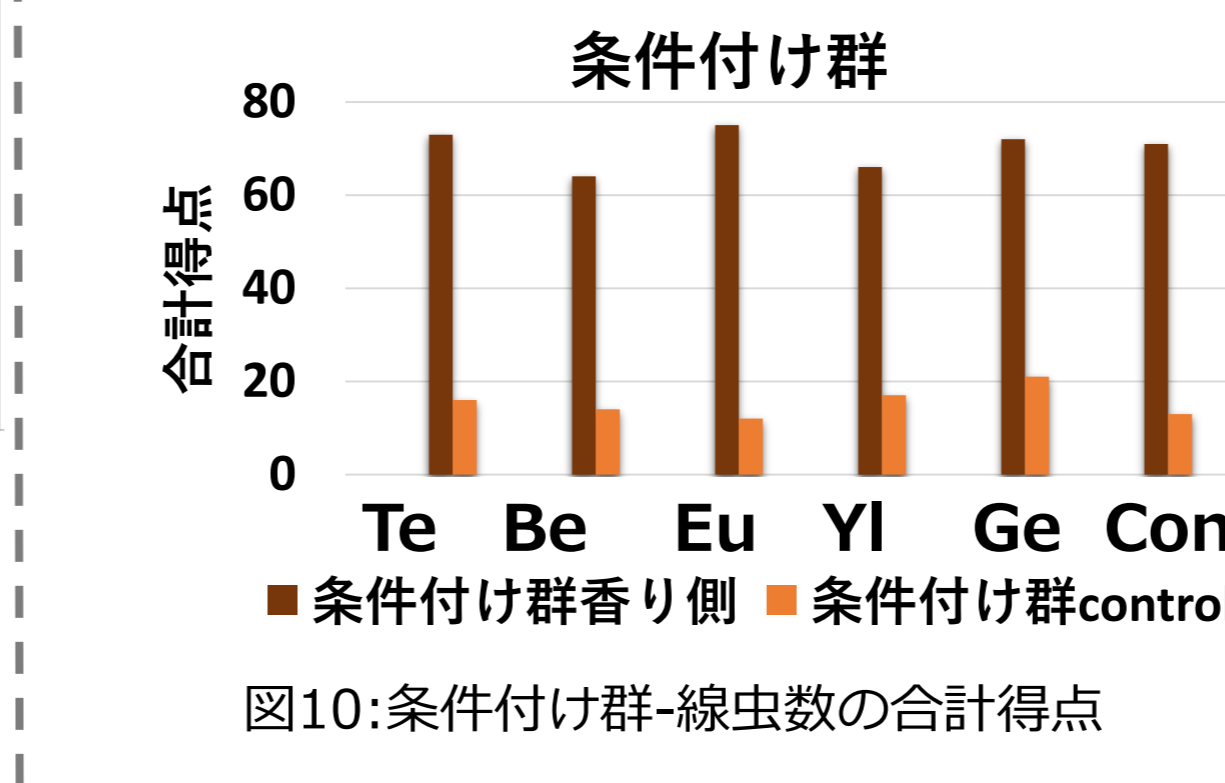
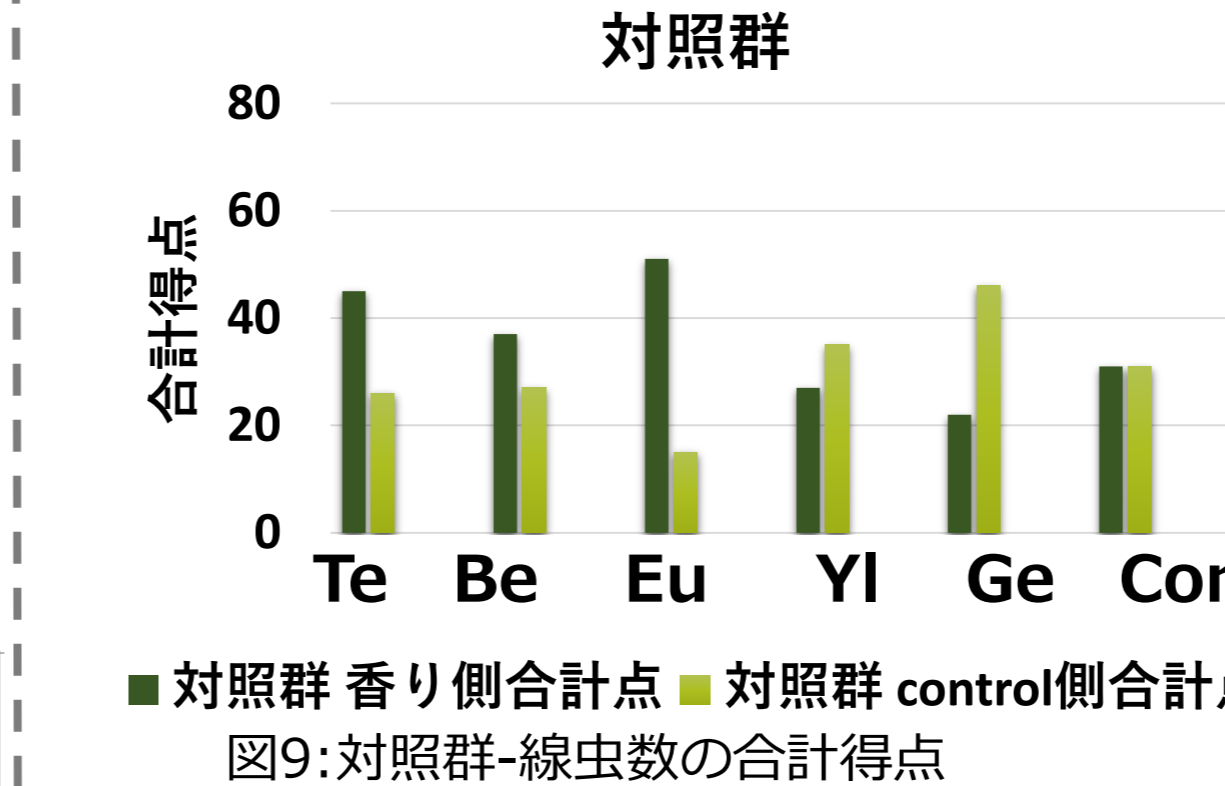
「目的」香料を添加した培地で飼育した線虫は、香りの条件付けが形成されるか。また、香りにより違いがあるのかを調べる。

