

2023 年 当ラボメンバーの初学会参加記念 SP

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ②

💡 Topics 💡

ウパールパレスキュー活動案内・報告

感染症対策（再掲載）

治療方法のご案内（再掲載）

汽水飼育に関する調査報告（一部、最新報告）

水槽内・底砂に潜む微生物・腸内細菌（一部、再掲載）

噛み合い行動とその原因・集団生活（一部、最新報告）

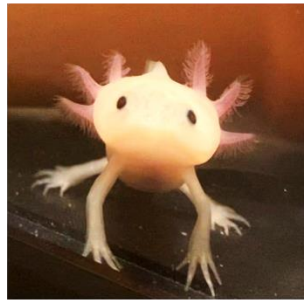
@CUNEflash



2023/11/18 初版

編: 杉山 遥

ウーパールーパー写真集 (2023)



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



目次 (2023/12/29)

青: ラボ案内・番外編

黄色: 飼育案内

緑: 研究・調査報告

- ・ [ウーパールーパー写真集 2023](#)
- ・ [2023 年 はるらぼ 活動報告](#)
- ・ [【はるらぼ活動に賭ける想い 2023】](#)

- ・ [ウパールパ 119 番・無料治療相談のご案内](#)

ウーパールーパー研究室 はるらぼ 2023 年 2 月 27 日

2023 年年末のホットな話題 (飼育系統問題 & 学会報告)

- ・ [【今後の展開】累代飼育メキシコサラマンダー系統の遺伝子型の精査 および 近縁アンビストーマ種における生理学的応答の調査](#)

杉山 遥 2023 年 11 月 6 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

- ・ [アホートル感染症対策と治療相談に関する活動報告](#)

F.N. 三太子, 杉山 遥 2023 年 11 月 11 日 最終著者, 責任著者

- ・ [メキシコサラマンダーにおける病原生物に対する応答性と治療可塑性に関する調査報告](#)

杉山 遥, F.N. 三太子, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, あすみ悠

2023 年 11 月 11 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

飼育方法・水質・病気について

- ・ [メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性](#)

杉山 遥, あすみ 悠, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, Fuzzy navel 三太子

2023 年 10 月 28 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

底砂問題×腸内細菌

- ・ [メキシコサラマンダーの腸内環境と成長制御 \(再掲載\)](#)

杉山 遥 2023 年 3 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

多頭飼育下 における 他個体認識 & 攻撃行動制御 & 成長制御機構

- ・ [メキシコサンショウウオにおける多頭飼育_他個体認識](#)

杉山 遥 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

- ・ [メキシコサンショウウオにおける攻撃行動制御機に関する調査報告](#)

杉山 遥 2023 年 10 月 1 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

- ・ [メキシコサンショウウオにおける密度効果と異種混泳による成長制御機構に関する調査報告](#)

杉山 遥, あすみ 悠, 横江 諠衡 2023 年 10 月 16 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メダカの突然変異関連

- ・ [改良メダカの背曲がり個体から産出される子個体への遺伝](#)

あすみ 悠, 杉山遥 2023 年 9 月 2 日 筆頭著者, 責任著者



はるらば活動紹介ページ！

NPO 研究グループ HAL_Lab_Axolotl

2020年より、正式に HAL Lab として
本格的に研究活動を開始。



g-mail: sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

note: https://note.com/lab_new2

Twitter: https://twitter.com/lab_new2

HP: https://drive.google.com/file/d/1g4avrtK0FIS78II_595yk_OKFL_u1xgt/view

代表: 杉山 遥 (すぎやま はるか; ペンネーム); Ph.D 理学 (生物学)

Q: はるらばって何？

2020年に正式発足されたNPO 研究チームです。

ウーパールーパーの生態や習性について研究しています。

Q: 何故ウーパールーパー？

メキシコのソチミルコ湖に生息するメキシコサラマンダーは、現在ペットとしてウーパールーパーという名で親しまれている一方で、野生種は絶滅危惧に瀕しています。これは由々しきことです。そこで、我々はこれに注目し、ラボスケールでの生態を研究することで、個体数を増やす糸口を掴みたいと考え、NPO (非営利) の研究チームとしての活動を開始することになりました。

Q: このHPは？

ズバリ、一緒に調査をしてみませんか？というお誘いと当ラボのご紹介です！

ウーパールーパーって、可愛いですよ☆



現在の主な取り組み

- ・ ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・ アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・ 生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・ 魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・ 昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・ 両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査



はるらぼ関係者・共同研究者一覧 (2023/11/18 更新)

ウーパールーパー部門

杉山 遥 (PN)・・・ポストドク(無給), 企業の技術研究員, 当研究室の主任研究者 (Principal Investigator)

専門: 分子生物学、遺伝学、分子遺伝学 (ショウジョウバエ)、発生生物学 (形態形成, 幹細胞分化制御)、
時間生物学、行動生物学、動物生理学、高分子、半導体

萩原 和晃・・・社会人, 企業研究開発職, 共同研究員; 飼育技術調査部長

専門: 自動車 ECU (Electronic Control Unit; 電子制御部品) 開発, 生物行動観察・撮影

F. N. 三太子 <https://twitter.com/CUNEflash>・・・ウーパールーパーのレスキュー広報担当・治療相談窓口

多忙な杉山の代理として、押しかけウパレスキュー活動 <https://twitter.com/CUNEflash/status/1579226396488265728> を依頼しております。ほんわかった文体・ツイートの雰囲気反して、杉山が信頼できる、仕事のできる方なのでご安心を。

魚類部門

あすみ 悠 (HN)・・・共同研究員

専門: IT 関連, メダカ関連の飼育・観察

枝豆 やみん (HN)・・・研究開発職に勤務. 共同研究員; 熱帯魚研究部 (22/8/21 より新規立ち上げ)

専門: アクアリウム, 熱帯魚を複数の種類飼育された実績を持つ。

昆虫・節足動物部門

杉山 遥 (PN)・・・昆虫を専門としていた杉山が兼任。

横江 誼衡・・・D2, 共同研究員; 商品開発担当

専門: 宇宙線研究、小動物の生育観察

案件創出・調査部門・運営監修など担当の皆様

高橋 慶・・・加入当時専門学生 (現在は社会人として活躍中), 共同研究員; 基盤技術探索・情報調査担当

専門: 鉄道関連、生物飼育・観察

九条 薫 (PN)・・・共同研究者

専門: 骨格標本作製

永田 一将・・・D3, 研究資金支援者; ラボコンサルティング担当

専門: 物性物理学

大泉 祐介・・・加入当時 D3 (現在社会人), 研究広報支援者; ここまでの活動に際し、幾つもの繋がりを作って下さいました。

専門: 分子生物学, エピジェネティクス, 分裂酵母, ゲノム進化、大型類人猿 など

久木崎 玲美・・・社会人, 共同研究者. 両生類の陸上化に関する調査をお願いしています。

はるらぼサポーターズ (はるサポ)・・・調査補助・分析・他、グッズ作製等 (多岐に渡る)。

他、知己の研究者の皆様、両生類・爬虫類飼育者の皆様、アクアリストの皆様、他 Twitter フォロワーの皆様 など、

(定期参加・不定期参加を問わず) 詳細を記載していない多くの方々のご支援も頂戴しつつ、日々研究活動を行っております。

アホロートルの積極的な布教も、このラボのもう一つの目標です。

2023 年 10 月末より、株式会社 (申請中) サイマン 様 (宇宙開発・ロボット開発を目指す会社とのこと) が公式サポーターに加わって下さいました。今後、当ラボも可能な範囲で相互に研究開発に協力して参ります。

※ PN: ペンネーム HN: ハンドルネーム (SNS 上などでも使用されているお名前)

活動&成果報告・寄付など（詳細は https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl へ）

・論文・総説

メキシコサラマンダーにおける病原生物に対する応答性と治療可塑性に関する調査報告

【23 年_日本分子生物学会②】

杉山 遥, F.N. 三太子, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, あすみ悠 2023 年 11 月 11 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートル感染症対策と治療相談に関する活動報告【23 年_日本分子生物学会①】

F.N. 三太子, 杉山 遥 2023 年 11 月 11 日 最終著者, 責任著者

【今後の展開】累代飼育メキシコサラマンダー系統の遺伝子型の精査 および 近縁アンビストーマ種における生理学的応答の調査

杉山 遥 2023 年 11 月 6 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【研究報告】メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性

杉山 遥, あすみ 悠, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, Fuzzy navel 三太子

2023 年 10 月 28 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メキシコサンショウウオにおける密度効果と 異種混泳による成長制御機構に関する調査報告

杉山 遥, あすみ 悠, 横江 誼衡 2023 年 10 月 16 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【口頭発表】メキシコサンショウウオの生活環 における汽水環境の重要性

(日本動物学会_第 94 回_山形大会 (2023) 2023 年 9 月 9 日)

杉山 遥 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

改良メダカの背曲がり個体から産出される子個体への遺伝

あすみ 悠, 杉山 遥 2023 年 9 月 2 日 筆頭著者, 責任著者

【最新版】メキシコサンショウウオにおける攻撃行動制御機に関する調査報告

(23/10/1 ver.3.1 一部補足事項を記載)__ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2023 年 8 月 29 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【発表練習_第 2 回】メキシコサンショウウオの生活環における 汽水環境の重要性

杉山 遥 2023 年 8 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【研究発表】メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性

杉山 遥 ほか 2023 年 8 月 12 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

増刊号 (訂正箇所 + 更新記事のまとめ) ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 vol.X

杉山 遥 ほか 2023 年 5 月 5 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【改訂版】総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

杉山 遥 ほか 2023 年 4 月 19 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【改訂版】メキシコサンショウウオ等の栄養と成長に関する最新報告_(初稿) 2022/10/2

杉山 遥 2023 年 4 月 19 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【改訂版】ネオテニーの上陸化制御に関わる因子_ウーパールーパー研究報告 (初稿 22/11/1)

杉山 遥, 久木崎 玲美 2023 年 4 月 5 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【最新版】メキシコサラマンダーの腸内環境と成長制御 (23/3/25 開催_FBS 博士勉強会)

杉山 遥 2023 年 3 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

【改訂版】腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告 (初稿: 22/10/31)

杉山 遥 2023 年 3 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

(まとめ) ウパールパに良い水質や治療情報・病気の再発リスクなど

杉山 遥 2023 年 3 月 1 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウパールパ飼育水槽の濾過環境と水質管理・維持について

杉山 遥, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, りん 2023 年 2 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー飼育案内_Part.2

杉山 遥 2023 年 2 月 18 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

成長に不可欠な因子の探索・次世代の表現型解析 (孵化後 50 日目)_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2023 年 2 月 8 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

腸内乳酸菌と神経ペプチド NPY と睡眠・成長_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー飼育案内_Part.1

杉山 遥 2023 年 2 月 4 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ウーパールーパー研究室はるらぼ・新年集会・目標発表

杉山 遥 2023 年 1 月 20, 22 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートルの飼育・治療最新情報

杉山 遥 2022 年 12 月 25 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

ネオテニーの上陸化制御に関わる因子_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥, 久木崎 玲美 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

両生類・魚類の”睡眠”と体色制御／メキシコサンショウウオにおけるあくびの習性

杉山遥, あすみ 悠, 枝豆やみん, うにゃぎ 2022 年 11 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 31 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メキシコサンショウウオ等の栄養と成長に関する最新報告_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

メキシコサンショウウオの味覚_ウーパールーパー研究報告

杉山 遥 2022 年 10 月 2 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートル飼育水槽における濾過環境の重要性

杉山 遥 2022 年 9 月 26 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

土壌成分と生育_ウーパールーパー研究報告

高橋 慶, 杉山 遥 2022 年 8 月 最終著者, 責任著者

ウーパールーパーの睡眠 (FBS 博士勉強会・研究発表資料)

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1 2022 年 6 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

総説: メキシコサンショウウオにおける多頭飼育_他個体認識

杉山 遥 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

経過報告: アホロートルにおける睡眠・成長・概日リズムを制御する遺伝子群の網羅的解析

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0, 2.1 2022 年 5 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

アホロートルにおける睡眠と成長および概日リズムの関係性

萩原 和晃, 杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0, 2.1 2022 年 5 月 最終著者, 責任著者

昆虫の成長・生育はアミノ酸依存的に制御される。

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

2022 年 4 月 筆頭著者, 最終著者

メキシコサンショウウオの成長・生育を制御する因子の探索。

杉山 遥 はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

2022 年 4 月 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

著, 編纂, 監修: 杉山 遥 2023 年 2 月 25 日

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編纂, 監修: 杉山 遥 2022 年 6 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編纂, 監修: 杉山 遥 2022 年 5 月

コラム集・総説: ウーパールーパーの飼育係

著, 編纂, 監修: 杉山 遥 2022 年 5 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

著, 編纂, 監修, 杉山 遥ウーパールーパー研究室_はるらぼ 2022 年 4 月

・書籍等出版物

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ② (2023 年 当ラボメンバーの初学会参加記念 SP)

著, 編纂, 監修: 杉山 遥 ほか

2023 年 11 月 18 日

増刊号 (訂正箇所 + 更新記事のまとめ) ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 vol.X

著, 編纂, 監修: 杉山 遥 ほか

2023 年 5 月 5 日

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

著, 編纂, 監修: 杉山 遥

2023 年 2 月 25 日 (同年 4 月 19 日, 改訂)

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編纂, 監修: 杉山 遥

2022 年 6 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.0

著, 杉山 遥, 萩原 和晃 編纂, 監修: 杉山 遥

2022 年 5 月

コラム集・総説: ウーパールーパーの飼育係

著, 編纂, 監修: 杉山 遥

2022 年 5 月

はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

著, 編纂, 監修, 杉山 遥

ウーパールーパー研究室_はるらぼ 2022 年 4 月

・研究発表

・ 第 46 回日本分子生物学会年会 <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/>

1P-761__アホロートル感染症対策と治療相談に関する活動報告

Report on Activities Related to Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) Infection Control and Treatment Counseling

○F.N. 三太子¹, 杉山 遙¹ (1. NPO 研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

1P-762__メキシコサラマンダーにおける病原生物に対する応答性と治療可塑性に関する調査報告

Report on Responsiveness and Therapeutic Plasticity to Pathogenic Organisms in Mexican Salamanders, *Ambystoma mexicanum*.

○杉山 遙¹, F.N 三太子¹, 萩原 和晃¹, 枝豆 やみん¹, あすみ悠¹ (1. NPO 研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

・ 日本動物学会_第 94 回_山形大会 <http://www.zoology.or.jp/annual-meeting/3/>

3F0930 (両生類 | 生理)__メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性

○杉山 遙¹, あすみ 悠¹, 枝豆 やみん¹, 萩原 和晃¹ (1. NPO 研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

・ 第 45 回日本分子生物学会年会 <https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/>

3P-693__メキシコサラマンダーの睡眠機構と制御に関する調査報告 Progress Reports of Sleeping Mechanisms and Regulation of Axolotl, *Ambystoma mexicanum*

萩原 和晃¹; ○杉山 遙¹ (1. NPO 研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

3P-694__メキシコサラマンダーの他個体認識能力・色覚認識能力に関する行動解析

Behavioral analysis of ability to recognize other individuals and color vision recognition of Axolotl, *Ambystoma mexicanum*

杉山 遙¹ (1. NPO 研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

・ 大阪大学大学院生命機能研究科 (フロンティアバイオサイエンス; FBS) ドクター発表会” および オープン勉強会 における発表

2022/2/12 (土)・2022/2/19 (土)・2022/5/15 (日)・2022/6/4 (土)・2022/11/12 (土)

2023/8/12 (土)・8/26 (土)・2023/10/28 (土)・2023/11/18 (土)・2023/11/19 (日)

・予算状況

- ・ 予算: 2019 年度: 約 1,000,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・ 予算: 2020 年度: 約 1,200,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・ 予算: 2021 年度: 約 1,200,000 円 (給与, 一部支援金 (永田様). 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費)
- ・ 予算: 2022 年度: 約 1,320,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費, 分析依頼費 等)
- ・ 予算: 2023 年度: 約 1,300,000 円 (給与より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費, 分析依頼費 等)
- ・ 予算計画: 2024 年度: 約 1,532,000 円 (給与・一部支援金より補填, 内訳: 生体購入, 設備設置費用, 設備維持費, 分析依頼費 等)

・寄付・寄贈など

2022/5/29 研究員の萩原様より、実態顕微鏡・大型モニター等、分析機器をご寄贈いただきました。

2022/11/1 サポーターの方々のご協力により、はるらぼ第二事務所が開設されました。

2023/6/5 サポーターの方々のご協力により、120 cm アクリル水槽をご寄贈頂きました。

2022~2023 年 関連書籍のご共有下さった皆様より、書籍代としてご寄付を頂戴しました (上記支援金を含む)。

《 🚑 ウパールパ 119 番、無料相談窓口 🚑 》

by ウーパールーパー研究室_はるらぼ



皆様、ウパールパの飼育でお困りではありませんか？

「外鰓やヒレに元気がない。。。」

「餌を食べない/吐き戻す。。。」

「飼育方法って、これで合ってるのかな・・・？」

「みんな違うアドバイスをするから判断に困る。。。」

「SNS で相談すると、お説教が怖い。。。」

「もっとウパールパのことを知りたい！」

そんなウパの相棒の皆様、ご安心下さい！

私杉山にご相談いただけましたら、無料で誠心誠意、

ご相談に乗らせていただきます<(_ _)>

もし体調不良が気になるウパちゃんの情報などがございましたら、

そちらも是非是非お気軽にご相談下さい♪

【お問い合わせ先】

Twitter フォロー → DM でのお問い合わせ

ウパ研_はるらぼ Twitter リンク: https://twitter.com/lab_new2

杉山 遥 (筆者) の Gmail アドレス → sugiyama.haruka.axolti@gmail.com

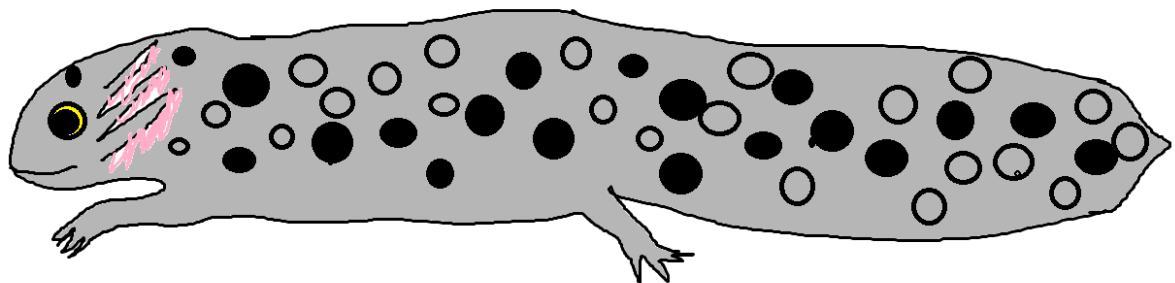
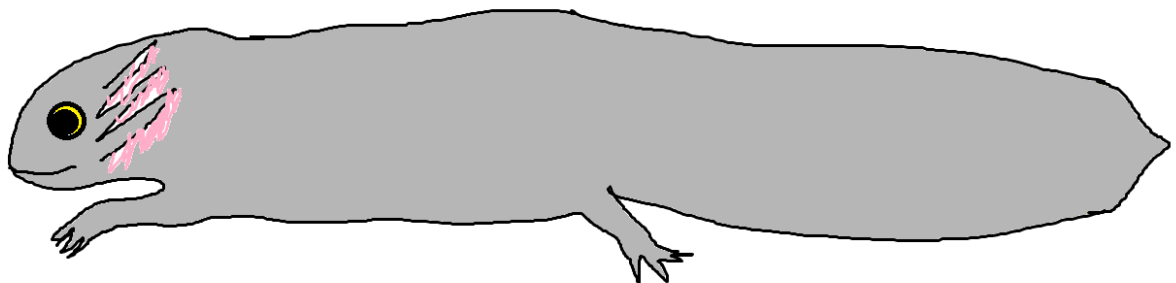
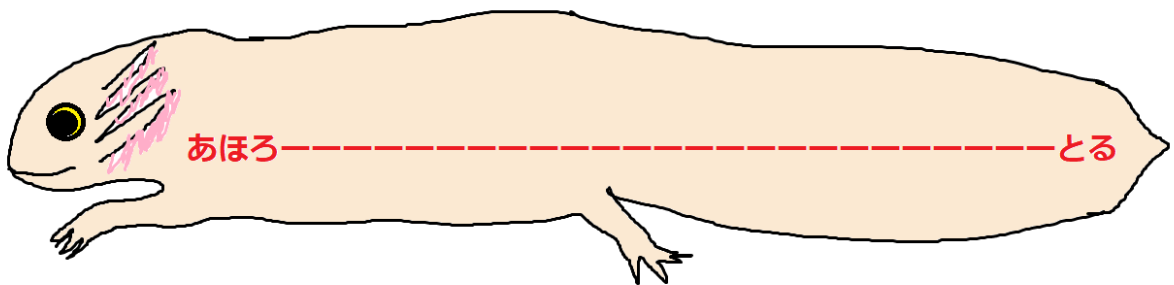
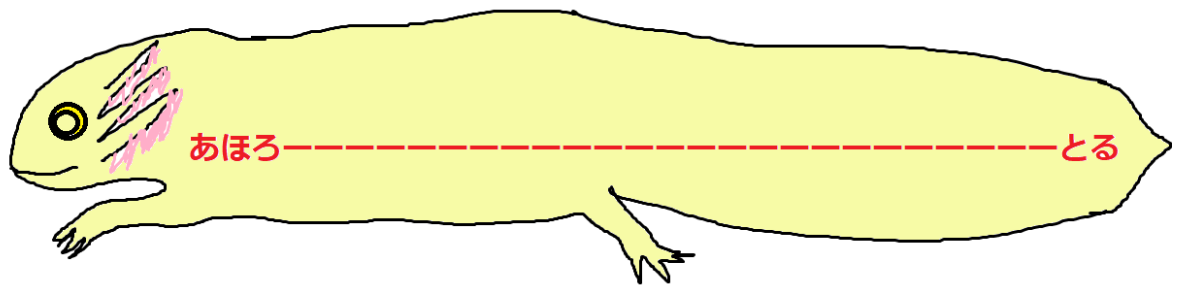
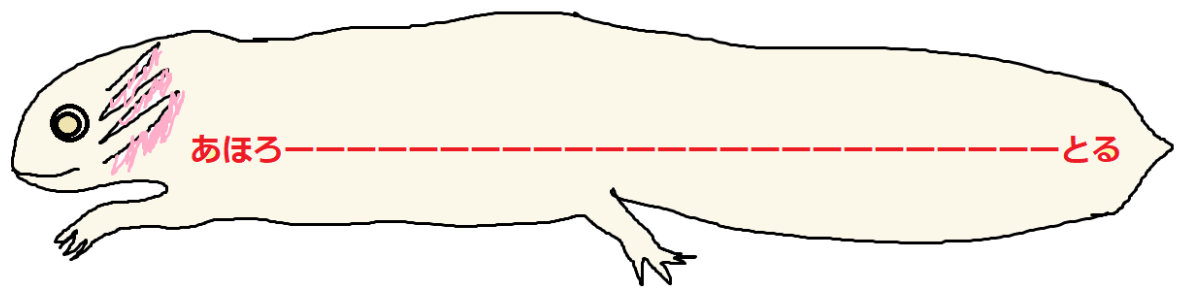
【飼育・治療に関する情報】

杉山 遥 の research map ページ + 論文ダウンロードフォーム作製 (2023/2 月～)

当然、全記事・論文も取得無料で閲覧可能です。

杉山 遥 research map (日本学術振興会_研究者ポータルサイト):

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl



【新規テーマ展開】

累代飼育メキシコサラマンダー系統の遺伝子型の精査

および 近縁アンビストーマ種における生理学的応答の調査

報告日: 2023 年 11 月 6 日

著: 杉山 遥 (Ph. D)¹



所属: ¹ ウーパールーパー研究室_はるらぼ

since 2020～

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

研究者ポータルサイト Research map

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja



協賛企業: サイマン SciMoun (株)



※ CC-BY-NC-ND; 本文献の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。



【課題: アホロートルの汽水適応と品種や累代化の影響】

当ラボの最新報告として、汽水環境の重要性についての研究発表・報告を致しました。

【研究報告】メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性 (2023 年 10 月 28 日)

杉山 遥 (Haruka Sugiyama) https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43901721



本テーマで杉山が解説している理屈としましては、メキシコサラマンダーの本来持つ汽水依存の免疫力が累代飼育や系統化の中で低減し、現在の日本の淡水飼育では一層巧く発揮できておらず、総合的には弱体化したと考えているという内容です。

本テーマの公開後、以下のような趣旨のご指摘があったので簡単にまとめました。

- 1). “系統化の影響で結果的に汽水適応してしまっていないのか？”
- 2). “現在の品種化されているウーパールーパーは小型化等や累代飼育の安定化に際して、近縁種のタイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*) 等と交雑されたとされているが、メキシコサンショウウオとして論理展開していいのか？”

これらは本当にありがたいご指摘で、実際我々が今後気にかけるべき課題として、実は議題に挙がっていた内容でした。

現在のウパルパ系統に含まれる可能性がある近縁種の遺伝情報については、科学論文上でも正直不明瞭な場合が殆どです。

当ラボも、実際の所、現在ゲノムブラウザーのデータベース上に公開されているゲノム情報に従って調査を行っています。

分子生物学全般の昔からの課題でもあります。ウパルパに限らず、細胞株でもマウスやラットでも、研究で用いる系統として用いられている物はゲノムが読まれつつも野生種との違いは考慮されない部分も正直あります。

また、研究施設ごとに累代する過程で少しずつ遺伝的に差異が生まれてしまったり、そもそもの入手の起源の違いによる遺伝的差異が生じることで、再現性が得られない要因になることも、望ましくないものの実際の所は多々あります。

我々は、複数の業者様から入手した個体を複数の N 数で使用するなど、普段から配慮して参りました。

現状、アンダーソン等の近縁種で mRNA について調査した結果はありますが、タイガーサラマンダー達については未実施です。

今回のご指摘を踏まえ、今後の活動の中で鋭意調査していく予定です。予算計画にこれらの新しいテーマも導入していきたいと再編成中です。

今後の展開として、以下の2つが挙げられます。

- ・1) メキシコ以外のアホロートル近縁種や他のネオテニー種における汽水への適応能力や関連する遺伝子配列の比較
→ 進化や分布、汽水適応の起源について解明したい
- ・2) 各研究機関が取扱うアホロートルの系統の起源の調査
→ 実際の実現は難しいが、研究機関のアホロートルにおけるゲノムの差異が分かれば、現在の論文に用いられている系統における遺伝的なメキシコサラマンダーの存在比率をある程度判定することができる

内容2に関して、両生類研究者の先生 [佐藤 伸 (さとう あきら) 准教授] より情報提供いただきました。

佐藤 伸 (Akira Satou) - マイポータル - researchmap

https://researchmap.jp/limb_lab

https://soran.cc.okayama-u.ac.jp/html/1e825fabd3bbb90274506e4da22f6611_ja.html

- ・日本国内で流通している個体は、野生型のメキシコサラマンダーである可能性が高い。
(勿論、混血の可能性もあり得る。)
- ・広島大を含めた研究機関で用いられている系統は、アメリカ由来のタイガーサラマンダー種との混血の可能性ある
(一部の論文でも取り扱いあり)。
とのことです。

当ラボでは総合的に判断し、混血の可能性もある、程度の言及に留めることにします。

世界中の研究機関では、あらゆる生物の形態や分布・交配の有無の調査による系統分類や、遺伝子解析による分子的生物学的な分類 [全身のゲノム配列比較, ミトコンドリア DNA (全長や部分的配列), ミトコンドリア アミノアシル tRNA 合成酵素 (mt-ARS), 18S rDNA などの比較] をされており、アホロートルや近縁種も分類学的には現状ある程度区分けは既に報告されています。

尚、48 種のアンビストーマ種について、2018 年の文献にてゲノムが既に読まれた結果が得られているという報告が見られます (Melissa et al., 2018)。

下記で参照した系統樹は、この結果や過去のあらゆる研究に基づいた系統樹であり、信憑性はある程度あると言えます。

このゲノム解析の結果は、オンラインのデータベースに記録された配列情報と専用のアプリ・ツールを用いることで自由に見ることができることから、今後の当ラボにおける研究にも順次適用して参ります。

(下記の文献 および 系統樹を参照)

https://www.researchgate.net/publication/329547761_Miniscule_differences_between_sex_chromosomes_in_the_giant_genome_of_a_salamander

本文献を含め、我々がデータベース上で確認したアホロートルの情報は、タイガーサラマンダーと交雑されて品種化されたメキシコサンショウウオを用いている物の結果を挙げており [メキシコサンショウウオ (メキシコサンショウウオ × タイガーサラマンダー) との表記あり]、純粋な野生種の配列情報に違いないと確信できる解析情報 (および ゲノム配列解析に関する論文) は私の確認した範囲では見られませんでした。

どうやら海外の研究機関では、タイガーサラマンダーとの交雑種である可能性がある流通個体を起源とした研究用の系統を用いて分析を実施していたようです。ゲノムのデータベースは、混血の結果である可能性が高く、その点に今後注意が必要です。

国内の研究機関でも、こうした系統を用いている所があると推察されます。

今後、この点はよく留意していきたく思います。

ひとまず我々が直近すぐに実施できることは、

今後の文献発表時、

"本検討に用いた系統は国内流通個体由来であり、海外からワシントン条約による規制以前の時代に野生型が持ち込まれ、累代飼育された系統である可能性が高い。

しかし、研究機関ではタイガーサラマンダーとの混血種を用いている可能性があるため、我々が使用している系統にも混血種が含まれる可能性がある。"

という旨を "材料と手法" の欄に明記すること

と言えます。

また、あらゆる可能性を考慮し、“標準系統” という簡単な表記に留める場合もありそうです。

むしろ、それ以上の事は、直には手が打てないというのが現状です。

【タイガーサラマンダーや他のアンビストーマの仲間について】

恥ずかしながら、メキシコサラマンダー以外のアンビストーマ属には当ラボではまだまだ疎いので、以下、少しだけ整理してみます。

どうやら、提供いただいた情報や、我々の文献調査によると、淡水の硬水域に生息していると推察されます。一方で、一部の種類はメキシコにも分布しているため、汽水適応できる可能性は十分にあります。とはいえ彼らは北アメリカ全域に生息するため、硬水は好むものの、少なくとも現在においては汽水環境がなくとも問題なく生息可能な免疫力であると考えられます。

また、これらのアンビストーマの仲間の一部は、ネオテニー（幼形成熟）化し、アホロートルとして生育している物もいるようです。また、後述するこれらのアンビストーマの仲間の雑種が野生化し、生態系を乱してしまう問題も深刻なようですね。

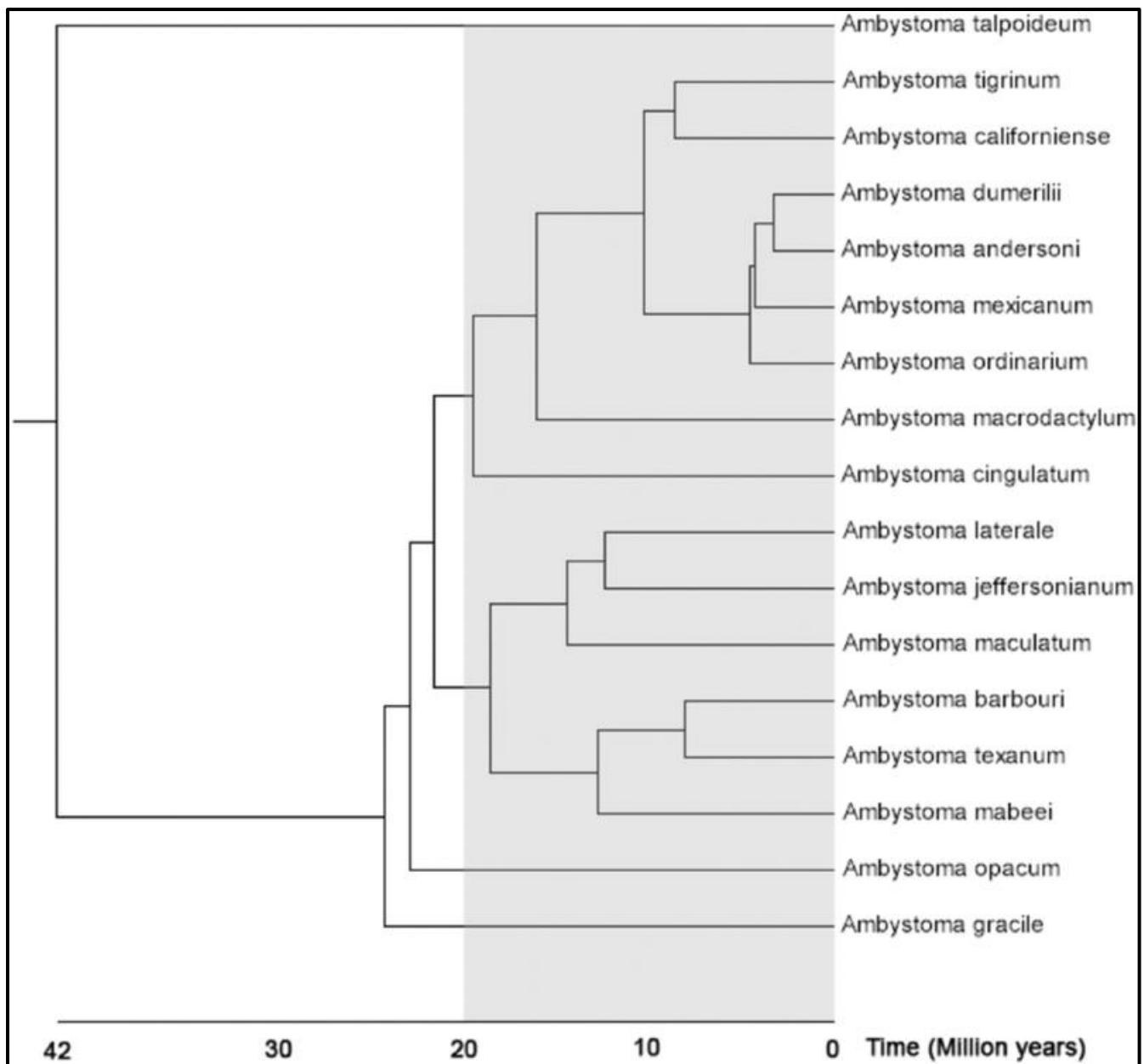


図：タイガーサラマンダーの仲間の生息分布

https://natgeo.nikkeibp.co.jp/nng/article/20141218/429025/?ST=m_column

これらの情報から、メキシコサラマンダーとタイガーサラマンダーの仲間では、塩分の感知や排出等の機構が大きく違っている可能性が推察されます。

従って今後、生息地・分布等の生態関連の情報や遺伝学的な情報に基づいて順次調査をしていきたいと考えます。



(Melissa et al., 2018)

https://www.researchgate.net/publication/329547761_Miniscule_differences_between_sex_chromosomes_in_the_giant_genome_of_a_salamander

分子系統樹を見ると、交雑したと言いつつ、トウブタイガーサラマンダー(*Ambystoma tigrinum*)とはやや離れた所に位置しているのが分かります。

これを踏まえると、研究機関で累代飼育された混血のアホロートル達であっても、全ての行動や生理的な応答においてタイガーサラマンダーの性質に引っ張られた挙動を示すとは考えにくいでしょう。

今後の研究活動の中で、これらの疑問を順次調査していきたい思います。

巧く行けば、メキシコサラマンダーが汽水に特異的に適応し得ることを示すことにもつながると思われます。

逆に、他のアンビストーマもある程度汽水適応しうるならば、流通しているメキシコサラマンダーや、他の雑種との適応能力の違いについて比較してみるのも非常に面白いテーマ展開になると思われます。



トウブタイガーサラマンダー
(*Ambystoma tigrinum*)

参照: [Eastern Tiger Salamander \(Ambystoma tigrinum\) - Amphibians and Reptiles of South Dakota \(sdherps.org\)](http://sdherps.org)



オビタイガーサラマンダー
(*Ambystoma mavortium*)



参照: [Western Tiger Salamander \(Ambystoma mavortium\) - Amphibians and Reptiles of South Dakota \(sdherps.org\)](http://sdherps.org)

図: タイガーサラマンダー種 (*Ambystoma tigrinum*, *Ambystoma mavortium*) の例



アメリカ・テキサス州・メキシコ湾にて釣られた個体
(タイガーサラマンダーの雑種？ ネオテニー個体)

参照: <https://www.reddit.com/r/newsokur/comments/>

図: タイガーサラマンダー種におけるネオテニーの例

これらの新たなテーマから得られた知見が、我々の研究を更に後押ししてくれることが大いに期待されますので、皆様どうぞご期待下さいますようお願い致します。

[AmphibiaWeb - Ambystomatidaeamphibiaweb.org](http://AmphibiaWeb-Ambystomatidaeamphibiaweb.org)

タイガーサラマンダーnatgeo.nikkeibp.co.jp

オビタイガーサラマンダーwww.city.sapporo.jp

一応、タイガーサラマンダーのネオテニーが汽水・塩水に適応したであろう記録が残っています。

[アメリカ・テキサス州のメキシコ湾で、釣り人が謎の生物を釣り上げる サンショウウオの一種？Posted in r/newsokur by u/\[deleted\] • 12 points and 5 commentwww.reddit.com](http://アメリカ・テキサス州のメキシコ湾で、釣り人が謎の生物を釣り上げる サンショウウオの一種？Posted in r/newsokur by u/[deleted] • 12 points and 5 commentwww.reddit.com)

現在淡水域にも広く分布するタイガーサラマンダーが汽水適応できるのであれば、メキシコサラマンダーの汽水適応もある程度証明できそうですね。

また、もう一つの可能性として、実はこうした汽水適応個体がメキシコサラマンダーや他のアンビストーマのうちの汽水適応した品種との(ともすれば複数との)混血雑種として生まれ、ネオテニー化し、親同様に汽水適応した可能性も十分にあると考えられます。

これに関連した内容として、タイガーサラマンダーの異なる種類が混血し、巨大化するすることで在来種を脅かしているという報告も見られています (Maureen et al., 2009)。

<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0902252106>

<https://shinka3.exblog.jp/11855150/>

尚、これは特に杉山の私見ですが、進化的な背景で複数の交雑が自然界で繰り返し行われた結果、現在のアンビストーマ種の野生種として確立した種類がいるとしたら、ゲノムの配列による区分けだけではやや遠慮の品種であると判別できてしまう可能性は十分にあると思われます。

また逆の考え方として、タイガーサラマンダーを含むアンビストーマの仲間が、淡水と汽水いずれにも問題なく適応することが出来た場合、これらアンビストーマの仲間のうち、メキシコサラマンダーのみ淡水適応が苦手である、という考え方もできるかもしれません。

これも非常に面白い仮説ですね。

【今後の研究的なアプローチ】

今後のメキシコサラマンダーとタイガーサラマンダーとの生理学的な比較については以下のアプローチを考えています。

- ・調査項目: 国内で流通しているタイガーサラマンダー系統について、汽水適応の有無について、汽水飼育やストレス応答、イオンチャネル等について調査する。
- ・調査対象: 上陸したアダルト個体、ネオテニー個体、幼生個体それぞれの違いについて、トウブタイガーサラマンダーやオビタイガーサラマンダー等、国内流通している系統や雑種個体について、順次調査・比較する。

【研究計画 (おそらく検証自体は外部委託)】

おそらく野生型である国内メキシコサラマンダー

トウブタイガーサラマンダー

オビタイガーサラマンダー

メキシコサラマンダーとタイガーサラマンダーの混血(F1)個体

トウブとオビの混血(F1)個体

幼生とセミアダルト、上陸成体

→ 野生種(WC)と累代個体(CB)それぞれで比較する

(混血はおそらくCBのみで検証可能か)

【関連文献】

はるらぼ報告・汽水飼育関連

・note 記事: https://note.com/lab_new2/n/n0b609d5d9f27

・メキシコサンショウウオの生活環における 汽水環境の重要性

杉山 遥, あすみ 悠, 萩原 和晃, 枝豆 やみん, Fuzzy navel 三太子

2023 年 10 月 28 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者

Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43901721

サンショウウオの系統・分類

・istage.ist.go.jp/article/plmorphol1989/15/1/15_1_40/pdf

・[分子系統解析に基づく分類 | 日本大百科全書 \(japanknowledge.com\)](https://japanknowledge.com/)

・[分子系統解析の最前線 \(ist.go.jp\)](http://ist.go.jp/)

・[日本産サンショウウオ類の分類と系統進化に関する研究](#)

・[ADW: Ambystoma: CLASSIFICATION \(animaldiversity.org\)](http://animaldiversity.org/)

・[Ambystomatidae - Wikipedia](https://en.wikipedia.org/wiki/Ambystomatidae)

・[トラフサンショウウオ科 - Wikipedia](https://en.wikipedia.org/wiki/Trametes)

・[Ambystomatidae - an overview | ScienceDirect Topics](https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-and-biophysics/ambystomatidae)

・https://www.researchgate.net/publication/329547761_Miniscale_differences_between_sex_chromosomes_in_the_giant_genome_of_a_salamander

・[Salamander Paedomorphosis: Linking Thyroid Hormone to Life History and Life Cycle Evolution - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022293320300000)

タイガーサラマンダーの混血問題

・<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0902252106>

・<https://shinka3.exblog.jp/11855150/>

【23 年_日本分子生物学会年会_発表内容①】

アホロートル感染症対策と治療相談に関する活動報告

Report on Activities Related to to Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) Infection Control and Treatment Counseling



報告日: 2023/11/11 [発表日: 2023/12/6 (A3325)]

著: Fuzzy navel 三太子¹; 杉山 遥 (Ph. D)¹

所属:¹ウーパールーパー研究室_はるらぼ (since 2020~)

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

研究者ポータルサイト Research map https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

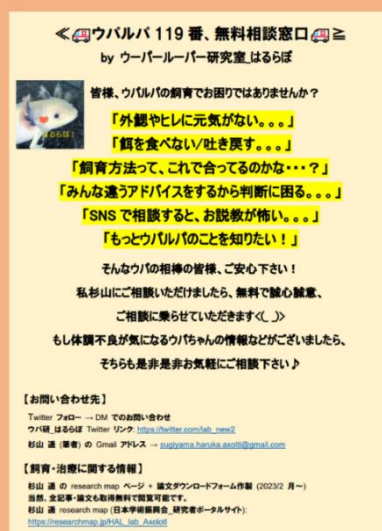
協賛企業: サイマン SciMoun (株)

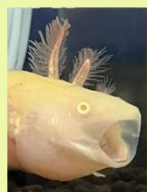
【要旨】

メキシコ原産のサンショウウオであるメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、現在絶滅の危機に瀕しています。愛玩動物として広く知られているアホロートルの品種は、日本国内では "ウーパールーパー" として有名ですが、その生態についてはまだまだ未解明な部分が多いのが現状です。アホロートルにとって最適な成育環境を考えるうえで、感染症や免疫機構は非常に重要となってきます。アホロートルは飼育下の個体であっても免疫が脆弱であることが知られており、一度体調を崩してしまうと一般飼育者では適切な対処が難しい部分が大いにあります。そこで我々は、2022 年 10 月より本格的に一般飼育者への相談窓口を開設し、体調不良や取り扱いに悩む飼育者の方々への助力になるべく活動をして参りました。[1]

約 1 年間という短期間ではありましたが、多くの方々からの相談を受け、私と代表の杉山の 2 人で受けた総依頼数は 100 件を超え、**鰭の充血・鰓の欠け・皮膚の浮腫・感染細菌が形成したシスト・脱調等の重篤な症状**を示していた多くのアホロートルを無事に回復させることに成功致しました。我々の推奨するこれらの症状に対する治療法として、汽水環境での飼育と低濃度オキシリン酸薬浴 (+イソジン; ポピドンヨード) による治療法を確立・公表し、治療相談内でも多くの方に普及させていただきました。[2-4]

本発表では、これらの知見について皆様と共有し、研究室内での飼育個体やご自宅の大切な飼育個体における細菌感染症等に悩む方々のお力になれることを切に願います。





アホロートル感染症対策と治療相談に関する活動報告

Report on Activities Related to Axolotl (*Ambystoma mexicanum*)
Infection Control and Treatment Counseling

○ F. N. 三太子¹; 杉山 遥¹ (1. NPO研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)



E-mail address sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

Twitter URL https://twitter.com/lab_new2



メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)
の国内流通個体です (一部、他種と混血の説あり)

原産地: メキシコ (ソチミルコ湖)

最大体長: 20~25cm

幼形成熟 (ネオテニー) の形態を取る

寿命は20年以上 (変態・上陸すると10年程度に。。。)

強み: 少々水質変化はへっちゃら

弱点: 細菌感染、カビ (免疫反応がアフリカツメガエルの半分以下)

※ 現在は絶滅の危機 (原因: 都市開発や埋め立てによる生息地減少)

マーブル
(野生型体色)



リューススティック
(一部色素欠乏)



ブラック
(メラニン過剰)



アルビノ系統

アルビノ



ゴールデン



イエロー



(杉山 ほか, 2022-2023)



アホロートルを救いたい! → 2020年当ラボによる調査・研究活動を開始!

・汽水・硬水飼育の開発 (23年9月、日本動物学会にて報告(杉山))

・飼育・治療相談への無償対応 (主に発表者が担当)

・薬浴治療法の確立や感染原因に関する調査 (杉山)

・他、睡眠や共生の仕組みなど続々研究内容を報告中。



症状	件数	主な要因	対策・治療方針
裂傷・傷 など	35	混泳個体同士の攻撃・誤食 水槽中の設置物による損傷	繁殖期 (低水温) の解消・オスの隔離 飼育水槽への仕切り・単独飼育化 角のある石や表面の粗い土管などの除去 ろ過装置の吸入口へのスポンジカバー装着
炎症・赤み 浮腫・腹水症	38	過不足によるアンモニア中毒 アンモニア分解物 (亜硝酸塩) 中毒 細菌・ウイルス・寄生虫感染 に対する免疫応答	【グラム陰性菌による感染症】 汽水飼育・オキシリン酸薬による治療 【他の要因による感染症】 汽水飼育・ポビドンヨード薬による治療 濾過環境強化や換水頻度を増やすことで 根本的な要因を除去できる → 水槽内の微生物叢の改善 汽水環境は亜硝酸塩の影響を緩和する 【例外】 ウオジラミ・イカリムシ 等の甲殻類の仲間 による寄生は生餌の魚経由で感染する → ジフルベンズロン水和剤 (ポウフラ農薬) の添加による治療のみが有効である
ぶかぶか病 転覆	52	消化不良 (特にデンプン質) による消化器官へのガス蓄積 腸内細菌叢異常によるガス蓄積 浮袋・肺の異常 (浮力制御の不良)	【腸内洗浄】 ・繊維質の多いアカムシやイトミミズ ・治療薬に浸した餌 (食べやすいもの) 水温を+2℃ 程度上昇させる → 代謝の向上 淡水飼育であれば汽水飼育へ切り替える 汽水飼育であれば淡水飼育へ切り替える
鰓や身体の痩せ 餌の吐き戻し	34	寄生虫による栄養失調 腸内フローラ異常からの摂食障害 腸管腫瘍による摂食障害 各種ストレス起因の変態誘導	感染症を優先し治療期間中は断食させる 水質を良質に保つことで機能回復を優先する 食欲が改善すれば毎日少量ずつ与えていく ※ 改善しない場合は腫瘍の可能性あり → 病院に早急に受診させる

合計 159 件

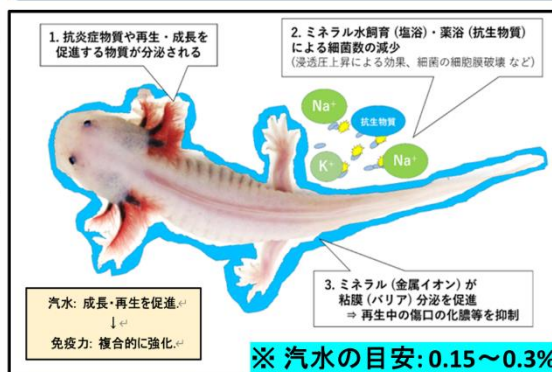
※ 各症状には重複あり

参考1: 水槽内に存在する微生物一覧 (アホロートルの病気の原因たち)

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性 細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス属	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス属	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス属	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター属	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ属	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>Vibrio vulnificus</i>	腸炎ビブリオ	吐き戻しの原因 (好塩細菌)
グラム陰性 細菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター属	肉類に付着 (耐塩細菌)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌属	皮膚の化膿・腫れなど (耐塩細菌)
	<i>Streptococcus iniae</i>	レンサ球菌属	嚢腫突出、腎臓や脾臓の腫れ、心外膜炎など
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
藻類 (水苔)	<i>B. subtilis</i>	枯草菌属	濾過バクテリア
	<i>C. pediculus</i>	コッソネイス属	緑藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクススポラ属	糸状緑藻類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	
	<i>A. proliferans</i>		水質浄化、増えすぎる
	<i>A. proliferoides</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	水カビ病の原因
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>	アファノマイセス属 (糸状菌類)	

(杉山 ほか, 2022-2023)

参考2: 汽水飼育 + オキシリン酸薬・ポビドンヨード浴 による感染症治療 & 免疫力の強化



(杉山 ほか, 2022-2023)

【参考文献】

1. 杉山 遥. (2023). ウパールパ 119 番・無料治療相談のご案内
2. 杉山 遥. (2023). ウパールパに良い水質や治療情報・病気の再発リスクなど
3. 杉山 遥. (2023). ウパールパ 飼育案内_Part.1&2&治療案内 (最新)
4. 杉山 遥. (2023).メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要 (日本動物学会_第 94 回_山形大会性)



【23 年_日本分子生物学会年会_発表内容②】

メキシコサラマンダーにおける病原生物に対する応答性と治療可塑性に関する調査報告

Report on Responsiveness and Therapeutic Plasticity to Pathogenic Organisms in Mexican Salamanders, *Ambystoma mexicanum*.