「方法」(準備) 条件付け群; 各香料(500倍希釈)を餌あり培地に滴下し、線虫を3日間育てる。対照群; 香料なしの餌あり培地で3日間育てる。(実験) 1. 餌なし培地の左右に穴を開け、香料とエタノール(control)をそれぞれ入れる。2. 条件付け群、対照群それぞれの線虫を10匹ずつ中央に置き15分後に計測する(4回)

「仮説」仮説 I a: すべての香りを記憶する → すべての香り; 条件付け群 > 対照群  
b: 好きな香りは記憶するが、嫌いな香りは記憶しない → 好きな香り; 条件付け群 > 対照群, 嫌いな香り; 条件付け群 = 対照群  
c: 線虫は嫌いな香りは記憶するが、好きな香りは記憶しない → 好きな香り; 条件付け群 = 対照群, 嫌いな香り; 条件付け群 < 対照群  
仮説 II: すべての香りを記憶しない → すべての香り; 条件付け群 = 対照群



## 「結果・考察」



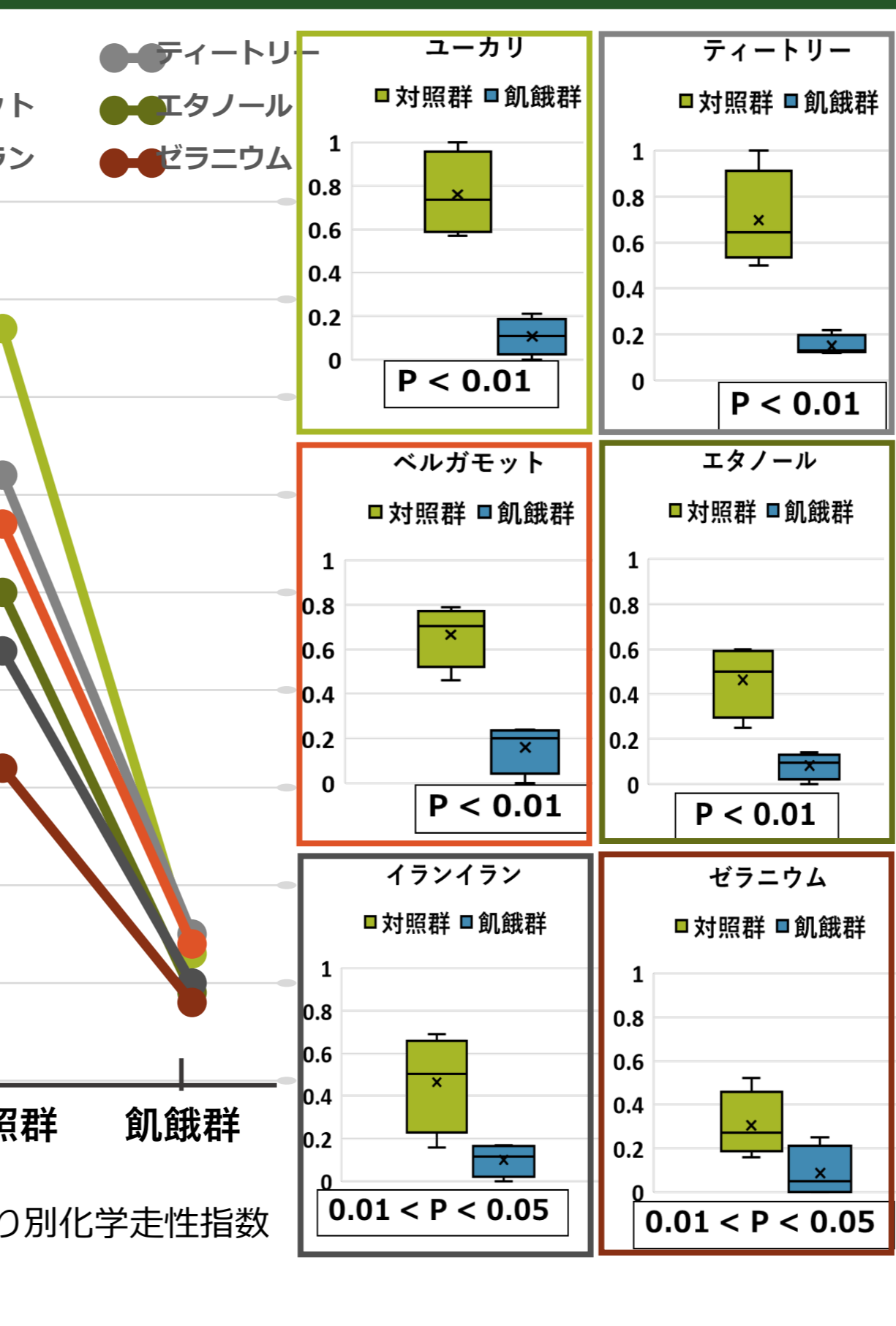
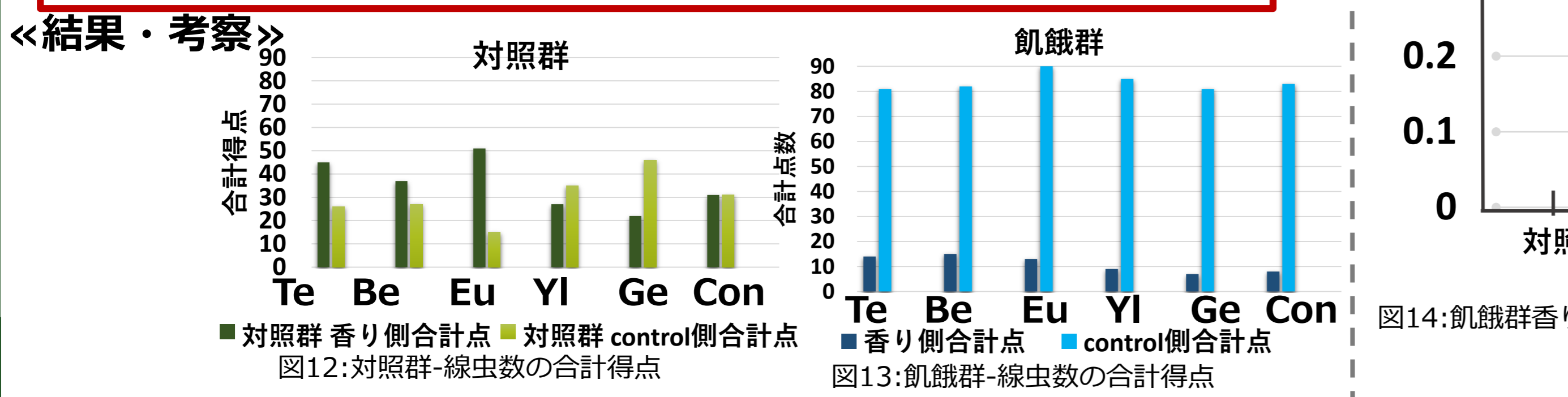
香料なし培地で育てた対照群では、香料に対する嗜好性(実験2)が各香料への化学走性を決定し、香料毎の差が大きいが(図9)、条件付け群では香料による差がみられず(図10)、すべての香料で高い化学走性指数を示した(図11)。また、各香料毎の化学走性指数を示した箱ひげ図からも、条件付け群間で差がみられず、すべての指数が対照群を上回った。このことから、**嗜好性の高低に関わらず、条件付けが行われて記憶が形成され、仮説 I a が支持された。**