報告日: 2023/11/11 [発表日: 2023/12/6 (A3326)]

著: 杉山 遥¹, F.N 三太子¹, 萩原 和晃¹, 枝豆 やみん¹, あすみ悠¹

所属:¹ウーパールーパー研究室_はるらぼ (since 2020~)

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

研究者ポータルサイト Research map https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

協賛企業: サイマン SciMoun (株)

【要旨】 メキシコ原産のサンショウウオであるメキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*, 以下、アホロートル) は、現在絶滅の危機に瀕している。その一方で、世界中で愛玩動物として広く流通しているアホロートルの品種 “ウーパールーパー” が有名であるものの、原種の個体数の減少や生息環境の歴史的な変化に伴い、その生態については未解明な部分が多いのが現状である。アホロートルにとって最適な成育環境を考えるうえで、感染症や免疫機構は非常に重要となってくる。アホロートルは飼育下の個体であっても免疫が脆弱であることが知られており、我々の調査結果においても水質(硬度や pH)の変化に対する抵抗性の高さに反して、水質悪化に伴って発生する耐塩性を示す腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) などの病原微生物自体への抵抗性が低いことが示唆されている。また、アホロートルは特に真菌類や耐塩性細菌等からの影響を受けやすく、対処が遅れることで早ければ数週間の間に亡くなってしまう可能性があることが明らかとなった。[1-3] 尚、これらの脆弱性が発現される際、鰓の矮小化や手足の充血等の炎症症状が見られるが、初期症状を示した段階から 2 週間~1 ヶ月以内に適切な対処をすれば、高い再生力で回復する可能性が十分にある(治療可塑性)。しかし、治療可塑性のある期間を過ぎてしまうと、感染症が進行することで粘膜分泌能が著しく低下し、免疫力の更なる低下が生じることで組織の化膿や壊死が進行し回復不能な段階まで進行してしまう。加えて、この時のストレスが引き金となることで間脳視床下部-脳下垂体-甲状腺までのホルモン分泌誘導による疑似的な変態誘導が起こり、鰓呼吸不全や甲状腺ホルモン分泌による代謝過剰による痩せの悪化等が進行し、最終的には死に至ることになることも明らかとした。

本発表では、これらの知見について皆様と共有し、野生種の適切な保全や飼育個体の健康管理に関する手がかりとなることを切に望む。

【参考文献】

1). 【改訂版】総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ~飼育の最新情報・学術データまとめ~

杉山 遥 ほか. 2023 年 4 月 19 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41527304

2). Axolotl Immunology: Lymphocytes, Cytokines, and Allergic Incompatibility Reactions

Cohen et al. (1994). Axolotl Newsletter Number 23.

3). Immunologic Responses in the Axolotl, *Siredon Mexicanum*

Ching et al. (1967). J Immunol July 1, 99 (1) 191-200; <https://www.jimmunol.org/content/99/1/191>

メキシコサラマンダーにおける病原生物に対する 応答性と治療可塑性に関する調査報告

A3326

Report on Responsiveness and Therapeutic Plasticity to Pathogenic Organisms in Mexican Salamanders, *Ambystoma mexicanum*.

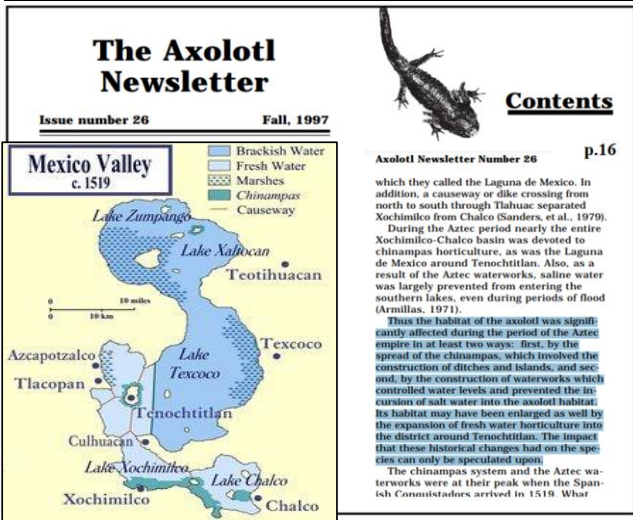
○ 杉山 遥¹, F.N三太子¹, 萩原 和晃¹, 枝豆 やみん¹, あすみ悠¹
(1. NPO研究グループ_ウーパールーパー研究室_はるらぼ)

E-mail address sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

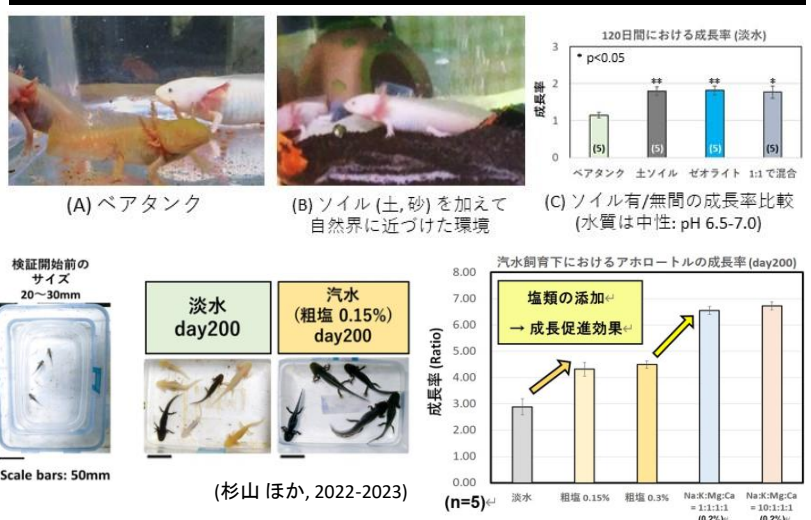
Twitter URL https://twitter.com/lab_new2



Ambystoma mexicanum の生息地は 淡水湖と塩湖が何度も混ざりあっていた



Ambystoma mexicanum の生育・成長には 硬水・汽水環境が望ましい



Ambystoma mexicanum は他の両生類と 比較して免疫力が低い傾向にある

Table 1 Some Immunological Features of adult <i>Xenopus</i> and <i>A. mexicanum</i> ¹	<i>Xenopus</i>	<i>Axolotl</i>
Immunological feature		
Thymus morphology: cortex/medulla	defined	undefined
Thymus: 胸腺	defined	undefined
Spleen morphology: red/white pulp	defined	undefined
Graft rejection (thymectomy)	acute (abrogated)	chronic (abrogated)
In vitro MLR (thymectomized)	strong (abrogated)	poor (0)
T-cell mitogen response	good (FSB or BSA) good (BSA)	poor (FSB) good (BSA)
B-cell mitogen response (LPS)	modest	modest (BSA or FBS)
PHA response	good	good (BSA or FBS)
Antibody response (thymectomy)	good (restricted diversity)	poor (limited diversity) enhanced (SRBC/HRBC)
Isozyme switching (thymectomy)	yes no (IgY)	no
Affinity maturation	modest	none
MHC class II antigens	B cells, T cells, thymocytes thymocyte areas of thymic stroma	B cells, T cells, erythrocytes, thymic stroma, endodermal epithelium, skin glands, brain
MHC class I antigens	ubiquitous cell surface	a chain on erythrocytes

(参照: Ching et al., 1967 & Cohen et al., 1994)

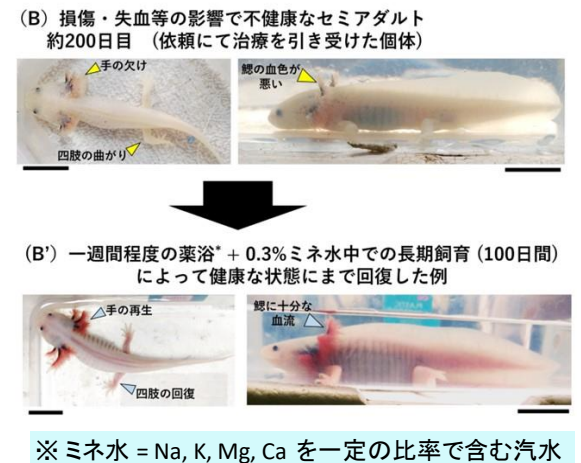
＜治療のタイミングと再発率＞

- ・炎症 (充血) 発見の段階で塩浴・薬浴治療 (計100匹; 聞き取り調査含む)
 - 気づいて (再発率)
 - 5~7日 → 1/21
 - 10~14日 → 0/18
 - 18~21日 → 5/19
 - 25~30日 → 13/20
 - 60日以上 → 18/22
- ・エラ潰せ, 身体痩せ
 - ※ 原因 → 摂食障害, 腸の機能低下 (餌の吐き戻し, 下痢等を伴う)
 - 一方で, 突然死 (外見に異常少) の個体も確認できる。
 - 5~7cm の個体で抹消機能を確認 (qPCR)
- ・炎症 (充血) 確認後も塩浴・薬浴なし
 - 30日以上放置 → 健康な (38匹/56匹) ここで30日間治療 (38匹) 後, 再発率
 - 5~7日 → 4/8
 - 10~14日 → 4/7
 - 18~21日 → 7/11
 - 25~30日 → 5/6
 - 60日以上 → 6/6
 - 60日以上放置 → 身体も痩せ (46匹/52匹) ここで30日間治療 (46匹) 後, 再発率
 - 5~7日 → 8/9
 - 10~14日 → 10/11
 - 18~21日 → 8/8
 - 25~30日 → 9/9
 - 60日以上 → 9/9

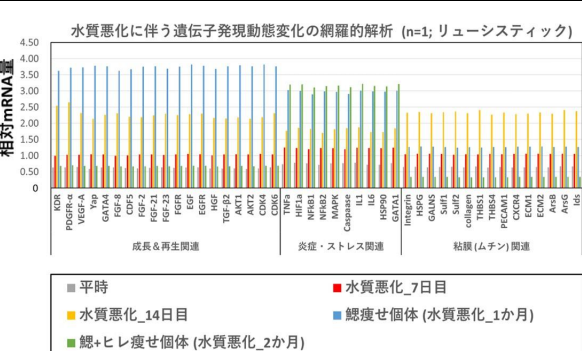
＜細菌感染・炎症のプロセス (推定)＞

感染 → 炎症マーカー増加 → 腸機能低下 → 嚥下不全 (巧み吞み込めない) → 衰弱死 (痩せ)

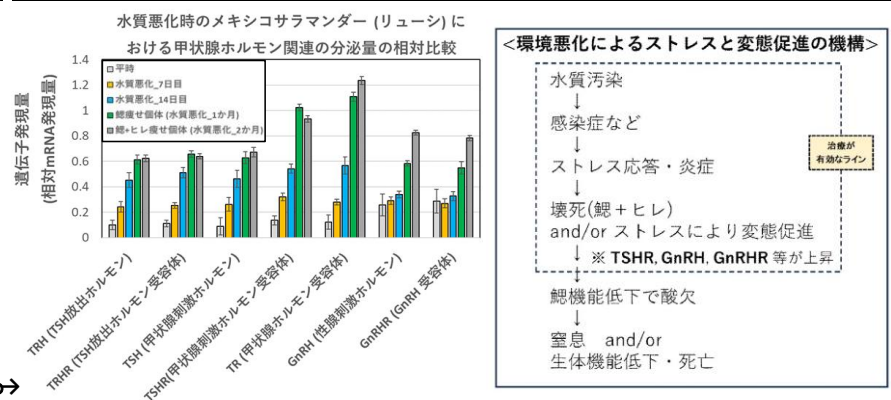
Ambystoma mexicanum は汽水・硬水の 環境下で免疫力を補っていた可能性がある



Ambystoma mexicanum の水質悪化に伴った 再生・ストレス応答・粘膜炎関連因子の発現動態



Ambystoma mexicanum は生育環境が悪化することで ストレス応答を示し 疑似的に変態を進行させてしまう



〈ウーパールーパー研究報告〉

メキシコサンショウウオの生活環における 汽水環境の重要性

報告日: 2023/10/28

著: 杉山 遥 (Ph. D)¹, あすみ 悠¹, 萩原 和晃¹, 枝豆 やみん¹, Fuzzy navel 三太子¹



所属: ¹ウーパールーパー研究室_はるらぼ

since 2020～

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

研究者ポータルサイト Research map

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja



協賛企業: サイマン SciMoun (株)



※ CC-BY-NC-ND; 本文献の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。



要旨 Abstract

- ・ ウーパールーパーとして知られるメキシコサンショウウオ (*Ambystoma mexicanum*; 以下、アホロートル) は、愛玩動物として現在多くの人々に親しまれている一方で、野生種の数自体は度重なる開発や地殻変動を経て、昨今の環境汚染などが原因となり絶滅の危機に瀕している。
- ・ アホロートルの生育に適した水の構成成分は、多くの Na と少量の K, Mg, Ca 等の 金属陽イオン (カチオン) を含む硬水であり、飼育下においても硬水環境下でより高い成長率を示す。
- ・ アホロートルは免疫力が低く、真菌類 (カビ) や一部の雑菌に対する抵抗性が弱いいため、一定以上の頻度で換水が必要であり、この性質が野生種の衰退にも繋がっている可能性が高い。
- ・ かつてのメキシコにおいて、河川の氾濫により塩湖と淡水湖が混ざり合うことで、周期的な汽水と淡水のサイクルが生じていた可能性が高い。その結果、メキシコサンショウウオは適度な頻度で塩分との接触を行うことが可能であったと考えられる。
- ・ アホロートルは、飼育下において 0.15~0.3% の汽水環境下で健康に生育する。
また汽水環境下では、胚~亜成体までの成長が顕著に促進される。
- ・ 汽水環境は、アホロートルにおいて抗炎症作用と粘膜成分 (ムチン) の分泌を促進し、健康被害をもたらす真菌類 (カビ) や雑菌から身を守る。
- ・ 汽水環境では、換水刺激によるアホロートル整腸作用がより顕著に促進される。
- ・ 汽水適応の能力はアホロートル類固有のものであり、日本の淡水・軟水環境に適応したイモリ・サンショウウオ類ではあまり長い時間適応することができない。
- ・ 汽水環境で生育した個体の情報は、次世代にも伝達し、より汽水に適応した状態を取るようになる。

導入 Introduction

ウーパールーパーとして知られるメキシコサンショウウオ (*Ambystoma mexicanum*; 以下、アホロートル) は、愛玩動物として現在多くの人々に親しまれている一方で、野生種の数自体は度重なる開発や地殻変動を経て、昨今の環境汚染などが原因となり絶滅の危機に瀕している。

アホロートルがかつて生息していた地域は地殻変動やメキシコの植民地化が起こった時代を経て、当時の原型をあまり留めておらず、当時の生態系を正確に知ることは非常に困難である。

これは、アホロートルの保全・再繁栄において大きな問題点であり、少ない情報や手がかり、飼育個体を用いた調査によって最適な環境を推測することが急務であった。そこで当研究チームでは、当時のアホロートルの生息環境を模した飼育水槽 (ビオトープ) の作製を目指し検討を行っている。[1]

本研究において、アホロートルの生育に適したより最良の環境・水質を明らかにすべく、過去に着目した汽水と生育の関係性についてより内容を発展させた。

以下、その内容について報告したく思う。

結果と考察 Result & discussions

アホロートルの生育において硬水・汽水の環境がより成長・生育に適している

これまでの調査の中で、現在のメキシコの水質は 水道水を含め Na, K, Mg, Ca 等の金属陽イオン (カチオン) を含む硬水であることが分かっており、火山活動が起こっていた土壌環境であることがこの硬水環境を後押ししているといえる。また、かつてのメキシコにおいて、河川の氾濫により塩湖と淡水湖が混ざり合うことで、周期的な低濃度の塩分と淡水のサイクルが生じていた可能性が高いことから、メキシコサンショウウオは適度な頻度で塩分との接触があったと考えられる。(図 1. 参照) また、アホロートルは前提として塩類に対して高い嗜好性を示し、側線器官等で水に溶けた塩類を感知すると積極的に近寄る報告があり、当チームでも同様の知見が得られている。(補足図 3-1, 3-2. 参照)

これらの調査結果を踏まえ、汽水・硬水の環境でのアホロートル飼育の最適条件について検討を行ってきた。情報が少ない中、汽水環境・硬水環境を目指すための条件を探するため、水に溶解してカチオンを発生する塩類を用いて、濃度や比率を調整する検証を実施する中で、汽水濃度 0.15~0.3% の条件となるように Na, K, Mg, Ca 単独または比率を変えながら成長率について比較を行った。検討の結果、Na の含有量が約 9 割と極少量の K, Mg, Ca を含む飼育水が最もアホロートルの生育に適していることを明らかとした。この組成は、市販されている粗塩や海水魚用の人工海水とよく似た比率であり、安価に再現することができることも明らかとなった。(図 2~図 4, 文献 [1]. 参照) 今回設定された汽水飼育の手法は、底材添加による水中に含有されるミネラル量の調整 (図 17 (A), 補足図 1~2. 参照) と併用することでより高い効果を示す。この手法の併せ技を、我々は **“ミネラル含有水 (ミネ水) 飼育法”** と呼称し、SNS 等を介して普及に努めている。

アホロートルは汽水条件下において免疫力が向上しストレスが緩和される

前述の野生種のアホロートルの絶滅要因として、現在の原産地であるソチミルコ湖の観光地化と汚染などが挙げられるが、そもその前提としてアホロートルの免疫力の脆弱さが挙げられる。淡水下では、濾過バクテリア以外の水棲微生物や雑菌類の増殖率が高いことが分かっており、淡水飼育下 (特に軟水条件下) のアホロートルはストレスを強く感じ、炎症性物質を多く出すことが多い傾向がある。一方で、ミネ水飼育下ではこれらのストレス応答が顕著に抑制され、飼育水中の雑菌増殖もある程度抑制される他、成長促進効果や生殖能力 (妊性) の向上に加え損傷再生についても有効であることが明らかとなった。(図 4. ~7. 参照) また汽水環境下では、換水刺激による整腸作用も淡水下より活性化される。(図 6. 参照) これに加え、汽水環境下では粘膜の形成に関わるヌメリ成分 (ムチン) の分泌も促進され、身体の保護機能がより向上していることも判明した。このように汽水環境下におけるアホロートルは、一部の耐塩性の微生物を除く感染源の増殖抑制効果と、ムチンによる物理的な防御の効果、損傷再生活性化などの複数の要因によって総合的に免疫力を高めていることが示唆された。(図 8. ~12, 14. ~16, 補足図 5. 参照) これは、**淡水・軟水飼育下におけるアホロートルの免疫力の低さが、そもそも本来は汽水・硬水環境下で生育することに適している生物であることに起因している**ことが推察された。

こうした汽水適応する性質はアホロートル類特異的であるようで、日本国内種である アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) や エゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) と比較すると、アホロートルが生育可能な汽水条件であっても呼吸がし辛いのか、彼らは頻繁に浮上して水面から酸素を取り込むような行動を示す。これは幼少期でも変態後でも共通した性質であり、幼少期の鰓呼吸と変態後の皮膚呼吸+肺呼吸との間に大きな差異は見られない。また鰓の伸長や損傷再生においても、アホロートルにとって有用な濃度・期間での汽水条件下であるにも関わらず、日本産サンショウウオでは逆に効果が低減してしまうことが明らかとなった。(補足図 12~13. 参照) これらの調査結果から、汽水に適応する特質はアホロートル類特異的なものであることがより明確になったといえる。

しかし、これらの免疫効果にも限界があり、塩類にも高い耐性を示す食中毒バクテリアとして知られる腸炎ビブリオ・カンピロバクター・黄色ブドウ球菌・レンサ球菌 [4] 等は腸内にも潜伏し、アホロートルに重篤なダメージを与えてしまう。

尚、これらの食中毒性微生物の侵入経路は、本来アホロートルの摂取し得ない市販の魚介類の刺身や動物の肉類の切り身

(生、未加熱品)などの可能性が極めて高いため、基本的には与えないことが推奨される。どうしても与えたい場合は、十分に加熱する(63℃30分、または75℃1分(食品衛生法[7]))または淡水と1%以上の塩水の両方で順番にしっかりと洗浄し、身に付着した雑菌類や寄生虫などをしっかり除去することが必要である。淡水と塩水両方で洗浄することで、各々に耐性を持つ雑菌類を餌上からある程度引き剥がすことが可能となる。(補足図5. 参照)

アホロートルに対する汽水の効果も一定の塩分濃度を超えると逆に悪化する

ここまで、アホロートルの生育における汽水の恩恵について示してきたが、一方で塩類濃度が0.5%と高くなりすぎると、成長抑制効果・妊性低下・排泄異常・再生抑制などの異常が出てしまうことも示唆された。(図4(D), 図13(A), 補足図4-7, 補足図6. 参照) このように、確かに汽水環境下ではストレスは長期的には緩和されるものの、関連因子の発現動態について調査した結果、塩分濃度が一定以上の値になってしまうと、逆にイオンチャンネルや輸送体を介した塩排出の働きや塩ストレスへの応答が生じてしまうことが示唆された。(図10~12, 補足図4. 参照) 塩ストレス応答を感知する因子について明らかにするため、より詳細な調査を行った所、オオムギのHVD1, ショウジョウバエDDX5(Rm62 = p68)相同因子のmRNAの高い発現が確認された。この時の塩分は側線器官で感知しており、側線器官を何等かの理由で損傷した個体においてはその応答性が顕著に低下する。(補足図4-6~4-7. 参照) また、調査の結果、塩ストレス応答には長期的にある程度作用するものと、短時間で発現が変動するものがあり、簡易評価時に低発現を示した因子のうち短時間のみ高発現を示していた物も見られた。特に分子シャペロン(タンパク質の翻訳調節に関わる因子)として知られるストレス応答因子HSP90は淡水環境下では一定の発現レベルを示しており、汽水投入後に数時間毎に段階的に発現が低下していく傾向を示した。また、アホロートルRm62の発現は数時間で一気に上昇し、その後24hr以上高発現のまま保持されていることが明らかとなった。一方、塩類の輸送に関わる因子(上皮性ナトリウムチャンネルENaC, ナトリウムポンプNa⁺/K⁺-ATPase)の発現は他と異なり、時間経過と共に少しずつ上昇していき約12hrで強度が安定するという傾向を示した。これらの因子の挙動は、上皮・中枢・末梢で共に、若干の挙動の違いは見られつつも殆ど同様の挙動であった。(補足図4-6. 参照)

これらの知見から、汽水環境は確かにアホロートルにとっては有効であるものの、汽水のまま長期間維持されることで塩分濃度が一定以上まで上昇してしまうとかえって彼らの負担にもなり得ることが明らかとなった。

ここで思い返したいのは、推測されたかつてのメキシコの環境である。メキシコでは塩湖と淡水湖が氾濫によって混ざり合うことがしばしば起こっていた可能性があることから、こうした現象を踏まえ塩ストレスを示した個体(補足図4-1. 参照)の状態を改善させる または 塩ストレスの発生を未然に防ぐために、周期的に飼育水槽中の汽水濃度を低下させるという手法を開発するに至った。実際に飼育下において、2週間毎の周期的な塩分濃度変化を与えた個体では、継続的に汽水飼育を施した個体と比較して、ストレス応答の症状が顕著に緩和されることが明らかとなった。(図13(B). 参照)

これらの検証結果から、汽水環境であってもアホロートルは少なからず塩ストレスは感じており、個体によっては長期的に継続して汽水に晒されることが良くない場合がある一方で、汽水と淡水が周期的に変動する環境下では、その恩恵をより強く受けられることが示唆された。加えて、一部の雑菌に対する抵抗性の異常な低さに反して、アホロートルがこれまで生き残ってきた理由として、前述の免疫力強化に加えて定期的に水質(水の塩分濃度・硬度)が変動することで、塩ストレスを低減させつつ雑菌量を顕著に減少させられる点も影響していた可能性が考えられた。これは、先述の塩水と淡水の両方で洗浄することで得られる抗菌・滅菌効果が結果的に自然界でも再現されていたと解釈することができる。

汽水適応した性質は次世代にも継承される (2022 年 12 月下旬から継続して調査中)

ここまでの調査において、

- 1) アホロートルは汽水適応する
- 2) アホロートルは汽水環境下で免疫力が向上する (i.e. 淡水下では免疫力が不十分である)
- 3) アホロートルの成長・生育において 汽水・硬水の環境の方が総合的には望ましい (過去の原因環境 (推定) の模倣)
- 4) アホロートルの汽水適応は種固有の特質である
- 5) 長期的に汽水環境に長く浸りすぎたり 至適な塩分濃度を超過してしまったりすると逆効果になる場合がある
- 6) アホロートルは 原産地と同様に成育環境下において周期的に汽水と淡水が入れ替わることが重要である

という知見を明らかにしてきた。

ここで一つ疑問となるのは、こうした汽水適応は次の世代にどの程度継承されるのか、という点である。

我々はこれまで、汽水飼育と同時並行して、汽水環境を経験した個体の次世代を系統化できるかの検討を実施しており、無事に汽水飼育経験個体次世代の繁殖に成功した。(2022 年 12 月下旬～)

以下、汽水飼育次世代個体の詳細な調査を実施し、淡水飼育で維持されたアホロートル系統との比較検討結果について示す。

調査の結果、day120 までの成長率について比較した所、淡水飼育系統と比較して、淡水条件下でも 約 2 倍を超える高い成長率を示し、淡水飼育系統の 0.3% 汽水飼育個体と比較しても約 1.5 倍の成長率の向上が確認され、成長・再生に関連する因子の発現上昇やストレス応答因子発現の緩和との相関も見られた。(補足図 7～8. 参照)

これらの結果を踏まえ、汽水飼育の次世代個体は、淡水の中の微弱なカチオン類も効率的に取り込める可能性が推察されたため、カチオン類の輸送に関わる因子に着目し、先述の ENaC や TRP (一過性受容体電位型) イオンチャネル の発現について調査を実施した。検討の結果、汽水飼育の次世代個体におけるカチオン輸送体関連の発現亢進が見られことから、上記の考察と合致することが示唆された。(図 9～11. 参照)

ここまでの調査結果から、アホロートルにおいて汽水適応によって得られた表現型は、次世代に後成遺伝 (エピジェネティック) な制御で遺伝し、生息地の塩分濃度が若干高くなってしまってもある程度までは世代交代の中で適応できる可能性があることが示唆された。このように、汽水適応は一代限りのものでなく複数の世代を経てより洗練されることが推察された。

またおそらく、このアホロートルの性質を踏まえると、逆に野生下においては生息地の淡水化が生じた場合、短期的には発現量が増加したカチオン輸送体群による取り込み・排出作用の亢進によって対応し、長期的には世代交代を経て新たに遺伝子発現量を低減させる等の調整によって淡水へと適応しようとする生態であったと考えられた。

総括 Conclusion

ここまでの知見をまとめると、以下のように述べるができる。(図 17, 補足図 4-9. 参照)

- 1) アホロートルは汽水適応する
- 2) アホロートルは汽水環境下で免疫力が向上する (i.e. 淡水下では免疫力が不十分である)
- 3) アホロートルの成長・生育において 汽水・硬水の環境の方が総合的には望ましい (過去の原因環境 (推定) の模倣)
- 4) アホロートルの汽水適応は種固有の特質である
- 5) 長期的に汽水環境に長く浸りすぎたり 至適な塩分濃度を超過してしまったりすると逆効果になる場合がある
- 6) アホロートルは 原産地と同様に成育環境下において周期的に汽水と淡水が入れ替わることが重要である
- 7) アホロートルの汽水適応の情報は次世代に遺伝されることで更に汽水環境で生息しやすいよう洗練されていく

今回得られた知見に基づき、汽水飼育系統を長期的に維持することで汽水環境の更なる長所や問題点について明らかにし、野生種により近い生育環境下で育つ系統を作出することにより、アホロートルの種の保全に繋がる手がかりを掴めるよう今後も鋭意調査を進めていきたいと思う。

材料と手法 Materials & Methods

本研究には、メキシコサンショウウオ(ウーパールーパー)を用いた。

飼育条件は、一部を除き下記 URL にて掲載済みの文献 [1]

(https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41476744) と同様の条件にて実施している。

明暗条件

適切な成長制御・体内の概日リズムを保持するため、LD12:12 [明期: ZT0 (午前 6 時)～ / 暗期: ZT12 (18 時)～] の日周リズムで飼育を実施した。

飼育水の条件

飼育時の水温は、通常は 18～22℃, 繁殖モード誘導時は 18℃ → 8℃ (5 日間) → 18℃ (5 日間) という処理を施した。今回は行動への影響を加味し、全ての飼育・調査において淡水飼育条件で統一した。

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8～5.4

飼育条件の設定

- ・飼育水槽: GEX_マリーナ60cm水槽 (60×30×36cm MR600BKST—N 269467)
- ・集団 (低密度) 飼育・・・例外除き、水槽中に 5 個体を投入し、常に他個体と接する環境とした。
- ・飼育温度・・・基本的に 18～20℃
- ・換水量: 8～9 割
- ・換水頻度: 週 1～2 回 (比較条件間では統一した)

関連因子の調査・遺伝子解析(依頼分析)

着目した各因子の遺伝子について、SANTA CRUZ Axolotl Genome browser (<https://genome.axolotl-omics.org/>) にてアホロートルにおいて該当する相同因子について、調査個体の体組織を一部回収後、関連組織にて-80～-140℃ 下で凍結保存・保管し、同組織または外部への依頼分析という形で順次調査を実施した。

給餌条件

給餌は週 2-3 回、ZT および CT13-15(午後 7～9 時)に行った。

薬剤投与の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。

成長過程の記録・撮影

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミング (撮影開始から 30, 60, 90, 120, 200, 360 日後) における成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。

各集計結果の統計解析

統計解析には、Graphpad Prism ver.6 を用いて One Way ANOVA; turkey test, *p<0.05 にて有意差解析を行った。

謝辞 Acknowledgments

本研究をまとめるにあたり、多くの研究者の皆様、サポーターの方々等のご助言・お力添えがありました。この場を借りて、改めて心より御礼申し上げます。誠にありがとうございました。

2023 年にて、関連オンライン著書の公開や、寄付金への返礼品としてのハードカバー書籍の販売が無事に達成できました。これらの成果は、SNS フォロワーの方々を含む全ての支持者の皆様あつての結果であると確信しております。改めまして心より感謝致します。

新たにスポンサードの打診を下さいました、**サイマン (株) 様** にも、この場を借りて改めて厚く御礼申し上げます。また常々、当ラボにおける活動に協力して下さっている **横江様、あすみ様、やみん様、萩原様、三太子様** には 本当に感謝しても感謝しきれません。皆様常々本当にお世話になっております。

当ラボの活動 3 年目もいよいよ残す所僅かとなり、学会発表を目指して更に多忙を極めております。季節も秋に移り変わり、肌寒いころ合いになって参りましたが、そんな季節の変化ニモ負ケルこと無く、日々研究活動に邁進する所存です。今後とも、当ラボによる活動へのご愛顧の程、皆様 何卒宜しく願い申し上げます。

The Axolotl Newsletter

Issue number 26

Fall, 1997

The *Axolotl Newsletter* is prepared at the Indiana University Axolotl Colony, Bloomington, Indiana 47405. The Newsletter is distributed free of charge and is supported, in part, by funds from the National Science Foundation. **This Newsletter should not be regarded as a publication. Cite only with specific permission of the author of the article.**

I.U. Axolotl Colony

Director: George M. Malacinski
Assistant Director: Susan T. Duhon
Curator: Sandra J. Borland
Editor, *Axolotl Newsletter*: Susan T. Duhon

The Axolotl and its Native Habitat —
Yesterday and Today
Susan T. Duhon 14



参考資料 1

Contents

p.16

Axolotl Newsletter Number 26

which they called the Laguna de Mexico. In addition, a causeway or dike crossing from north to south through Tlahuac separated Xochimilco from Chalco (Sanders, et al., 1979).

During the Aztec period nearly the entire Xochimilco-Chalco basin was devoted to chinampas horticulture, as was the Laguna de Mexico around Tenochtitlan. Also, as a result of the Aztec waterworks, saline water was largely prevented from entering the southern lakes, even during periods of flood (Armillas, 1971).

Thus the habitat of the axolotl was significantly affected during the period of the Aztec empire in at least two ways: first, by the spread of the chinampas, which involved the construction of ditches and islands, and second, by the construction of waterworks which controlled water levels and prevented the incursion of salt water into the axolotl habitat. Its habitat may have been enlarged as well by the expansion of fresh water horticulture into the district around Tenochtitlan. The impact that these historical changes had on the species can only be speculated upon.

The chinampas system and the Aztec waterworks were at their peak when the Spanish Conquistadors arrived in 1519. What

VARIABLES	M
Temperature	37
pH	8.6
Tot. Alk.	500
Phenolph. Alk.	20.0
Tot. Hardness	326
Ca ⁺⁺ Hardness	116
Mg ⁺⁺ Hardness	212
CO ₃ ⁻ (1)	12.0
HCO ₃ ⁻ (1)	411
OH ⁻ (1)	0
Cl ⁻	198
SO ₄ ⁻	95
Ca ⁺⁺ (2)	47
Mg ⁺⁺ (2)	52
Na ⁺ and K ⁺ (3)	169
SiO ₂	89
Tot. Solids	946
Susp. Solids	161.0
Dis. Solids	785
K ₂₃	1392
Total Colif.	>2000
Faecal Colif.	>2000
Faecal Strept.	600

水の硬度（水 1000ml に対する無機イオンの含有量）に関して簡単に解説すると、[←]

WHO（世界保健機関）の基準では、[←]

- ・ 硬度が 0～60mg/l 未満を「軟水」[←]
- ・ 60～120mg/l 未満を「中程度の軟水」[←]
- ・ 120～180mg/l 未満を「硬水」[←]
- ・ 180mg/l 以上を「非常な硬水」[←]

と設定されている。メキシコ市内の水は硬水であるとされており、現在で詳細は不明瞭ではあるものの、[←]
メキシコサラマンダーも汽水環境で生存していたと考えられている。[←]

ちなみに左表は、メキシコ市内の水道水の組成の一例であるが、pH が 7.5、Mg, Ca の硬度は硬水の範囲に該当する濃度で含まれている。また、Na, K の含有率も高いことが分かる。[←]

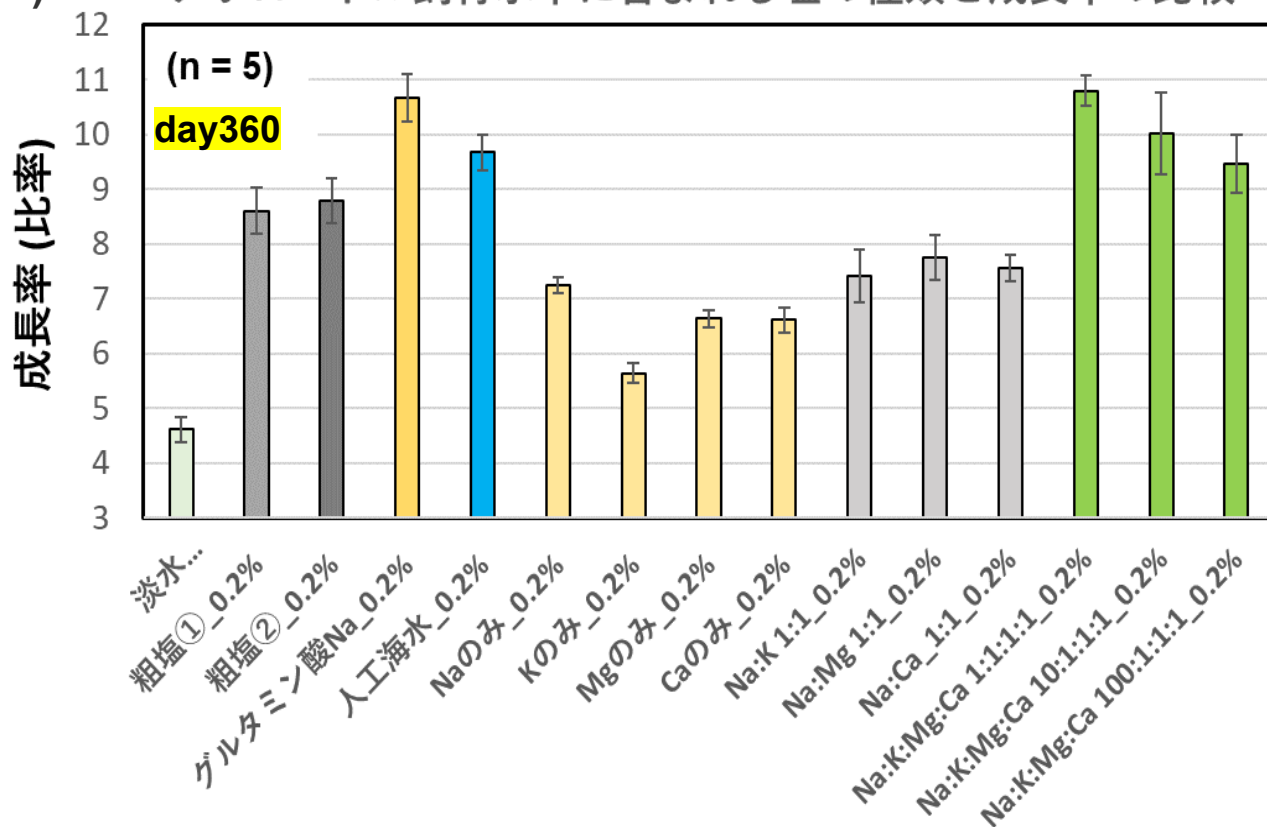
水道に結晶ができる程であるとされ、そのまま飲料用での使用には向かない。[←]

(January, 1997, *Microbiological study of drinking water in Mexico*)[←]

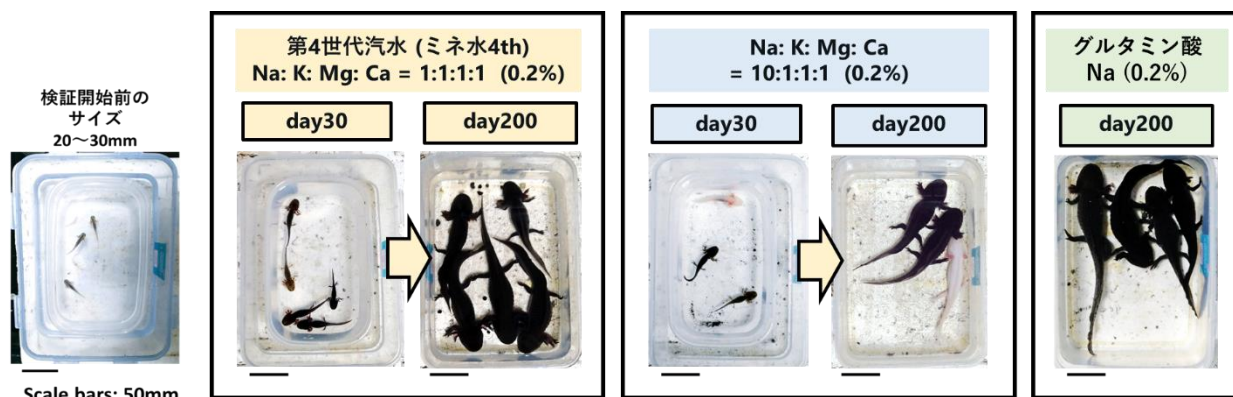
参考資料 2

図 1: 野生のアホロートルの生育には汽水・硬水の環境が好ましい。

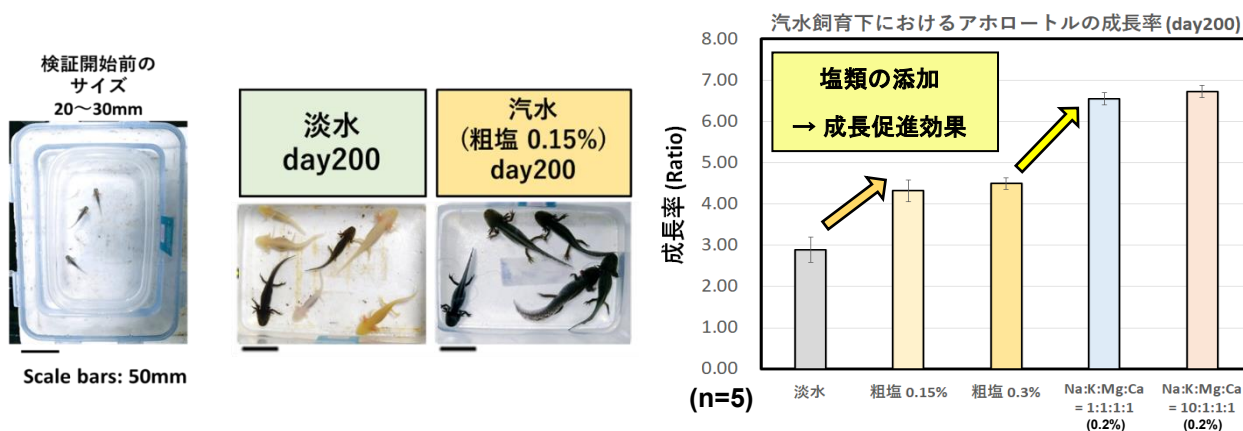
(A) アホロートル飼育水中に含まれる塩の種類と成長率の比較



(B)



(C)



アホロートルの成長・生育において、塩類の種類が豊富な方が短期的には有効だが (B, C)、長期的にみると、ナトリウム (Na) の比率が圧倒的に高い場合でも十分な効果がある (A)。

図 2: 塩類を添加することでアホロートルの成長は促進される。

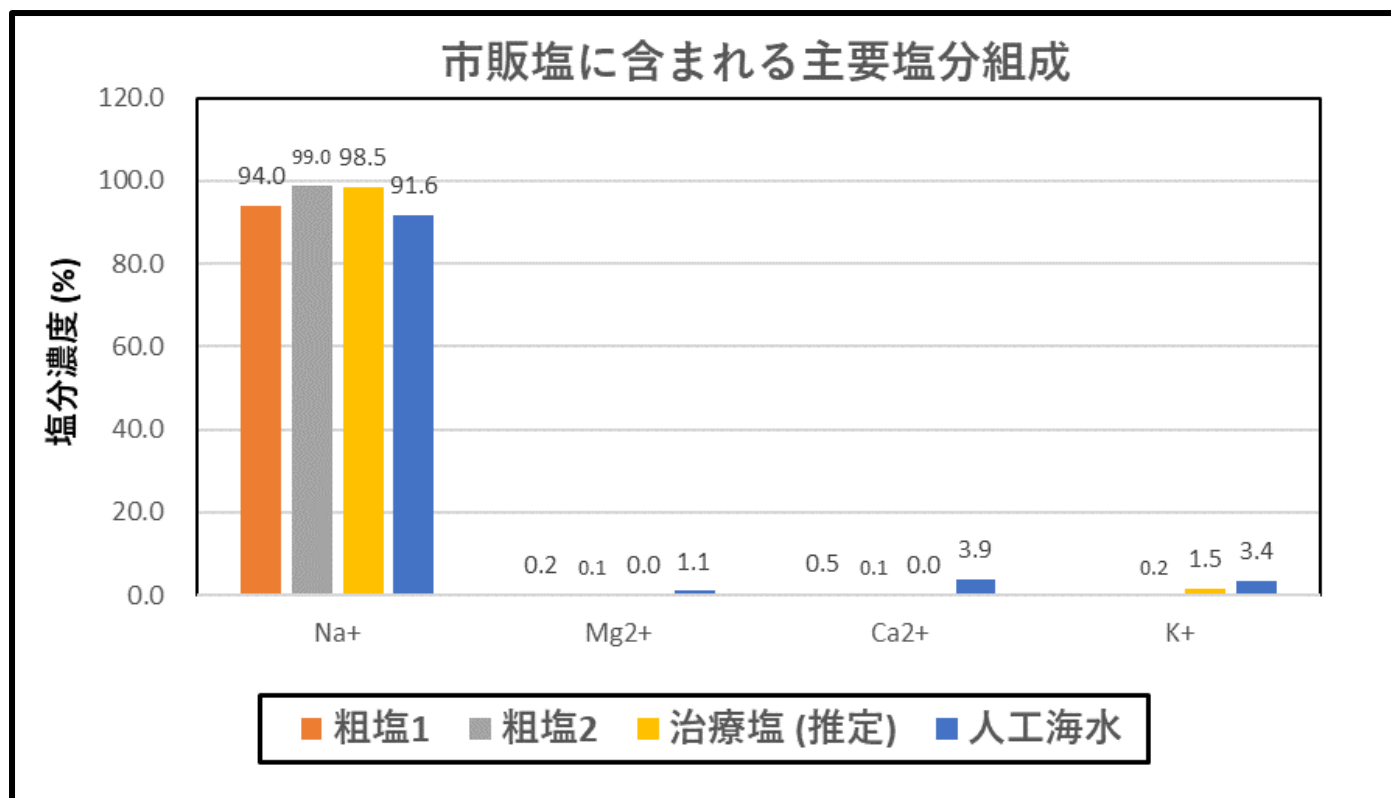


図 3: ナトリウムと微量の他塩類がアホロートルの成長の鍵になる.



(B)

<ミネラル含有水飼育に用いる粗塩例>

国産原料100% あら塩の恵み
(関東塩業)



<組成>

- ・塩化ナトリウム 94.0%
- ・他陽イオン 5.0~6.0%
- ・マグネシウム 0.15%

塩楽 瀬戸内の塩 国産塩
(塩楽)



<組成>

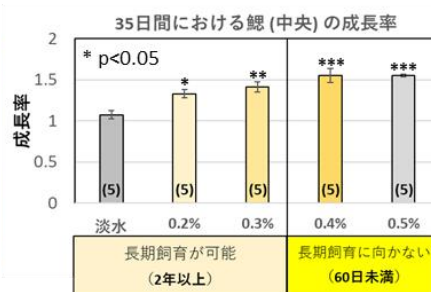
- ・塩化ナトリウム 95.0%
- ・他、ナトリウム 4.0~5.0%
- ・カルシウム 0.06%
- ・マグネシウム 0.073%
- ・カリウム 0.09~0.16%



(c) 汽水浴開始時の鰻



(c') 汽水浴 (0.2~0.5%) で
約1ヶ月飼育後の鰻



(D) 汽水環境下での鰻の成長率
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

図1 (C)~(D) (杉山, 2022)

図 4: 当ラボが推奨する汽水 (ミネ水) 飼育法と成長促進効果

検証開始前の
サイズ
20～30mm



淡水
day360



0.025% 汽水
day360



0.05% 汽水
day360



0.15% 汽水
day360



0.2% 汽水
day360



0.3% 汽水
day360



休塩日サイクル
0.05%→0.3%
day360



Scale bars: 50mm

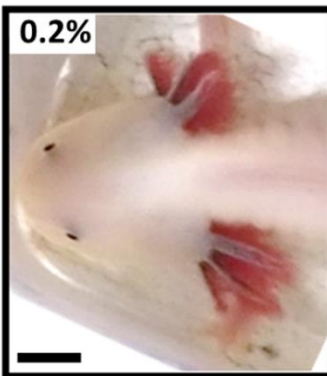
淡水



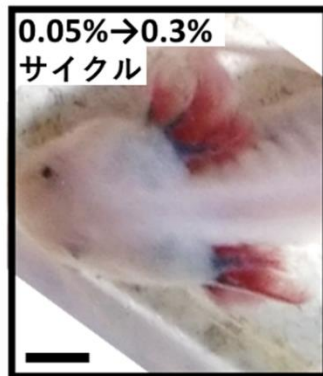
0.05%



0.2%



0.05%→0.3%
サイクル

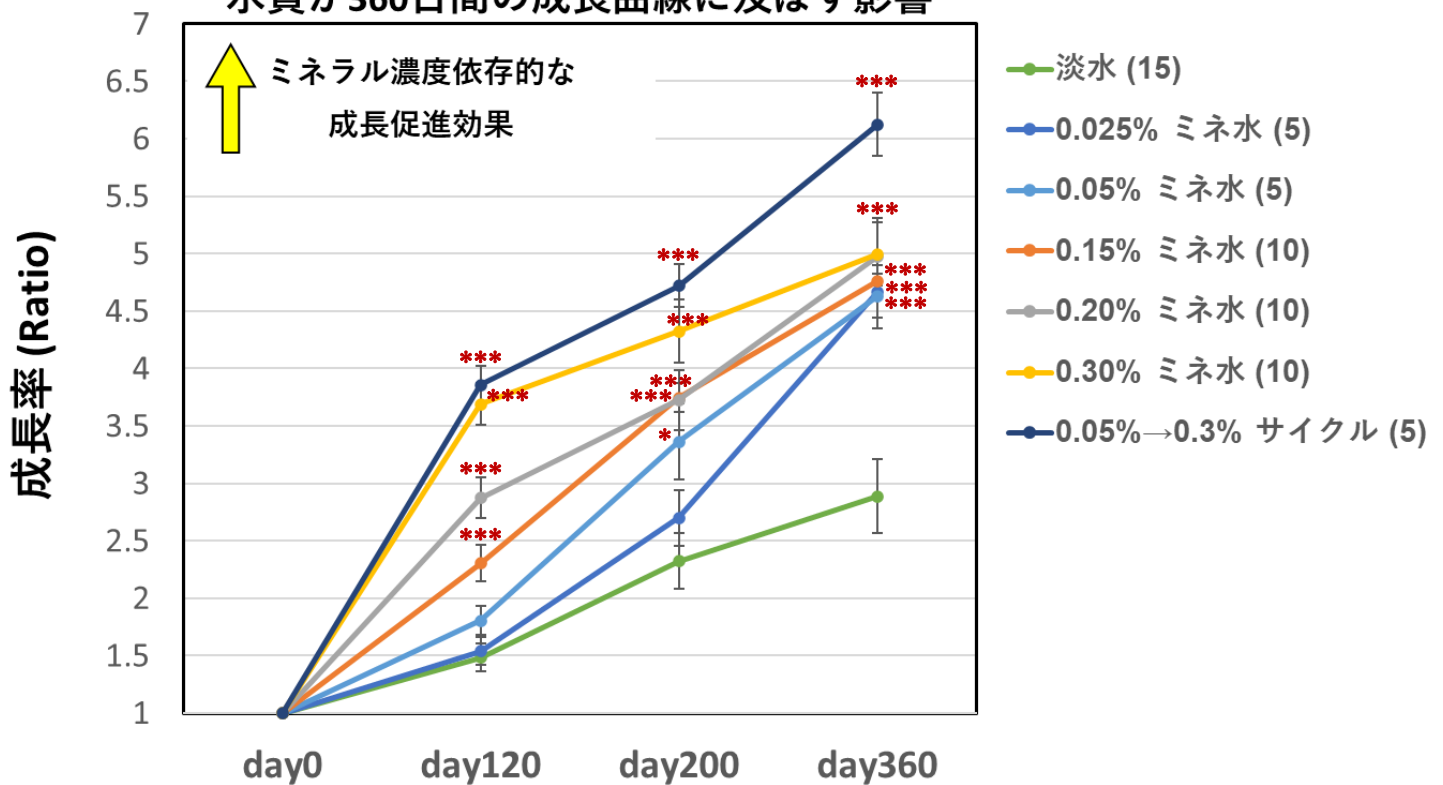


Scale bars: 10mm

図 5: 汽水 (ミネ水) 飼育個体 (360 日目) の成長率比較

体長の相対的な変化率を比較

水質が360日間の成長曲線に及ぼす影響



One way ANOVA; turkey test

1	2	3	4	5	6	7
淡水	0.025% ミネ水	0.05% ミネ水	0.15% ミネ水	0.20% ミネ水	0.30% ミネ水	0.05% →0.3% サイクル

*** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

p=0.05	day120	day200	day360
1-2	n.s.	n.s.	***
1-3	n.s.	*	***
1-4	***	***	***
1-5	***	***	***
1-6	***	***	***
1-7	***	***	***

図 6: ミネ水飼育個体が示す成長曲線

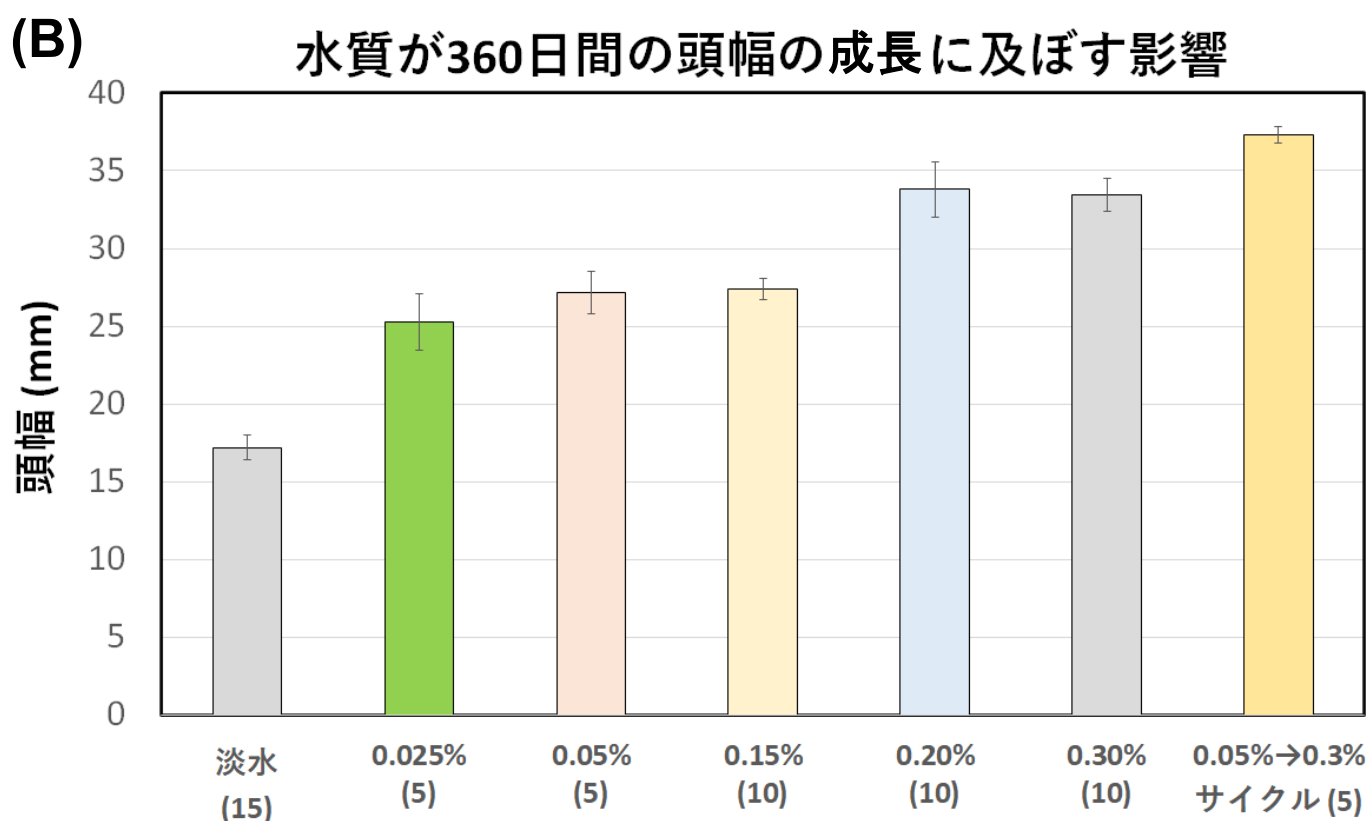
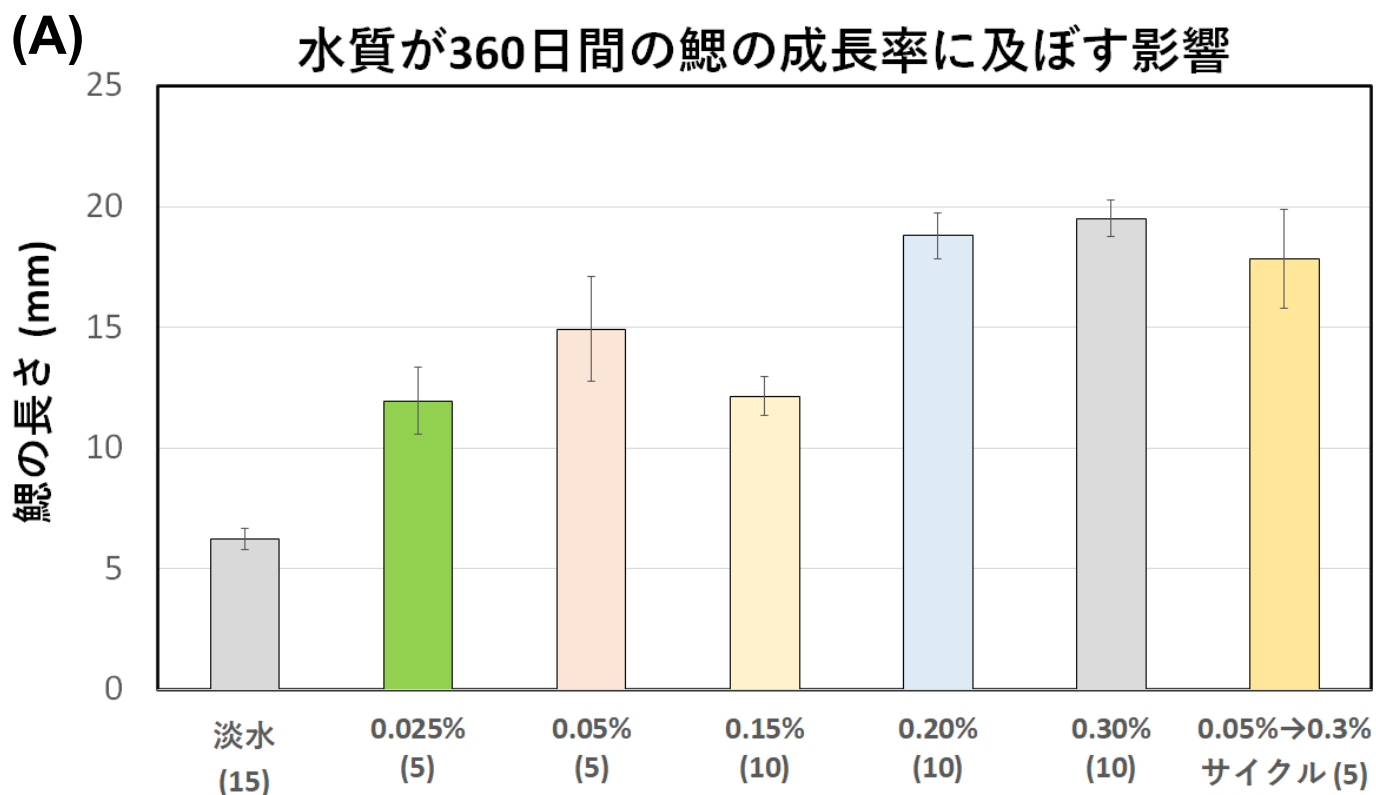


図 7: ミネラル依存的な身体の部位の成長率

損傷が根治した

個体の比率

0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00

ミネ水飼育による再生促進効果 (片腕欠損)

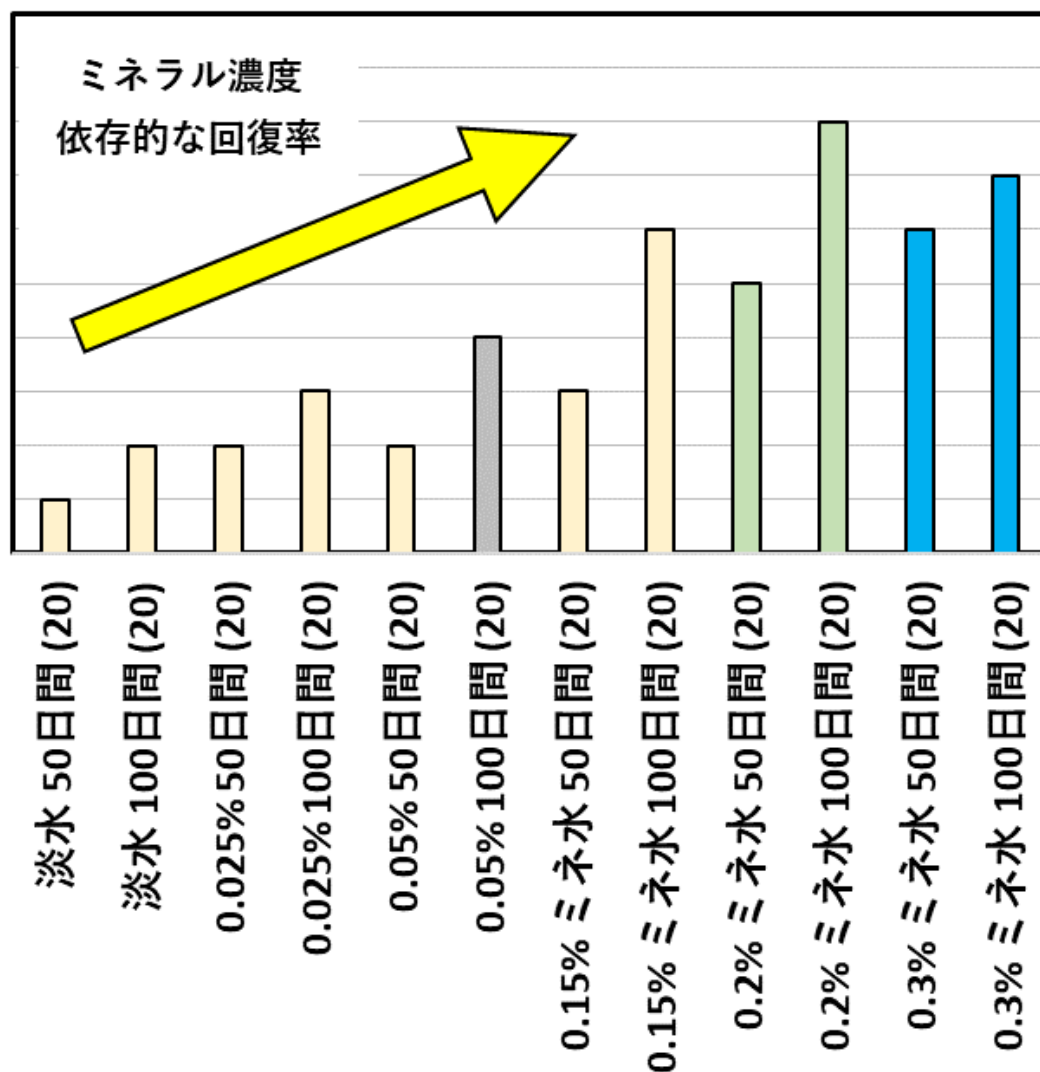


図 8: 汽水飼育による再生促進効果-1

(A) 健康な成体 300日目



(B) 損傷・失血等の影響で不健康なセミアダルト
約200日目 (依頼にて治療を引き受けた個体)



(B') 一週間程度の薬浴* + 0.3%ミネ水中での長期飼育 (100日間)
によって健康な状態にまで回復した例



* 1/5000 オキシリン酸 (グリーンFゴールドリキッド)
+ 1/200 イソジン 浴 で、最長1週間程度なら継続投与が可能。

** 各スケールバー: 25mm

図 9: 汽水飼育による再生促進効果-2 (杉山, 2022)

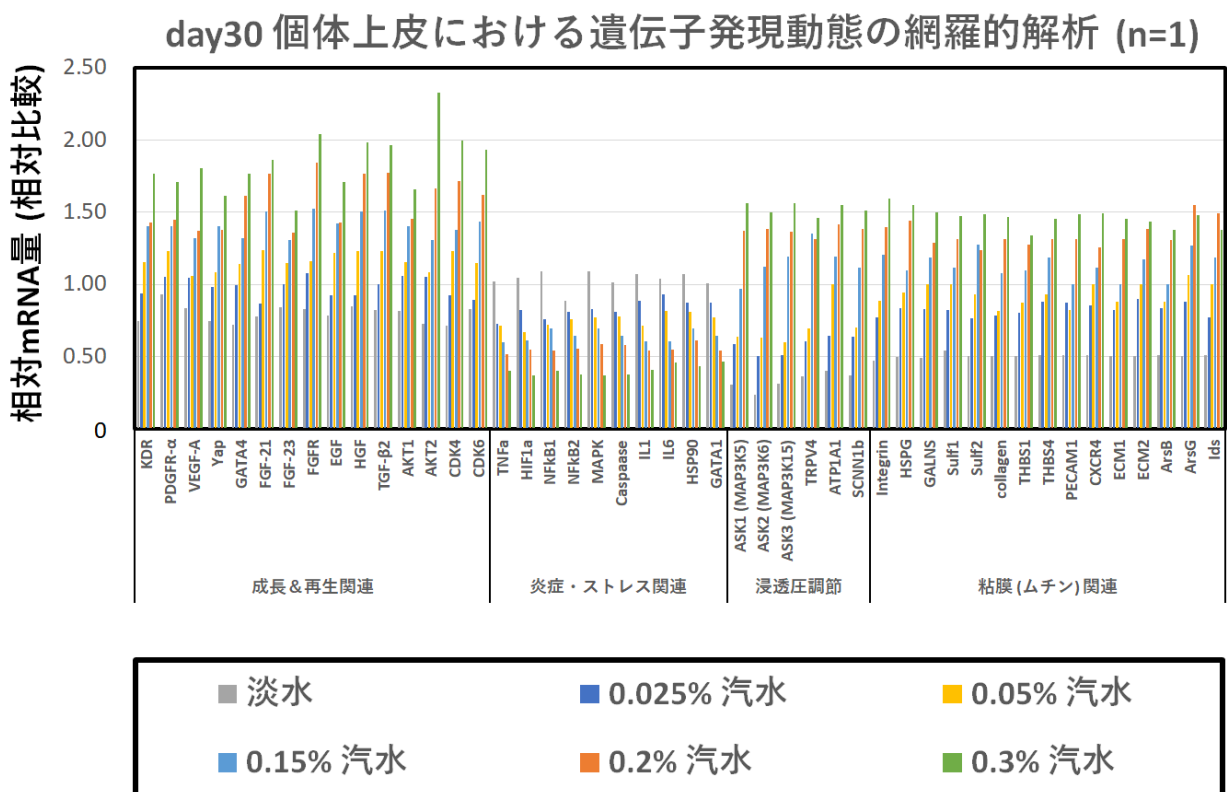
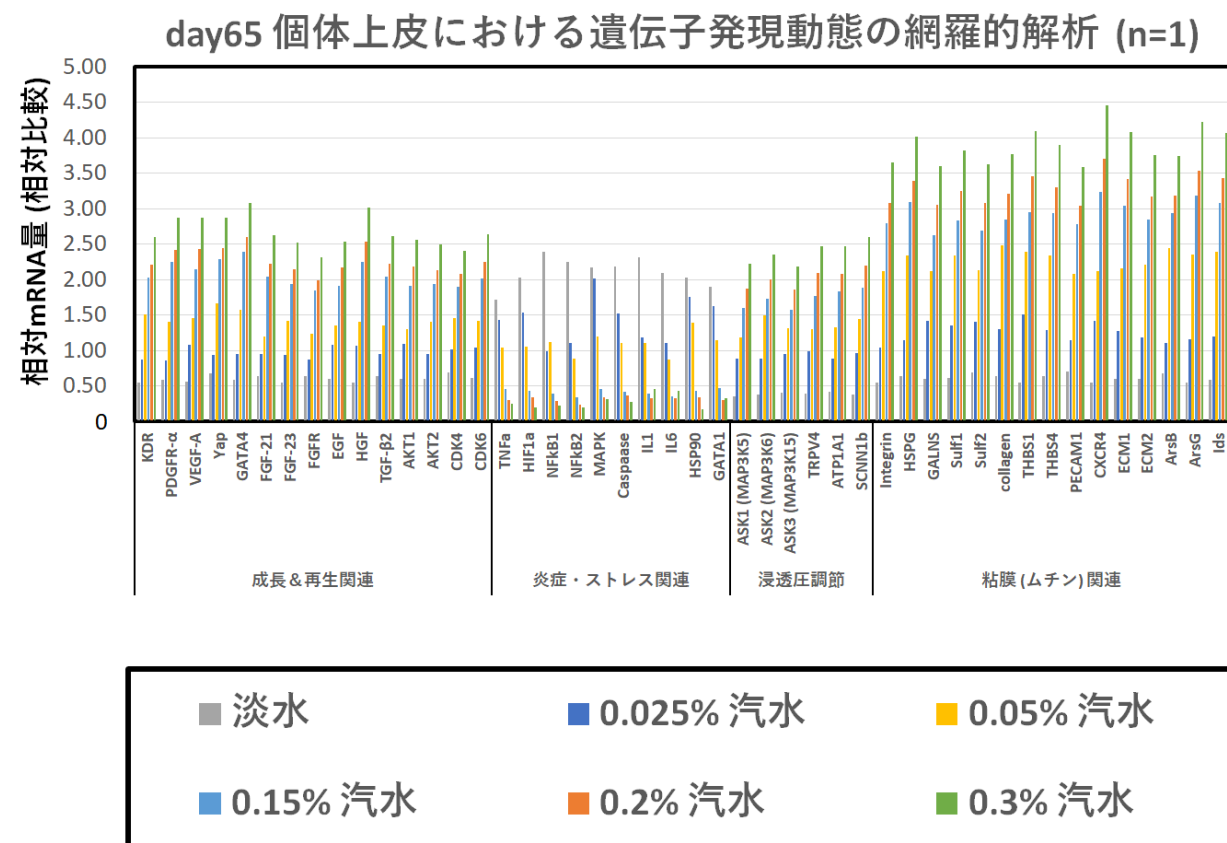


図 10: メキシコサンショウウオの汽水飼育条件下における各因子の発現動態解析-1

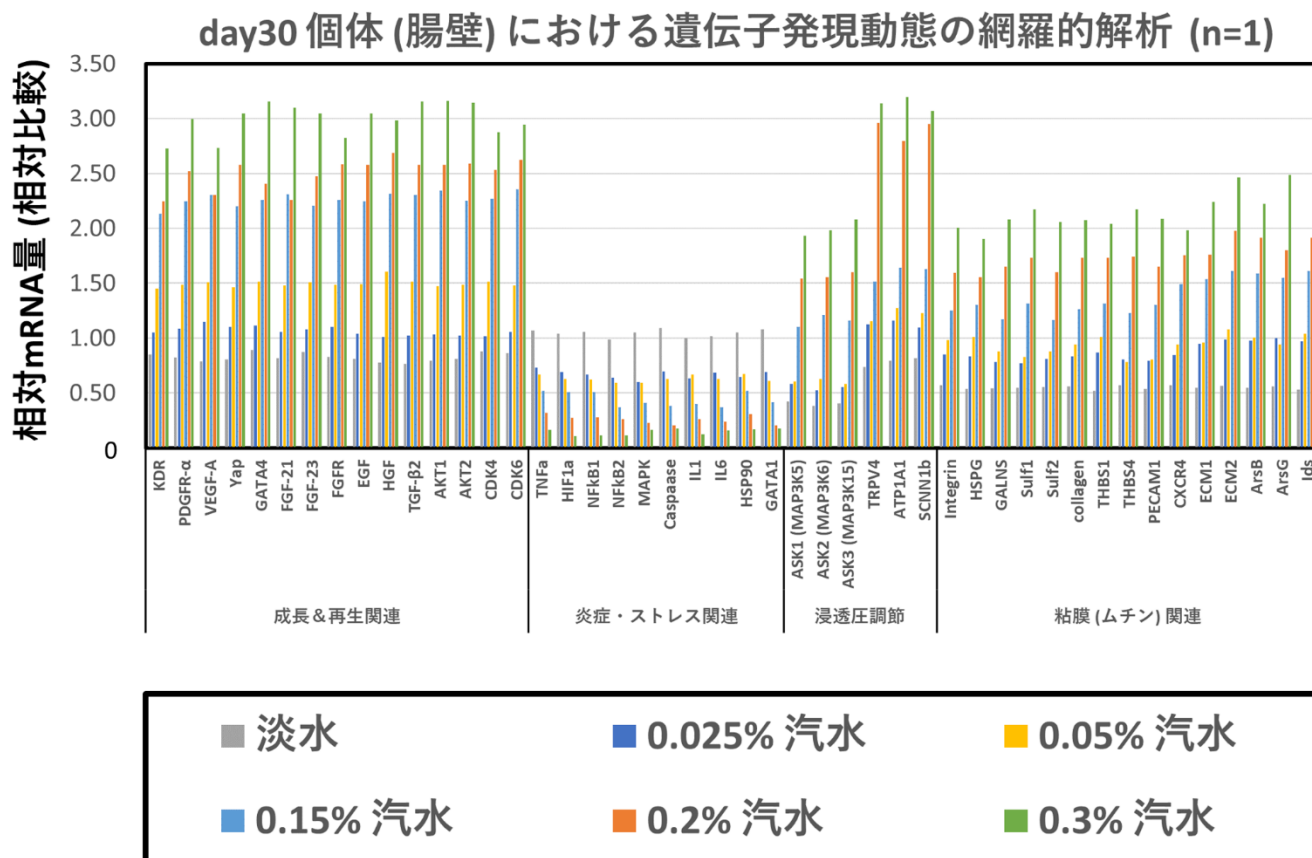
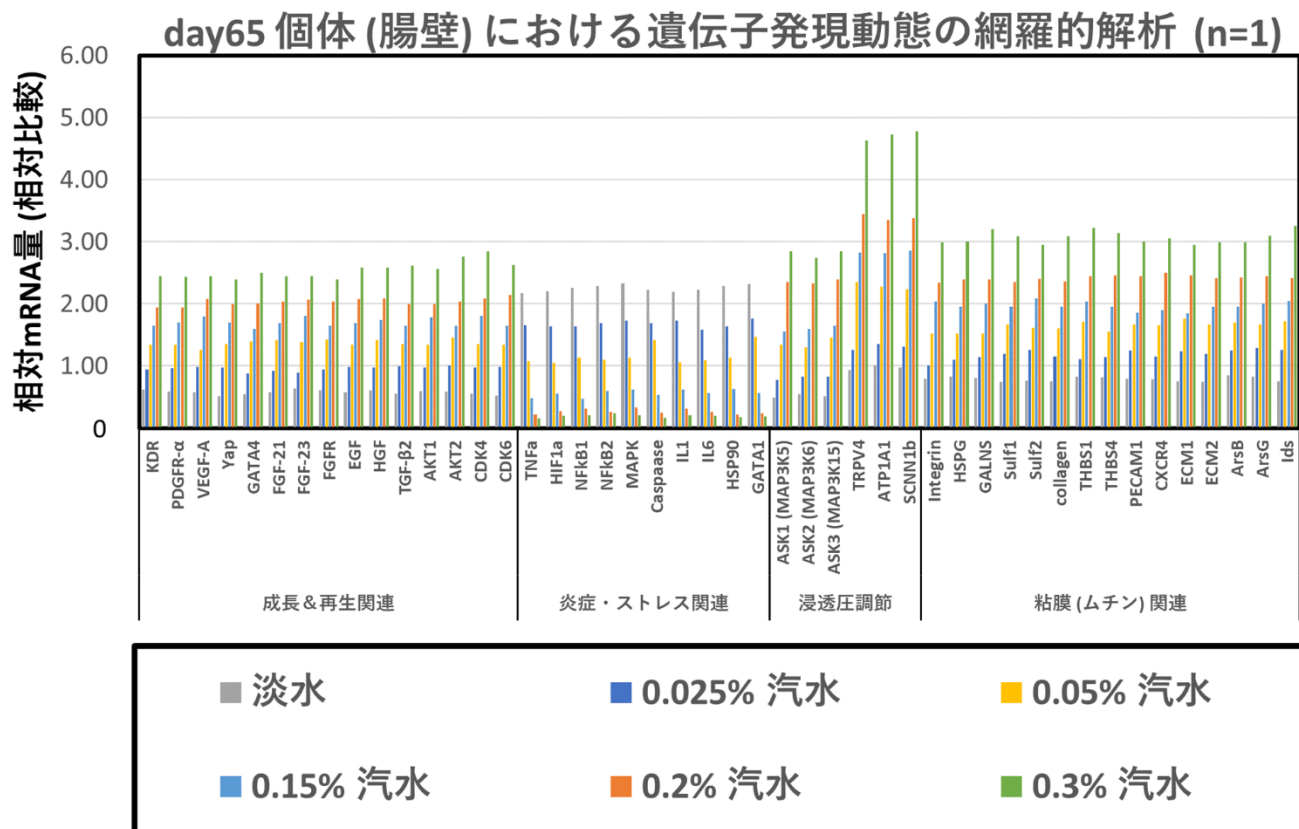


図 11: メキシコサンショウウオの汽水飼育条件下における各因子の発現動態解析-2

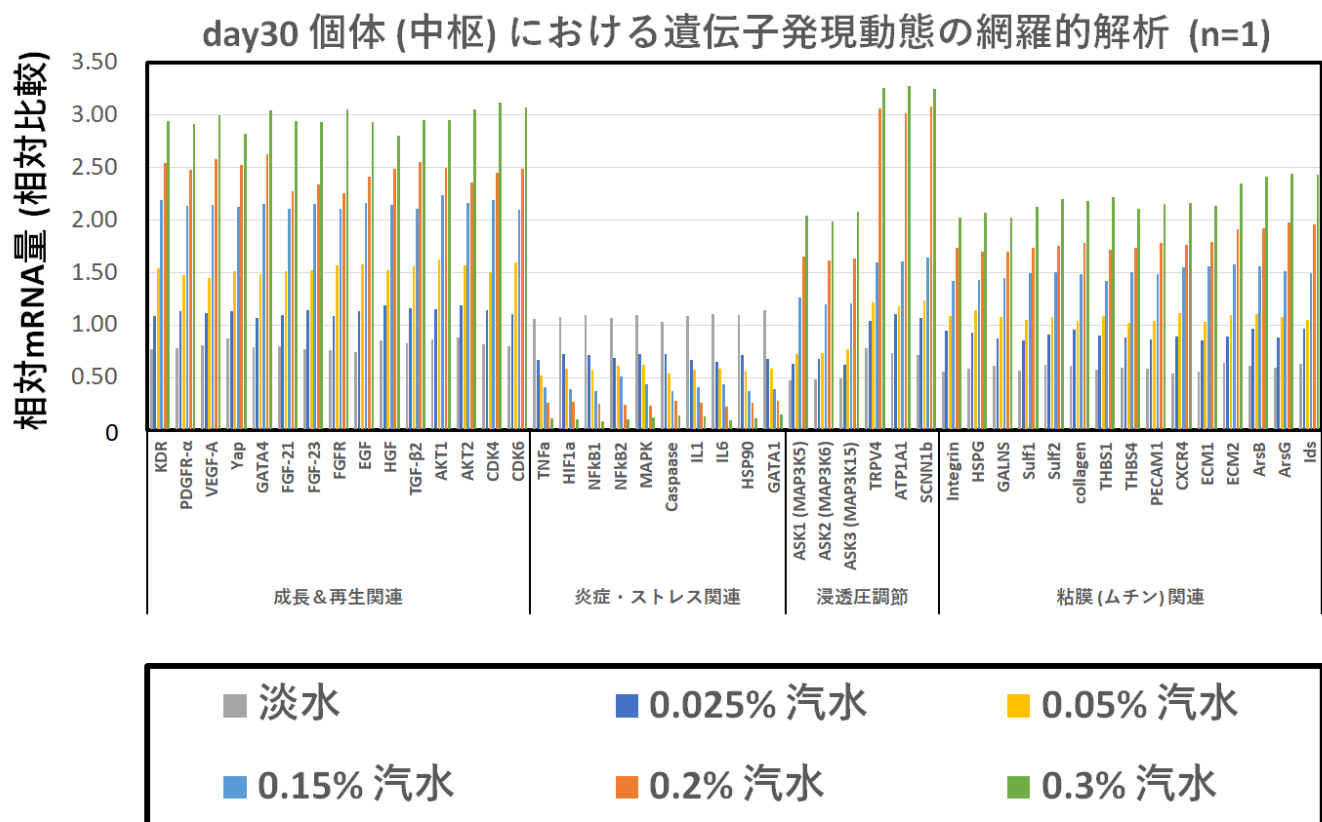
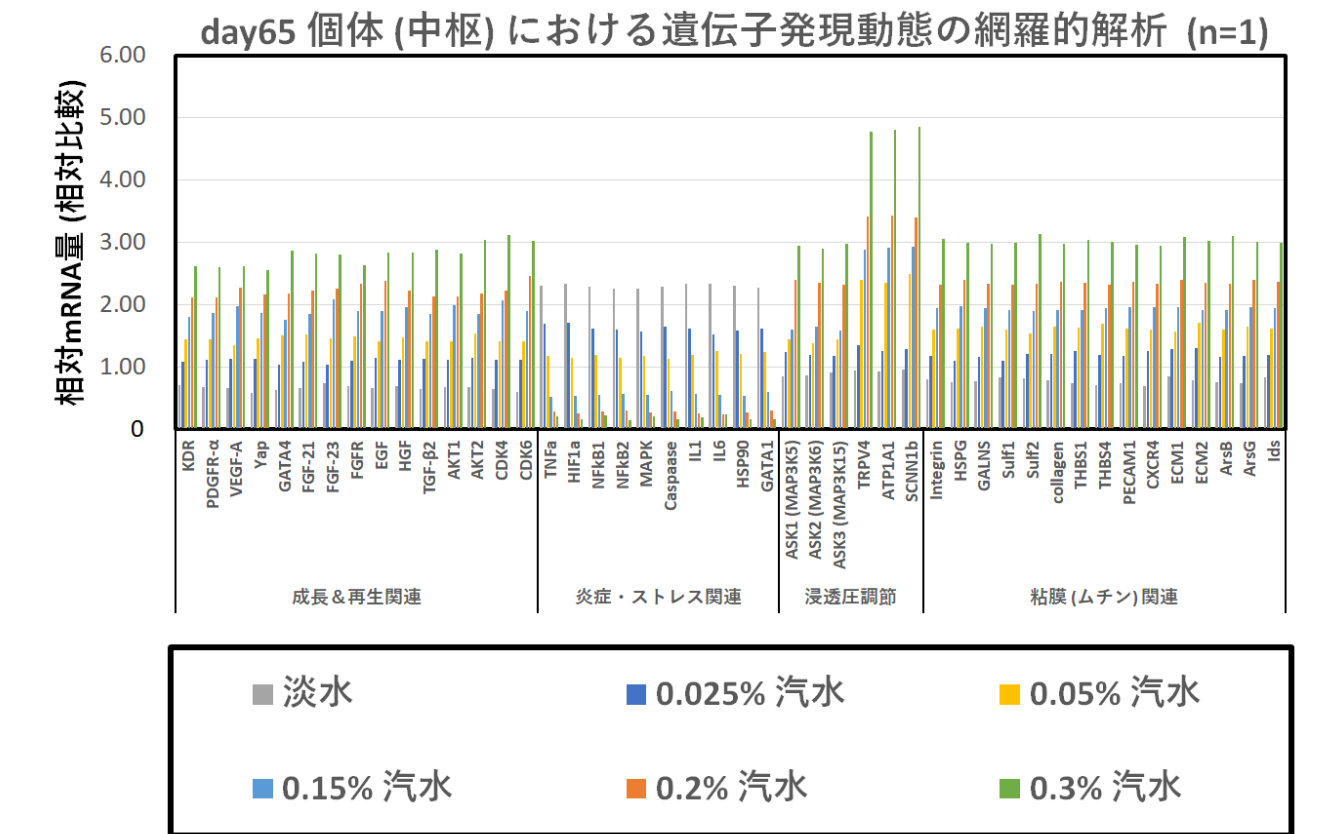
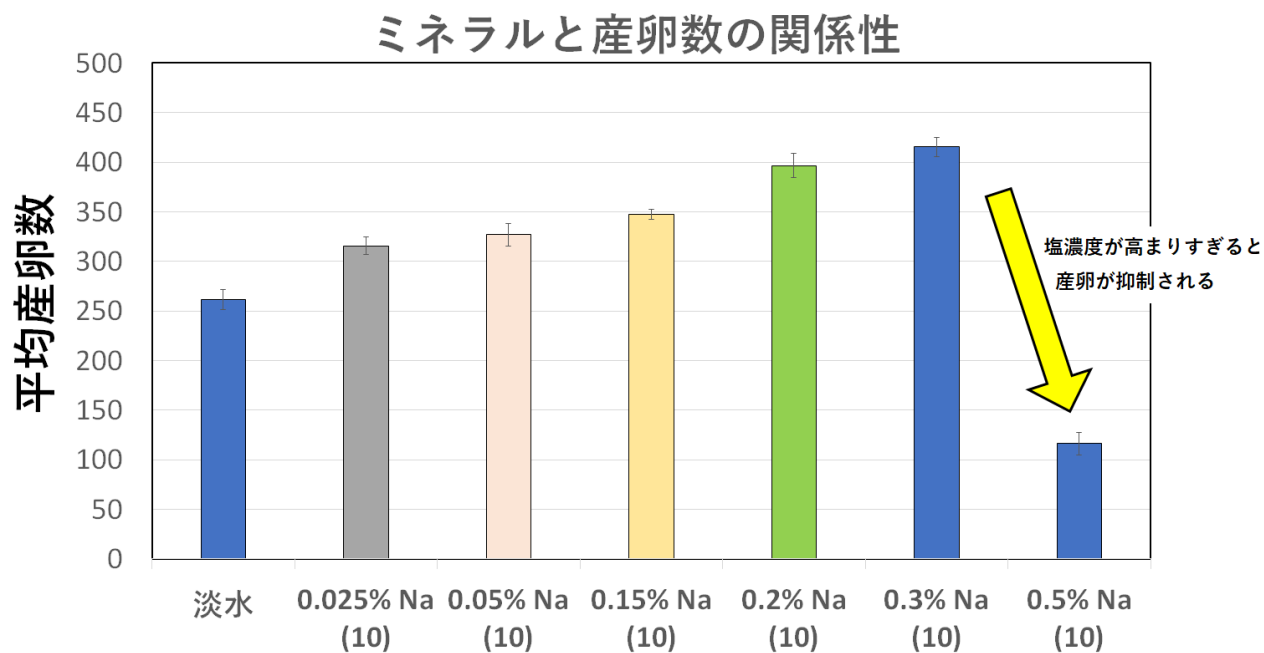


図 12: メキシコサンショウウオの汽水飼育条件下における各因子の発現動態解析-3

(A) 汽水飼育と生殖能力 (妊性) について



(B) 汽水飼育下における“休塩日”設定が生育環境をより安定化させる。

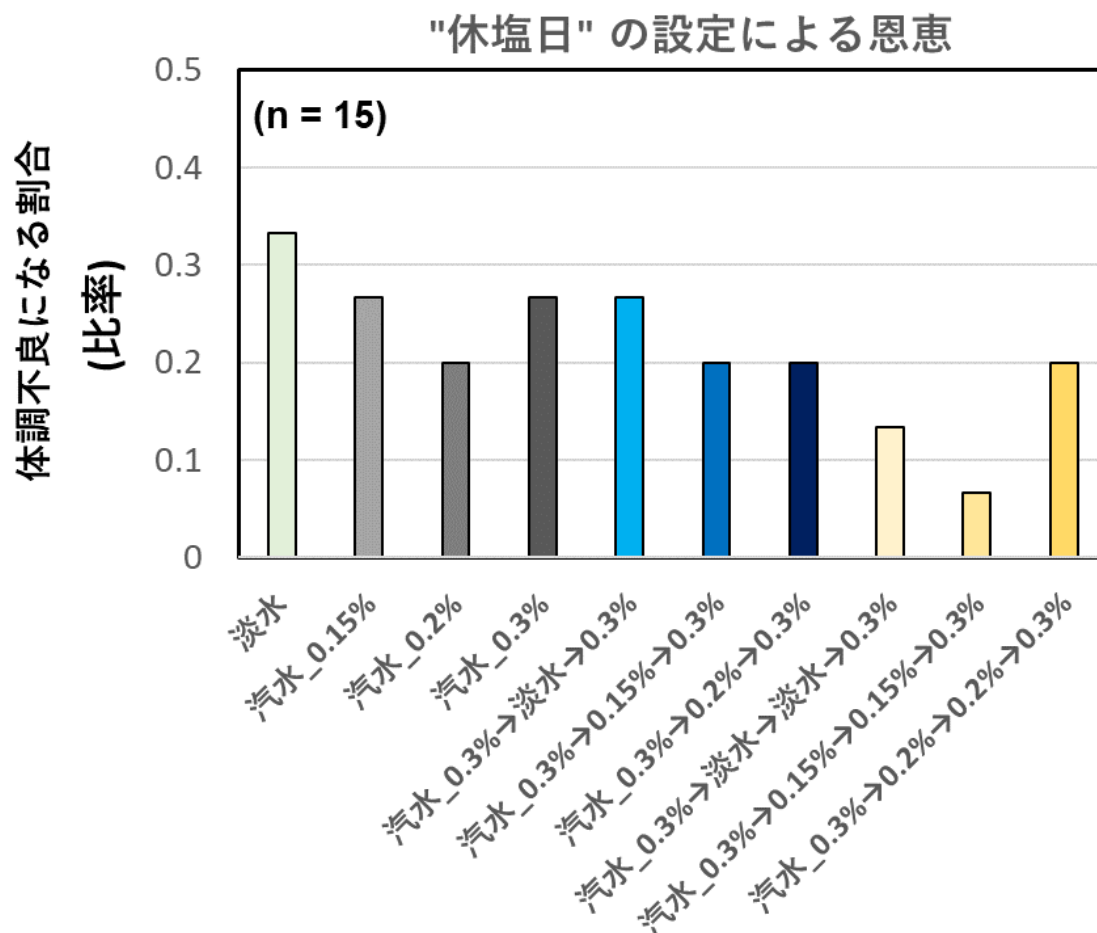


図 13: アホロートルも高い塩分濃度に対してはストレスを感じてしまう。

(A)

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A.hydrophila, A.sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B.subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類(水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスボラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類
真菌(カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifera</i>	ワタカビ属(卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>		

当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認

(B)

餌ペレット添加後 12hr			餌ペレット添加後 24hr			餌ペレット添後 48hr		
透明	半透明	白濁	透明	半透明	白濁	透明	半透明	白濁
淡水		○	淡水		○	淡水		○
0.15% ミネ水	○		0.15% ミネ水		○	0.15% ミネ水		○
0.2% ミネ水	○		0.2% ミネ水		○	0.2% ミネ水		○
0.3% ミネ水	○		0.3% ミネ水	○		0.3% ミネ水		○
0.5% ミネ水	○		0.5% ミネ水	○		0.5% ミネ水		○
1.0% 塩水	○		1.0% 塩水	○		1.0% 塩水	○	
3.0% 塩水	○		3.0% 塩水	○		3.0% 塩水	○	
8.0% 塩水	○		8.0% 塩水	○		8.0% 塩水	○	
・新品のタッパー容量 2.6L (生体抜き, 飼育水を2L ずつ回収, 塩水はミネ水に新たに塩を添加して作製した) ・ひかりウーパールーパー小粒の10粒を添加 ・餌の溶解だけでなく分解が見られると、一気に白濁する傾向が見られる。 = 炭水化物などを分解する水中の好気バクテリア (バシラス類; 乳酸菌類や古葉菌類) が増加 ・本結果からも、塩浴がバクテリアに対して強い殺菌効果があり、ミネラル水とは異なる意味合いであることが分かる。								
※ 生体抜き, 飼育水を2L ずつ回収, 塩水は淡水水槽由来の水を塩分濃度0%としてに新たに塩を添加して作製した。								

図 14: 汽水条件下におけるアホートル水槽・腸内のバクテリア環境-1

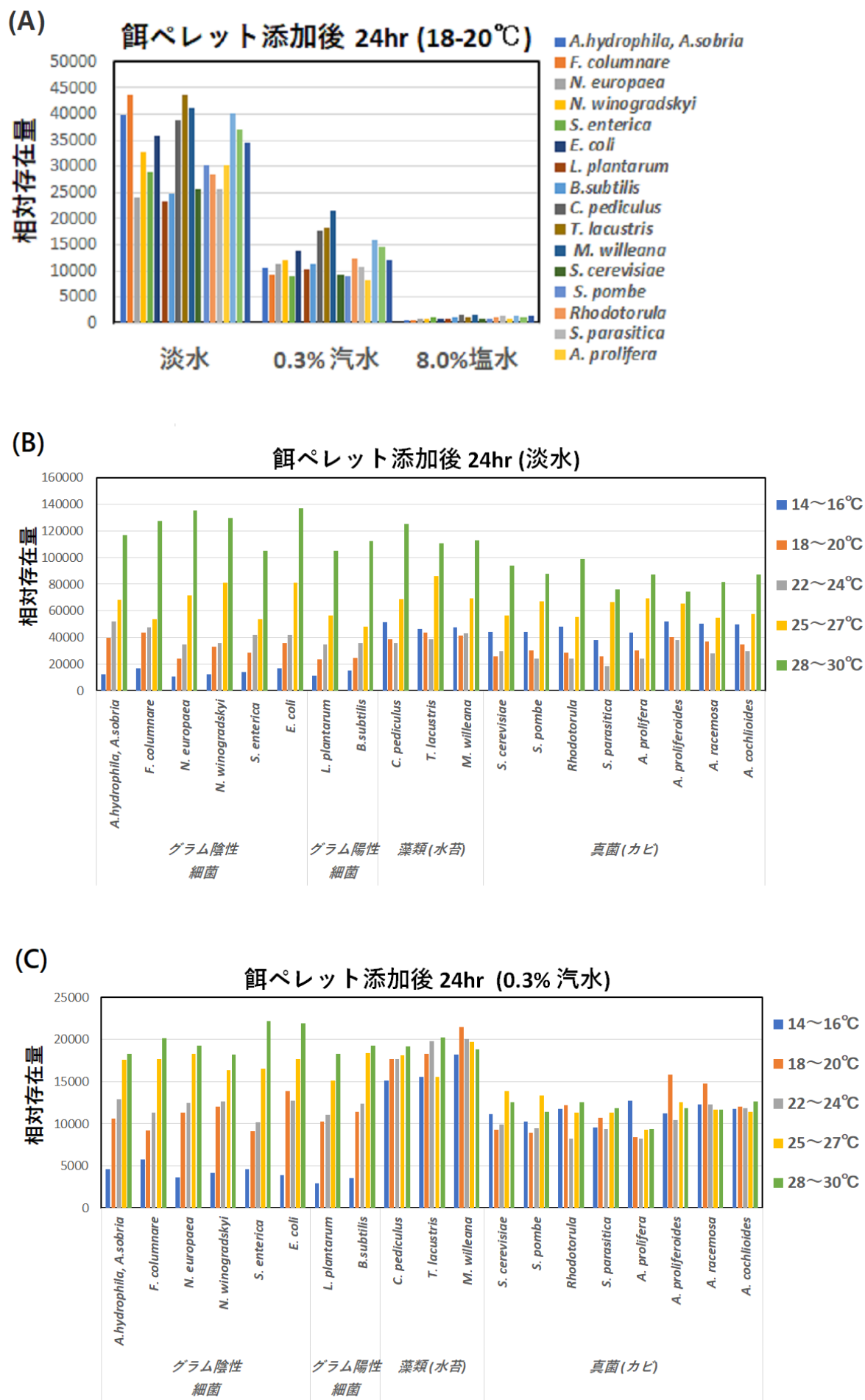


図 15: 汽水条件下におけるアホロートル水槽・腸内のバクテリア環境-2

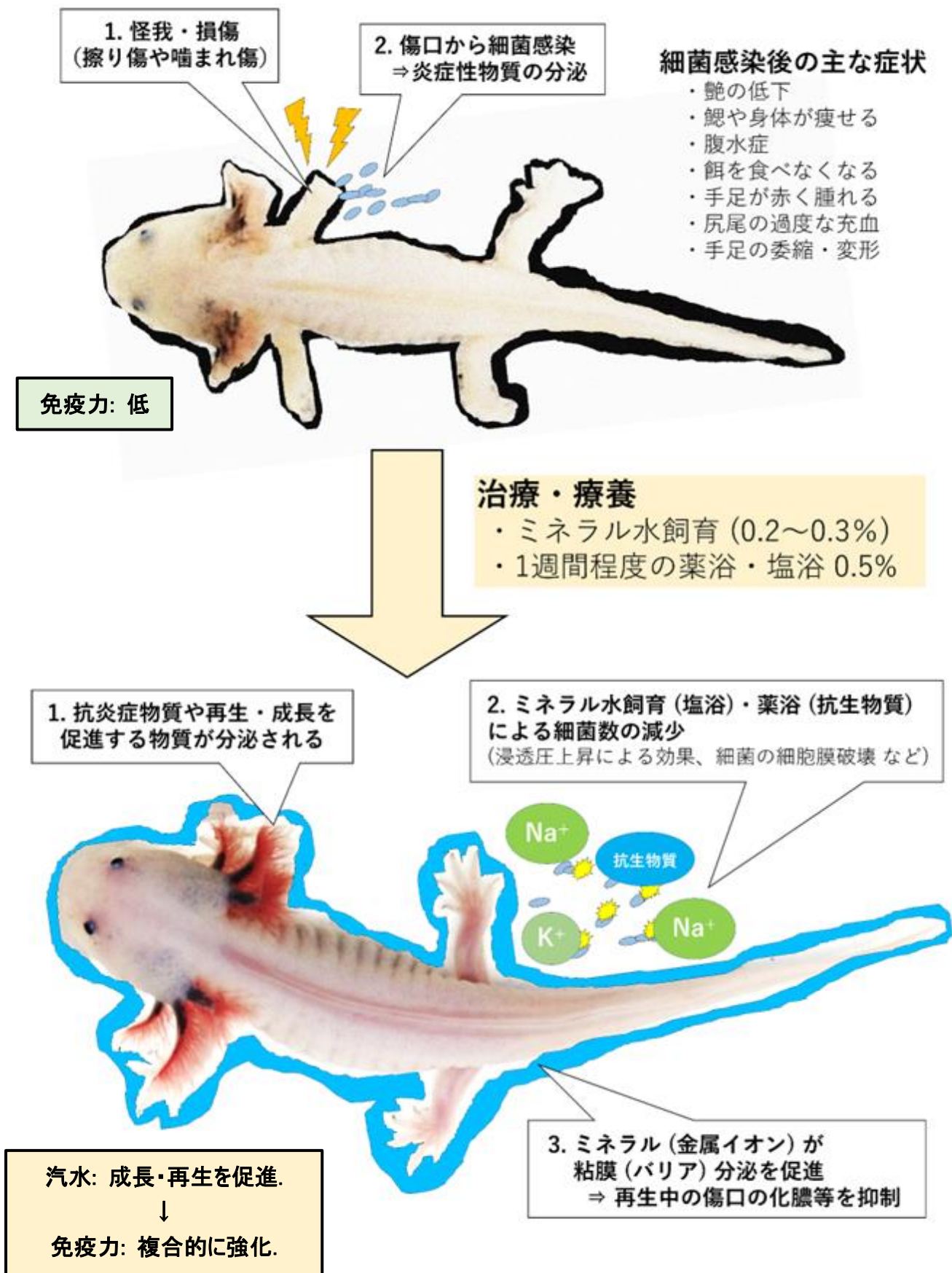


図 16: 汽水飼育による免疫力強化と再生促進効果の予想モデル

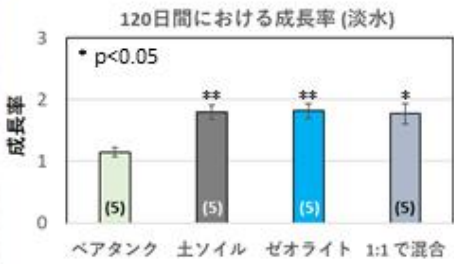
(A) 水の硬度に影響する底砂環境は腸内細菌と共に生育にとって重要である
(杉山, 2023)