## 実験4 「飢餓状態での香りの記憶」

「目的」香料はあるが餌はない状態で飼育すると、線虫は餌がないことを記憶するかを調べる。また香りによる差を調べる。

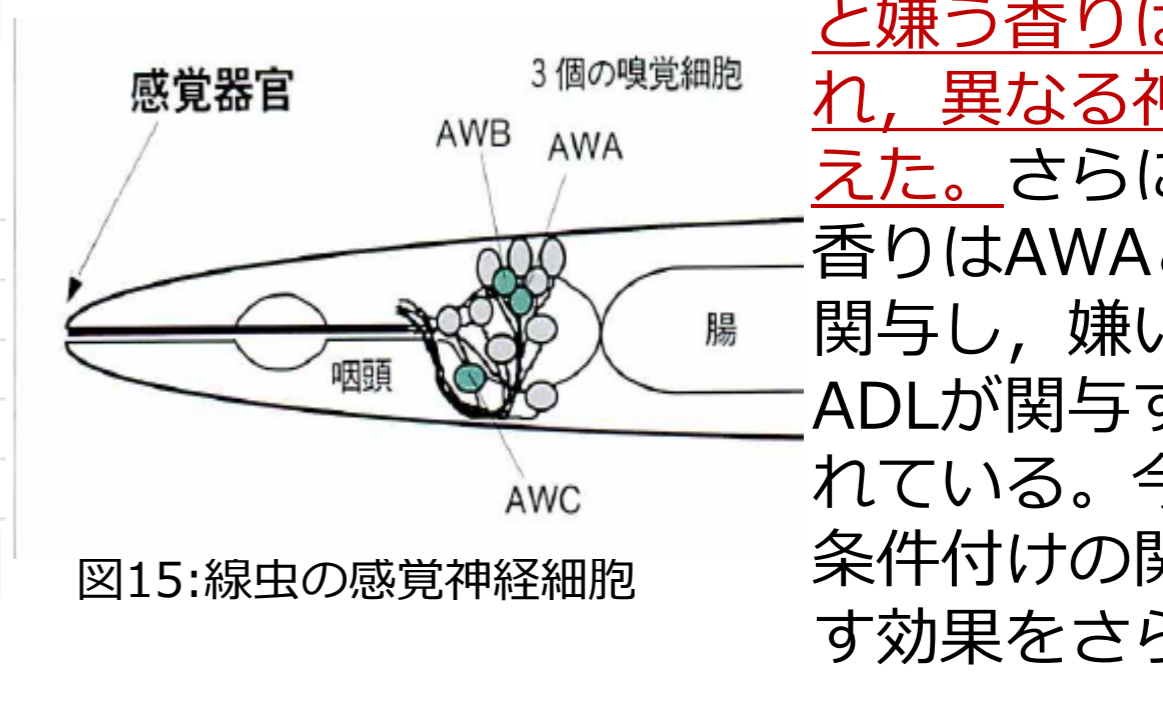
「方法」(準備) 飢餓群; 各香料(500倍希釈)を滴下した餌なし培地で線虫を3日間育てる。(実験) 飢餓群を、実験3と同様の方法で計測する。(4回)