(A) ベアタンク



(B) ソイル (土, 砂) を加えて自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較 (水質は中性: pH 6.5-7.0)

(B) アホロートルに適した水質予想モデル

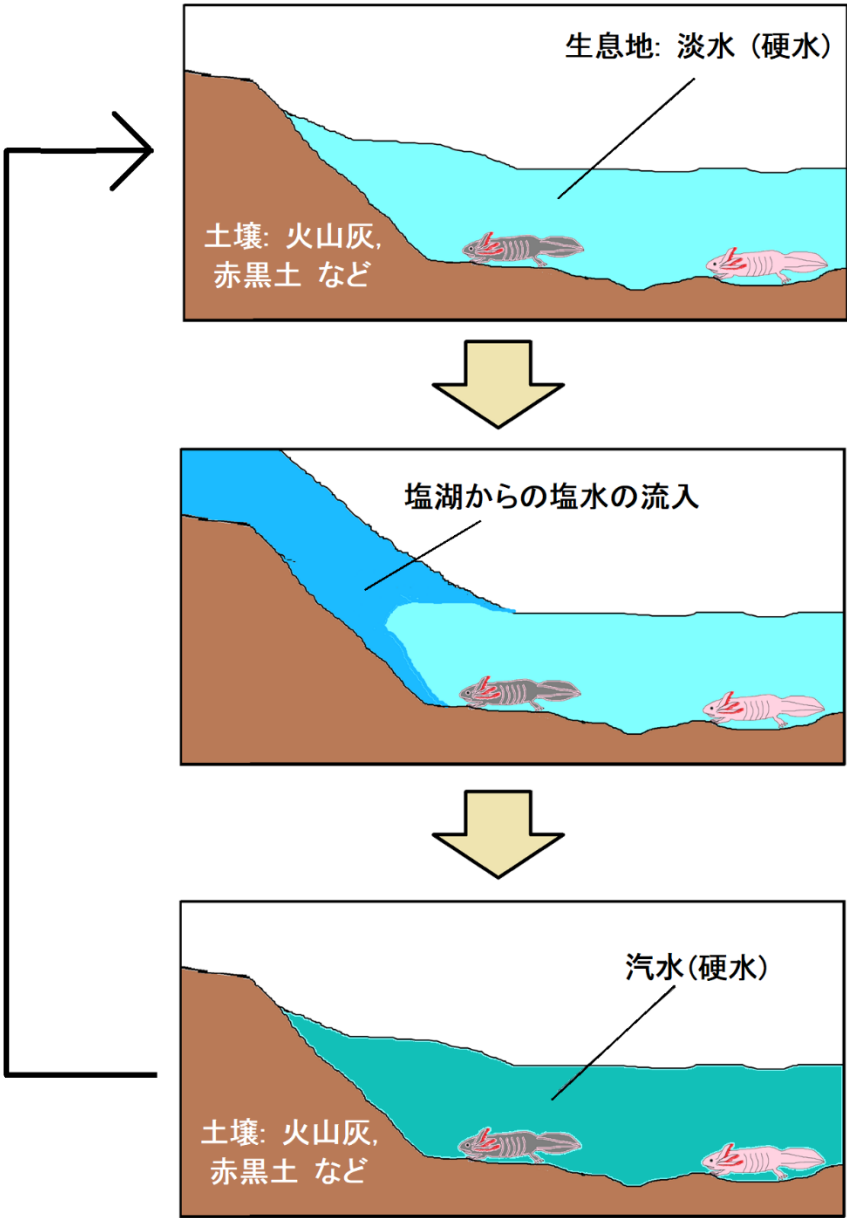
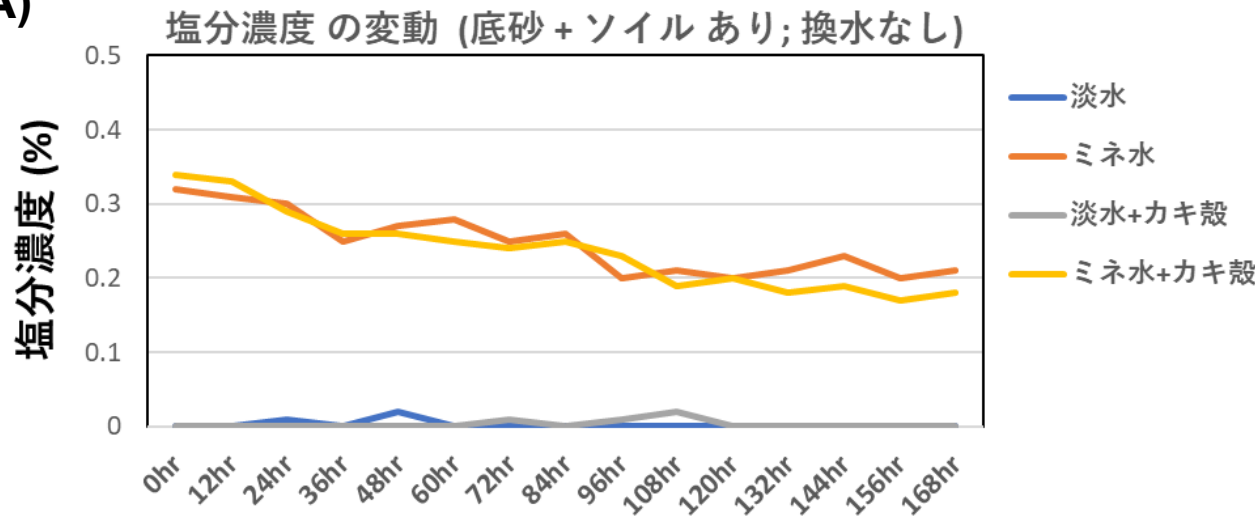


図 17: アホロートルに適した水質・水の硬度を制御する環境とその変動

(A)

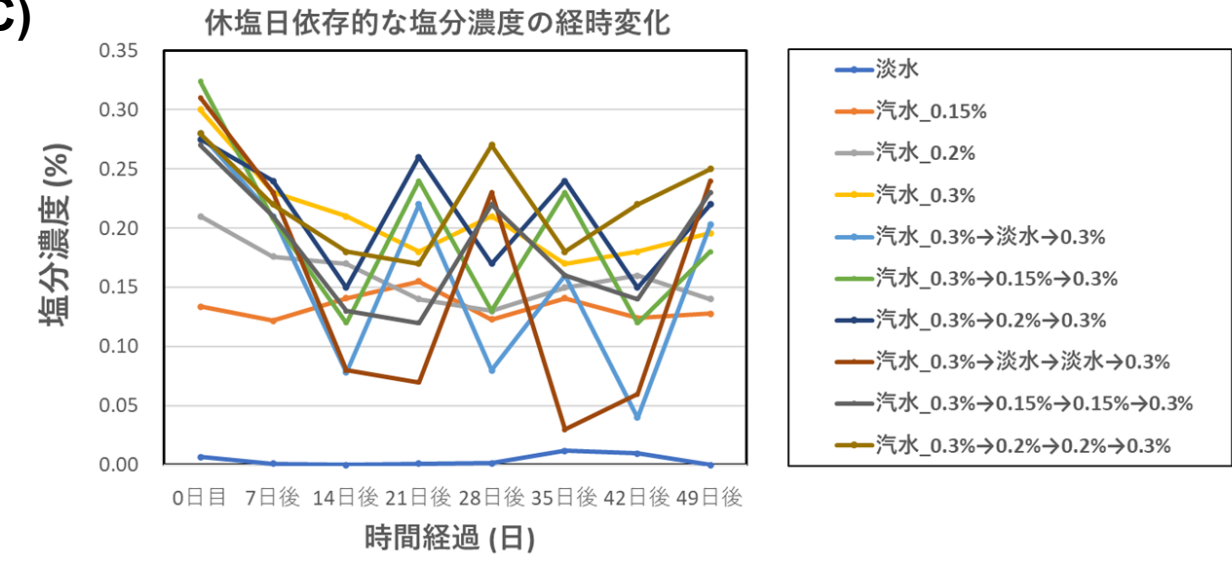


(B)

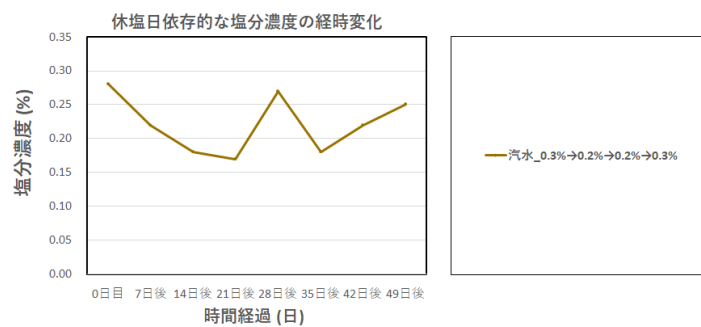
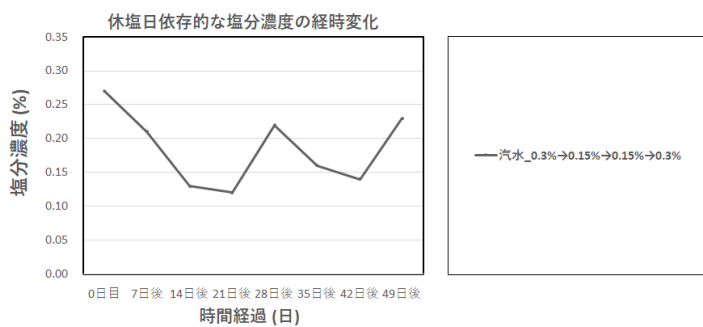
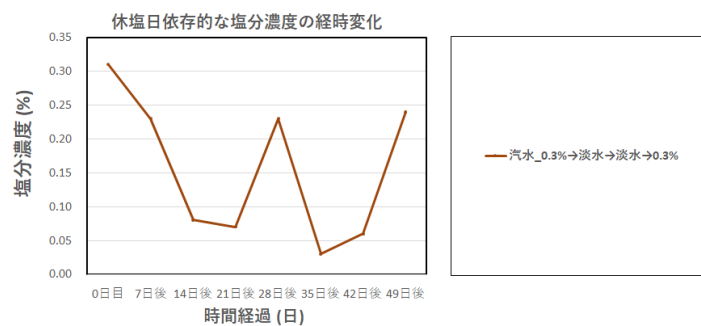
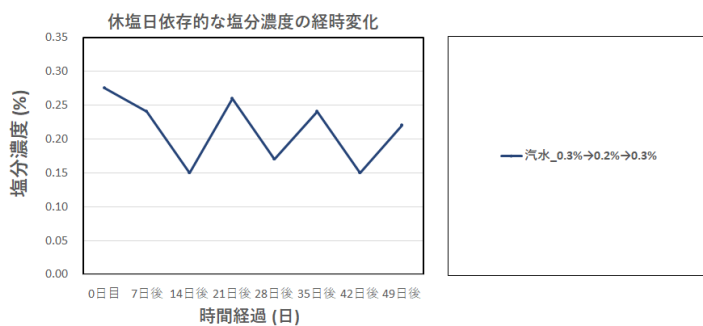
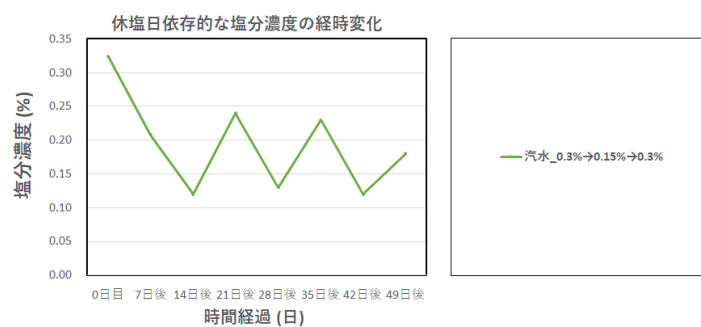
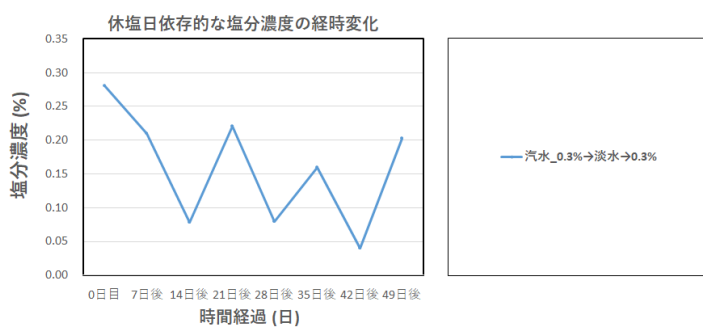
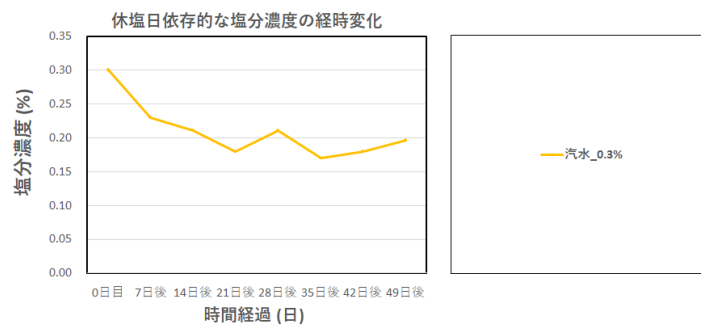
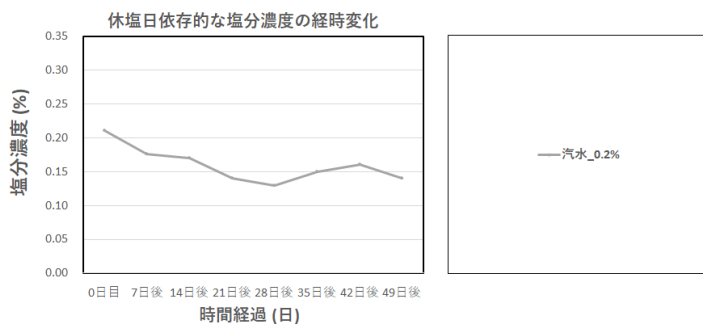
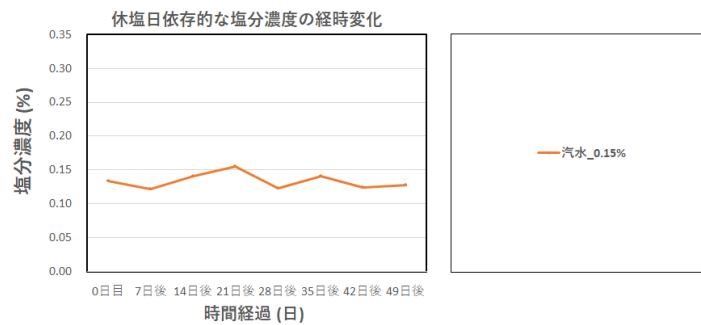
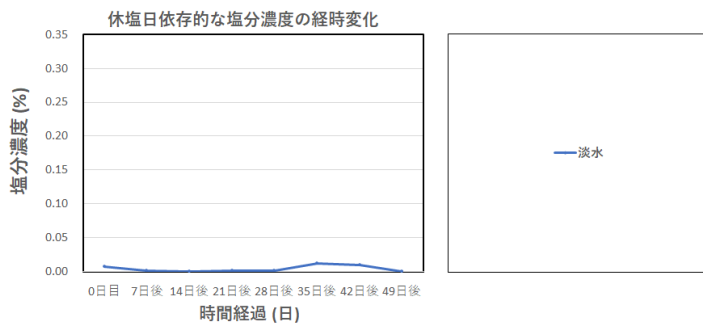
休塩日依存的な 塩分濃度 (%) の経時変化								
day	0日目	7日後	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	49日後
淡水	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
汽水_0.15%	0.13	0.12	0.14	0.16	0.12	0.14	0.12	0.13
汽水_0.2%	0.21	0.18	0.17	0.14	0.13	0.15	0.16	0.14
汽水_0.3%	0.30	0.23	0.21	0.18	0.21	0.17	0.18	0.20
汽水_0.3%→淡水→0.3%	0.28	0.21	0.08	0.22	0.08	0.16	0.04	0.20
汽水_0.3%→0.15%→0.3%	0.32	0.21	0.12	0.24	0.13	0.23	0.12	0.18
汽水_0.3%→0.2%→0.3%	0.28	0.24	0.15	0.26	0.17	0.24	0.15	0.22
汽水_0.3%→淡水→淡水→0.3%	0.31	0.23	0.08	0.07	0.23	0.03	0.06	0.24
汽水_0.3%→0.15%→0.15%→0.3%	0.27	0.21	0.13	0.12	0.22	0.16	0.14	0.23
汽水_0.3%→0.2%→0.2%→0.3%	0.28	0.22	0.18	0.17	0.27	0.18	0.22	0.25

(20±2°C 条件下), 60cm 水槽 (GEX マリーナ SLIM MR600BKS),
7日毎に水替え (水替え前に測定), 生体 (約10~12cm x 5体),
床材: GEX ビュアソイル+ゼオライト,
上部フィルター (GEX AQUA FILTER デュアルクリーン),
餌: ひかりウーパールーパー小粒 x 5~10粒/匹 (2日毎)

(C)



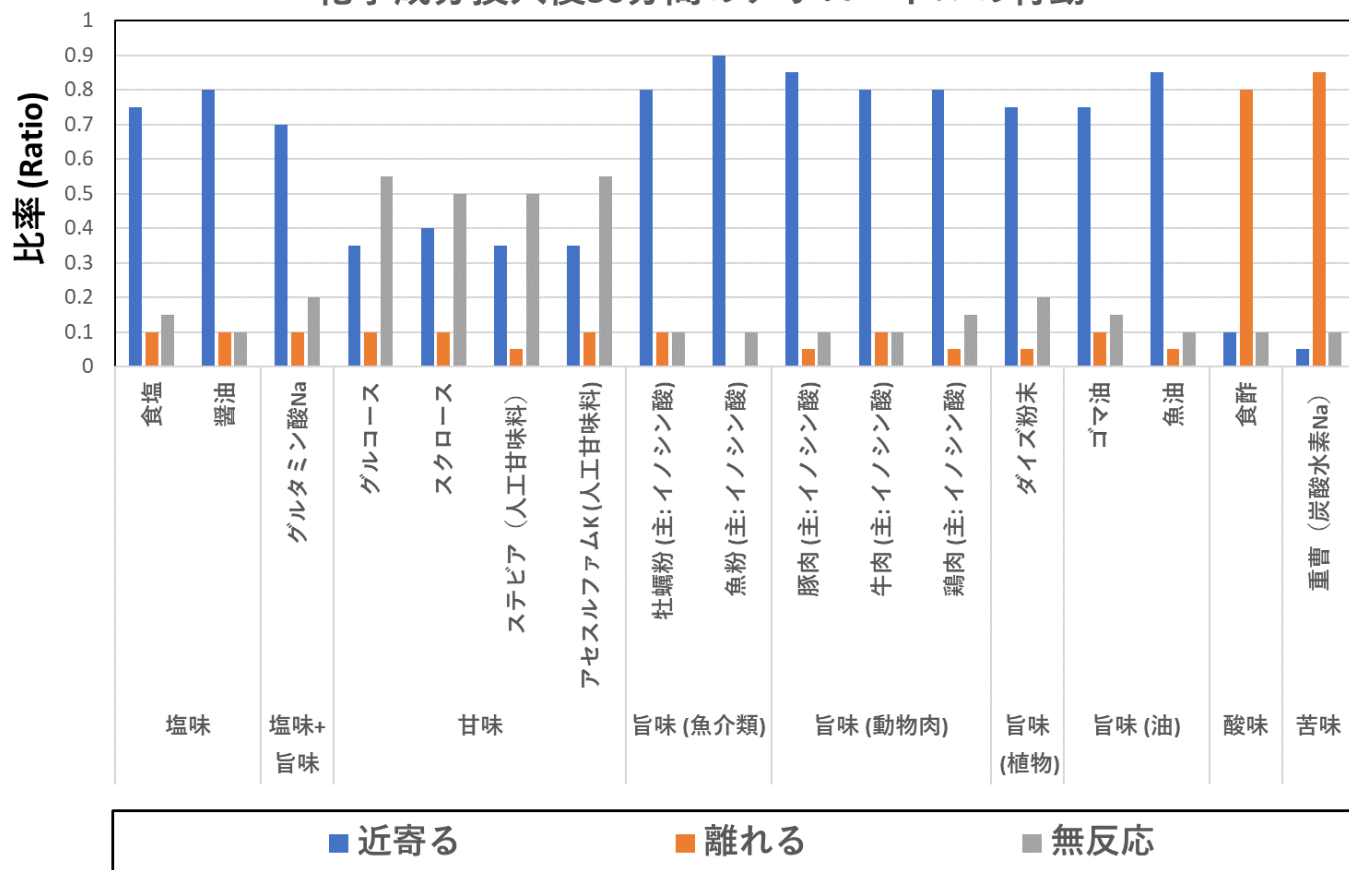
補足図 1: 底砂や貝類の小孔への吸着効果による塩分濃度の変動



補足図 2: 底砂や貝類の小孔への吸着効果による塩分濃度の変動-2

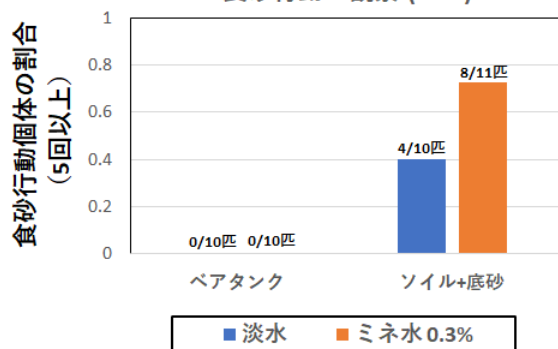
(A)

化学成分投入後30分間のアホロートルの行動



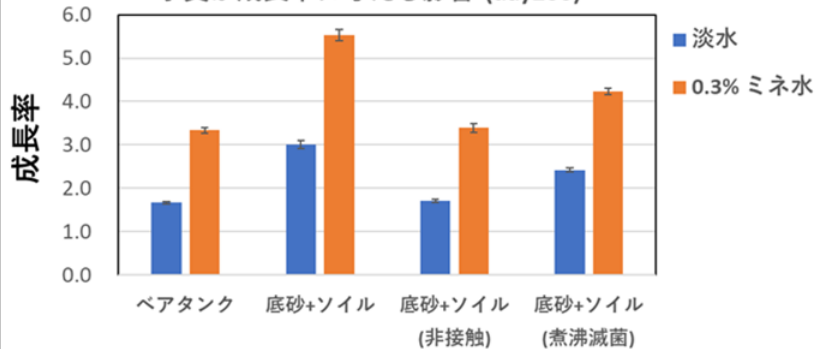
(B)

飼育下のアホロートルにおける食砂行動の観察 (24hr)



(C)

水質が成長率に与える影響 (day200)



補足図 3-1: アホロートルは塩味に対して高い嗜好性を示す 1.

(D)

塩が水に溶ける.



Na, K, Mg, Ca など
金属イオンになる.

側線器官:
獲物の動きや
微弱な電位の感知

塩味の
摂取



参考: [アホロートル \(メキシコサンショウウオ\)](#)
- 静岡大学理学部生物科学科 (shizuoka.ac.jp)

補足図 3-2: アホロートルは塩味に対して高い嗜好性を示す 2.

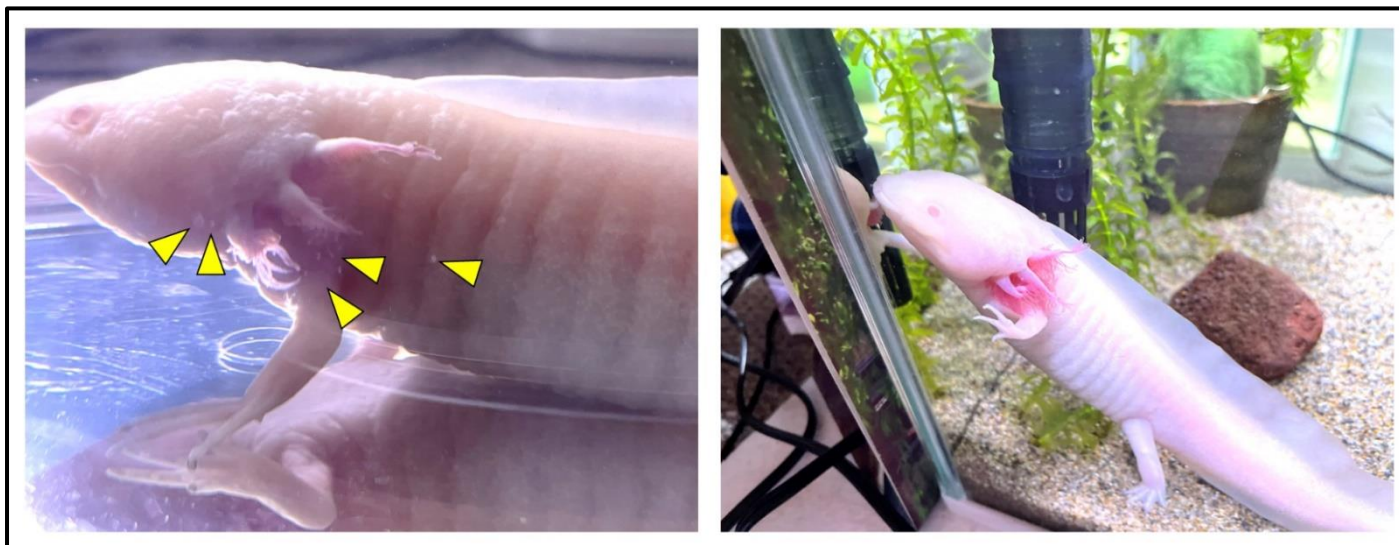
(A) 事例 1: 0.3% 汽水飼育にて水泡?のようなイボが形成された。

→ 薬浴後、飼育水を 0.15%～淡水へ濃度を下げ、2 週間周期の汽水環境へ戻すことで解消された。



(B) 事例 2: 0.3% 汽水飼育にて、(A) と同様の水泡のようなイボが形成された。

→ 淡水 + 底材による水の硬度の補強によって症状が解消された。



これらの症状は、汽水環境でも数を減らすことのできない雑菌や真菌類がコロニーや嚢胞を形成することで見られる症状である。このような症状に対しては、淡水へ戻すことで浸透圧を低下させたり、日々の換水で嚢胞からの次世代が消失するまで経過を見るなどの対処が有効である場合が多い。

こうした耐塩細菌や耐塩菌は、刺身などの生餌などに多く付着しているため、与える際には注意が必要である。

補足図 4-1: 耐塩細菌・真菌類の発生が生体に及ぼす影響

ショウジョウバエ Rm62 遺伝子 (p62: DNA 安定化による塩ストレス応答); mouse DDX5 (p68)

AGGGTCACCTCTAATTTTGACGAGGTTAGCAGCGGCACCTTTCCTCTCTCTCTCGCTCTGCACCGAACACGACAAACAGTTCACCGGAGTCCGCGAATCGTGAGACAATACTGTTCCCAAGCACATATAGTAGTCTCCAAGCTCAGTCGCGACGGTGGCTTTCGAGACAGCTCGAAACCGATTCA
GACGACTACTAGATCCATCCCGAAAGCAGAGCAGCGGACGAGGACGAGGAAATCGCTTTTCAACGATCCCGACGAAAGAACTGAGGAAATCAAAATTGAAGGAGTAATGATGMGCAACCACACGATCGCGACTTTGGTCACAGTGGAAGTGGCGGTGCGGAGGCGATCGAGGCGCACACACGA
TCGCGACTTTGGTACAGTGACGCTGGCGGTGCGGAGGCGATCAGGCAHRRDGHSGRGRGGDRGGCGGATGATCGCGGAGGAGCGCGCGGAGGCAATCGCTCGGTGGCGGCGGTGGCGGTGGCGATGATCGCGGAGGAGCGCGCGCGGAGGCAATCGCTTCGTGGCGGCGG
TGCGGTTGDDRRGGGGNRGGGGGGGGGCGATTACCACGGCATAAGGAATGGACGCGTTCGAGAAGCGACGCGATGACCGCGGAGGCGCGGATACCACCGCATAGGAATGGACGCGTCGAGAAGCGACGCGATACCGCGGAGGCGDYHGRNGRVKKRRDDRGGGGCAACCGATTGGAGGT
GGTGGTGGATTGGGGATCGCGGAGGAGGAGTGGCGCGGCGGCAACCGATTGGAGGTGGTGGTGGATTGGGGGATCGCGGAGGAGGTTGGCGCGCGCNRGGGGGDRRRGGGGGAGCCAAAGACCTCCCCATCGTCCGGTCACTTCCAACTGGCTCCCTCAAGAAAGACA
GCCAAGACCTCCCCATCGCTCCGGTGCACCTTCCAACTGGCTCCCTTCAAGAAGAACDMRVDSNAKNTTTTACCAGGAGCACCTTAACGTAGCAAAACCGATCGCCCTACGAAGTTTCCAGAGGTATCGCTTTTACCAGGAGCACCTAACGTAGCAAAACCGATCGCCCTACGAAGTTTCAAGGATGATC
GCYHNVANRSYVRYRGAGAGCAGGAGATCACCTGCGCGGACAGGTGCCGAACCCCATCAGGACTTCTCGGAAGAGAGCAGGAGATCACCTGCGCGGACAGGTGCCGAACCCCATCCAGGACTTCTCCGAGTVRGVNDSTCCATCTGCCGACTACGTCATGAAGGAGATCCGCGGACG
GGCTACAAGGCCCCACCGTCCATCTGCCGACTACGTCATGAAGGAGATCCGCCGACAGGGCTACAAGGCCCCACCVHDYVMKRRGYKATGCTATCCAAGCGCAGGGGTGGCTATCGCCATGAGTGGCTCGAACTTCGTGGGATTGCCGCTTCAAGCGCAGGGGTGGCTATCGCCATGA
TGTGCTCGAACTTCGTGGCATGTTGCCAAGWAMSGSNVAAAAGCAGGATCCGGAAGAACCTTGGGCTACATCTCGCCGCTATTGTCCACATCAACAACAGCAGGATCCGGAAGAACCTTGGGCTACATCTGCCGCTATTGTCCACATCAACAACKTSKGTGYAV/HNNCAGCAGCCGCTGCA
GAGGGGCGACGACCTATCGCCCTGCTGCTGCCCCCACTCGGGAGCAGCAGCGCTGCAGAGGGCGCAGCGACCTATCGCCCTGCTGCTGCCCCCACTCGGGAGRGDGAIVATRCTGGCCCAACAGATCCAGCAGGTGCCACCGAATTGGTTCTCGTCTGATGTTGCAACCTGGCCCAA
CAGATCCAGCAGGTGGCCACCGAATTGGTTCTCTGCTGATGTTTGCACAACAVATSSSYVRNACCTGCGTCTTCGGCGCGCGCCCGAAGGCGCGGCAATCGGGATCTGCAGCGCGGCTGCT
CVGGAAGGMRDRGCGAGATCGTCTATTGCCACACCCGACGCTTATTGATTTCTCTCCGCGGCTCTACTAACGAGATCGTATTGCCACACCCGACGCTTATTGATTTCTCTCCGCGGCTCTACTAACVATGRDSAGSTNCTGAAGCGTTGCACCTACTTGGTCTGGACGAGGCCGATCGCA
TGTTAGACATGGGCTCTCTGAAGCGTTGCACCTACTTGGTCTGGACGAGGCCATCGCATGTTAGACATGGGCTCKRKYTVDDRMDMGAGCCCCAGATCAGAAAGATCGTCTCACAGATCGCGCCCGACCGACAGACGCTCATGTGGGAGCCCCAGATCAGAAAGATCGTCTCACAGATCCGG
CCCCACCGACAGACGCTCATGTGGRKVSRRDTMWAGCGCTACCTGGCCCAAGGAGGTCAAGCAGCTTCCCGAGGACTTTTTGGGCACTACATCAGCGCTACCTGGCCCAAGGAGGTCAAGCAGCTTGCCGAGGACTTTTTGGGCACTACATCSATWKVKADGNVCAGATCAACATTGGATCGCT
GGAGCTGTCCGCCAATCACACAATCCGCCAGGTGGTGGACCATCAACATTGGATCGCTGGAGCTGTCCGCCAATCACACAATCCGCCAGGTGGTGGACNSSANHNHVRV/DGTTTGTGACGAGTTCAGCAAGGAGGAGAAATTGAAGACCTCTGTGCAGACATCTACGACGTTTGTGACGAGTTC
AGCAAGGAGGAGAAATTGAAGACCTCTCTGTCAGACATCTACGACVDSKKKTSDDYDACCAGCGAGAGCCCCGGCAAGATTATCATATTCTGGGAGACAAAGCGCAGCGGTGGACAACACCGAGGAGCCCCGGCAAGATTATCATATTCTGGGAGACAAAGCGCAGCGTGGACAACSSGKVTKRRV
DNCTGGTGGCGCTTCATCGCAGCTTCGGAGTCGGTTGTGGAGCTATTACCGTGACAAGTCTGCTGGTGGCTTCATCCGACGCTTCGGAGTCGGTTGTGGAGCTATTACCGTGACAAGTCGVRRSVRCGAHGDKSCAATCAGAACGAGACTTTGTGCTCCGTGAGTTCGCTCGGGCAAGTCCAA
CATTCTGGTGAATCAGAACGAGACTTTGTCTCGTGAATTCCGCTCGGGCAAGTCCAACTTCTGGTGSRDVRRSGKSNVGCACCGATGTGGCGGCCGTGAGCTAGATCAACAACAACAACTGAACCGAACCTCAGGCCACCGATGTGGCGGCCGTGGACTAGATCCAAACAACAACCT
GAACCGAACCATCAGATDVAARGDTTNNHAGAGCGAGCTTTTCTCAGCAGTGGATGGCGGAAGCGCGCTGCAAAAGTATTGACGGGAGAGCGAGCTTTTCTCAGCAGTGGATGGCGGAAGCGCGCTGCAAAAGTATTGACGGGGRASSSGWRKAACKV/TGTGGCCTGGCCCTTGAAGAA
CACTAGAAATTGGACATGCACCAAGTCAGACAAAAAGCCATGGCTGGCCCTTGAUWGAAGCAAAAGCAAGCAAAAAACAAGCATTGACACACCAACCCCCACAACAACAACCACTACAATAAGAACAACTGACATTTGCTTTAACCAAGAGTGAGGACGAGAAGATCCATCCGGAGATGGA
TGATGTGTGCTCTTCGAGGATCCAGACGAAGATGCTGCTGCTGGTGTGCTGCTCTCCCAAAAGCTCACTACCAACACCCACTGACCGCGTTTGGCGCGCATCAGTTAAGCCCACTGCTCTGGACGAAAGCGCGCGCTGTTGTTGTTAACCTCCCAAAAGTTCAATCTTATATAATGTT
CGTGTCTCTCTCGTGGTCACTCCAAATGGTCCATGTGAGAAGAGAGCTTAGTCAGAGGCGCAGCGGCTCAATGCAACAACCTCTCGCTTCGCGTGGCATCGAGATCGCTACCTTGTCTTTCTGGGAGAGTTTGGACACGAGCTCGCGCGCGCAATCAGAGATTTTGATTGAGAGAA
AATTGAGTGAACAATTTATAGCACCAAGAGTAACGATACATTTTGAACATTTTCTTTTCTCTTAAAAAAAATAACAACACCAACAAATCAAAATACCATAGACTCAATAGTATGCAAAAGTATAAAAAAAAATTTAAAAAAAAGAAAAAGCAAGTGTGTTCAAAGTGTTCAGAGACTCTCGGA
AAAAACGCTAAAAATTGTTGAAGCGAGCGCGCATAGCGGAAAAATCATTGGCAATTTGAAACTACGTGSAACGGCATCAAGTATGTCATCACTTTGACTACCCGAAAAACAGCGAGGACTACATCCATCGCATCGGTGCGACAGGACGATCCAACACAAGGGGCACTCTTTCGCTCTCTTCAACAAAG
AACAAATGCCAAGCAAGCCAGGCGCTGGTGCAGTACTCCGGAAGACTAATCAGGAATCAATCTGCCCTGGAAAATCTGGCCCGCACTCGCGCTACGACGAGTGGTGGCGCGGACGCTCCGCTTATGAGGCGGTGGCGCGCGGCTGCTTCGCGCGCGCGGCTTCAAGAAGGGGACGCTGA
GCAACGAGCAGGCTTCGGAGGAGGCGCGCGCGCGCGGCGGAAGGACAGACACTCGCGCTTCGACTAGATCGCGGACAATTAGTAGAGCAGTAAAAAGAGCTATAGGAACAGGAGATTTAGTAGCTAACTAAACCGCACTAGGTCCTAAGTTAAATTAAGTTCATAGCTTAAGTTAAGATTTCGTAC
TACTTTCAACCAACCGCTGACGGTTATTTTAGACTTAAATCAGACTCCCTGATTAATGAACACTACAATAACGAGCTATTGAACTACGCAATTTATGTTAAATGATTGTAAGTTATTGACGCTGGCGCGGAGGTGGTACAACACAATCAATGAGAATCAAAAAACCTTTACTTAAACGCAA
AAACCAATTTCAAATCATGTGATAATTTCTAATTTAACGCAACGTATCACTAACTAAAAAGCAAGGAAATCGTAGCGCGAGGAGTACGTTGATGTAGTGGAGGAAAAGGAGGAAGTAAAGATCATTCCGCTCTGCTCCGTTTTGATGACAATGAACAAGGCTGACCTGACGAGCGACCTTTGTTGA
TAAATAAATCTTCAAATTACTTTTGAAAAATACTTTTGATACCTTTTATGGCTCAACACGAGAACAAAGATGTGTAAGCAAAAGCAAAAGCAAAAGGAAATCACATTAACCTACTGACACTAAATCAAAAGAAAAAAACAACTGTATGTACAAGATGAGAAGTTCTCTTCAATTAATTTTCGGAATAATA
AAGTTTGTGTATACCTATTACAACCTAAACC

Gene https://asia.ensembl.org/Drosophila_melanogaster/Gene/Summary?db=core:g=FBgn0003261;r=3R:6000426-6008579;t=FBtr0309320

cDNA https://asia.ensembl.org/Drosophila_melanogaster/Transcript/Sequence_cDNA?db=core:g=FBgn0003261;r=3R:6000426-6008579;t=FBtr0309320

Axolotl DDX5

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgsid=69715_5uEztlFij0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=Ddx5&hgt.positionInput=Ddx5&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr3q&l=136502767&r=137153131&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

[bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgsid=69715_5uEztlFij0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=Ddx5&hgt.positionInput=Ddx5&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr3q&l=136502767&r=137153131&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?hgtgroup_map_close=0&hgtgroup_genes_close=0&hgtgroup_rna_close=0&hgtgroup_regulation_close=0&hgtgroup_assembly_close=0&hgsid=69715_5uEztlFij0qCx310CTXrTpTbcU5J&position=Ddx5&hgt.positionInput=Ddx5&hgt.jump=go&db=ambMex60DD&c=chr3q&l=136502767&r=137153131&pix=950&dinkL=2.0&dinkR=2.0)

補足図 4-2: 塩ストレス応答関連遺伝子の発現確認

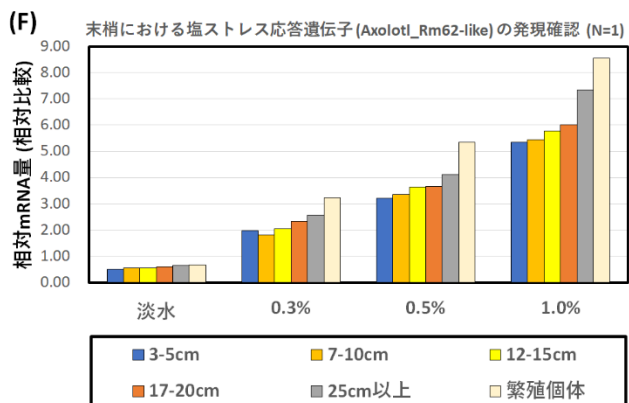
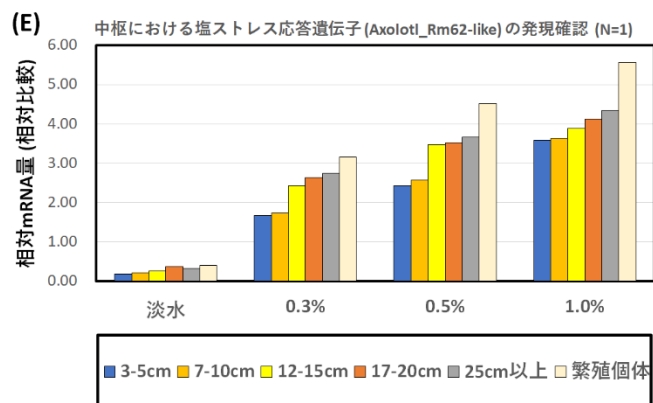
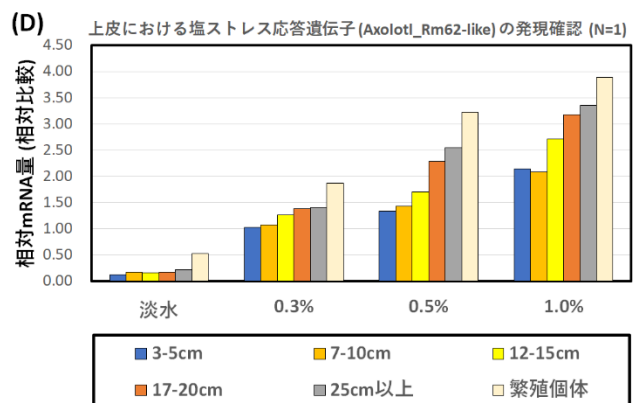
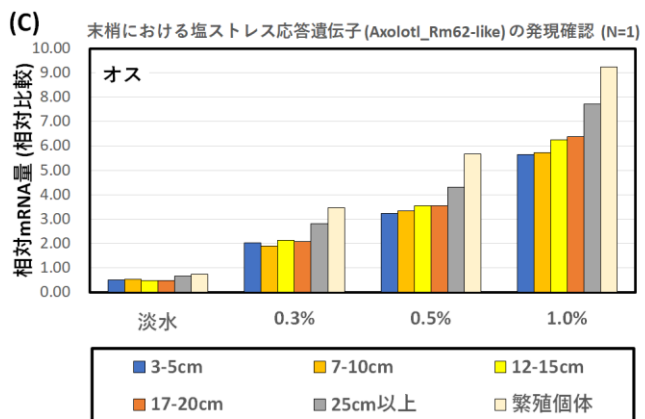
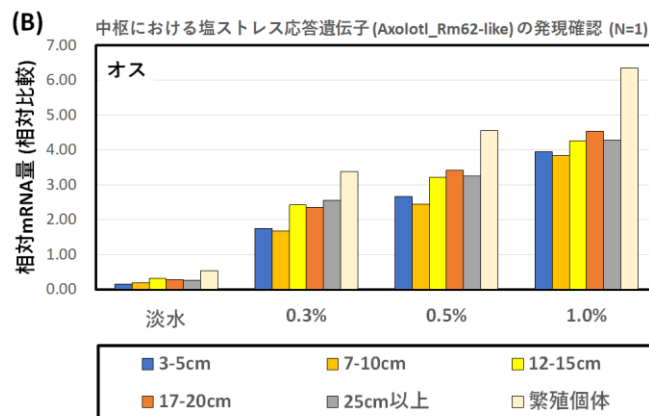
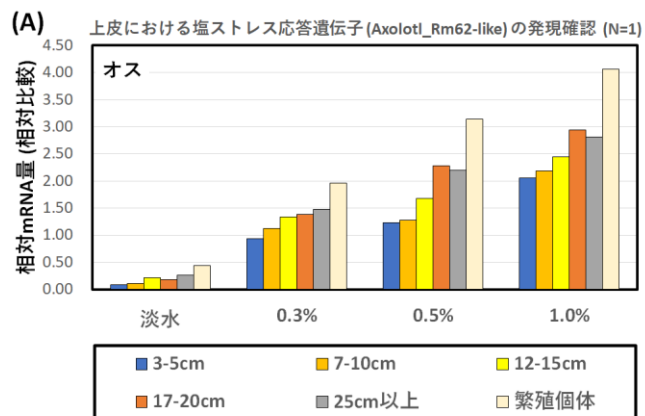


オオムギ HVD1 遺伝子 (RNA 安定化による塩ストレス応答)

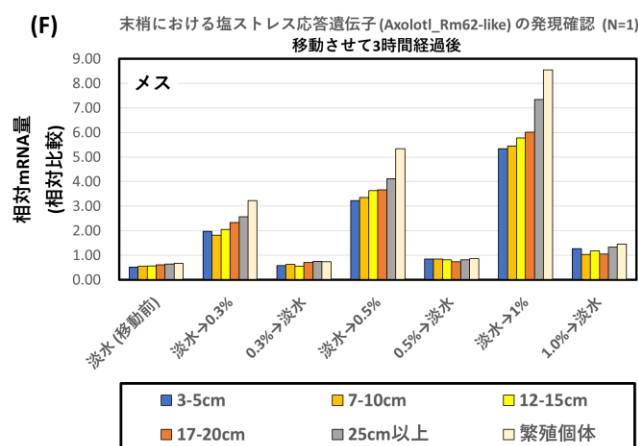
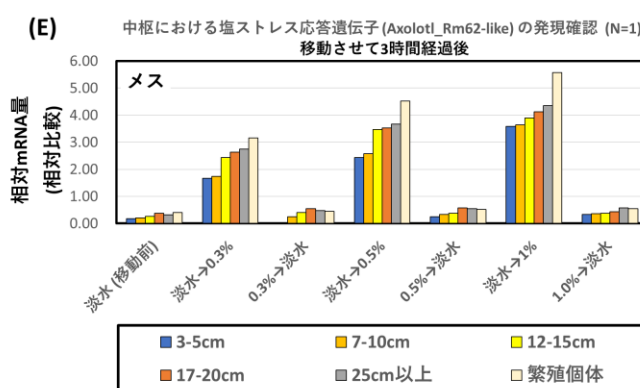
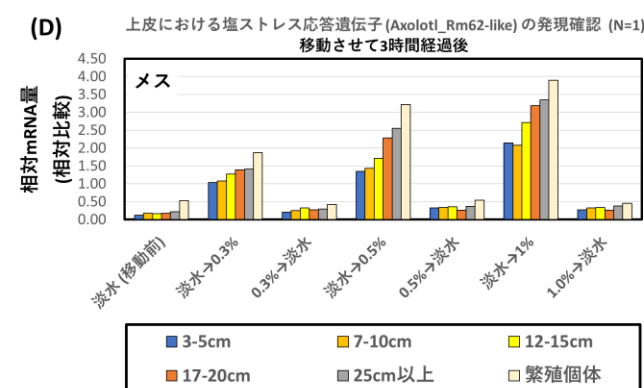
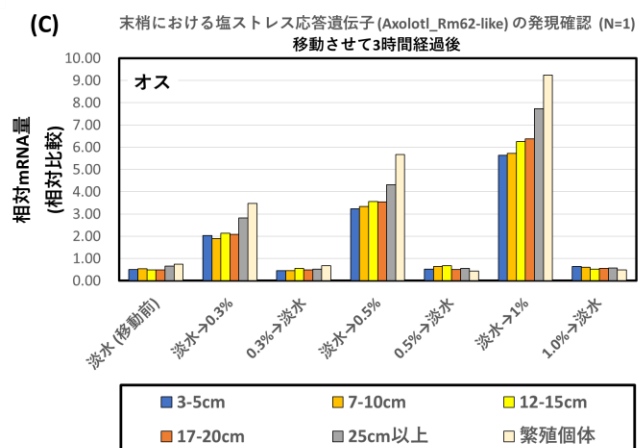
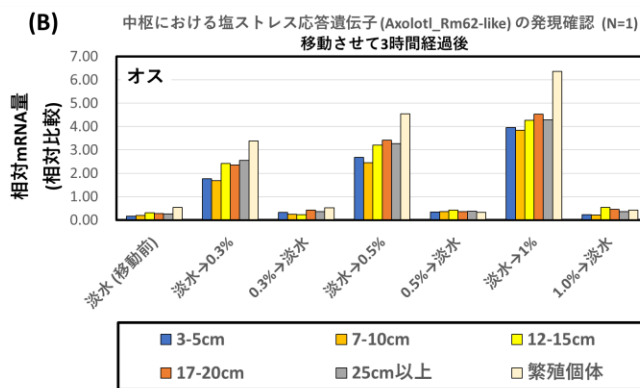
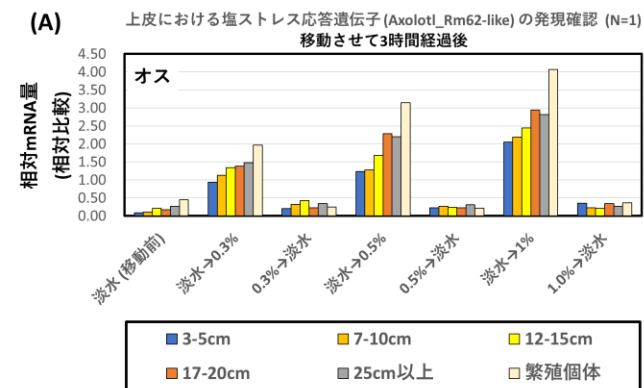
CGCCCGGGCAGGTATTTCTTATCGCTTCCCCCTTCCTCCCCCATGGCTTCCCTCCTCACGCTCCCGTCC
CTCTCCCTCTCCAGCCCCAGCGGCGGCCTCGCGCCCGCGCTCCGGCTCCGCGCCGCTTCCGCTGCTGG
GCGCTCGGCCGCAGGTGGGCGGGCGCCGCGCGGCCATCGCGTCGCCCAACTCCGTGCTCAGCGAGCA
CGCCTTCAAGCGCCTCGGGCTCGGGCGCCGGCAGCGACGACGAGGATGAGGACGGGTACGGGAGCGACC
AGGAGGGGGCCCGCCGCGCTGGAGGGGGACAAGGATGAGCTCGCCATTTCCAGGCTCGGCCTCCCCGCCC
AGCTCGTCGCCACCCTCGAGAAGCGCGGAATTACCCACCTCTTCCCCATCCAGAGGGCTGTATTGATTCCA
GCACTTGAGGGCCGTGACCTGATTGCAAGAGCAAAGACTGGAAGTGGAAAGACGCTAGCCTTTGGTATACC
CATGATCAAGCAAATAATCGAGCAGGACGAAGGGCGGACTCCCGGGCGAGGTGCTATTCCGAGAGCTTTGG
TCCTTGACCCACTAGAGAGTTGGCTAAACAAGTTGAGAAAGAAATTATGGAATCAGCGCCAAAGCTTAGTAC
AGTGTGTGTTTATGGTGGTGTATCATATAATACCAGCAGAATGCACTCTCCCGTGGTGTGATGTTGTCGTA
GGAAGTCCAGGTGCGCTAATTGATTTGATAACGGTGGAAGTCTTCAGTTGGGAGAAGTAAGGTATCTGGTC
CTTGATGAGGCTGACCAGATGCTTGCAAGTTGGATTTGAAGAAGATGTGGAAACAATATTGCAACAGCTGCCA
GCTGAACGACAAAGCATGCTTTTTCTCTGCGACCATGCCTAGTTGGGTGAAGAAATTGTCTAGGCGGTACTTG
AATAATCCTTTGACAATTGATTTGGTTGGCGATCAAGATGAAAAATTAGCTGAAGGAATCAAAGTCTTTGCTATT
CCACTCACAACGACTTCAAAGCGCACCATTCTTAGTGATCTCATTACGGTATATGCAAAGGGTGGGAAAATA
TTGTTTTCACTCGGACAAAACGGGATGCAGACGAGGTATCATTAGCATTGACAACCAGTATTGCGTCTGAGG
CGCTTCATGGTGATATTTCAACATCAGCGTGAGAGGACATTAAATGGTTTCCGCCAAGGGAAATTTACTGT
GCTTGTGGCCACTGATGTTGCTTCTCGTGGTCTTGATATACCCAATGTTGATTTGATTATTCATTATGAGTTGC
CAAATGACCCCGAGACTTTTTGTTTCATCGTTCTGGACGCACTGGACGAGCAGGGAAAGCAGGAAATGCAATC
TTAATGTTTACAACCAATCAGCGAAGGACAGTTAAATCACTTGAACGTGATGTTGGGTGCAAATTTGAGTTTAT
TGGCCACCTACAATGGAAGAAGTACTGGATTGATCTGCAGAGCATGTCATTGCTACTCTGCGAGGTGTGCA
CCCCGAGTCGATTCAATACTTTGTTCCAGCGGCTGAGAGACTAAGCCAAGAACTAGGACCTACTGCTCTTGC
TTCTGCATTGGCACATCTGAGTGGATTTTCTCAGCCACCTTCTTACGTTCCCTGATTAGCCATGAGCAGGGA
TCGGTGACACTACAATAACCAGGGATCCAGAATATGCAAGAGGCTTCTTTTCTCCTAGATCTGTCACCGGTT
TTCTGTCTGATGTCTCTCCATCTGCTGCTGATGCAGTTGGAAAAATATACCTAATAGCAGATGAGAGGGTCCA
AGGAGCAGTCTTTGATTTACCCGAGGAGATTGCAAAGGATCTGCTTACCATGGAAGTACCCCCAGGAAACAC
CTTGAGCAAAGTAACAAAGCTGCCGGTGTGCAAGATGATGGCCCTGCTACTGATTCTTACGGCCGATTCTC
AACTCAGACCGGGGTTCTAGGAACCGGCGGGGGTCTGCCAGGGGCGGTATGGGTGGCGGCTCAAGAGG
ACGTGGTGGTTGGGACTCTGATGAAGGATTCCGTCGTGGTGGCAGGAGCTCCAGCAGACCTGACAACGAC
ATTTGGTCAGATGATGACTTTTCAGGTGGTGGTGGCAGAGAAGATCAAACCGTTTCGTCATCCCCCAGCGGTGG
CCGCTCGTCCTATGGTGGGCGTGGTGGCTCGTCATCCTTCGGTGACAGATCCTCCTCCTT

関連情報 <https://patents.google.com/patent/JP2002034576A/ja>

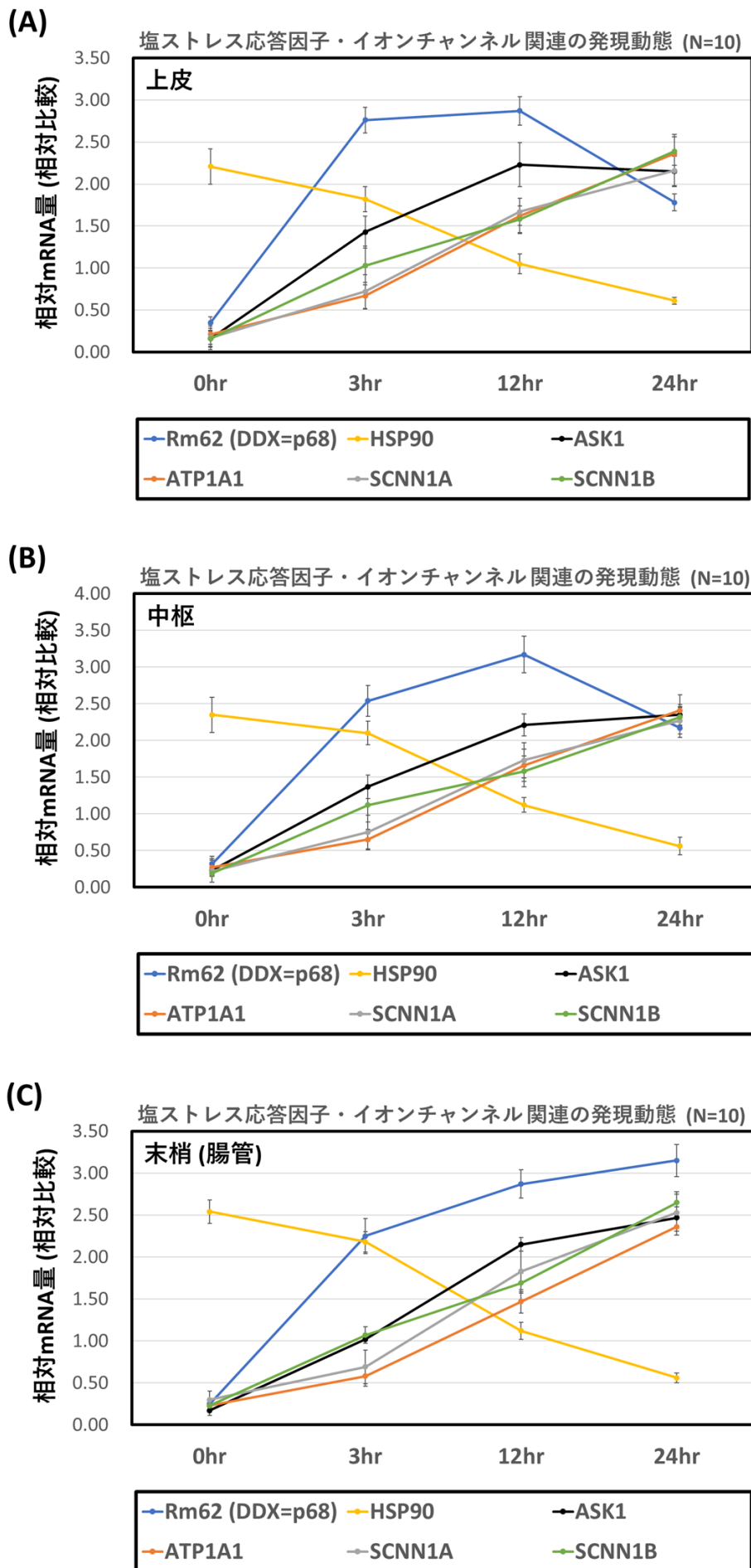
補足図 4-3: 塩ストレス応答関連遺伝子の発現確認



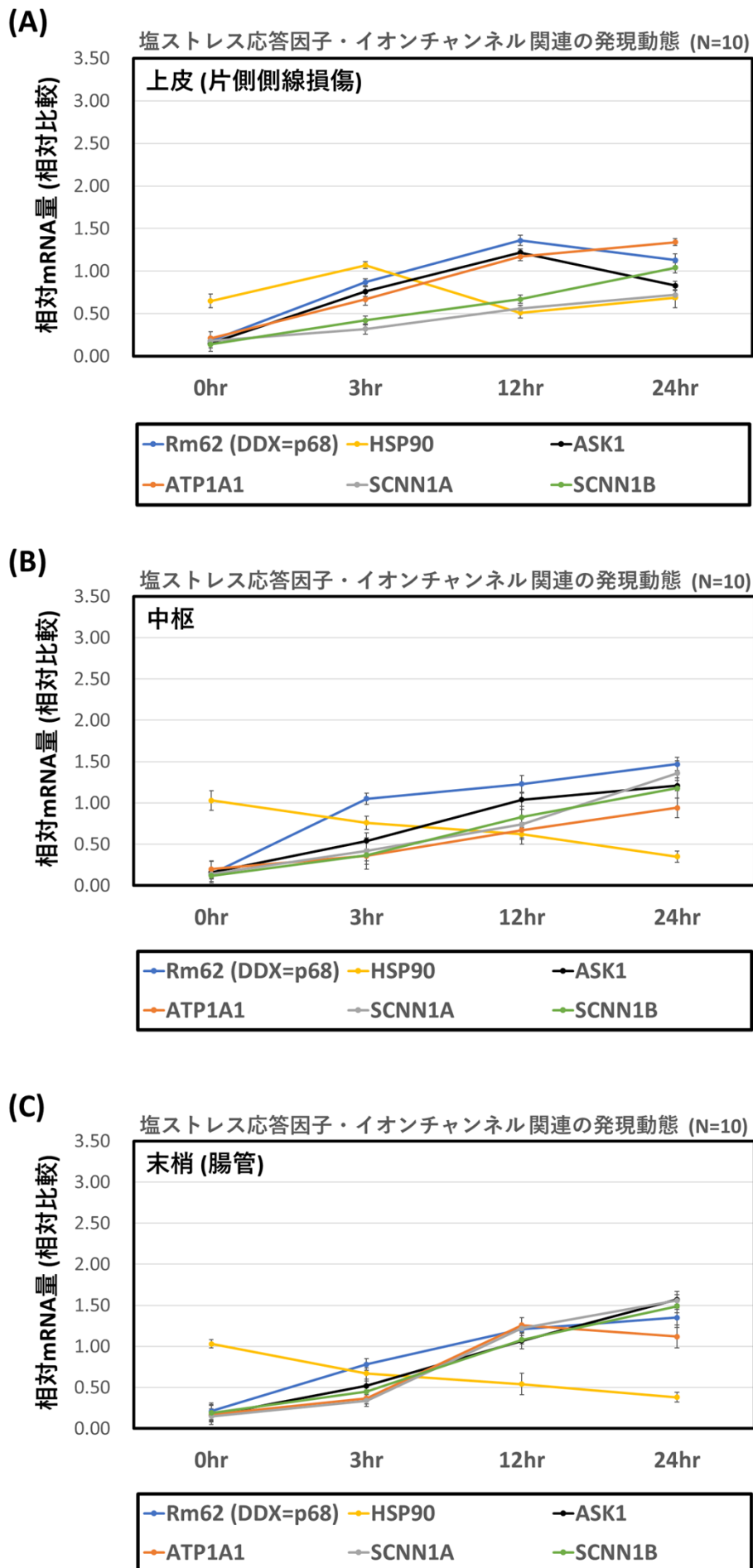
補足図 4-4: 塩ストレス応答関連遺伝子の発現確認 (汽水移動後 12hr 後に解析)



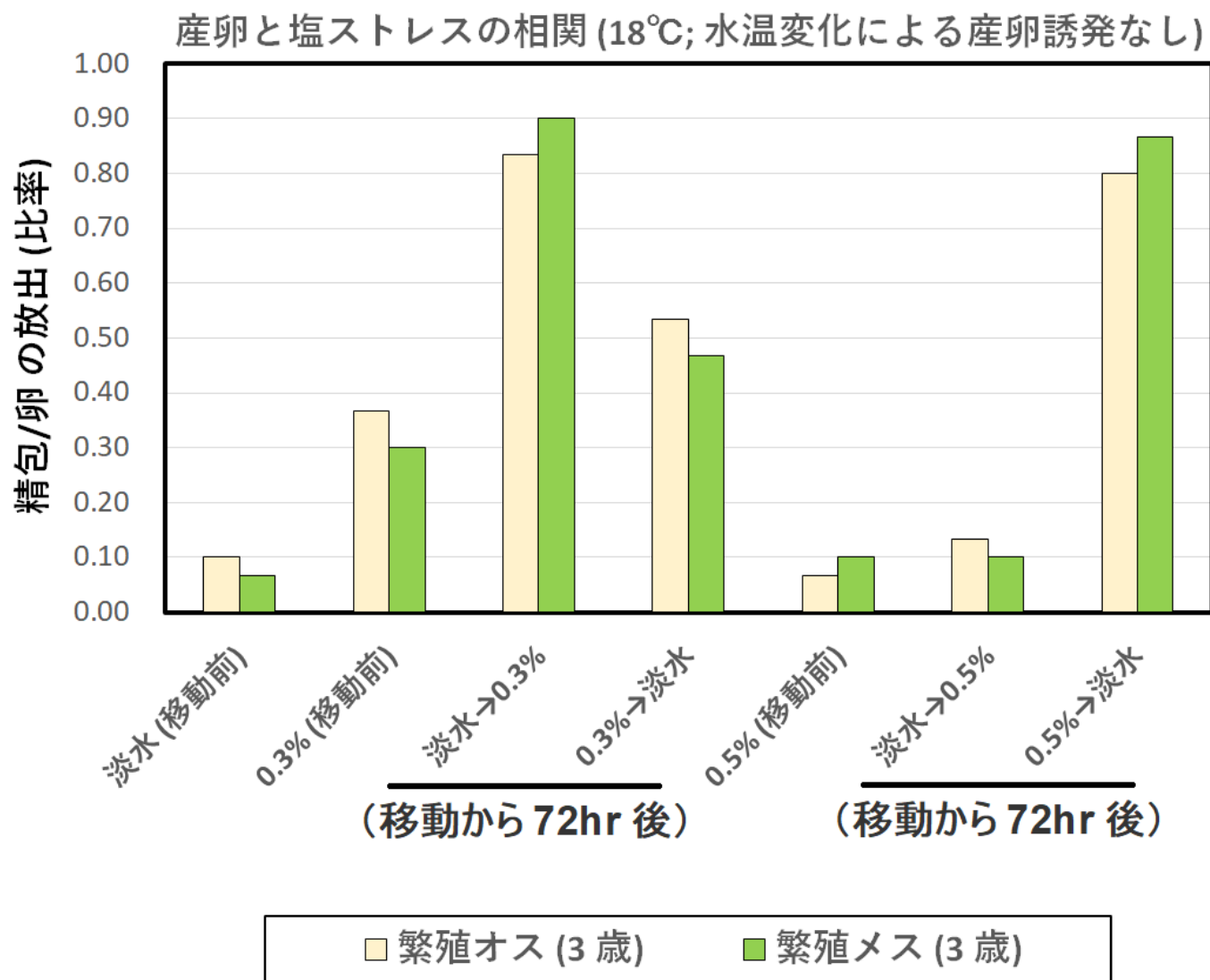
補足図 4-5: 塩ストレス応答後の恒常性制御 1 (淡水, 汽水への移動後 3hr 後に解析)



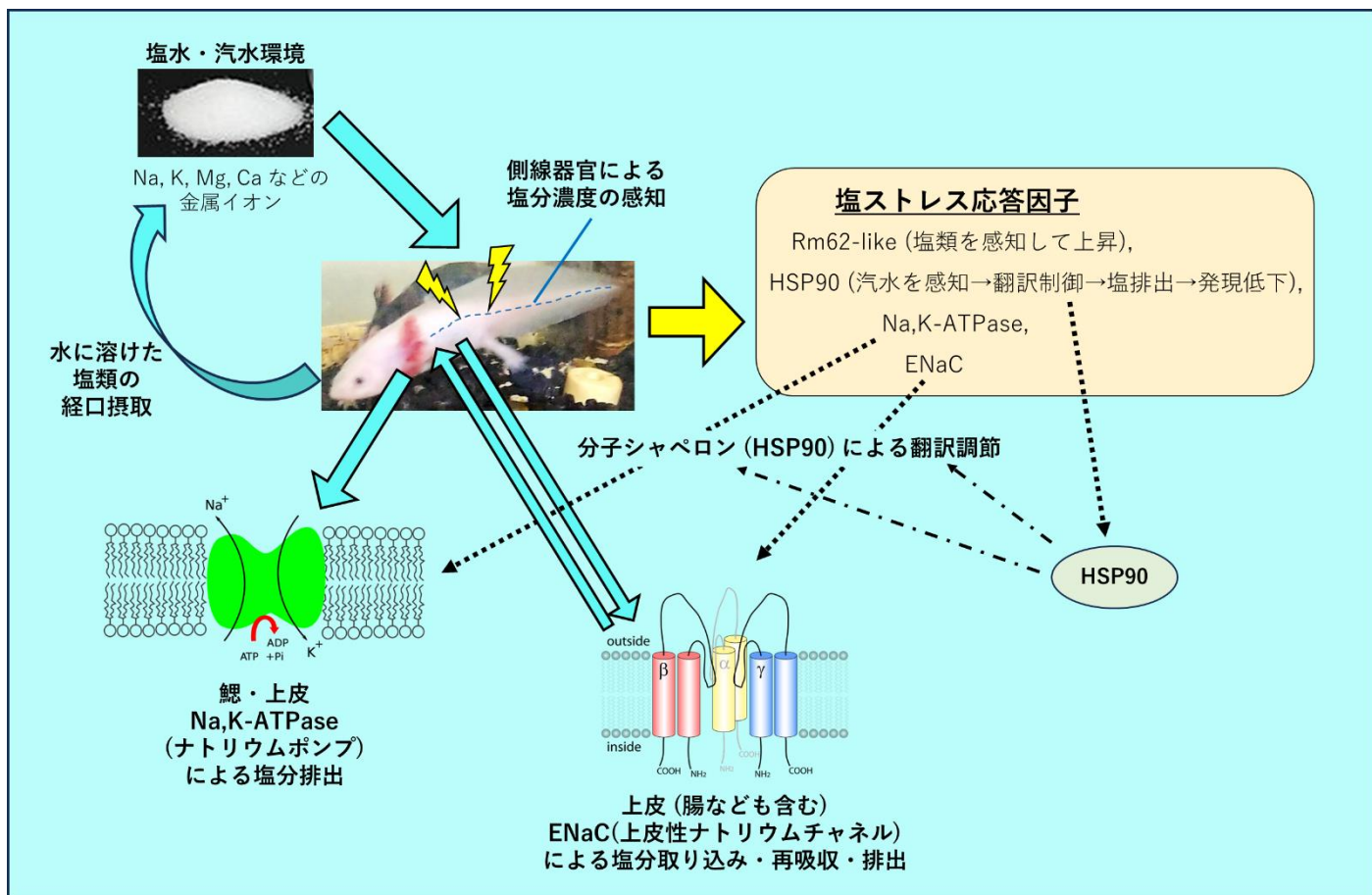
補足図 4-6: 塩ストレス応答因子の変動・経時変化



補足図 4-7: 側線器官を損傷した個体における塩ストレスへの応答性



補足図 4-8: 塩ストレスと産卵制御の関係性



補足図 4-9: 塩ストレス感知とストレス応答のフィードバックループ

(A) 健康な頃 (アカムシや固形餌で飼育)



(B) 衛生的に良くなかったと思われるマグロを摂食した場合 (数か月経過後)



(C) 類似の症状を発現した生体の腸内環境および水槽の底材に棲む微生物一覧

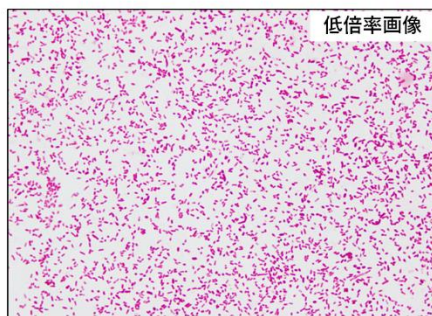
性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
	<i>Vibrio vulnificus</i>	腸炎ビブリオ	吐き戻しの原因 (好塩細菌)
	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター類	肉類に付着 (耐塩細菌)
グラム陽性細菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌類	皮膚の化膿・嘔吐など (耐塩細菌)
	<i>Streptococcus iniae</i>	レンサ球菌	眼球突出、腎臓や脾臓の腫れ、心外膜炎など
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	緑藻類
真菌 (カビ)	<i>M. willeana</i>	ミクロスポラ属	糸状緑藻類
	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化、 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>	アフアノマイセス属 (糸状菌類)	

市販の刺身から検出される
有害な雑菌類 (塩にも強い)

補足図 5-1: 生餌由来の耐塩性の雑菌による感染症・腸内環境の乱れ_1

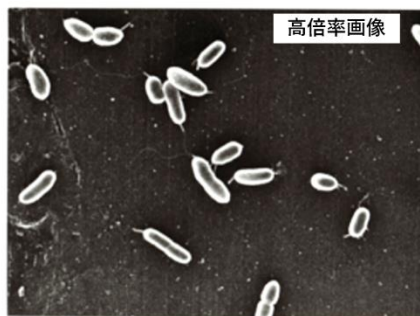
腸炎ビブリオ

Vibrio parahaemolyticus



低倍率画像

腸炎ビブリオ 顕微鏡写真 - Bing images

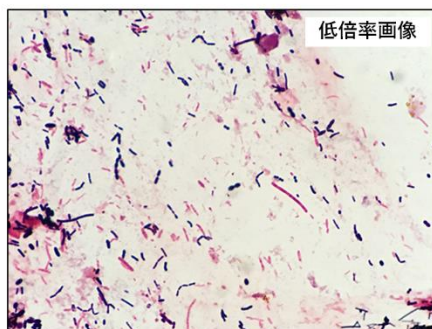


高倍率画像

http://www.hk-wj.co.jp/ephoto/ep_vpara.html

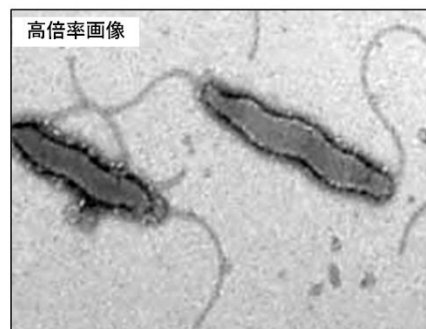
カンピロバクター

Campylobacter jejuni



低倍率画像

Campylobacter jejuni - 亀田総合病院 感染症科 (kameda.com)

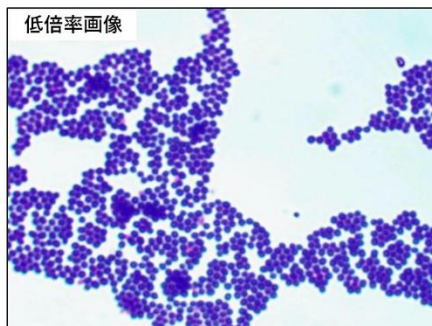


高倍率画像

日本細菌学会 (jsbac.org)

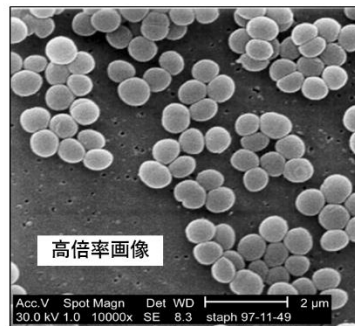
黄色ブドウ球菌

Staphylococcus aureus



低倍率画像

【微に入り細に入り】黄色ブドウ球菌の水中姿に注意 (1/2ページ) - 産経ニュース (sankei.com)

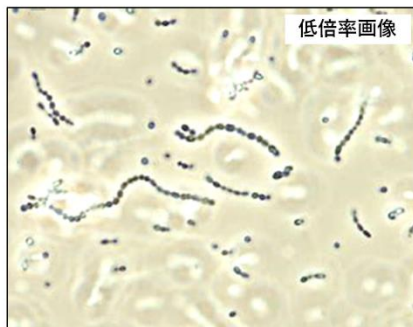


高倍率画像

黄色ブドウ球菌 | あんしん あんぜん はりねずみ (riskhedgehog.com)

(魚類感染性)レンサ球菌

Streptococcus iniae



低倍率画像

Streptococcus iniae - Wikipedia

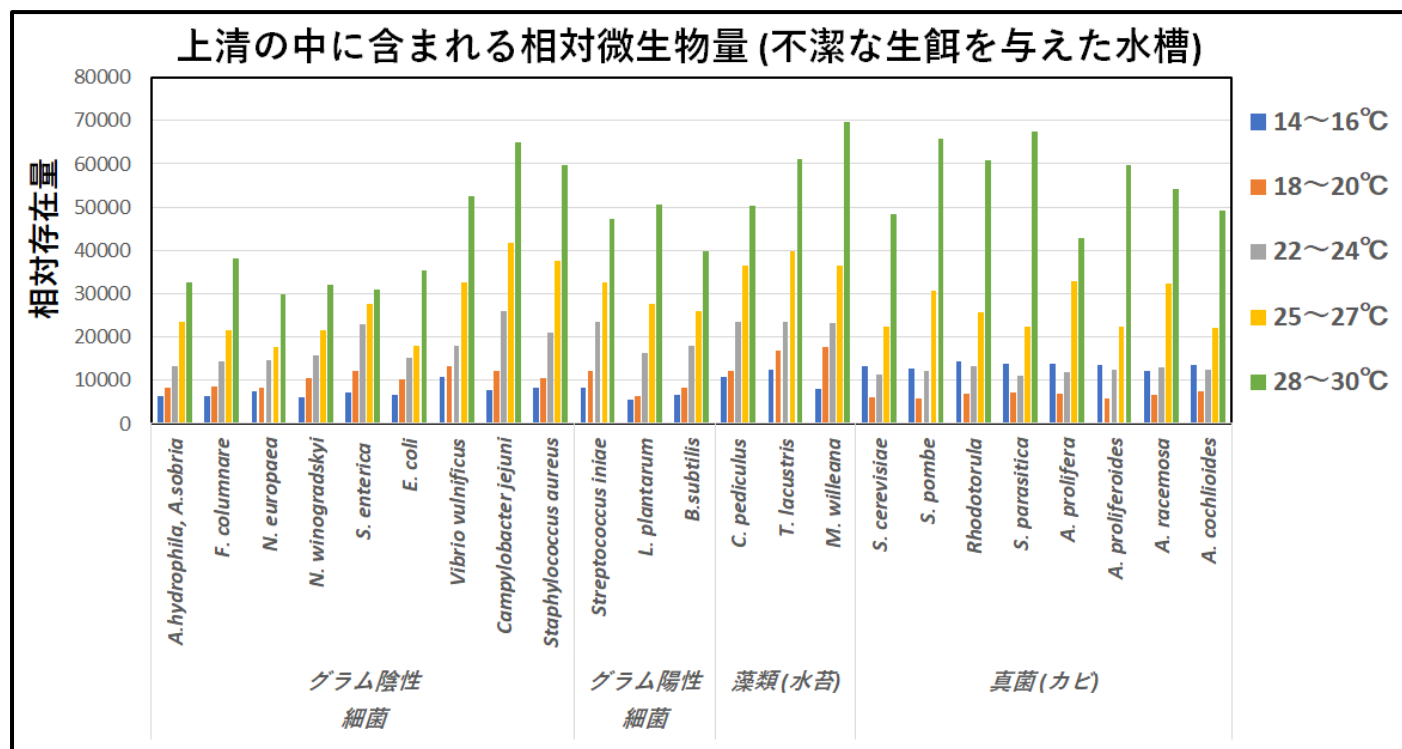


高倍率画像

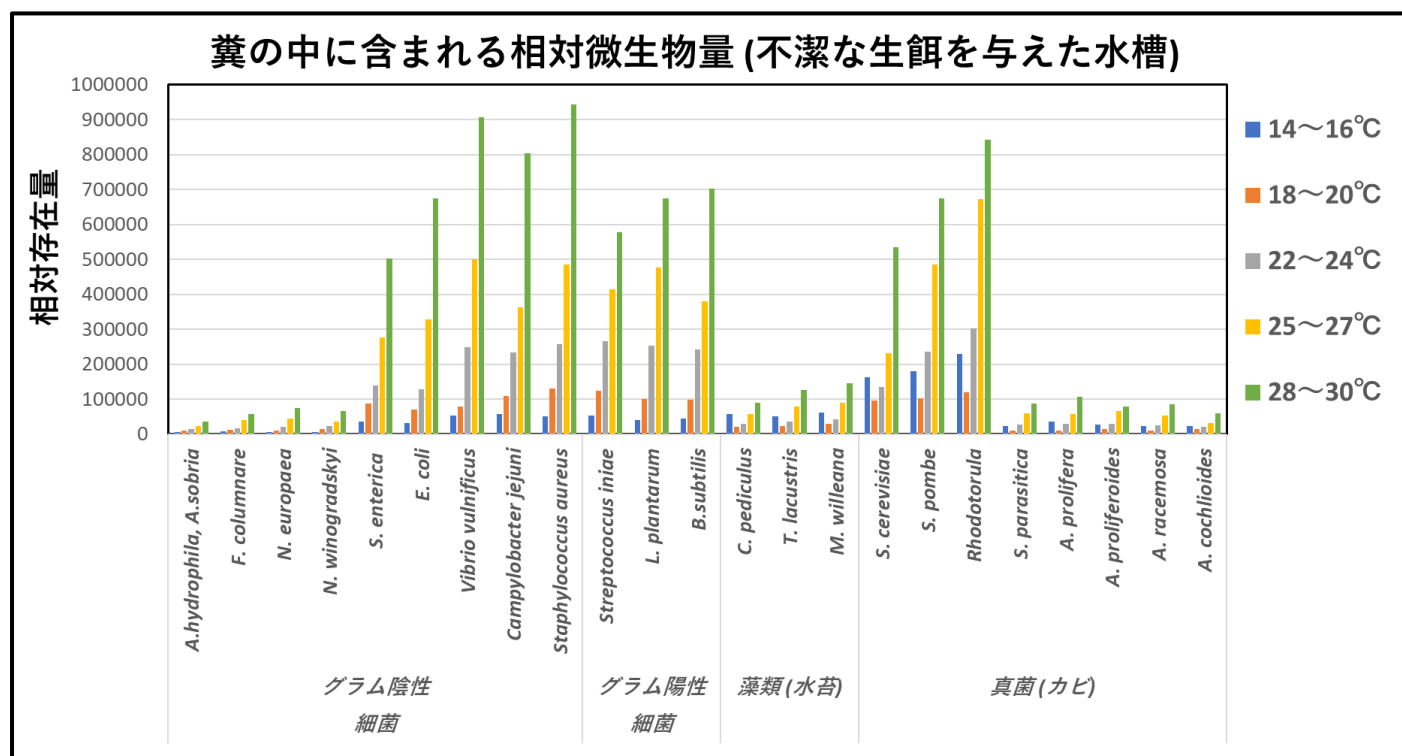
Scanning electron micrographs of *Bacillus subtilis* treated (8 mg/ml) ...
Download Scientific Diagram (researchgate.net)

補足図 5-2: 生餌由来の耐塩性の雑菌の顕微鏡写真画像 (参考資料)

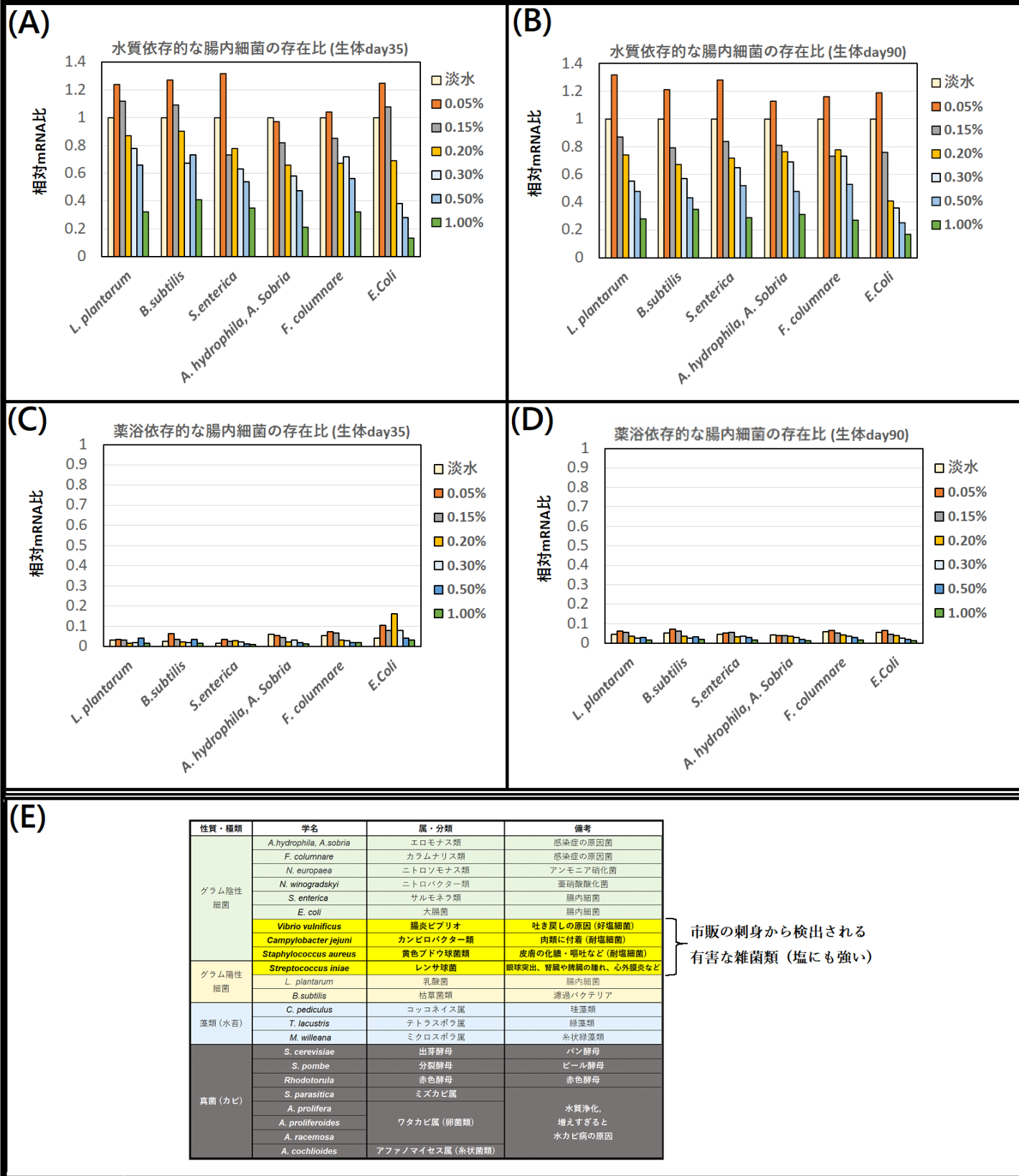
(A)



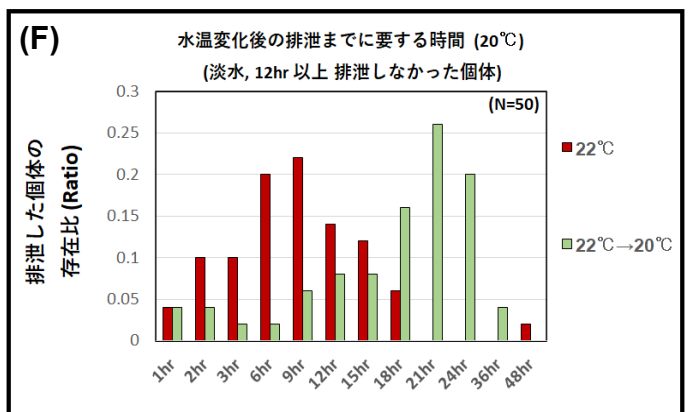
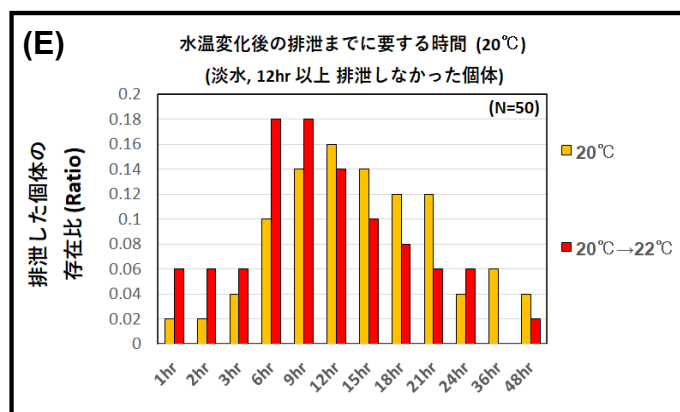
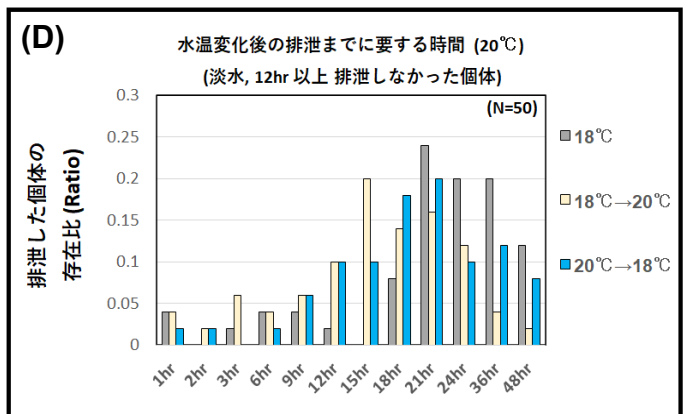
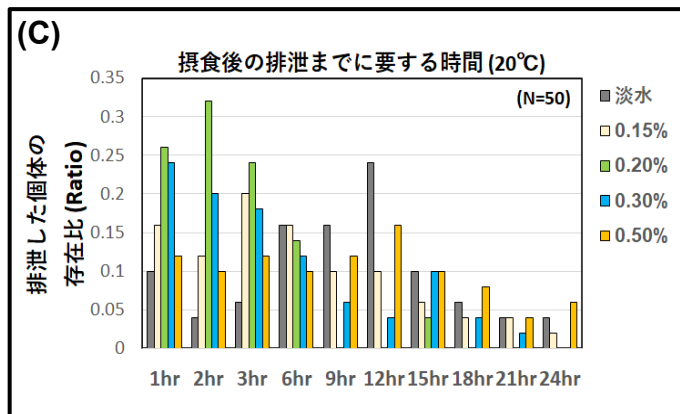
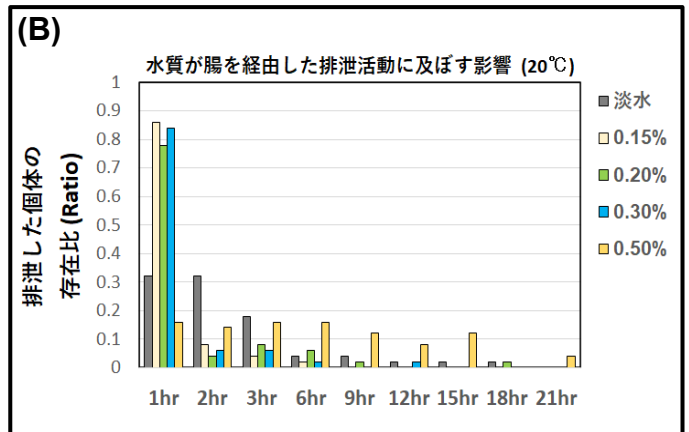
(B)



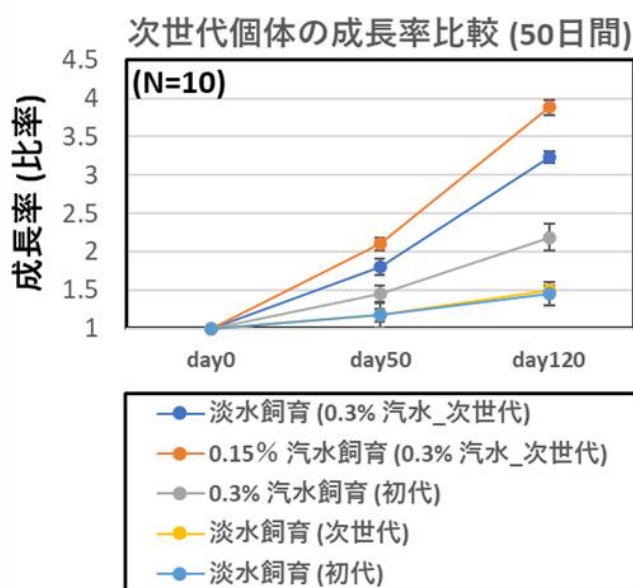
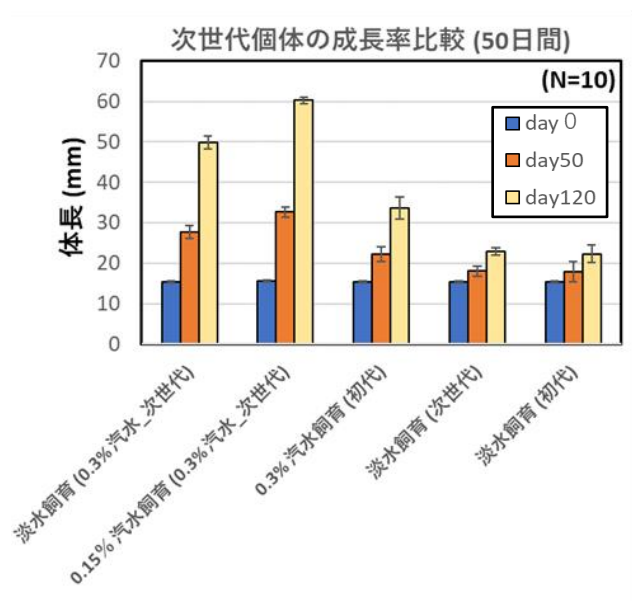
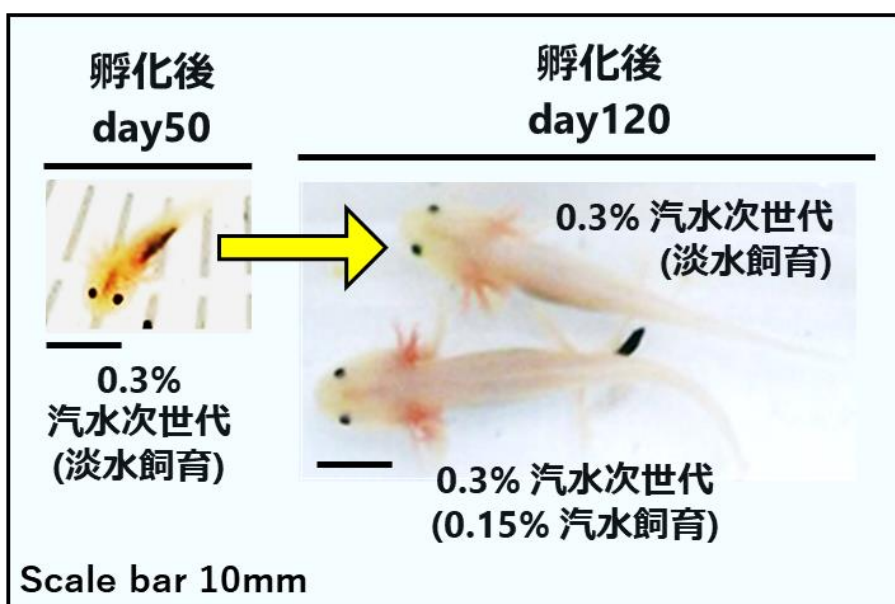
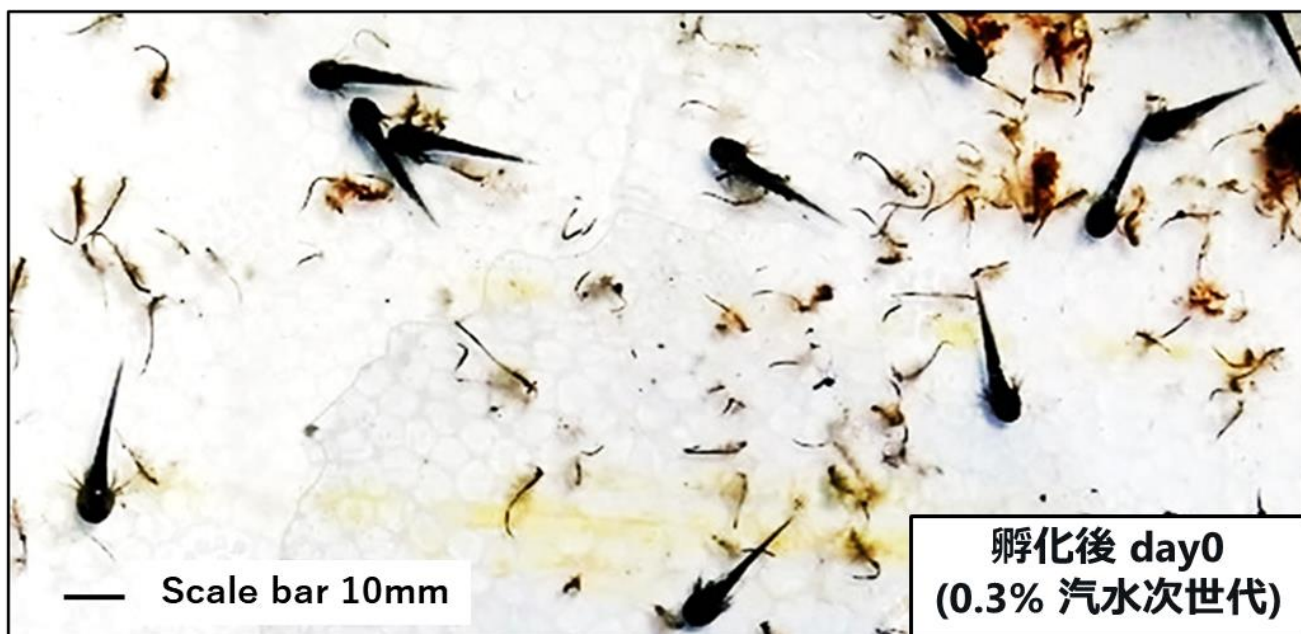
補足図 5-3: 飼育水槽における生餌由来の耐塩性の雑菌の存在率・存在比