「仮説」仮説 I a: すべての香りを記憶する → すべての香り; 飢餓群 < 対照群  
b: 好きな香りは記憶するが、嫌いな香りは記憶しない → 好きな香り; 飢餓群 < 対照群, 嫌いな香り; 飢餓群 = 対照群  
c: 線虫は嫌いな香りは記憶するが、好きな香りは記憶しない → 好きな香り; 飢餓群 = 対照群, 嫌いな香り; 飢餓群 < 対照群  
仮説 II: すべての香りを記憶しない → すべての香り; 飢餓群 = 対照群



対照群は、香料毎の嗜好性を反映して香料毎に差がみられる(図12)。しかし、飢餓群ではエタノールを含め香料による差はなく、すべての香料で忌避傾向がみられた(図13)。したがって、**餌がないことと香りを関連付けて記憶することが分かり、仮説 I 「すべての香りを記憶する(香り = 飢餓状態と記憶し、香りに忌避反応を示す)」が支持された。**

また、実験3の餌による条件付けの箱ひげ図と実験4の飢餓状態の箱ひげ図はともに分布の幅が狭い。これは、好む香りと嫌いな香りは異なる神経系により支配されているため、はっきりした差がみられたのではないだろうか。以前、好む香りと嫌う香りそれぞれの記憶を調べた。すると、好む香りの記憶はあいまいだったが、嫌う香りは明確に記憶するという結果が得られた。仮に同じ神経系が香りの好みを判断する場合、好き嫌いによる記憶の差は小さいはずである。このことから、**好む香りと嫌う香りは異なる受容器で受容され、異なる神経系で処理されると考えた。**さらに、先行研究では、好む香りはAWAとAWCの2つの神経が関与し、嫌いな香りはAWB, ASH, ADLが関与する(文献1)ことが示されている。今後、これらの神経系と条件付けの関係を調べ、健康に及ぼす効果をさらに研究していきたい。



## まとめ・今後の展望

餌での香りの条件付けが成立し、記憶として残ること。条件付けには香料による差が見られないこと。餌がないことと香りを関連付けて記憶し、香りに対して忌避反応を示すこと。飢餓状態での香りの記憶にも香りによる差が見られないこと。これらは、目のない線虫にとって生死に関わる大切な情報であり、嗅覚を最優先に行動と結びつけるため、高い走性を示した。今後は記憶実験の発展として遺伝実験をしたい。また、線虫の嗅覚の仕組みと記憶の関係を明らかにしたい。

## 参考文献

- 広津崇亮. 線虫を用いて明らかにするにおいの濃度によって嗜好性が変化する仕組み. におい・かおり環境学会誌 47巻 1号 平成28年
- 鈴木 芳代 QST量子科学技術研究開発機構 量子技術基盤研究部門高崎量子応用研究所 「池ばちアッセイ法 Pond Assay for the Sensory Systems」 2022.
- 広津崇亮. 「がん検診は、線虫のしごと」. 光文社新書.(2019)
- Scott Emmons. 【神経科学】線虫の神経系内の接続の全容が明らかになった. Nature誌.(2019) doi: 10.1038/s41586-019-1352-7
- 小島紀幸. センチュウの嗅覚と聴力に基づく走性と寿命の評価実験 - プロボリスに対するセンチュウの走性 -
- 水久保隆之・二井一禎. 線虫学実験. 京都大学学術出版会. p 132-133 2014/10

謝辞 土浦日本大学中等教育学校の宇佐神 潔先生には、本研究の取りまとめにあたり、様々なアドバイスをいただきました。ありがとうございました。