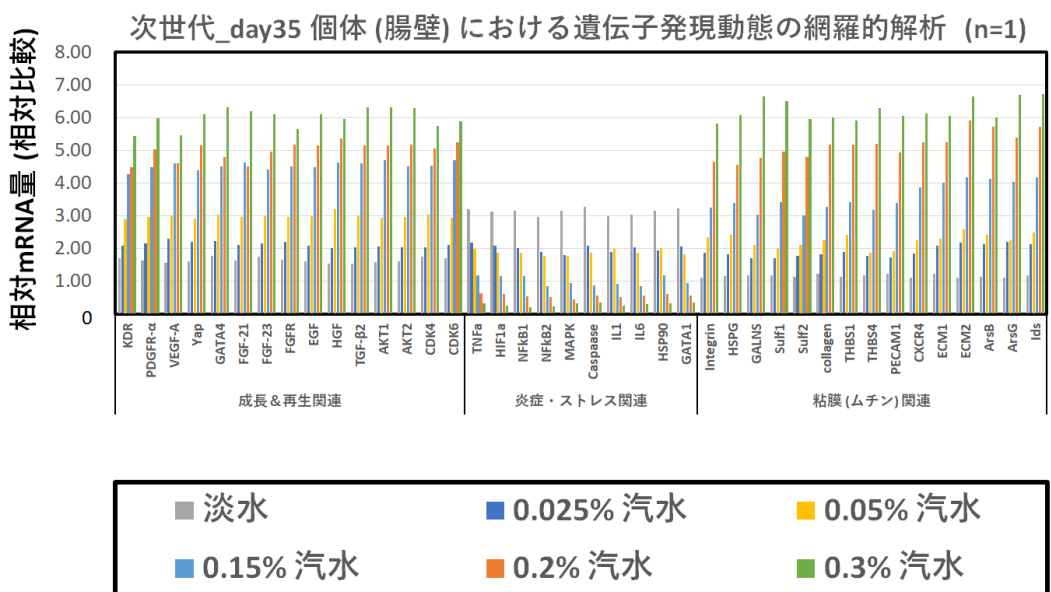
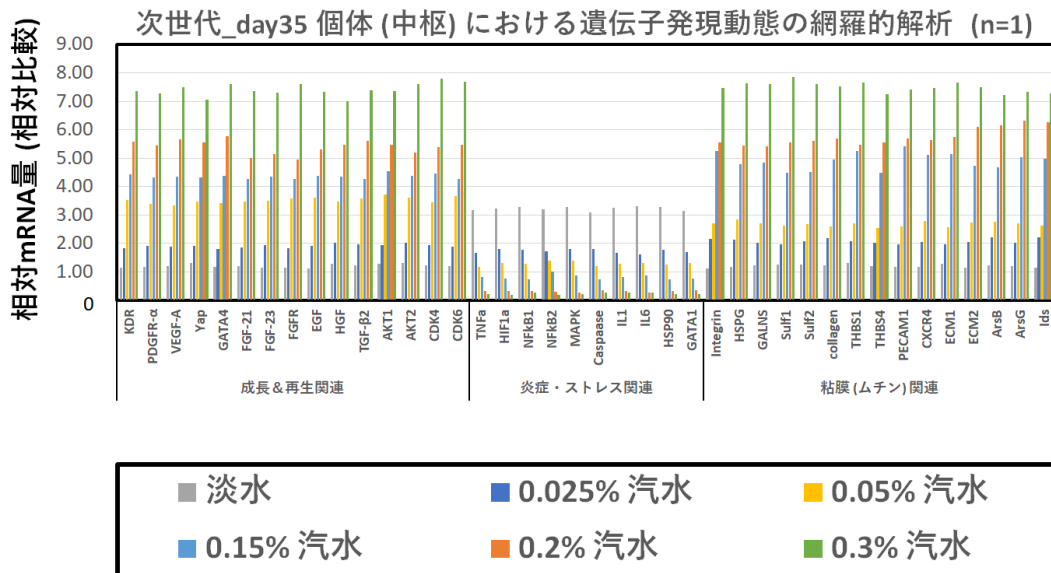
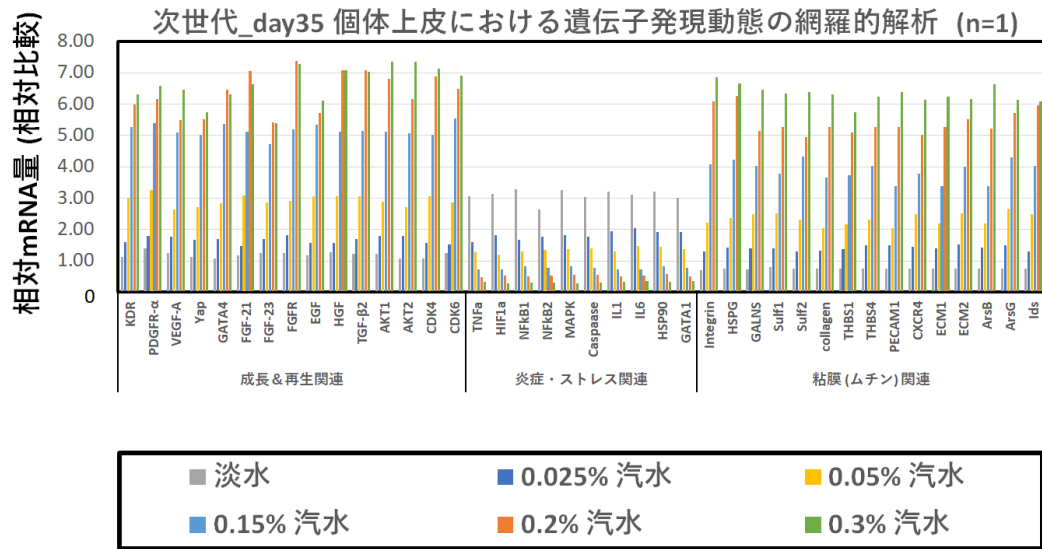
補足図 5-3: アホロートルの腸内における耐塩菌の塩分濃度依存的な存在比



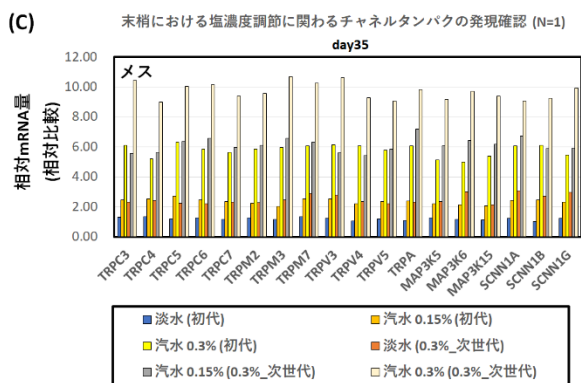
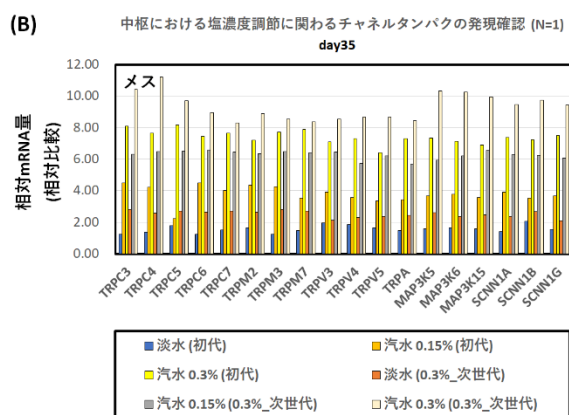
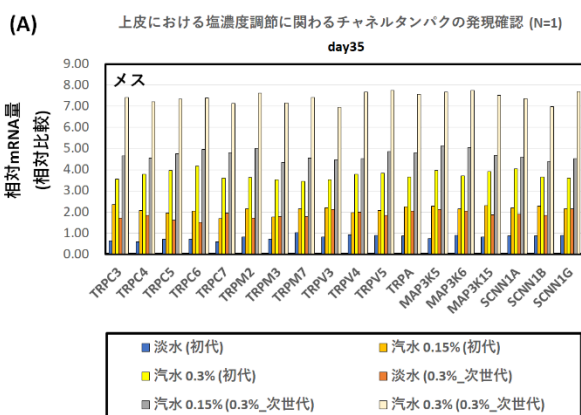
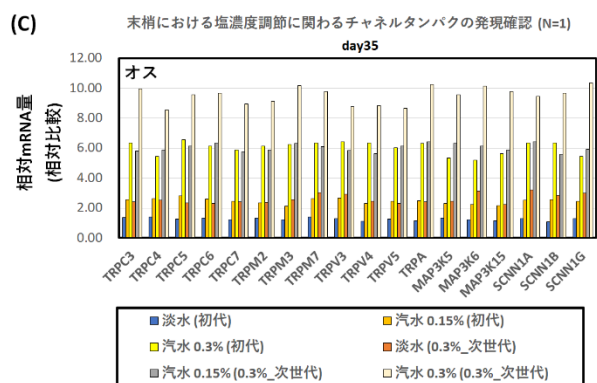
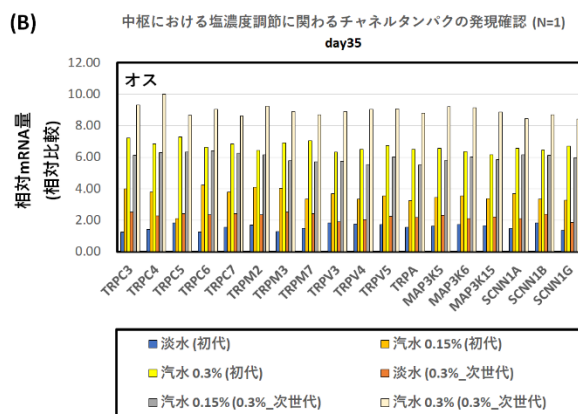
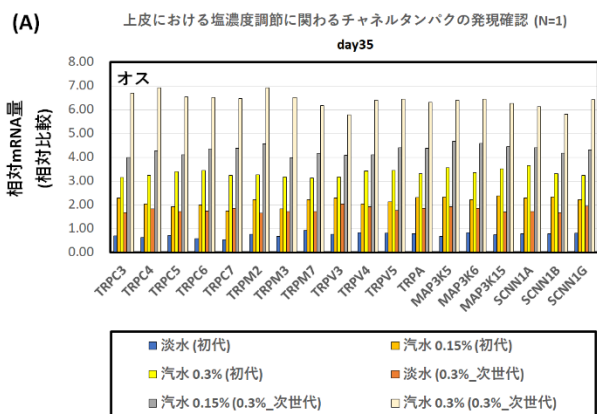
補足図 6: 換水刺激および汽水条件によって活性化される整腸作用



補足図 7: 汽水飼育次世代個体の成長率



補足図 8: 汽水飼育次世代個体の遺伝子の発現動態



補足図 9: 汽水飼育個体における塩分調節に関わる因子の発現動態

因子 1. TRP チャネル

Transient receptor potential (TRP) チャネルは、6 回膜貫通領域を有する TRP タンパク質群のホモあるいはヘテロ 4 量体によりなる多様な陽イオンチャネルである。TRP チャネルの活性化開口は、温度、機械刺激、痛み、酸-塩基といった種々の物理化学的刺激によって惹起され、多くが高い Na^+ および Ca^{2+} 透過能を示す。**様々な組織に TRP チャネルは分布するが、中枢・末梢神経系において高発現する。**神経機能に重要な役割を果たす TRP チャネルがいくつか存在しており、それらの機能障害は、神経変性疾患や精神疾患など様々な病気に関連している。

羊土社: 実験医学 2014 年 3 月号 Vol.32 No.4

TRP チャネルで感じるしくみ、動かすしくみ

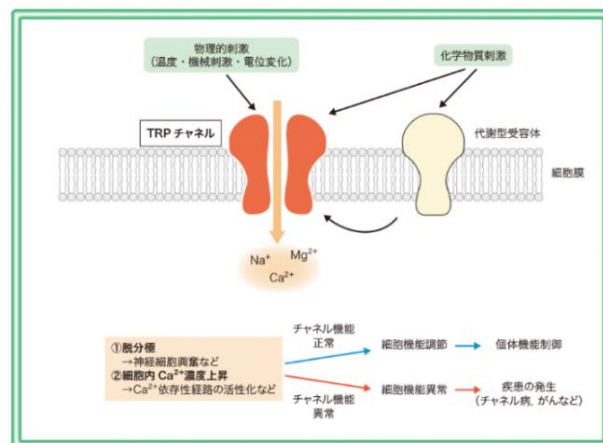
熱や痛みのセンサー機構解明と創薬の期待 富永真琴／企画

2014 年 02 月 20 日発行 B5 判 135 ページ

ISBN 978-4-7581-0125-7

・ <https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/book/9784758101257/504.html>

- ・ [TRP チャネルがさまざまな刺激に応答できる仕組み](#)
- ・ [Transient receptor potential チャネル - 脳科学辞典 \(neuroinf.jp\)](#)



概念図 1 TRP チャネルの機能

実験医学 2014年3月号 Vol.32 No.4

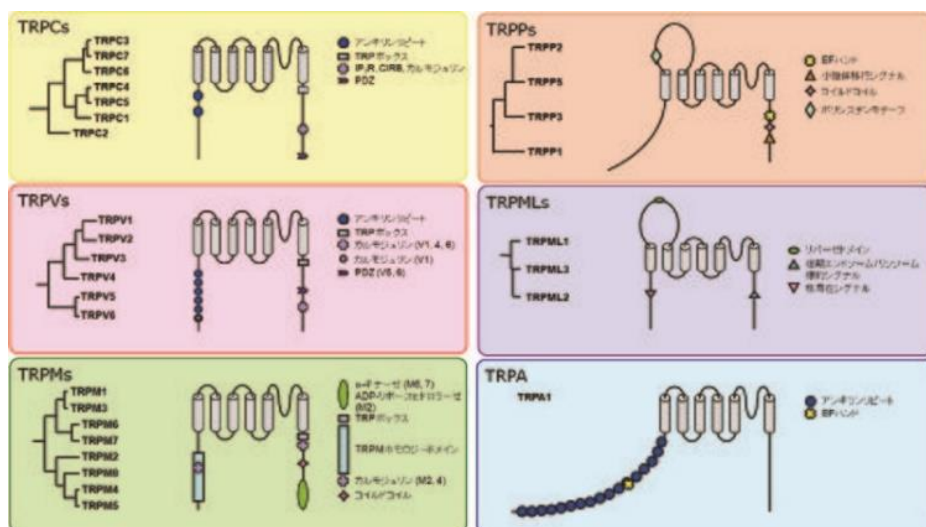
TRPV によるアホロートルの熱感知に関する論文

Shogo. H et al., *Nature Communications* (2023)

<https://www.nature.com/articles/s41467-023-38051-1>

TRP タンパク質の種類・・・7つのサブファミリー（メキシコサラマンダーでは 4 種類確認）

- ・ TRPC (canonical)・・・[Axolotl database](#)
- ・ TRPM (melastatin)・・・[Axolotl database](#)
- ・ TRPV (vanilloid)・・・[Axolotl database](#)
- ・ TRPML (mucolipin)・・・Axolotl database では確認できず。
- ・ TRPP (polycystin)・・・Axolotl database では確認できず。
- ・ TPRA (ankyrin)・・・[Axolotl database](#)
- ・ TRPN (nompC : no mechanoreceptor potential C)・・・Axolotl database では確認できず。



補足図 10: メキシコサンショウウオにおける TRP チャネルの発現について

因子 2. ENaC (上皮性ナトリウムチャネル)

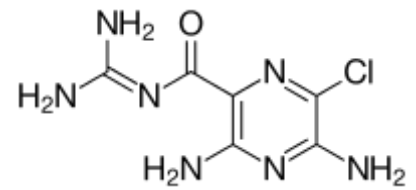
上皮性ナトリウムチャネル

(Epithelial sodium channel、略称: ENaC)

= アミロライド (右の構造式) 感受性ナトリウムチャネル

(amiloride-sensitive sodium channel)

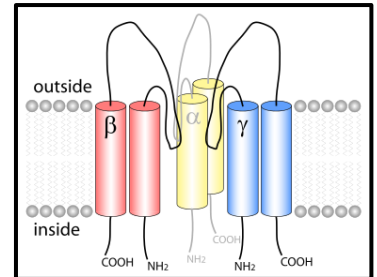
[上皮性ナトリウムチャネル - Wikipedia](#)



膜に結合したイオンチャネルで、ナトリウムイオン (Na^+) を選択的に透過させる。

3つの相同なサブユニット、 α (または δ)、 β 、 γ から構成されるヘテロ三量体のタンパク質。

サブユニットとコードする遺伝子: SCNN1A、SCNN1B、SCNN1G、SCNN1D



機能

- ・主に腎臓のネフロン集合管でのナトリウムイオンの再吸収に関与している。
- ・密着した上皮細胞の頂端膜に発現し、利尿作用のある遮断薬アミロライドに対する高い親和性を示す。
 - 体の塩分と水分の恒常性の維持に必須である、能動的な Na^+ 再吸収の最初期段階を媒介する。
- ・脊椎動物では、腎臓、腸、肺、汗腺でナトリウムの再吸収を制御する。
- ・味覚にも関与あり。

Axolotl genome browser (<https://genome.axolotl-omics.org/>)

Axolotl_SCNN1A

- ・ [database 1](#)
- ・ [database 2](#)

Axolotl_SCNN1B

- ・ [database 1](#)
- ・ [database 2](#)

Axolotl_SCNN1G

- ・ [database 1](#)

※ Axolotl_SCNN1D は存在せず。

補足図 11: メキシコサンショウウオにおける ENaC (上皮性ナトリウムチャネル) の発現について



(A): アカハライモリ (生体)



(B): エゾサンショウウオ (幼体)



(B'): エゾサンショウウオ (上陸後)



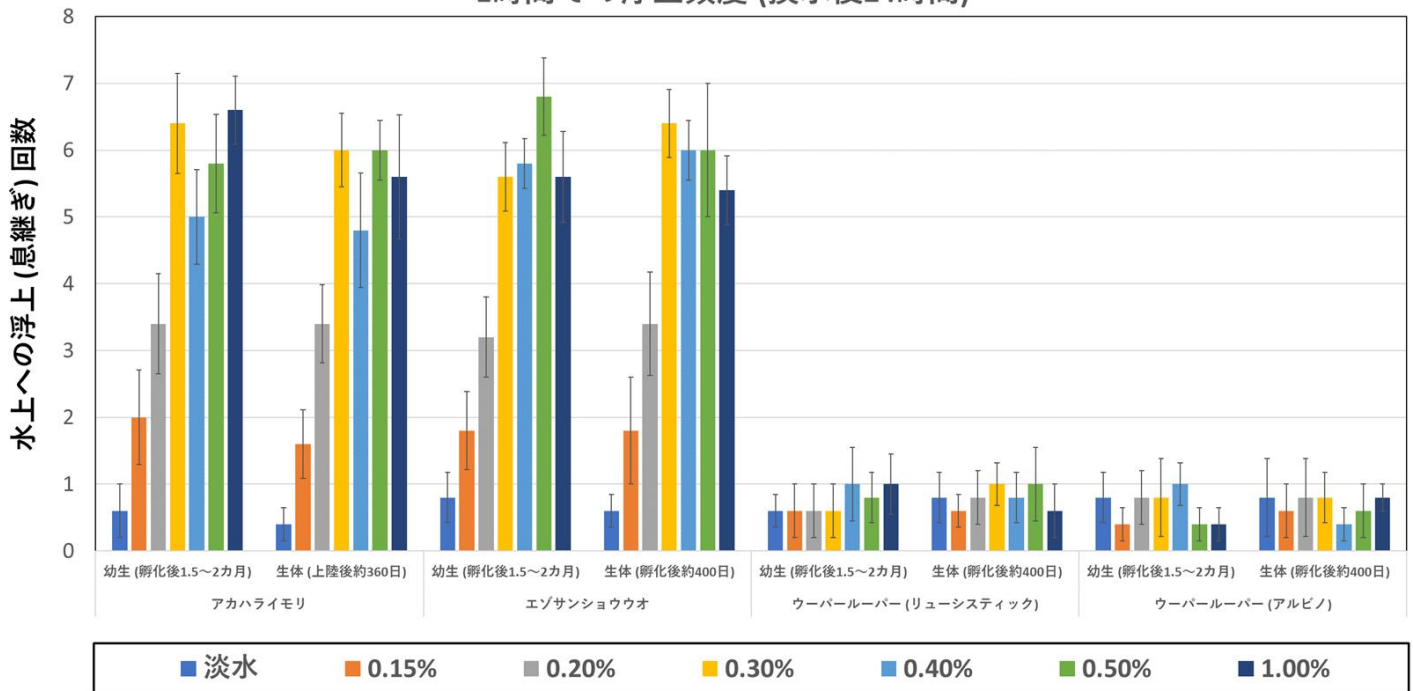
(C): メキシコサンショウウオ (幼生)



(C'): メキシコサンショウウオ (生体)

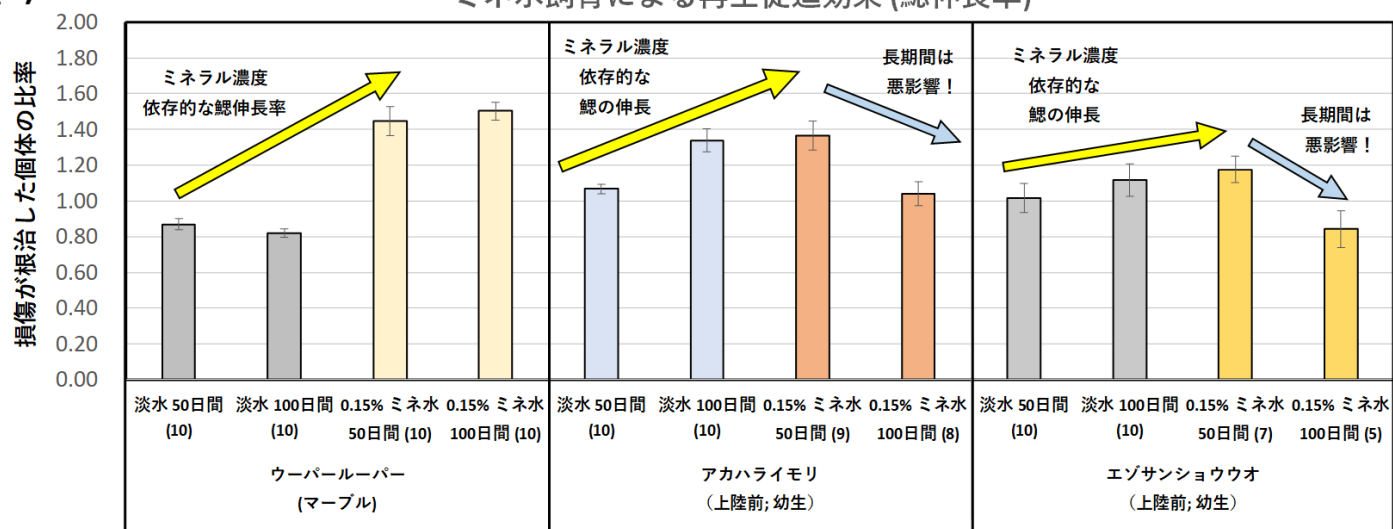
(D)

1時間での浮上頻度 (換水後24時間)

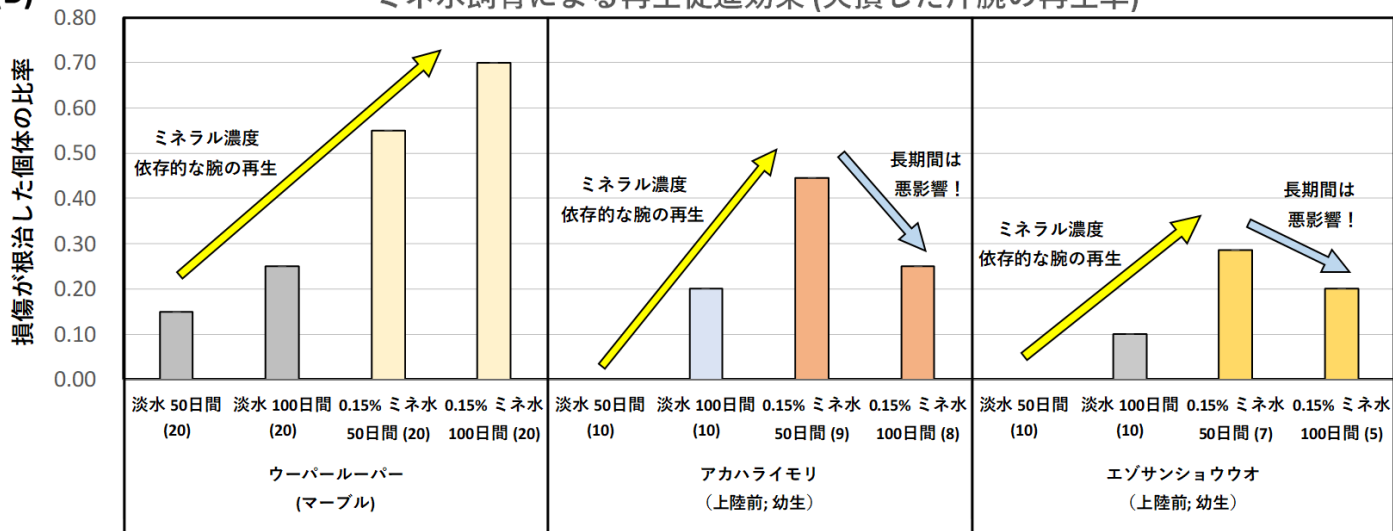


補足図 12: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ①

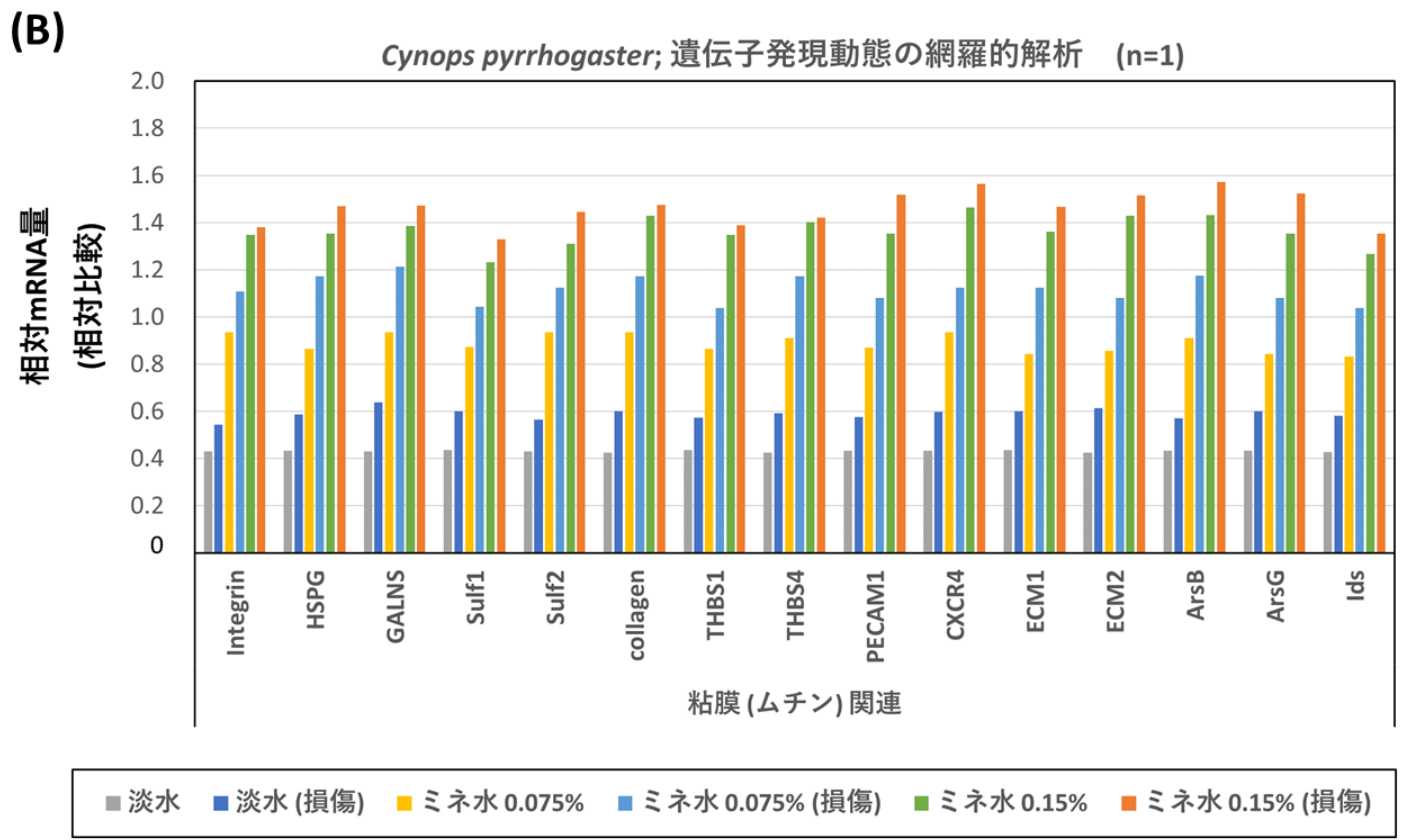
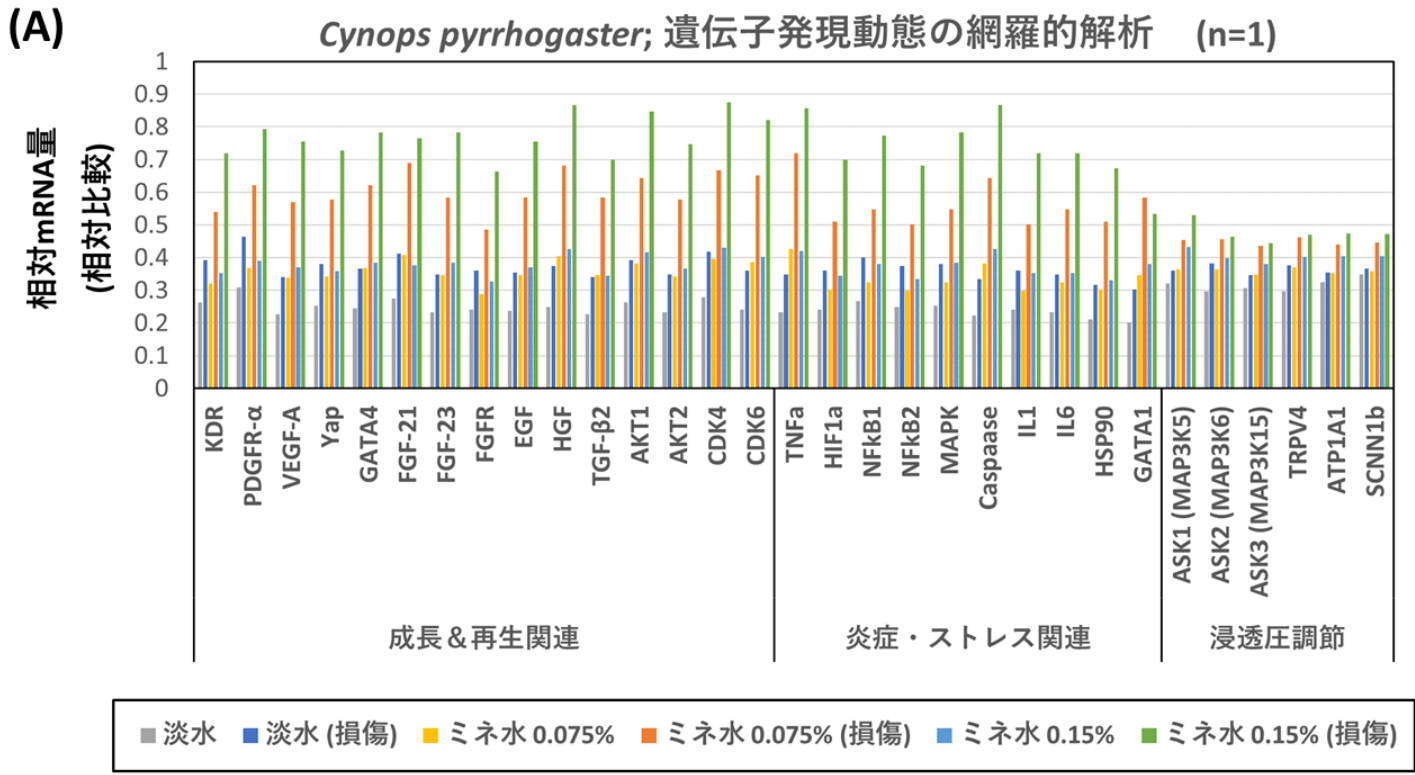
(A) ミネ水飼育による再生促進効果 (鰓伸長率)



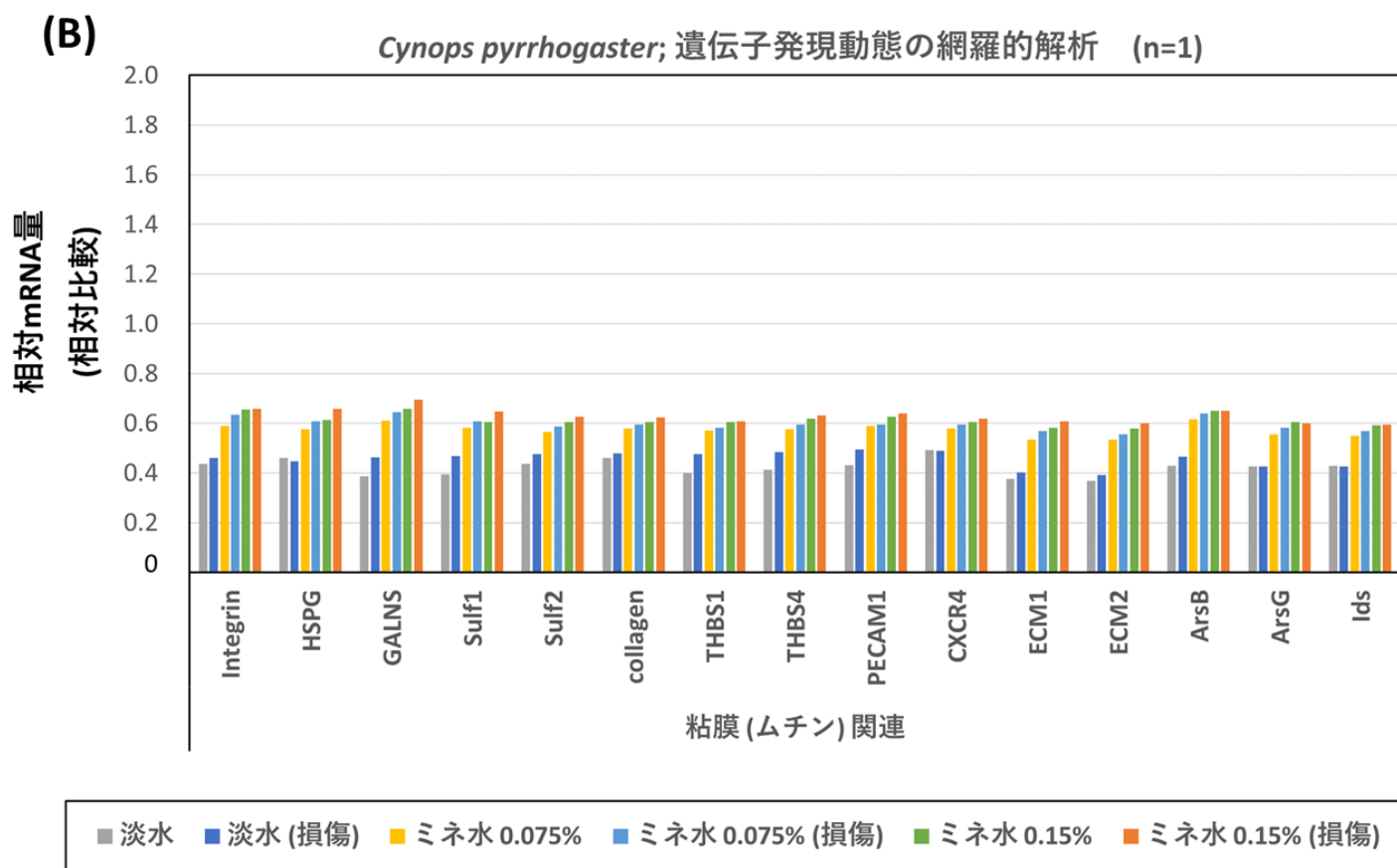
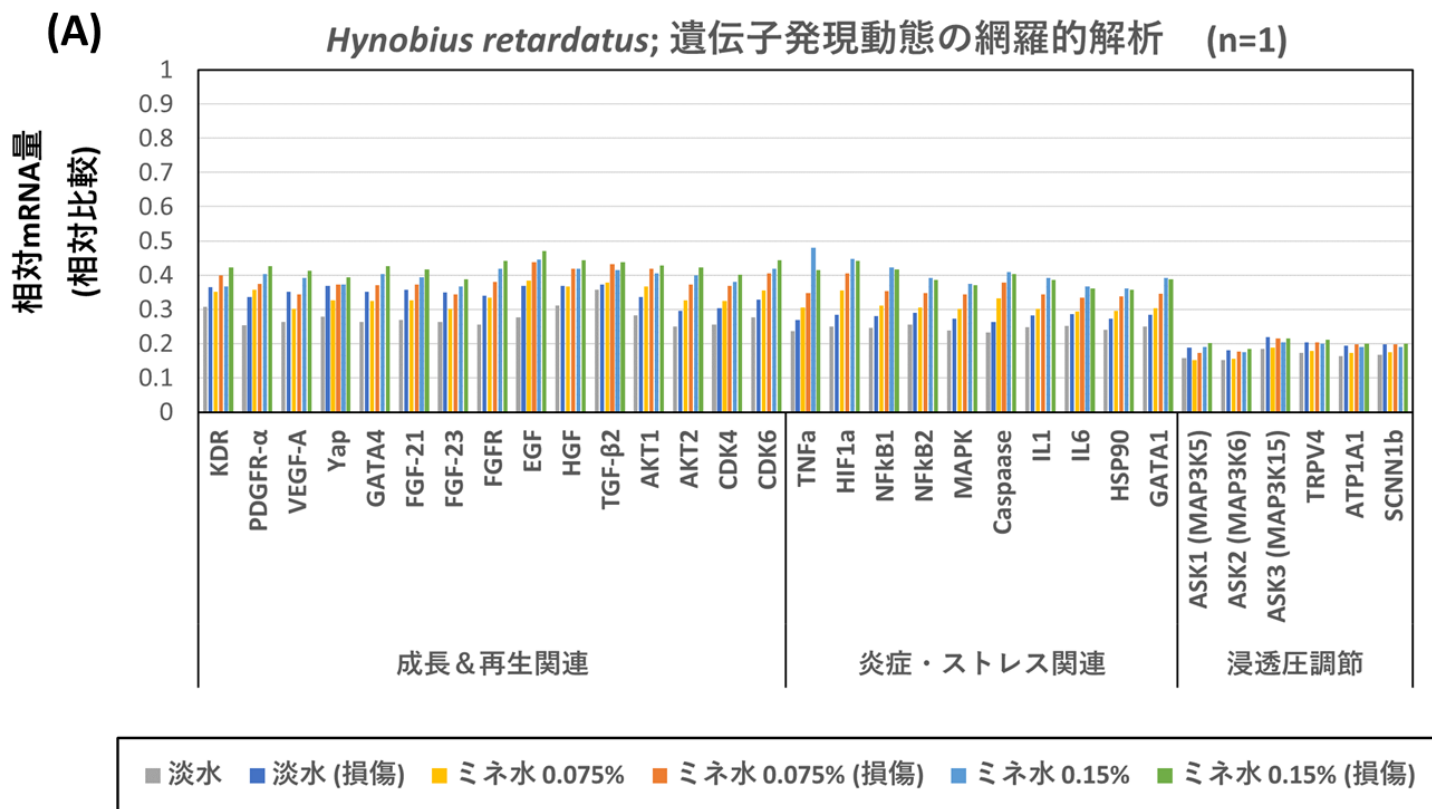
(B) ミネ水飼育による再生促進効果 (欠損した片腕の再生率)



補足図 13: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ②



補足図 14: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ③



補足図 15: イモリ・サンショウウオ類の塩水適応に関する調査結果 ④

参考文献 References

[1] アホロートルの生息地と塩の効果

【改訂版】総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～

杉山 遥 ほか 2023 年 4 月 19 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41527304

【研究発表】メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性

杉山 遥 2023 年 8 月 12 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43071118

アホロートルの飼育・治療最新情報

杉山 遥 2022 年 12 月 25 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/edit?limit=20&start=21

メキシコサンショウウオの成長・生育を制御する因子の探索.

> はるらぼ会報誌・ウーパールーパーだより vol 1.0, 1.2, 1.3

杉山 遥 2022 年 4 月. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41303617

渡部 久. 2018.ソチミルコにおけるウーパールーパーの保護.アミーゴ会だより

2018 年 7 月. 1-2. <http://www.mex-jpn-amigo.org/>

Susan T. Duhon. 1997. The Axolotl and its Naïve Habitat—Yesterday and Today. Axolotl Newsletter Number (Jordan Hall 407 Bloomington, IN 47405). 26. p14-17.

Cecilia Robles Mendoza. Claudia Elizabeth García Basilio. Ruth Cecilia Vanegas Pérez. 2009. Maintenance media for the axolotl *Ambystoma mexicanum* juveniles (Amphibia: Caudata). *Hidrobiológica* 19 (3): 205-210

R. Loh, BSc, BVMS, MPhil, MANZCVS, CertAqV. 2015. Common Disease Conditions in Axolotls. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings (The Fish Vet, Perth, WA, Australia). <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=7259254&pid=14365&print=1>

Kristen Meiler. 2016. Effect Of Salinity On Embryonic Axolotl Development. Proceedings of The National Conference On Undergraduate Research (NCUR). University of North Carolina Asheville Asheville, North Carolina April 7-9. p1209-1219

[2] 塩ストレス応答関連因子

***Drosophila* Rm62 (p68: RNA helicase)**

<https://flybase.org/reports/FBgn0003261.html>

<https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0B4K6T7/entry>

<https://string-db.org/network/7227.FBpp0078301>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5977223/>

<https://www.sdbonline.org/sites/fly/genebrief/rm62.htm>

オオムギ HVD1 遺伝子 (RNA 安定化による塩ストレス応答)

<https://patents.google.com/patent/JP2002034576A/ja>

Ddx5 DEAD box helicase 5 (mouse)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/13207>

<https://www.uniprot.org/citations/18923150>

<https://www.ptqlab.co.jp/products/DDX5,p68-Antibody-10804-1-AP.htm>

<https://www.informatics.jax.org/marker/MGI:105037>

Axolotl Ddx5 (RNA helicase)

[Ab205_0121330 \[nr\]|Ddx5 \[hs\]|AMEX60DDU001010528.1 at C0091322:43079-43451](#)

[Ddx5|AMEX60DD102031103.4 at chr3q:1134886835-1134901345](#)

[Lypa_23c009910 \[nr\]|Ddx5 \[hs\]|AMEX60DD102031103.7 at chr3q:1134886835-1134901345](#)

[Ddx5|AMEX60DD301031103.8 at chr3q:1134886841-1134901345](#)

[Ddx5|AMEX60DD301031103.1 at chr3q:1134886783-1134901345](#)

[Ddx5 \[nr\]|AMEX60DD103031103.2 at chr3q:1134886833-1134900265](#)

[Ddx5|AMEX60DD301031103.3 at chr3q:1134886833-1134901345](#)

[Ddx5|AMEX60DD301031103.5 at chr3q:1134886835-1134901345](#)

[Ddx5|AMEX60DD301031103.6 at chr3q:1134886835-1134901345](#)

ナトリウムポンプ (Na⁺/K⁺-ATPase)

[_pdf \(jst.go.jp\)](#)

[The ion channels and transporters gene expression profile indicates a shift in excitability and metabolisms during malignant progression of Follicular Lymphoma | Scientific Reports \(nature.com\)](#)

[ATP1A1 Gene - GeneCards | ATP1A1 Protein | ATP1A1 Antibody](#)

Gene (AT1A1)

[Atp1a1|AMEX60DD201046820.1 at chr7p:25783485-25795887](#)

[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD201046821.1 at chr7p:25797999-25804340](#)

[Loc100564542 \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD301046822.1 at chr7p:26396900-26497791](#)

[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD103046825.4 at chr7p:27410663-27444615](#)

[Atp1a1.s \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD103046825.5 at chr7p:27410777-27446317](#)

[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD301046823.1 at chr7p:26498062-26558400](#)

[Atp1a1.s \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD301046823.2 at chr7p:26498483-26558400](#)

[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD102046825.3 at chr7p:27410643-27468901](#)

[Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD102046884.5 at chr7p:48673209-48919028](#)

[Loc100564542 \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD201046884.6 at chr7p:48673312-48919028](#)



[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD301046825.1 at chr7p:27410633-27468901](#)

[Atp1a1.l \[nr\]|Atp1a1 \[hs\]|AMEX60DD103046825.2 at chr7p:27410636-27485429](#)

[Atp1a1|AMEX60DD201046884.1 at chr7p:48673195-48919028](#)

[Atp1a1|AMEX60DD201046884.2 at chr7p:48673199-48919028](#)

[Atp1a1|AMEX60DD201046884.3 at chr7p:48673202-48919028](#)

[Atp1a1|AMEX60DD201046884.4 at chr7p:48673209-48919028](#)

ASK (Apoptosis Signal-regulating Kinase 1)

[JST 基礎研究報告会 Abstract \(msd-life-science-foundation.or.jp\)](#)

[3] アホロートルの腸内細菌

【改訂版】腸内細菌と成長制御について_ウーパールーパー研究報告 (初稿: 22/10/31)

杉山 遥 2023 年 3 月 26 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322789

[4] 食中毒に関わるバクテリア類

雑菌による食中毒

・http://www.fureaikan.net/syokuinfo/01consumer/con02/con02_02/pdf/con02_02a.pdf

ヒスタミン食中毒

・[文献 1](#)

腸炎ビブリオ

・<https://www.kenko-kenbi.or.jp/columns/food/2015/>

・<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/438-vibrio-enteritis.html>

・<https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/shokuhin/micro/tyouen.html>

・<https://jsbac.org/youkoso/vibrioVulnificus.html>

カンピロバクター類

・<http://www.mac.or.jp/mail/060601/02.shtml>

・<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/sa/spiruria/392-encyclopedia/385-campylobacter-intro.html>

・<https://www.city.sasebo.lg.jp/hokenhukusi/seikat/2019campy1.html>

黄色ブドウ球菌

・文献 1 <https://jsbac.org/youkoso/staphylococcus.html>

・[文献 2](#)

・[文献 3](#)

レンサ球菌症

・https://www.www2.bioscience.co.jp/gyobyou/?page_id=36

アニサキス

・[文献 1](#)

・[文献 2](#)

・<https://www.nishiyama-naika.com/anisakis/>

クドア・セブテンブククタータ

・<http://www.iph.osaka.jp/s008/030/010/010/480/20180404182933.html>

乳酸菌と塩分

・[Taro10-食塩別漬物13.PDF \(pref.iwate.jp\)](#)

[5] TRP チャンネル: 参考文献

- 1) B. Nilius & G. Owsianik : Genome Biol., 12, 218(2011).
- 2) F. H. Yu, V. Yarov-Yarovoy, G. A. Gutman & W. A. Catterall : Pharmacol. Rev., 57, 387(2005).
- 3) D. J. Cosens & A. Manning : Nature, 224, 285(1969).
- 4) C. Montell & G. M. Rubin : Neuron, 2, 1313(1989).
- 5) M. Gees, B. Colasoul & B. Nilius : Cold Spring Harb. Perspect. in Biol., 2, a003962(2010).
- 6) D. E. Clapham : Nature, 426, 517(2003).
- 7) K. Venkatachalam & C. Montell : Annu. Rev. Biochem., 76, 387(2007).
- 8) T. Numata, D. Kozai, N. Takahashi, K. Kato, Y. Uriu, S. Yamamoto, T. Kaneko, T. Shinmoto & Y. Mori :
Seikagaku, 81, 962(2009).
- 9) A. Szallasi, D. N. Cortright, C. A. Blum & S. R. Eid : Nat. Rev. Drug Discov., 6, 357(2007).
- 10) J. Yao, B. Liu & F. Qin : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108, 11109 (2011).
- 11) M. Li, Y. Yu & J. Yang : Adv. Exp. Med. Biol., 704, 1(2011).
- 12) J. Kalia & K. J. Swartz : Sci. Rep., 3, 1523(2013).
- 13) Liao et al. : Nature, 504, 107(2013).
- 14) Cao et al. : Nature, 504, 113(2013).
- 15) M. Ihara, S. Hamamoto, Y. Miyanoiri, M. Takeda, M. Kainosho, I. Yabe, N. Uozumi & A. Yamashita :
J. Biol. Chem., 288, 15303(2013).
- 16) C. P. Palmer, X. L. Zhou, J. Lin, S. H. Loukin, C. Kung & Y. Saimi : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98, 7801(2001).
- 17) Z. Su, X. Zhou, S. H. Loukin, Y. Saimi & C. Kung : J. Membr. Biol., 227, 141(2009).
- 18) X. L. Zhou, S. H. Loukin, R. Coria, C. Kung & Y. Saimi : Eur. Biophys. J., 34, 413(2005).

[6] ENaC: 参考文献

1. Noreng, Sigrid; Bharadwaj, Arpita; Posert, Richard; Yoshioka, Craig; Baconguis, Isabelle (2018-09-25). "Structure of the human epithelial sodium channel by cryo-electron microscopy". *eLife* **7**:e39340. doi:10.7554/eLife.39340. ISSN 2050-084X.
2. "Epithelial sodium channel (ENaC) family: Phylogeny, structure-function, tissue distribution, and associated inherited diseases." *Gene* **579** (2): 95–132. (Jan 2016). doi:10.1016/j.gene.2015.12.061. PMC 4756657. PMID 26772908.
3. "Molecular properties of epithelial, amiloride-blockable Na⁺ channels". *FASEB Journal* **8** (8): 522–8. (May 1994). doi:10.1096/fasebj.8.8.8181670. PMID 8181670.
4. "Phylogenetic characterization of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) family". *Molecular Membrane Biology* **13** (3): 149–57. (1996). doi:10.3109/09687689609160591. PMID 8905643.
5. "Molecular cloning and functional expression of a novel amiloride-sensitive Na⁺ channel". *The Journal of Biological Chemistry* **270** (46): 27411–4. (Nov 1995). doi:10.1074/jbc.270.46.27411. PMID 7499195.
6. "Expression of epithelial sodium channel (ENaC) and CFTR in the human epidermis and epidermal appendages". *Histochemistry and Cell Biology* **147** (6): 733–748. (January 2017). doi:10.1007/s00418-016-1535-3. PMID 28130590.
7. "Epithelial sodium channels (ENaC) are uniformly distributed on motile cilia in the oviduct and the respiratory airways". *Histochemistry and Cell Biology* **137** (3): 339–53. (March 2012). doi:10.1007/s00418-011-0904-1. PMID 22207244.
8. "Localization of epithelial sodium channel (ENaC) and CFTR in the germinal epithelium of the testis, Sertoli cells, and spermatozoa". *Journal of Molecular Histology* **49** (2): 195–208. (February 2018). doi:10.1007/s10735-018-9759-2. PMID 29453757.
9. "+channels (ENaC) in vasopressin magnocellular neurosecretory neurons in the rat supraoptic nucleus". *The Journal of Physiology* **595** (17): 5857–5874. (September 2017). doi:10.1113/JP274856. PMC 5577521. PMID 28714095.
10. "Epithelial sodium channel: a ligand-gated channel?". *Nephron Physiology* **96** (2): 37–41. (2004). doi:10.1159/000076406. PMID 14988660.
11. "Ptychotropism as a cutaneous feature of the CHILD syndrome". *Journal of the American Academy of Dermatology* **23** (4 Pt 1): 763–6. (Oct 1990). doi:10.1016/0190-9622(90)70285-p. PMID 2229513.
12. "ASIC and ENaC type sodium channels: Conformational states and the structures of the ion selectivity filters". *FEBS Journal* **284** (4): 525–545. (2017). doi:10.1111/febs.13840. PMID 27580245.
13. "Functional domains of the epithelial sodium channel". *Journal of the American Society of Nephrology* **16** (11): 3175–81. (Nov 2005). doi:10.1681/ASN.2005050456. PMID 16192417.
14. "Identification of the roles of conserved charged residues in the extracellular domain of an epithelial sodium channel (ENaC) subunit by alanine mutagenesis". *American Journal of Physiology. Renal Physiology* **300** (4): F887–97. (Apr 2011). doi:10.1152/ajprenal.00648.2010. PMID 21209000.
15. Noreng, Sigrid; Bharadwaj, Arpita; Posert, Richard; Yoshioka, Craig; Baconguis, Isabelle (2018-09-25). "Structure of the human epithelial sodium channel by cryo-electron microscopy". *eLife* **7**: e39340. doi:10.7554/eLife.39340. ISSN 2050-084X.
16. "Structure of acid-sensing ion channel 1 at 1.9 Å resolution and low pH". *Nature* **449** (7160): 316–322. (2007). doi:10.1038/nature06163. PMID 17882215.
17. "Conserved charged residues at the surface and interface of epithelial sodium channel subunits--roles in cell surface expression and the sodium self-inhibition response". *The FEBS Journal* **281** (8): 2097–111. (Apr 2014). doi:10.1111/febs.12765. PMID 24571549.

18. "Membrane topology of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel". *The Journal of Biological Chemistry* **269** (39): 24379–83. (Sep 1994). [PMID 7929098](#).
19. "[ATP-gated P2X Receptor Cation Channel \(P2X Receptor\) Family](#)". *Functional and Phylogenetic Classification of Membrane Transport Proteins*. Saier Lab. Group, UCSD and SDSC. 2019 年 11 月 19 日閲覧。
20. "[Phylogenetic characterization of transport protein superfamilies: superiority of SuperfamilyTree programs over those based on multiple alignments](#)". *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **21** (3–4): 83–96. (2011). [doi:10.1159/000334611](#). [PMC 3290041](#). [PMID 22286036](#).
21. "Gene structure of the human amiloride-sensitive epithelial sodium channel beta subunit". *Biochemical and Biophysical Research Communications* **252** (1): 208–13. (Nov 1998). [doi:10.1006/bbrc.1998.9625](#). [PMID 9813171](#).
22. "Increased airway epithelial Na⁺ absorption produces cystic fibrosis-like lung disease in mice". *Nature Medicine* **10** (5): 487–93. (May 2004). [doi:10.1038/nm1028](#). [PMID 15077107](#).
23. "[Transgenic hCFTR expression fails to correct β-ENaC mouse lung disease](#)". *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* **302** (2): L238–47. (January 2012). [doi:10.1152/ajplung.00083.2011](#). [PMC 3349361](#). [PMID 22003093](#).
24. "Ion transporting proteins of human bronchial epithelium". *Journal of Cellular Biochemistry* **113** (2): 426–32. (Feb 2012). [doi:10.1002/jcb.23393](#). [PMID 21975871](#).
25. [Ion Channel Diseases](#)

Axolotl SCNN1A

[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.4 at C0004172:108543-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.8 at C0004172:111344-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.10 at C0004172:129477-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.1 at C0004172:22097-216718](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.2 at C0004172:108488-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.3 at C0004172:108504-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.5 at C0004172:108684-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.6 at C0004172:108686-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.7 at C0004172:108824-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.9 at C0004172:129414-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.12 at C0004172:138984-332503](#)
[Enac \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DDU001000376.13 at C0004172:159940-332503](#)
[Dr999_pmt02691 \[nr\]|Scnn1a \[hs\]|AMEX60DD201051246.1 at chr8p:443762650-443913016](#)

[7] 食品衛生関連

- ・[食品](#) | [厚生労働省 \(mhlw.go.jp\)](#)
- ・[食品衛生法](#) | [e-Gov 法令検索](#)

FBS_Ph.D 勉強会・研究発表 ～メキシコサラマンダーにおける 腸内細菌と成長制御～



CC-BY-NC-ND;
本資料の許可なき
改変・売買・再配布禁止.



2023/3/25

杉山 遥 (Ph D)*

*ウーパールーパー研究室はるらぼ__HAL_Lab_Axolotl

ウーパールーパー(アホロートル)とは？

学名: メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)

ウーパールーパーの生態

分類

- 両性綱有尾目トラフサンショウウオ科トラフサンショウウオ属
- 有尾類

別名

- アホロートル
- メキシコサラマンダー

幼体のまま成長
||
幼形成熟(ネオテニー)

そとえら
外鰓

特徴

- 再生能力が高い
- 7日～40日程度
- 手足のみならず臓器や目も

絶滅危惧IA類(CR)に指定されている

↳ 生息地の減少・水質悪化・外来種の食害

野生の個体はわずか100匹程度

原産地 メキシコ・ソチミルコ湖

体の色 品種改良により5種

- リュウシスティック...ピンクがかった白・黒目
- アルビノ...ピンクがかった白・赤目
- ゴールデン...黄色
- マーブル...黒褐色の斑点
- ブラック...黒

生活環境 生涯水中

変態すれば陸上生活のケースも

少しずつ陸に慣らす

甲状腺ホルモンを注射

寿命

通常10年以上

陸生化すると3～5年に短くなる

<https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>

ウーパールーパー(アホロートル)とは？

学名: メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*)



<https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>

愛玩動物としてのウーパールーパー

野生型 (WT)

マーブル



リューススティック



ブラック

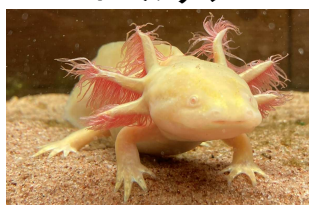


アルビノ系統

アルビノ



ゴールドデン

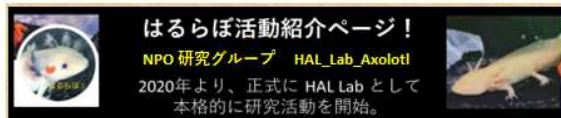


イエロー



NPO: ウーパールーパー研究室・はるらぼ

2020年より、正式に HAL Lab として本格的に研究活動を開始。



https://twitter.com/lab_new2

ウーパールーパーって、
可愛いですよ☆



自己紹介

来歴

杉山 遥: 男性 1987年生れ (35歳)
 幼少時代より研究者を志す
 ～2017年 学士・修士 (ショウジョウバエ → ES/iPS細胞)
 2020年 3月 博士号 (理学・生物学) 取得
 2020年 ポスドク (非常勤) + 私大の実習担当講師 (非常勤)
 2021年～ 製薬会社研究員・ポスドク (非常勤) → (無給)
 2022年 ポスドク (無給) + 一部上場企業の研究職

NPO設立の経緯

2018年～ ウーパールーパーの飼育に興味を持つ
 2019年～ 知人との話の中で、海外で実例のある個人研究活動に触れ、
 自らもその可能性を考えるようになる。
 2019～2020 “はるらぼ” の事実上設立・運営開始。
 2021年より本格始動, 複数の研究報告・発表を達成。
 2022年 **第45回 分子生物学会年会 (幕張メッセ) にて2演題を発表**
 2023年 **これまでの研究内容や飼育案内を書籍化・公表開始**

何故ウーパールーパーなのか？

睡眠や成長制御の関連遺伝子や作用機序等、
アホロートルでは殆ど解明されていない。
(研究テーマのブルーオーシャン)

また、昨今の環境保全や SDGs の観点からも、
テーマ推進の価値が非常に高いと考えている。

目的：アホロートルの成長メカニズムについて明らかにする。
意義：生態を理解することで、絶滅から救う糸口が掴める。



<実験課題>
アホロートルの成長にとって
必要な因子は何か？



<実験内容>
成長率を定量して同定する

ウーパールーパー研究室・はるらぼ

現在の主な取り組み (メキシコサンショウウオ生態研究部)

- ・ウーパールーパー (アホロートル) の飼育条件のアップデート
- ・アホロートルの栄養と成長制御機構の解明
- ・生存競争・生育密度と成長の関係性
- ・魚類における未知の成長制御・発生調節機構の解明
- ・昆虫との相関 (主にショウジョウバエ、フタホシコオロギ)
- ・**両生類の腸内フローラと成長制御に関する調査**



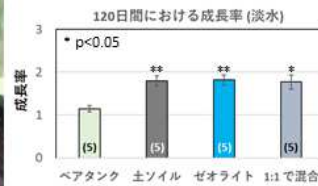
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



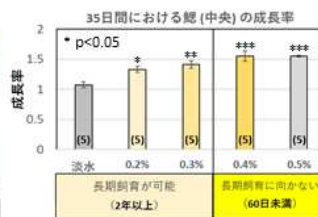
(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



(D) 汽水浴開始時の鰻



(D') 汽水浴 (0.2~0.5%) で
約1ヶ月飼育後の鰻



(E) 汽水環境下での鰻の成長率
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

→ 2022年末～ 汽水飼育次世代が無事誕生。調査開始!

成長制御に重要な因子のスクリーニング

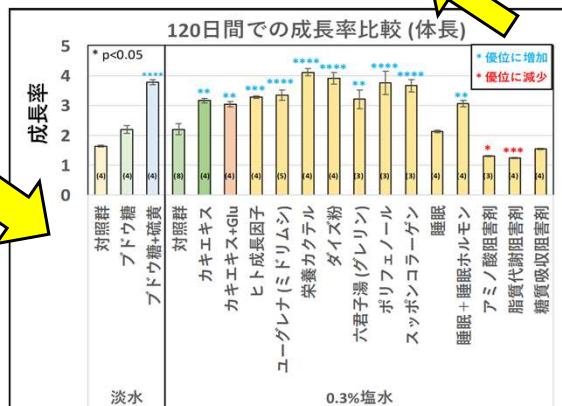
タンパク質 (アミノ酸),
脂質 (脂肪), 糖質 等に注目

ビタミンB, D 群,
グリシン, アルギニン,
鉄分, 亜鉛 など

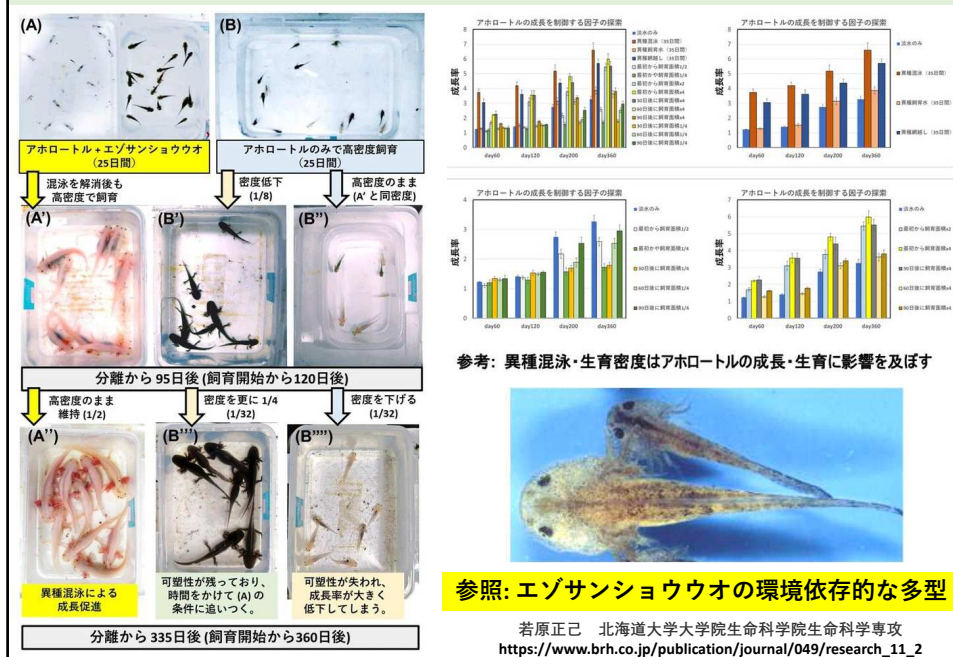


カキ粉末

グルタミン酸Na
(要は "味の素")



異種混泳および生育密度が成長に与える影響



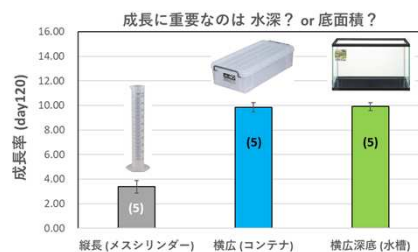
異種混泳・飼育密度 最新報告

飼育開始から630日目; 約21ヶ月
(分離から605日目)

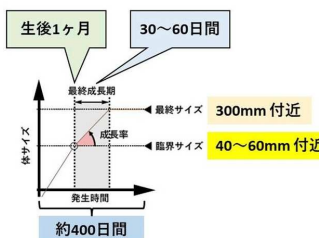
ウーパールーパー 単独飼育 エゾサンショウウオと混泳した個体



生育には底面積の広さが重要



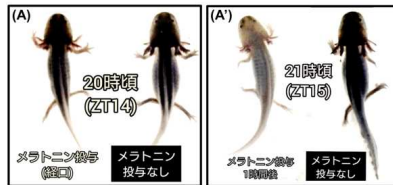
アホロートル (ウーパールーパー) の場合



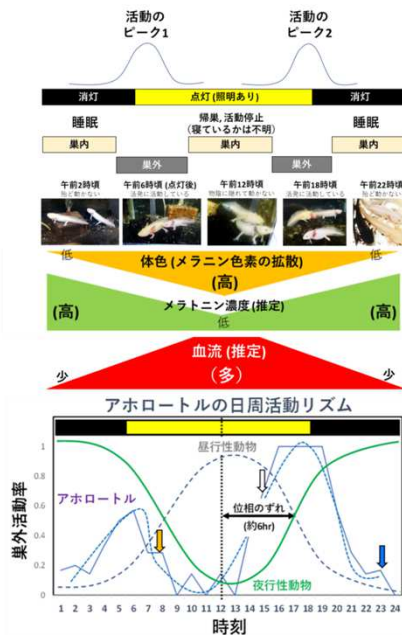
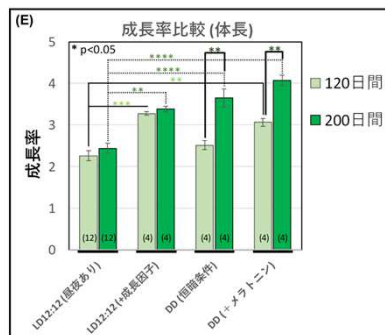
参考: ウーパールーパーの生育密度依存的な成長制御に関する可塑性モデル図

前回の発表: ウーパールーパーの睡眠

アホロートルは
睡眠導入因子メラトニンに反応する



* 2-3mg 程度を経口摂取させた。



これまでの知見のまとめ

生息地

塩水域

混入

汽水域

淡水域

+

良質な睡眠
(暗条件)

近縁種と共存 and/or 単独での生息



タンパク質> アミノ酸>
タウリン、アルギニン

金属イオン> 鉄分、亜鉛、
長鎖不飽和脂肪酸 など

書籍・会報誌 編纂および情報発信

研究論文のまとめ
・研究の公知化

一般飼育者向けの案内を含む
総説・情報共有



➡ 2023年3月～ **フルカラー冊子の販売開始！** (¥3000～6500)

当ラボの無料記事掲載ページ

2022年末、
研究者ポータルサイト Researchmap のページを開設！
https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolot/



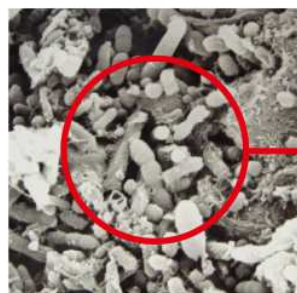
**“論文・著作物”のタブから、当ラボ全ての
関連記事・論文の無料ダウンロード・引用が可能.**

今回のテーマ メキシコサンショウウオにおける腸の活動

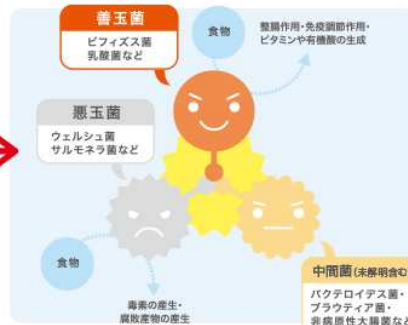
腸内フローラ(フロラ=腸内細菌叢)

私たちの腸の中には数百～千種類、数百兆個以上の細菌がすんでおり、これらの腸内細菌は特に小腸の終わりから大腸にかけて多くすみ着いています。腸内細菌はそれぞれに小さな集合体をつくってお互いのバランスを取っていると考えられ、それを植物が群れている様子になぞらえて「フローラ(植物相)」と呼んでいます。

【腸内細菌の関係】



成人の糞便菌叢の電子顕微鏡写真



POINT!

腸内細菌叢は善玉菌、悪玉菌および中間菌のせめぎあいです。

森永乳業HP <https://bifidus.jp/relation/>

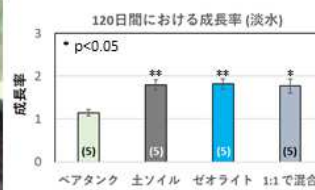
生育・成長に適した飼育(生育)環境の調査



(A) ペアタンク
(=底砂なし)



(B) ソイル(土, 砂)を加えて
自然界に近づけた環境



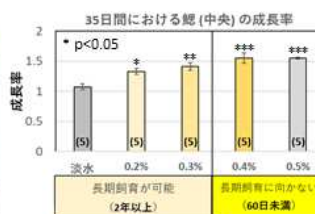
(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



(D) 汽水浴開始時の鯉



(D') 汽水浴(0.2~0.5%)で
約1ヶ月飼育後の鯉



(E) 汽水環境下での鯉の成長率
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

→ 2022年末～ 汽水飼育次世代が無事誕生。調査開始!

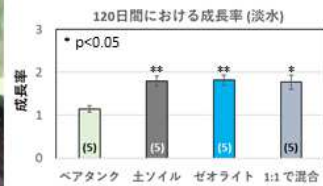
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

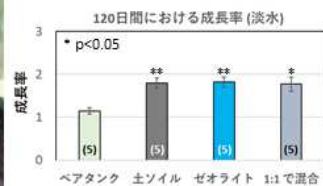
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

何故？

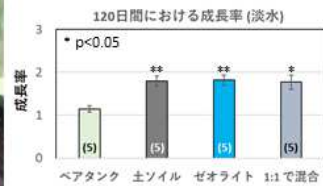
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(=底砂なし)



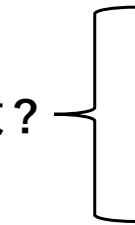
(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

何故？



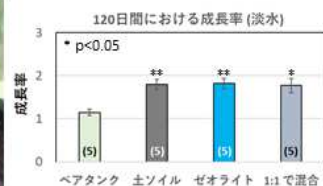
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(=底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

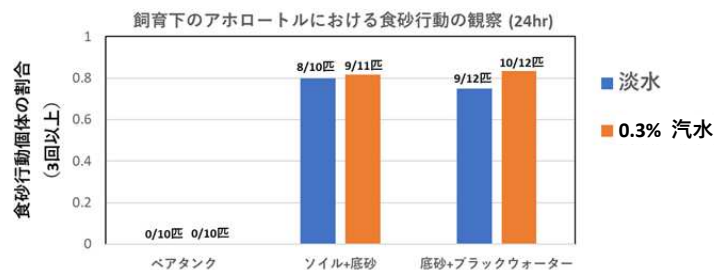


図3: 底砂と触れているアホロートルは食砂行動を示す
ソイルと触れている個体は複数回の食砂行動を示したことから、底砂を摂取することは生育を促進している可能性が示唆された。

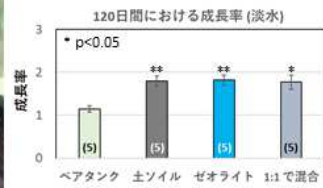
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

何故？ { 食砂行動

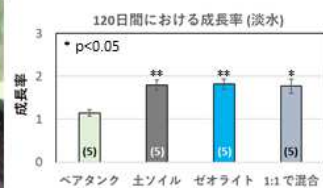
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(= 底砂なし)



(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

何故？ { 食砂行動 → 物理的な餌の消化補助

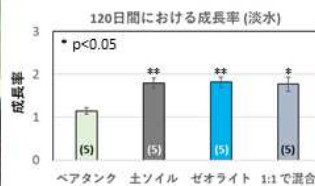
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ペアタンク
(=底砂なし)

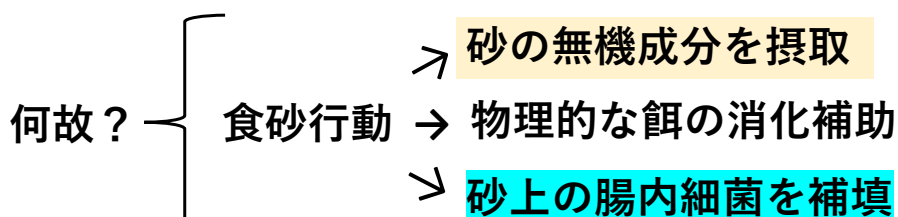


(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進



底砂中に含まれる無機成分 (ミネラル) は生育に必要

The Axolotl Newsletter

Issue number 26 Fall, 1997

The Axolotl Newsletter is prepared at the Indiana University Axolotl Colony, Bloomington, Indiana 47405. The Newsletter is distributed free of charge and is supported, in part, by funds from the National Science Foundation. This Newsletter should not be regarded as a publication. Cite only with specific permission of the author of the article.

L.U. Axolotl Colony

Director: George M. Malacinski
Assistant Director: Susan T. Duhon
Curator: Sandra J. Berland
Editor: Axolotl Newsletter: Susan T. Duhon

The Axolotl and its Native Habitat — Yesterday and Today
Susan T. Duhon 14



Contents

Axolotl Newsletter Number 26 p.16

which they called the Laguna de Mexico. In addition, a causeway or dike crossing from north to south through Tlahuac separated Xochimilco from Chalco (Sanders, et al., 1979). During the Aztec period nearly the entire Xochimilco-Chalco basin was devoted to chinampas horticulture, as was the Laguna de Mexico around Tenochtitlan. Also, as a result of the Aztec waterworks, saline water was largely prevented from entering the southern lakes, even during periods of flood (Armillas, 1971).

Thus the habitat of the axolotl was significantly affected during the period of the Aztec empire in at least two ways: first, by the spread of the chinampas, which involved the construction of ditches and islands, and second, by the construction of waterworks which controlled water levels and prevented the incursion of salt water into the axolotl habitat. Its habitat may have been enlarged as well by the expansion of fresh water horticulture into the district around Tenochtitlan. The impact that these historical changes had on the species can only be speculated upon.

The chinampas system and the Aztec waterworks were at their peak when the Spanish Conquistadores arrived in 1519. What

VARIABLES	N
Temperature	37
pH	6.5
TDS	300
Hardness	200
Ca	100
Mg	100
Na	100
K	100
Cl	100
SO ₄	100
NO ₃	100
NO ₂	100
Fe	100
Cu	100
Zn	100
Mn	100
Co	100
Ni	100
Pb	100
Cd	100
Hg	100
As	100
Se	100
Cr	100
B	100
Mo	100
V	100
Sb	100
Te	100
Bi	100
Po	100
At	100
Rn	100
Ac	100
Th	100
Pa	100
U	100
Np	100
Pu	100
Am	100
Cm	100
Bk	100
Cf	100
Es	100
Fm	100
Md	100
No	100
Lr	100

図 1: 野生のアホロートルの生育には汽水・硬水の環境が好ましい

表 1 粘土鉱物の陽イオン交換容量

粘土鉱物	理想式	陽イオン交換容量 (eq/kg)
パーミキュライト	$K_{1.1}Al_2Si_2Al_{0.9}Fe_{0.1}Mg_{0.4}O_8(OH)_4$	1.0~1.5
モンモリロナイト	$K_{0.5}Al_2Si_2Al_{0.5}Fe_{0.5}Mg_{0.4}O_8(OH)_4$	0.7~1.2
緑泥石	$Fe_2Mg_4(OH)_2Si_4Al_4O_{20}(OH)_4$	0.1~0.4
アタパルジャイト	$Mg_2Si_4O_{10}(OH)_2(H_2O)_4$	0.2
ハロイサイト	$Si_4Al_4O_{20}(OH)_4(H_2O)_4$	0.05~0.5
カオリナイト	$Si_4Al_4O_{20}(OH)_4$	0.03~0.15



(D) 汽水浴開始時の鰓



(D') 汽水浴 (0.2~0.5%) で
約1ヶ月飼育後の鰓

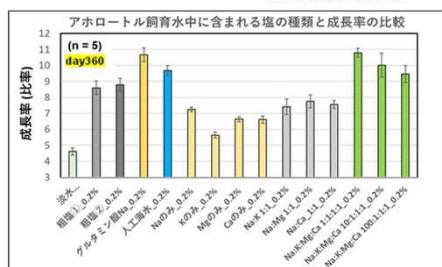


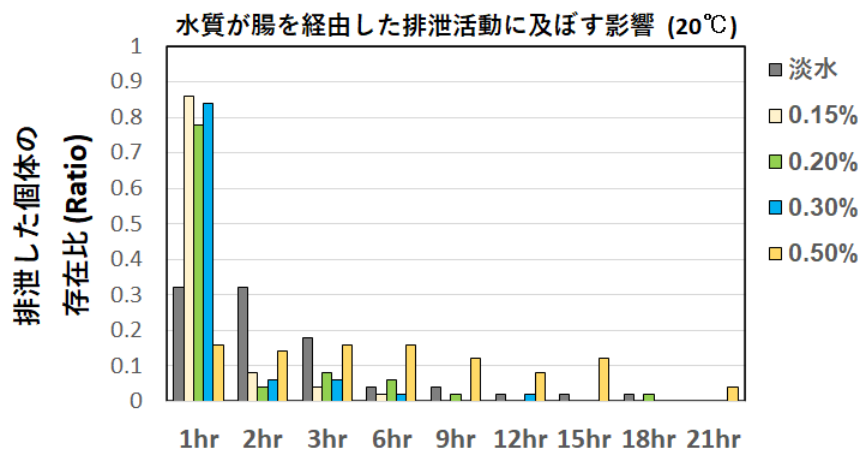
図 2: 塩類を添加することでアホロートルの成長は促進される。

汽水・硬水環境は メキシコサラマンダーの腸機能を活性化する

汽水環境 (0.15～0.3%), 高水温, 換水刺激



排便 (腸活) 促進効果を示す。



底砂・底泥の中には**ヒューミン (腐食酸)**と **分解者 (濾過バクテリア・真菌類・藻類など)**が存在する

フルボ酸は有限資源？

フルボ酸は、自然界では微量にしか生産されない貴重な資源で、通常は腐植土層に多く存在します。

腐植土層とは、森林生態系において地上部の動植物により生産された有機物が堆積し、微生物により分解されて土状になったものです。

自然界では1cm形成するのに100年の時間を要します。尚、腐植には土ではありません。



この腐植土の中で、微量にしか生産されないものが「フルボ酸」です。

【フルボ酸とフミン酸の違い】

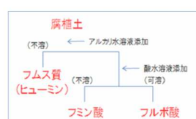
フルボ酸とフミン酸はともに腐植物質(ヒューミン)といわれ、有機物質、特に植物の分解で作り出されます。どちらもキレート力(つかむ力)がありますが、その能力には雲泥の差があり、フルボ酸がキレート能力でミネラルやアミノ酸を選び、さらに過剰なミネラルを排出する働きがあることに比べ、フミン酸には一過性の単発能力しかありません。

A: フミン酸

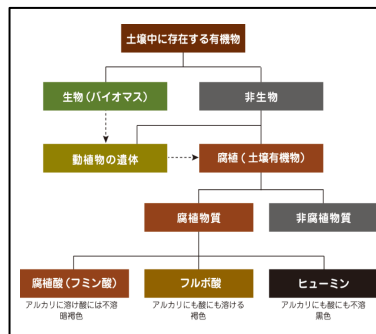
アルカリ水溶液に可溶するアルカリ物質で、色素が濃く暗色物質といわれる。

B: フルボ酸

酸性溶液に可溶な酸性物質で、土壌では「金にも勝る物質」と言われるほど希少価値が高く、黄金色に輝く黄金物質。キレート力にも優れ、フミン酸に比べ効果が高い。



腐植物質(ヒューミン)イメージ



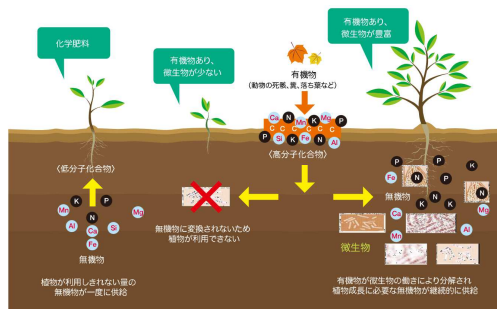
<https://furubo.net/fulvic/>

フミン酸・フルボ酸とは | 株式会社ケーツーコミュニケーションズ (keitwo.co.jp)

底砂・底泥の中には**ヒューミン(腐食酸)**と
分解者(濾過バクテリア・真菌類・藻類など)が存在する

土壌においても水中においても、微生物が有機物を分解し、
無機イオンや窒素源を生成し、自然界で循環させる働きを持つ。

土壌微生物による有機物の分解



立命館大学活動報

<https://www.ritsumei.ac.jp/research/radiant/gastronomy/story5.html/>

水中の硝化バクテリアを介した 有機物分解後の窒素源の循環

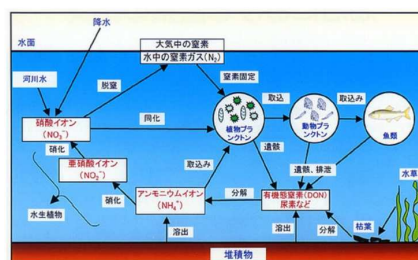


図 湖沼における窒素循環の模式図

飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している ＝腸内細菌

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	枯草菌類	濾過バクテリア
藻類 (水苔)	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	珪藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスボラ属	緑藻類
	<i>M. willeana</i>	ミクロスボラ属	糸状緑藻類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	水質浄化, 増えすぎると 水カビ病の原因
	<i>A. prolifer</i>	ワタカビ属 (卵菌類)	
	<i>A. proliferoides</i>		
	<i>A. racemosa</i>		
	<i>A. cochlioides</i>	アフアノマイセス属 (糸状菌類)	

当ラボの飼育環境にて確認できた微生物の一部; 依頼分析で 18SrDNA にて存在を確認。

飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している
＝腸内細菌

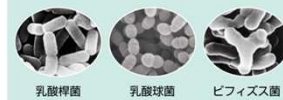


上清や底砂を
回収し、
濾し出す。

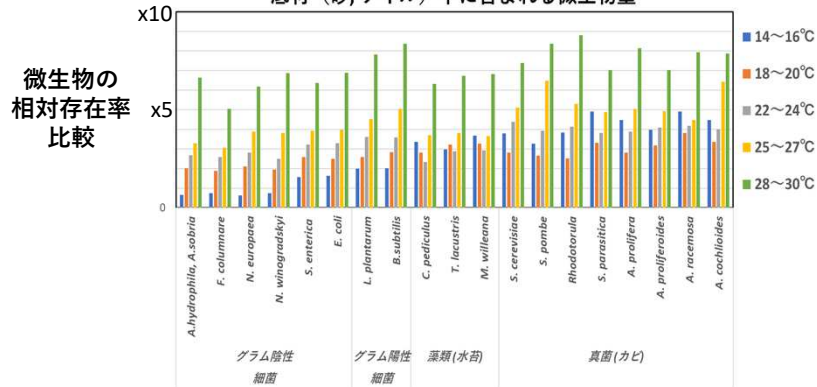


18SrDNA 等に注目し
存在する微生物の種類を同定

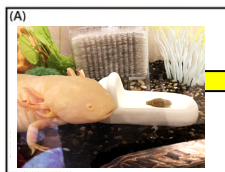
代表的な乳酸菌



底材（砂, ソイル）中に含まれる微生物量



飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している
＝腸内細菌

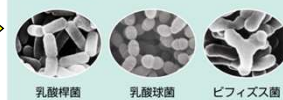


上清や底砂を
回収し、
濾し出す。

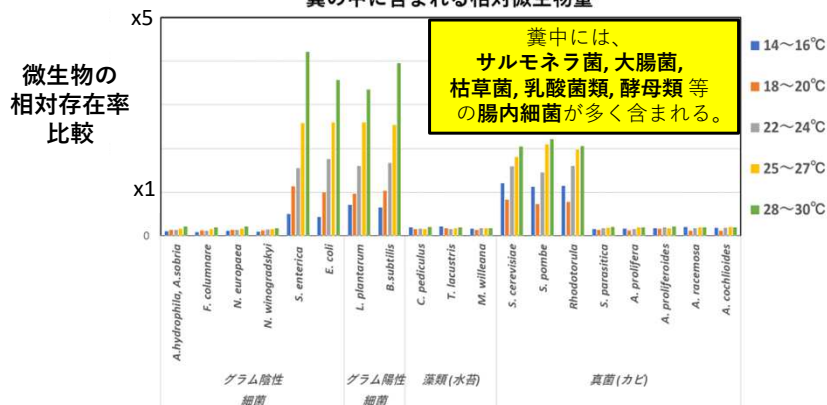


18SrDNA 等に注目し
存在する微生物の種類を同定

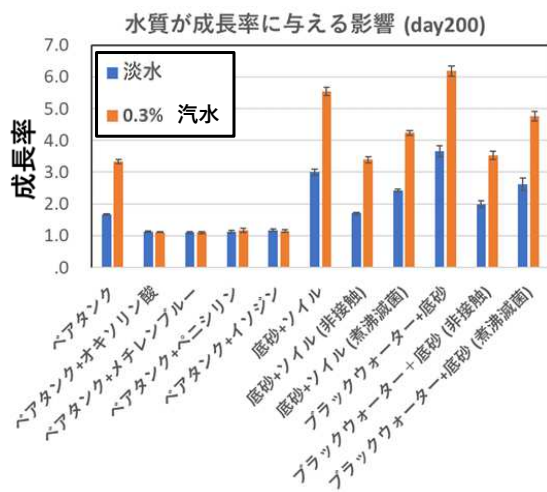
代表的な乳酸菌



糞の中に含まれる相対微生物量



腸内細菌を抗生剤等で殺菌すると生育率が低下する



グリーンフゴールド・リキッド

主成分: オキシリン酸

多くのグラム陰性菌と
大半のグラム陽性菌に
対して殺菌効果を示す。



【第3類医薬品】 イソジンうがい薬C

組成

- ・ポビドンヨード 0.35 %
- ・エタノール
- ・グリセリン
- ・メントール 他

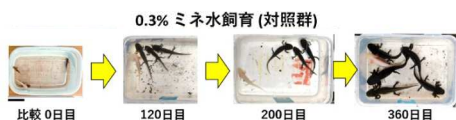
図2: 飼育水槽の水質が成長率に与える影響

飼育水槽にバクテリアが不在であると成長が著しく阻害される。
同様に、底砂と直接接していないと成長率が低下する。

VPPI (ポビドンヨード)

ウイルスや細菌・真菌に対して
殺ウイルス効果・殺菌効果がある。

腸内活動の活性化によって成長率が向上する (23/3/26 写差し替え)



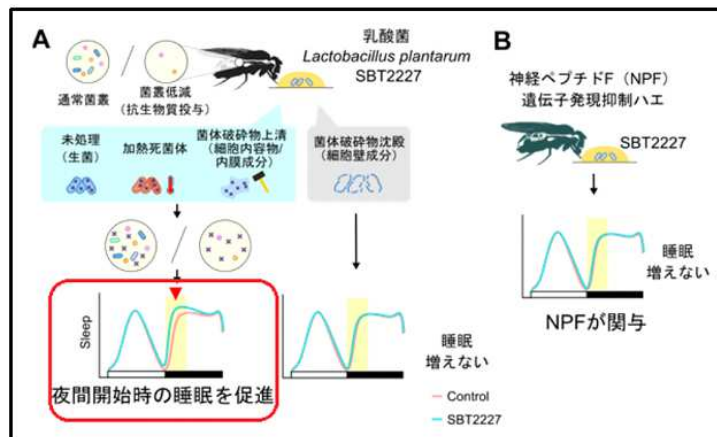
各スケールバー: 50mm



- ・オキシリン酸 → グラム陰性菌 および一部のグラム陽性菌に有効
- ・メチレンブルー → グラム陽性菌に有効
- ・ペニシリン → グラム陽性の球菌 およびグラム陽性菌に有効
- ・イソジン (ポビドンヨード) → グラム陽性菌, グラム陰性菌, 結核菌, 真菌, 一部のウイルス等
広範囲の微生物に対して有効

ショウジョウバエにおける神経ペプチド NPY と腸内乳酸菌の関係性

神経ペプチド NPY (ショウジョウバエの NPF) に注目。
また、乳酸菌と NPY が睡眠導入に重要との文献あり。

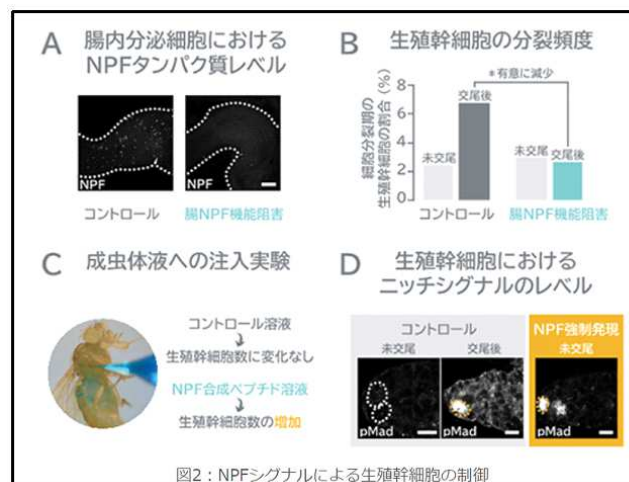


(Taro Ko et al., *iScience*, 2022)

<https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2589-0042%2822%2900898-7>

ショウジョウバエにおける神経ペプチド NPY と腸内乳酸菌の関係性

ショウジョウバエにおいて、メス側の産卵促進にオスの交尾刺激(精液成分の導入)からの NPY (NPF) 放出促進 → 生殖幹細胞の分裂促進 → 最終的に産卵数の増大へと繋がる？



(Ameku et al., *PLOS Biol*, 2016)

<https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2005004>

メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性

予想される睡眠促進の作用機序

底材を食べる → 乳酸菌摂取 → NPYと共に作用 → 睡眠促進 → 成長促進
 床材や糞の中にラクチプランチバチルス プランタラム (*Lactiplantibacillus plantarum*) が含まれる。乳酸菌が死んでいても効果がある。

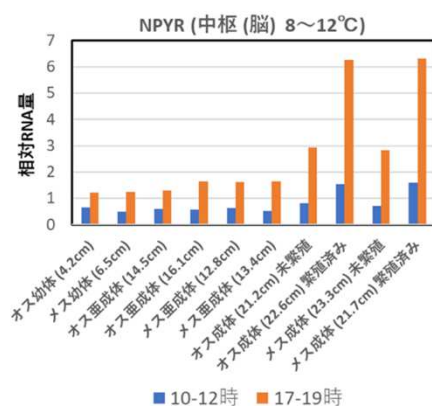
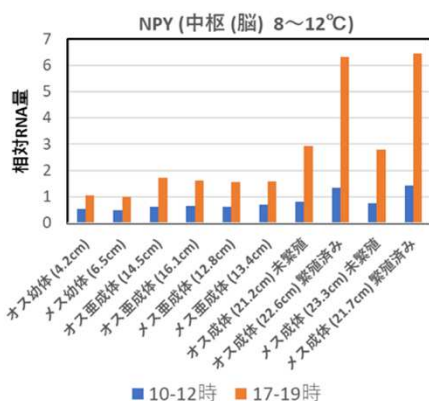
予想される産卵促進の作用機序

メス側の産卵促進にオスの交尾刺激(精液成分の導入)からのNPY (NPF) 放出促進
 → 生殖幹細胞の分裂促進 → 最終的に産卵数の増大へと繋がる?

検証内容

- ・過去の、乳酸菌投与の検証結果と、腸内乳酸菌の存在比の結果を併せて考える。
- ・成長率の高い個体中で、メラトニン受容体の発現とNPY, NPY受容体の発現は高くなるか?
- ・NPY神経分泌に合わせて、性成熟は促進されるか?
- ・睡眠誘導によって子孫数が増えるが、そのときNPYの分泌量は増えるのか?

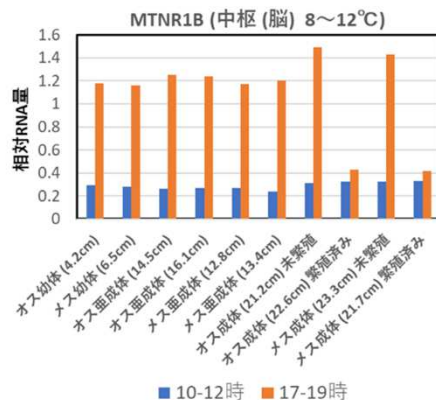
メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性



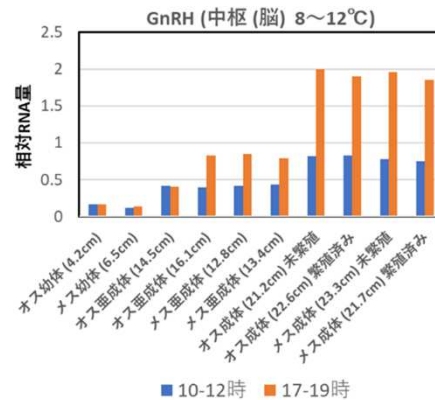
産卵誘導時(低温)の中枢におけるNPYおよび関連因子mRNAの相対発現量の比較

メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性

睡眠導入因子メラトニンの特異的受容体

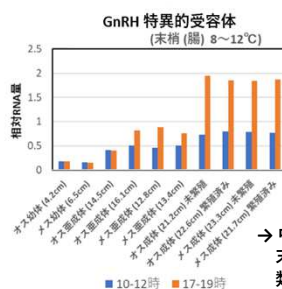
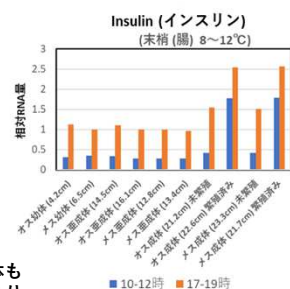
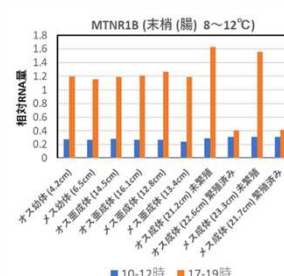
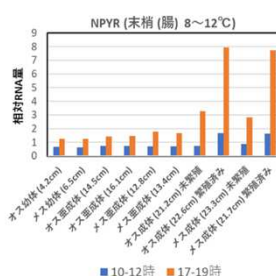
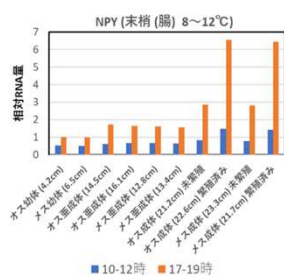


生腺刺激ホルモン放出ホルモン



産卵誘導時 (低温) の中枢におけるNPY および 関連因子mRNAの相対発現量の比較

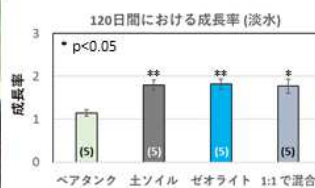
メキシコサラマンダーの産卵誘導時 (低温) の末梢 (胃、腸、卵巣) における NPY および 関連因子mRNAの相対発現量の比較



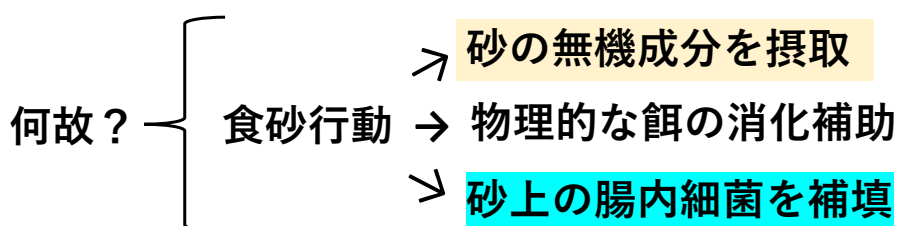
特異的受容体も末梢で発現あり

→ 中枢の間脳視床下部や、末梢 (性腺) においても、類似の発現パターンを示す。

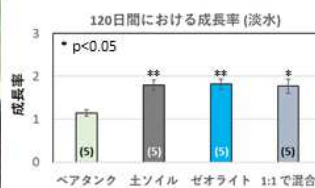
底砂追加による成長促進効果の正体

(A) ペアタンク
(=底砂なし)(B) ソイル(土, 砂)を加えて
自然界に近づけた環境(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

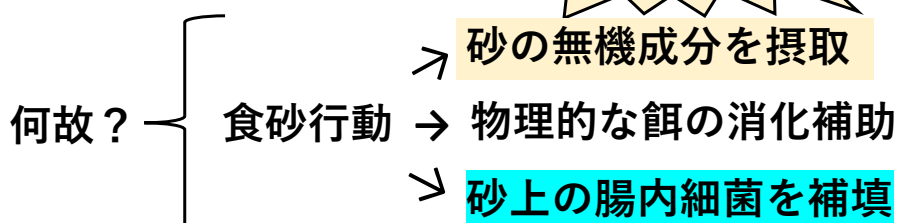
底砂あり・・・成長促進



底砂追加による成長促進効果の正体

(A) ペアタンク
(=底砂なし)(B) ソイル(土, 砂)を加えて
自然界に近づけた環境(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)

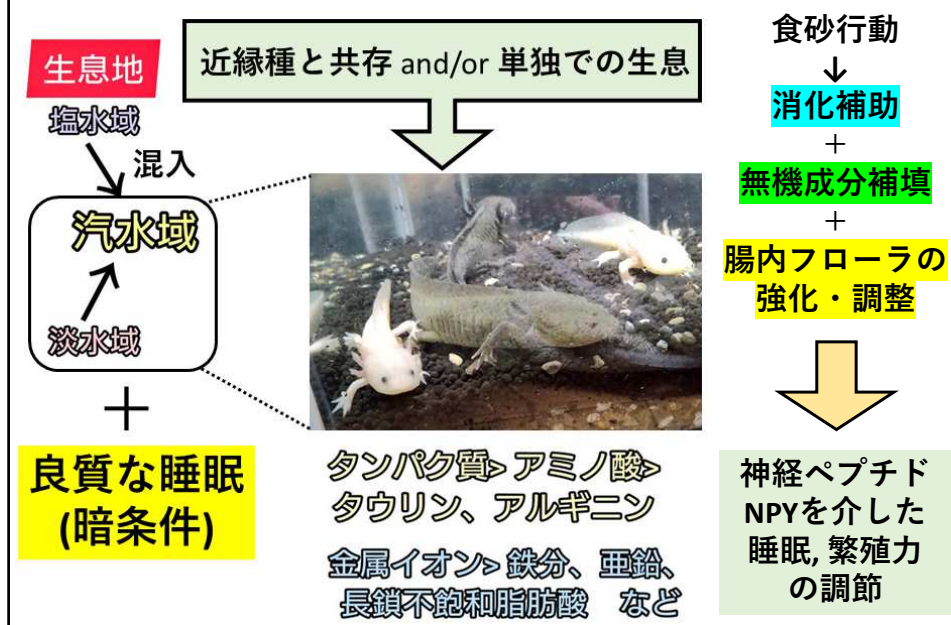
底砂あり・・・成長促進 相乗効果！



まとめ: メキシコサラマンダーの腸内環境と成長制御

- ・メキシコサラマンダーはかつての生息地にて、硬水かつ汽水の環境で育ってきた可能性がある。
- ・食砂行動は、物理的な消化の補助効果以外にも、副次的な効果があることが分かった。
- ・底砂を食べることで、消化の補助に加え、底砂や泥から Si, Fe, Zn, P, Na, Ca などの無機成分を摂取している。
- ・食砂行動によって、底砂に付着する乳酸菌類などの腸内細菌を定期的に摂取し、腸内細菌叢を安定化させている。
- ・神経ペプチドである NPY を駆使して、摂取した乳酸菌類との相乗効果によって睡眠の制御による生育調節や性成熟、生殖細胞数の調節による繁殖力の制御を行っている。

これまでの知見のまとめ2



CC-BY-NC-ND;
本資料の許可なき改変・売買・再配布禁止.



＜総説: アホロートルの多頭飼育について＞

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*, **}

所属: ¹ウーパールーパー研究室はるらぼ

詳細: *主任研究者 **責任著者

概要: アホロートルの多頭飼育・他個体の認識について科学的に理解を深めよう 2022/5/14

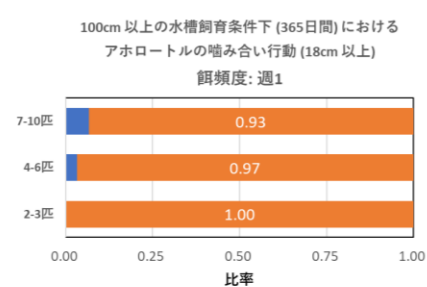
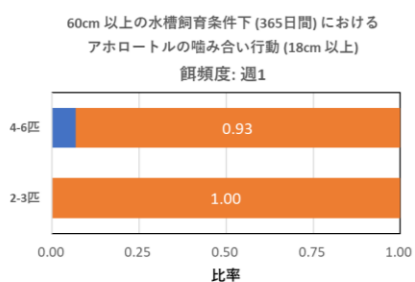
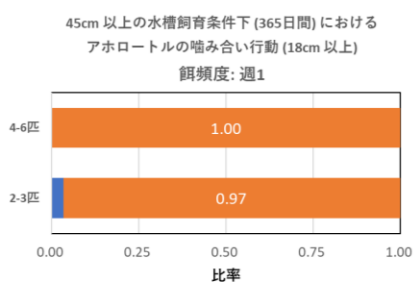
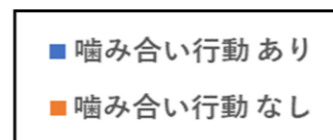
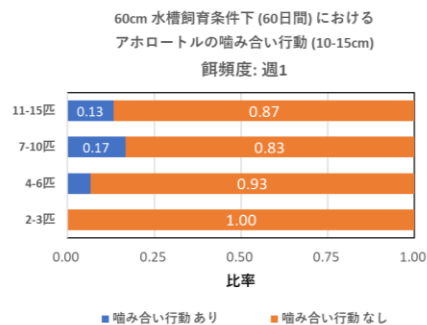
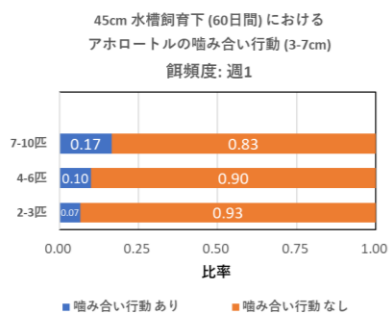
飼育界限において、ウーパールーパー（アホロートル）の飼育では混泳はご法度、などと言われている。[1-3]
筆者も、かつてペットショップなどで店員の方と話すと、多頭飼育は危険であるが相性もある、と言われていた。しかしながら、当ラボでは、栄養と成長の機構解明の研究を行う中で、複数の個体による結果収集・統計学的解析を必要としており、多頭飼育でなければ管理が難しい問題を抱えている。ペットの飼育においても、色々な色の個体を一緒に飼って、水槽をより煌びやかにしたいという方も多々おられると思う。そこで、多頭飼育に不安を感じている方々への参考情報提供として、当ラボにおける多頭飼育の影響について得られている結果について共有したいと思う。

トピック 1: アホロートルの多頭飼育と噛み合い行動

これまでの我々の検討から、多頭飼育はそれほどリスクではないことが明らかになってきた。以下の結果に示すように、やや小さな個体を低餌頻度(週一回程度)にて過密飼育すると、2割未満の個体が噛み合い行動を示した。特に、個体が小さいころにこの傾向が見られたが、成長するにつれて殆ど噛み合いも示さなくなることが分かった。

これらの結果は、餌を週3回程度まで上げると殆ど見られなくなることが分かった。すなわち、水槽に2-3匹程度混泳させる程度であれば、餌頻度や水替え頻度をある程度確保していれば、噛み合い行動は殆ど起こさないことが推察された。

今回示した結果が、飼育者の方々のわずかな希望にでもなれば幸いである。



参考: 多頭飼育と噛み合い行動の比率に関する集計結果

尚、今回調査した条件では、色に関する条件は揃えていないが、マーブルやリューシ、ブラックなど野生型に近い個体が大半を占めており、1/5 程度アルビノ系統の個体も含まれている。しかしながら、他個体から噛まれてしまった個体の色については法則性が見いだせなかった。そこで、色認識と噛み合いについても更に詳細な解析を行いつつ、次の項にて考察を行う。

トピック 2: アホロートルの色認識と噛み合い行動 (2022/5/16-18, 25 追記, データ追加など修正)

魚類や両生類は目が扁平である構造から、あまり相手をくっきりとした像で捉えることはできず、像がぼやけていると言われている。[4-5] また、先程の項において、アホロートルが色認識を行っているかどうかという疑問が浮かんだが、これについては実は明らかになっていなかった。また、はるらぼでは、アホロートルや昆虫の睡眠や体内時計の制御に関わる様々な遺伝子について解析を行っており、アホロートルの光受容細胞についても調査を実施した。更に魚類や両生類においても、目から受容された光が体内時計の制御に関わっていることが明らかになっており[6-7]、生物種によっては青色波長域の光が特に時計の制御には重要であるとされているため、アホロートルにも同様の機構や色認識に関するタンパク質の発現があるかどうか確認を行った。

調査の結果、マウスやヒト・魚類などにおいて網膜や脳において光を受容する神経細胞で発現があるとされる **OPN3, OPN5 [15-16] の相同因子 (働きがこれらの生物種と全く同じとは限らない) については発現を確認した**が、色を感知する視細胞 (錐体細胞) で発現するとされるタンパク質 (OPN1LW(赤 565nm), OPN1MW(緑 535nm, OPN1SW(青 440nm)) については遺伝子の配列自体が確認できなかった。[17] では、アホロートルは色認識が全くできないか? という複数の詳細な調査の中で、議論の余地が出てきた。ただし、トラフグ由来の OPN3 は、培養細胞中でビタミン A 誘導体と反応することで、青色感受性、緑色感受性光受容タンパク質の合成に疑似的に関与する可能性があることが分かっている。[18] これに加え、ヒトの OPN3 はエンセファロプシンと呼ばれ、ヒトにおいては青色光の受容に関与していると考えられている。また、OPN5 は、ヒトにおいては紫外光・紫色光を受容できることが分かっている。[19-20] すなわち、**アホロートルは日中、OPN3 で主に青色光を受容し、OPN5 にて紫外線・紫色光を受容する**。実際に、我々の調査の中でも、**アホロートルは青色光を好む傾向があるようで、青色 LED を照射するとそちらの方に高い関心を示していた**。ちなみに青色光・紫色光 (波長域:380-430 nm) ・紫外光の 3 色の光は波長域が一部重複しており、ヒトを含むいくつもの生物の体内時計のリセットに用いられている。[21-24]

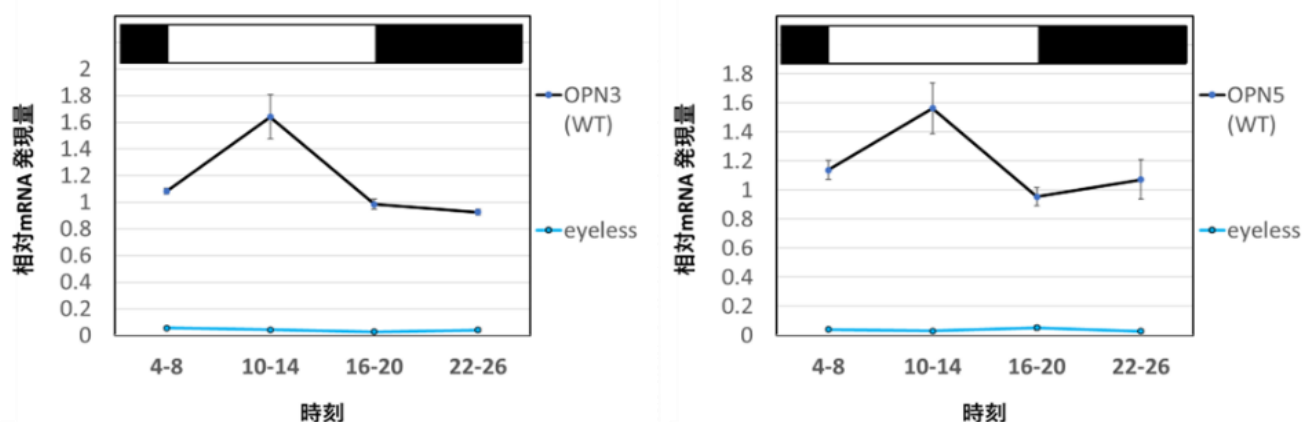
これらの参考文献における知見を踏まえ、青色光とそれ以外の光を暗期に 2 時間程度照射し、アホロートルの光に対する応答性・行動に違いが見られるかどうか、実際に追加調査を行った (参考 2-3)。その結果、幅広い波長の光を含む**可視光 (ハロゲンランプ) の照射・青色光 (LED)・UV (紫外線ライト) では、野生型 (リューシスティック)・アルビノ** に関係なく光の照射方向から反対側へ移動し、忌避するような行動を示した。一方で、**紫外線ライト** の照射にはあまり反応を示さなかった。ちなみに、両目形成不全の個体 (eyeless) や 飼育の過程で両目が傷ついてしまった個体などでは、光への応答性が顕著に低下した。ちなみに、各条件における波長域は、**可視光 (ハロゲンランプ 350nm~3500nm)、青色 LED (460~500nm)、紫外光 = UV (UVA: 320-400nm + UVB: 280-320nm)、赤外線 (780nm-1000nm)** となっている。

今回の追加調査において、アホロートルは青色光や紫光に反応し、長時間の照射を行うと逃避反応を示した。これらの結果から、アホロートルの体内時計のリセットにおいて青色光や紫外光が用いられている可能性が高いと考えられる。尚、体内時計の振動に関しては、後述の参照 3 を見ていただくとより明解に理解できるかと思う。

逆に、他の波長域の色については、日中はあまり感知できずに夜間はモノクロに見えることが考えられ、体色が白いからといってアホロートル間ではそれ程大きな影響が無いことが推察された。

ここまでの内容を踏まえて、一部で実しやかに言われているように **"アルビノやゴールデンという野生型と比較して目立つ体色であることで、同居している他個体から狙われて攻撃を受ける"** という主張は、現状の判断材料のみではやや無理がある と杉山は考えている。ただし、自然界において、色分解能の高い鳥類からの標的に遭うという意味であれば間違っていない。

また、アホロートル同士は、上記で示すように（たとえ色が認識できていたとしても）互いの映像がぼやけて見え
ており、そもそも視覚を頼って相手に標的を合わせていない可能性が高いといえる。尚、遺伝子を含めた詳細な
解析は追って行うが、現状の観察結果収集・統計解析においては、**色が白い個体が集中的に他個体から狙わ
れるといった傾向は見られなかった**（参考 2-4）。この結果も、今回の考察を肯定する材料であると言える。

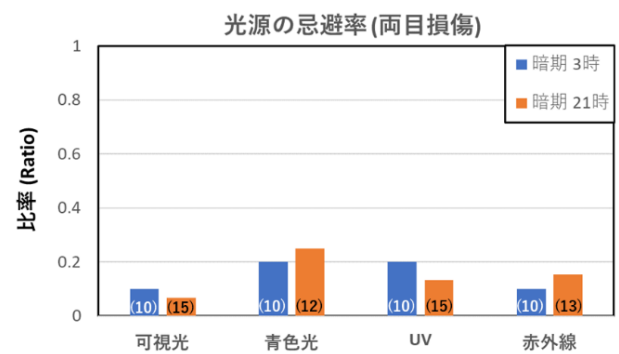
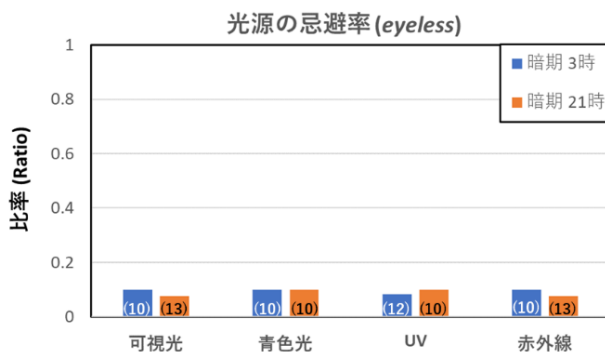
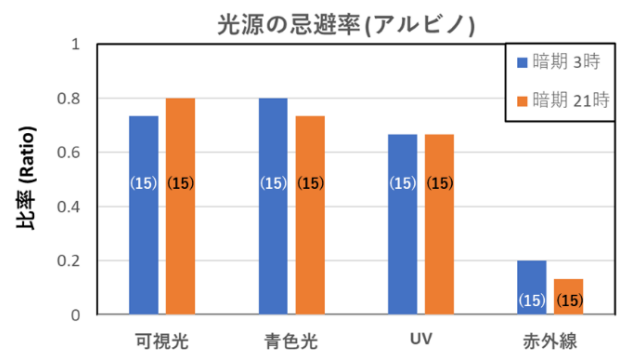
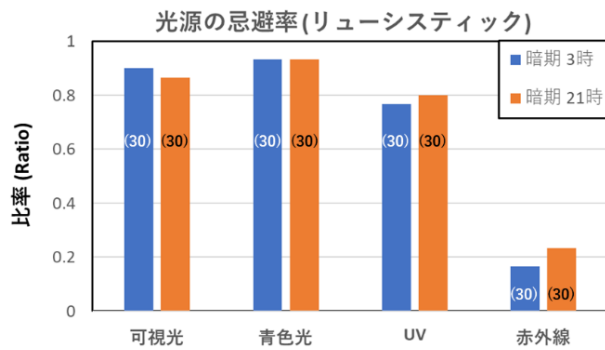
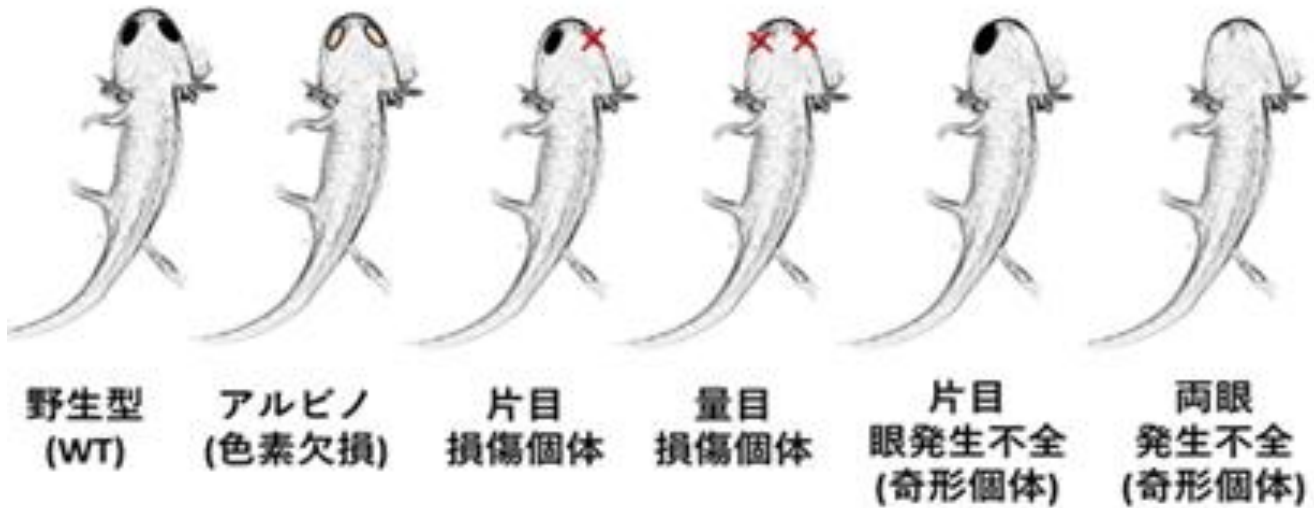


参考 2-1: 当ラボにおける 0.5～2cm の個体（幼生）での光受容タンパク質 OPN3,5 の発現に関する解析結果

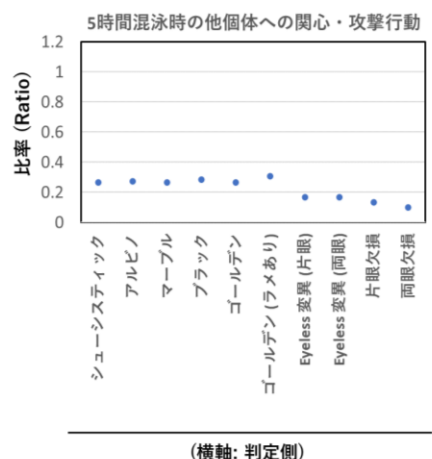
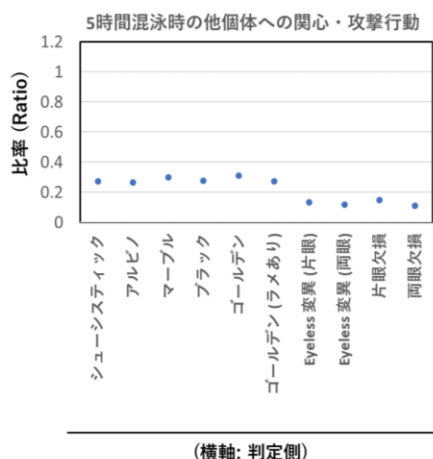
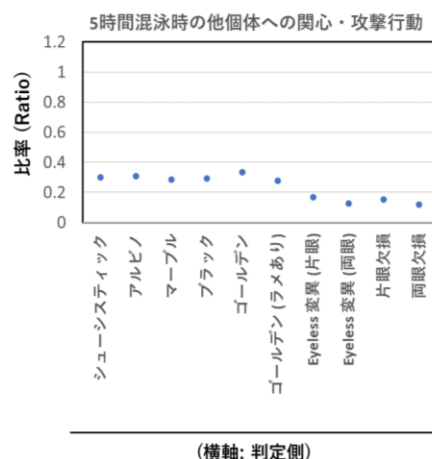
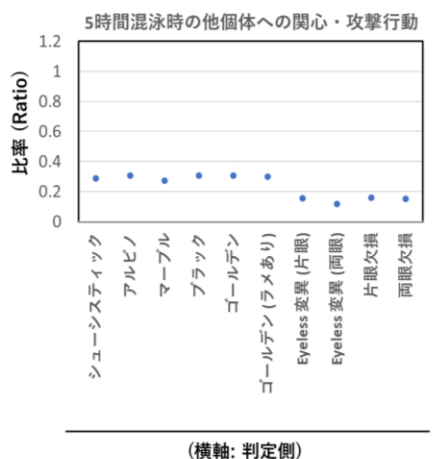
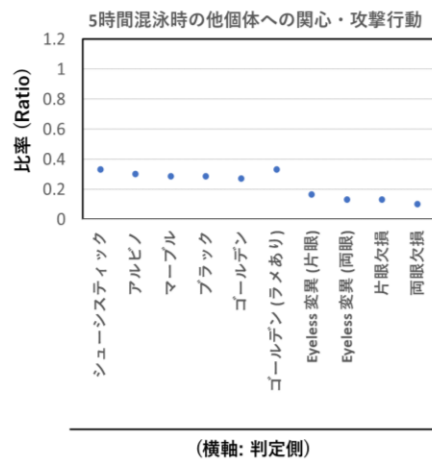
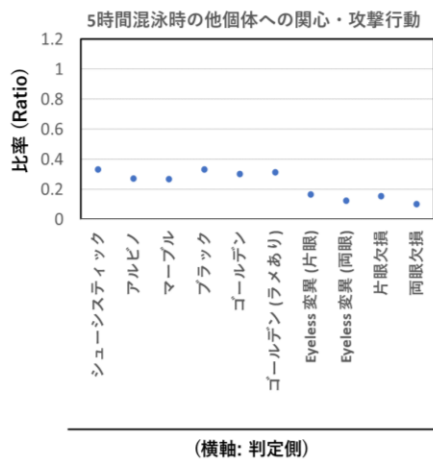
※ 本調査には、残念ながら無くなってしまった幼体を複数ご提供いただき、リアルタイム PCR によって遺伝子発現の解析を実施している。

参照 2-2: 遺伝子・ゲノム・mRNA（転写産物）配列情報 [8]

アホロートルの眼の特徴モデル



参考 2-3: 当ラボにおける 0.5~2cm の個体 (幼生) での品種間における光の種類への応答性の比較
 (2 時間照射している間に、各個体が光から逃げる割合を比較した。
 一部、外部の方々にも依頼の上、集計・解析した。)



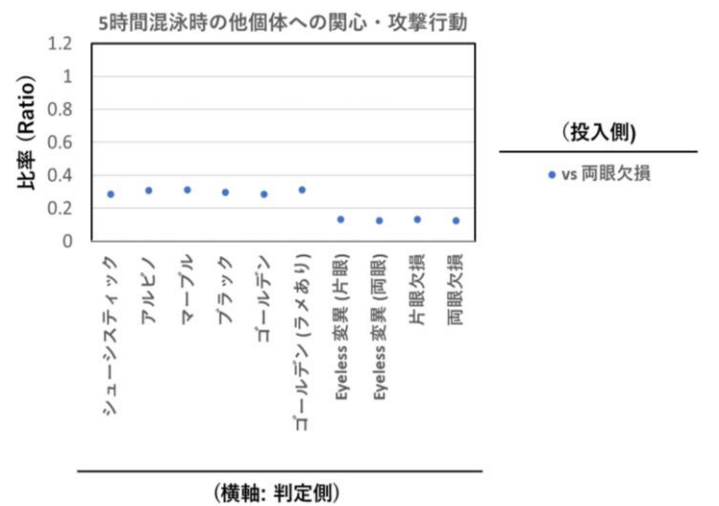
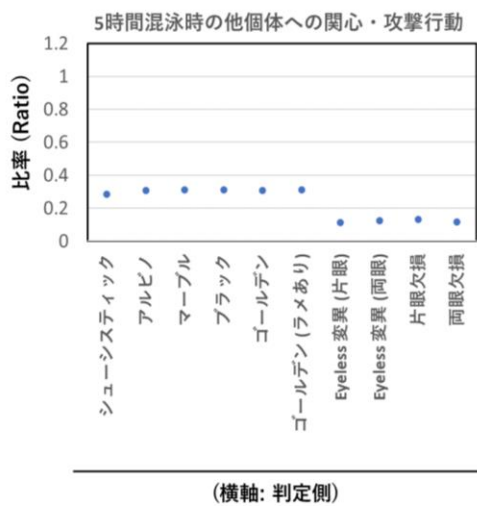
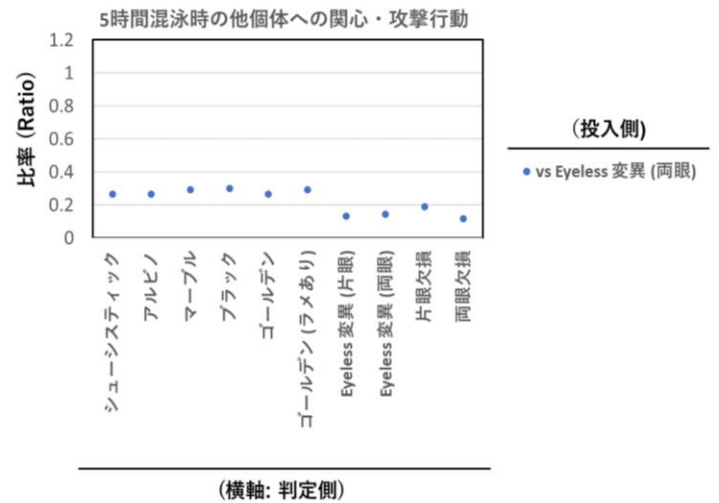
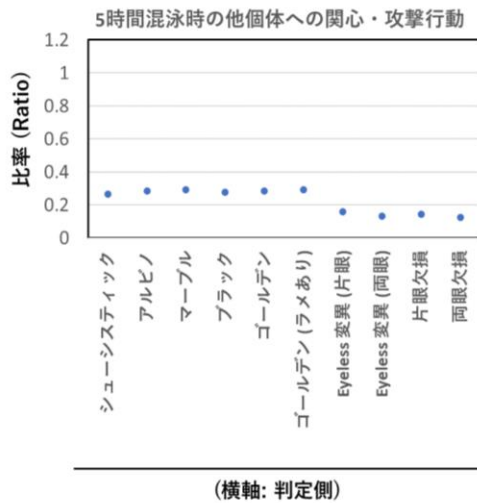
参考 2-4 (A): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそと投入 → 反応を見る

※ 相手への頭突き・標的を定めてからの噛みつき・視線を向けるなど、対象への意図的な行動のいずれか または 複数、5 時間の中で複数回行った場合に関心ありとする。

※ この時、上から投入された際の物体の動きに反応して飛びつかないように、投入する側の個体または物体を網でそとすくいあげた後、ゆっくりと投入した。

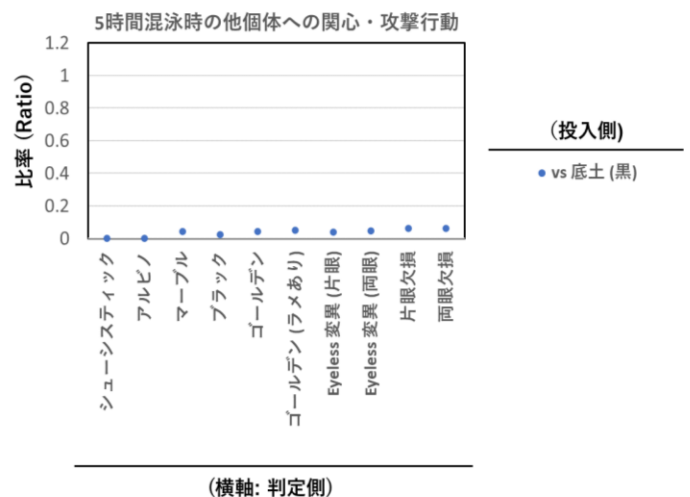
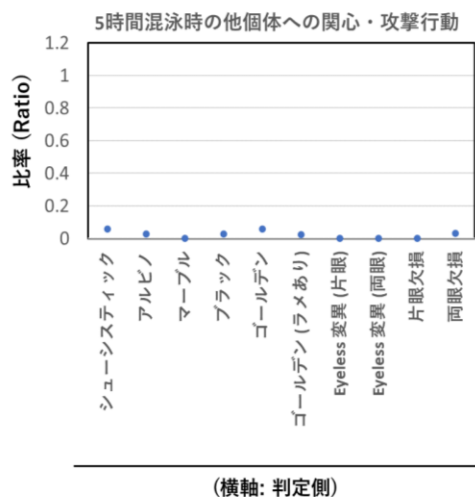
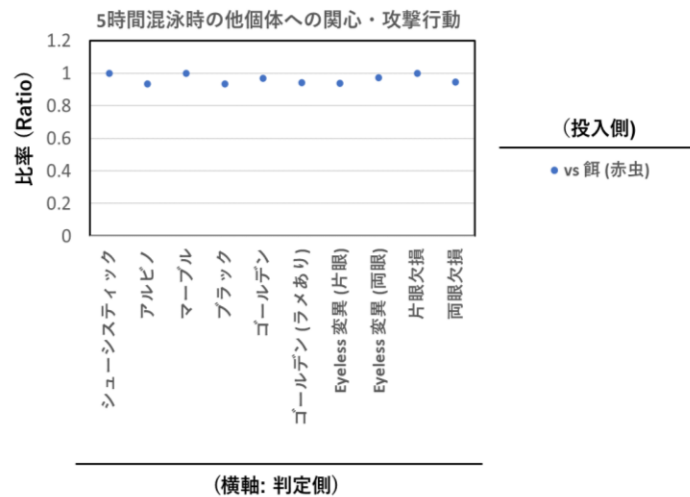
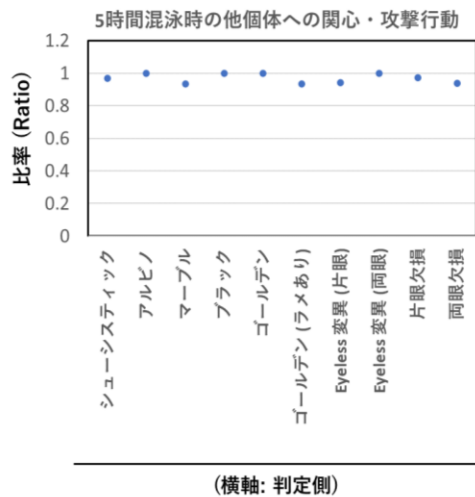


参考 2-4 (B): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそと投入 → 反応を見る

※ 詳細は 2-4 (A) と同様。最初から機能的な眼を持っていない変異体 (*Eyeless* 変異体) や、眼を損傷してしまい視力が低下した個体を用いて、視力が正常な個体との違いについて確認を行っている。



参考 2-4 (C): 色と個体認識・関心・攻撃行動との相関 (2022/5/25 結果更新)

7-10cm 程度の個体. 5-8 ペア. タッパー内に 1vs1 で 5 時間混泳.

【試験の流れ】 vs 側 の個体に対して横軸側の個体をそっと投入 → 反応を見る

※ 餌や砂・ソイルなど、生体では無いものを投入した時の反応について確認を行った。
やはり、餌に対しては視覚が不十分でも反応しており、アホロートルにおける嗅覚の重要性が示唆された。

トピック 3: アホロートルにおける光受容と体内時計の制御

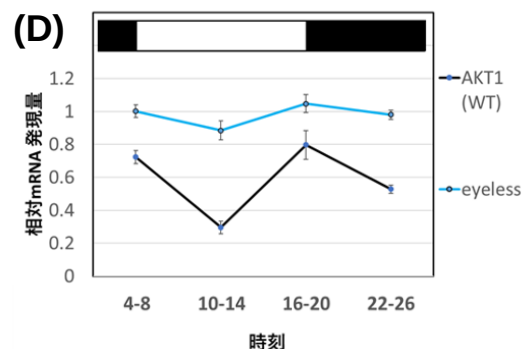
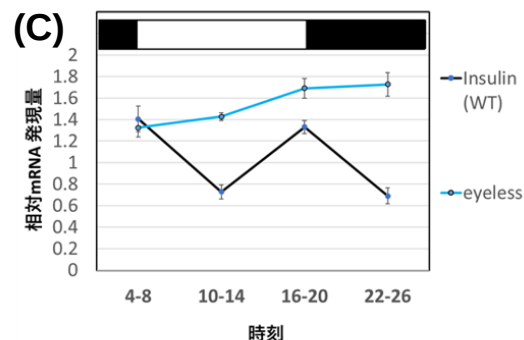
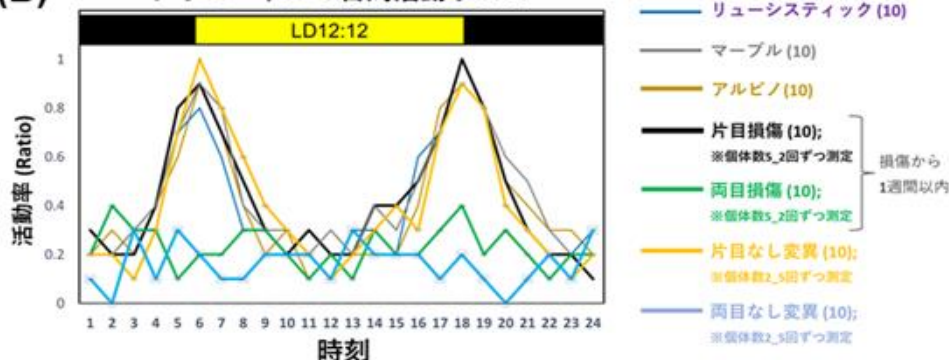
当ラボにおける調査の結果、アホロートルは夜明けと日が沈む薄暗い時間帯に行動を開始することが分かってきた(下図 (B))。これについては近日中に詳細報告を予定している。また我々の調査結果から、視力が完全に失われてしまった個体では、光の情報が適切に受容できず、体内時計の調節に関わる遺伝子の発現に異常が起こることが明らかになっている(詳細は追って報告予定)。一方で、アルビノバックグラウンドの個体における解析結果を見ても、リューススティックやマーブルのような、ある程度色素を持っている品種と同様の活動リズムを示した(下図 (A)-(B))。このことから、色素を欠損しているアルビノ個体も、光を受容する能力を失わず保持していることが推察された。アホロートルが、“色に関する認識能力が元々あまり高くなく、光を十分に受容可能である”ことに基づいて考えると、活動リズム制御の観点で見れば、アルビノ個体は目を失っている条件の個体と比べると、日常の活動にはあまり障害を持ってはおらず、体内時計の制御もある程度ちゃんと行えているので、大きな疾患やリスクもなく生きられる可能性が高いと言える。また、参考 2-3 における結果を見ても、アルビノ個体も可視光、青色光 および 紫外光への応答性を示していることから、アルビノ個体は光を十分に受け取ることができていることが推察できる。

ま参考 2 および 3 にて示した一連の結果からも、“アルビノは他の品種と比較して視力がとても弱いのでストレスを感じやすい”説はあまり根拠がないことのように思われる。どちらかと言えば、“変態していないアホロートル自体、光の感知能力はある程度ある一方、同程度にくっきり映像を見えるような視力自体は持っていない”可能性が高いため、アルビノ個体における眼のメラニン色素欠損自体は彼らの生活リズム自体にはあまり影響は無い”と推測できるであろう。

(A) アホロートルの眼の特徴モデル



(B) アホロートルの日周活動リズム



参考 3: アホロートルにおける光受容と活動リズム制御およびインスリン分泌について

逆に両目が傷ついてしまった個体や eyeless 変異体は、一切光を検知できないので体内時計が制御できない可能性が高く、非常にストレスを感じている可能性がある。我々の調査結果からも、インスリンなどの代謝に関わる因子の合成・分泌も野生型と比較して異常に上昇する（下図（C）-（D））ことから、内分泌的には人間の糖尿病・内分泌疾患などに近い症状を示している可能性があるので、更に調査を継続し、詳細については改めて追加報告したいと思う。

尚，次ページにて、アルビノに関する考察について補足を行ったので、良ければ一瞥の程お願いしたい（2022/5/15 追記）。

参照: ヒトなどのアルビノ症に関する補足 (2022/5/15 追記)

先程、アホロートルのアルビノについて触れたが、ヒトの場合のアルビノについても念のため再度おさらいしておきたい。

白子症（アルビノ albinism）とは、全身または目でのメラニン黒色色素が生まれつき不足している状態であり、全身で起こっている場合は眼皮膚白子症、眼だけ不足している場合には眼白子症と呼称される。メラニン色素は網膜色素上皮と呼ばれる領域にも局在し、目が像を結ぶ上で重要であるとされている。アルビノの方々は、視細胞の集合している領域である黄斑が正常に形成されない（黄斑低形成）ために弱視になり、成人しても視力は 0.95-0.5 程度と低い。また、羞明（極端に光を眩しく感じる症状）や、眼が振動する症状（眼振）を示すという。[11-13]

しかし、夜間の光感知にも関わるタンパク質である OPN3, OPN5 を主に発現し、色に関する視細胞を発現していない可能性の高いアホロートルにおいて、日中の強い光を受容しない以上、やはりアルビノ変異体であってもあまり他の品種と視力差は無い可能性が考えられた。

また近年、マウス（遺伝子改変マウス PKAchu）を用いた研究において、

“網膜を構成する神経細胞群の多くが光に応答し、光受容タンパク質非依存的に、環状 AMP 依存性キナーゼ（PKA）を活性化する現象を示す。一方で、一種類の桿体細胞（光の感知のみを行い、色は識別できない細胞。暗闇における案順応において主に機能する）でのみ 光が消えたタイミングで PKA を活性化する。”

という結果が明らかとなったことから、夜間から夜明けにおける暗闇条件下での光の情報伝達が、光受容タンパク質非依存的に十分行える可能性があると考えられた。すなわちアホロートルが、光応答による行動の制御や体内時計のリセット・光情報の脳や全身への伝達を十分に機能させるために、一般的な脊椎動物の持つ光受容細胞を介した機構を用いなくても問題ない可能性も十分にあるのである。つまり、**たとえアホロートルのアルビノも他品種も目が悪くても、PKA を介した機構をもっているならば、光の情報を元に体内時計を制御できるので特に問題はない、という可能性も十分に考えられるということである。**[14]

トピック 4: はるらぼにおける密度・混泳効果に関する研究

なお余談ではあるが、はるらぼでは、高密度の多頭飼育は成長に対して抑制的に作用することを明らかにした。また、2-5cmの個体を、高密度条件で1ヶ月程度の期間飼育しても、成長の可塑性は残されており、密度条件の改善（飼育面積を倍以上にまで拡大すること）によって成長が再開することが明らかになった。

逆に、密度が高い条件では成長を抑制することで、噛み合いや餌の取り合いなどのリスク回避の対応をすることが考えられた。

またこれに加え、密度に応じて二型（多種のオタマジャクシと共存する条件下では頭が倍以上に大きな個体が出現する）を示すエゾサンショウウオというサンショウウオ [9-10] と混泳飼育した条件では、その影響を受けてなのか、密度の影響を無視して顕著に成長・肥大が促進された。このことからアホロートルは、自分たちとは異なる品種の個体が存在する時、自身の成長を促進することで自らが優位に立てるように制御していることが考えられた。尚、これらの知見は世界初であり、はるらぼチームにおける追加調査についても改めて報告する機会を得たいと考えている。

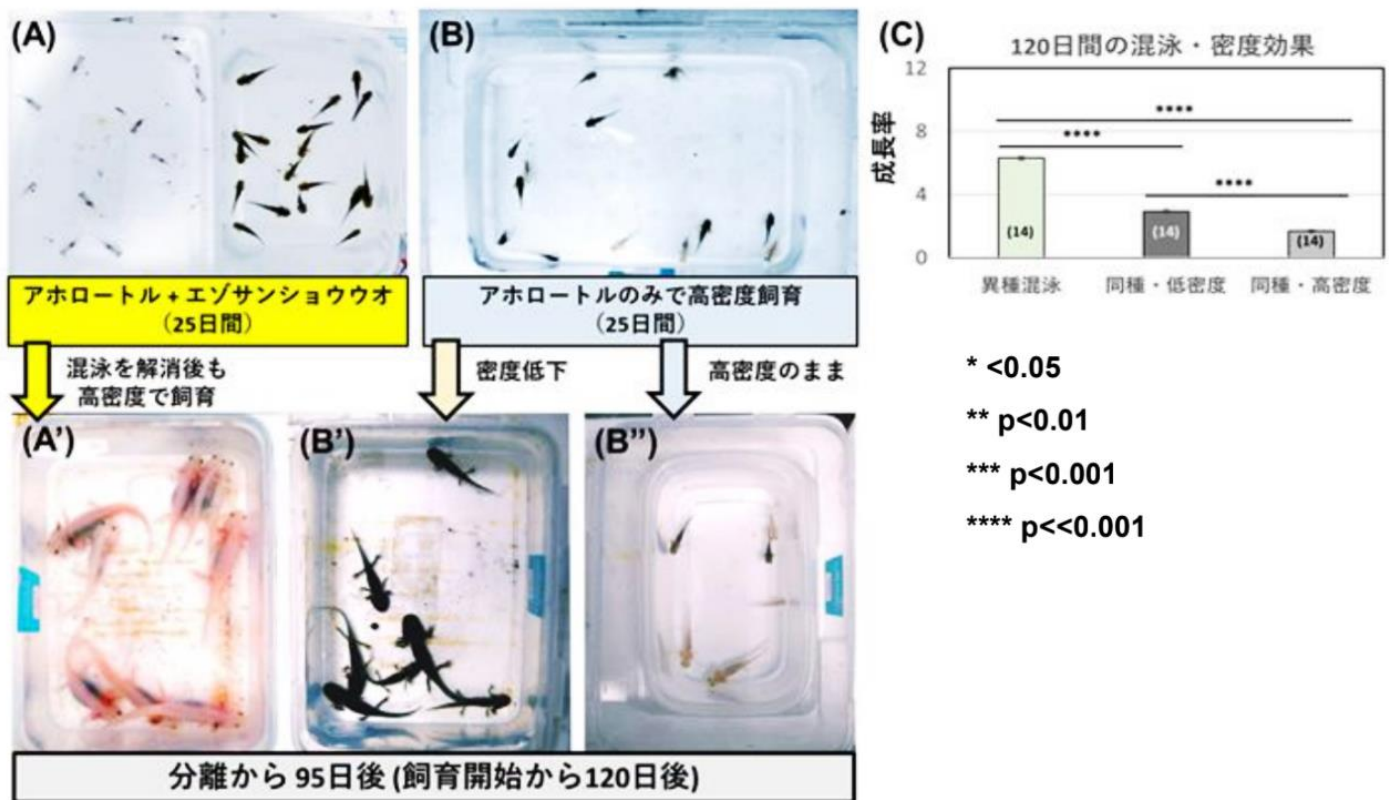


図5: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

参考: ウーパールーパーだより vol. 1.3 (2021-2022) より

https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCRTXLzx_xfjvpl4FKe46mI/view?usp=sharing

余談

尚、余談ではあるが、調査の裏付け確認のために情報収集を行うにつれ、いかに人々が科学的な根拠なく不正確な情報を流布させているかというのを感じて非常に嘆かわしく思った。何より、“それっぽい” 話が一番危険であるように思う。

読者のあなたやご家族は、あまり根拠のない効果をうたった薬やドリンク・情報商材を購入してはいないだろうか？ 非科学的な情報の拡散は、これと同様の問題をはらんでいるのではないだろうか。

出典

- 1). <https://www.aquahermit.com/uparupas>
- 2). <https://xn--gckxbxdtib.com/how-to/tatougai/>
- 3). <https://note.com/0707note/n/n54e4c3d375d6>
- 4). https://www.santen.co.jp/ja/healthcare/eye/eyecare/wonders/fish_eye.jsp
- 5). <https://fishsearch.net/%E9%AD%A%E3%81%AE%E8%A6%96%E5%8A%9B/>
- 6). 佐藤 恵太 他 (2019). 総説「光受容体」Opn5 が示す多様な分子機能. 生物物理 59 (3). 132-136. DOI: 10.2142/biophys. 59. 132. https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/59/3/59_132/pdf
- 7). Wayne I. L. Davies 他 (2021). Distinct Opsin 3 (Opn3) Expression in the Developing Nervous System during Mammalian Embryogenesis. eNeuro 20 August, 8 (5) ENEURO.0141-21.2021; DOI: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0141-21.2021>
- 8). Sergej Nowoshilow 他 (2018). The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. Nature. Jul;559(7712):E2. doi: 10.1038/s41586-018-0141-z.
- 9) 若原 正己. 2006. ところ変われば頭でっかち
エゾサンショウウオの表現型可塑性-そのしなやかな生存戦略.
季刊生命誌 49 号 BIOHISTORY 2006:
https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2
- 10) 道前 洋史. 若原 正己. 2007. エゾサンショウウオの適応的な表現型可塑性—「頭でっかち型」
日本生態学会誌 57:33 – 39
- 11) 日本小児科学会記事 http://www.japo-web.jp/info_ippan_page.php?id=page08
- 12). 矢吹 康夫 (2014). 一人でアルビノの多様性を語る. 応用社会学研究. No.56. 177.
file:///C:/Users/saida/Downloads/AN00026486_56_17.pdf
- 13). 水野 有武 (2000). 網膜色素上皮細胞. 比較眼科 19, 43–47, 教育講演
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jscvo/19/0/19_43/pdf-char/en
- 14). Shinya Sato. (2020). Rhodopsin-mediated light-off-induced protein kinase A activation in mouse rod photoreceptor cells. PNAS. October 12, 17 (43) 26996-27003 |
<https://doi.org/10.1073/pnas.2009164117>
- 15). 羽鳥 恵 (2013). 光受容体メラノプシンに対する阻害薬の同定および視覚以外の光応答にあたえる影響の解析. ライフサイエンス新着論文レビュー. (米国 Salk Institute for Biological Studies, Regulatory Biology Laboratory)
DOI: 10.7875/first.author.2013.110 <http://first.lifesciencedb.jp/archives/7595>
- 16). 小柳 光正 他. (2014). “非視覚”型光受容タンパク質 Opn3 とその GPCR 研究への応用. ファルマシア. Vol.50 No.9. P. 893-895.
- 17). 花井 修次. (2009). 時計遺伝子. 産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 生物時計研究グループ.
https://staff.aist.go.jp/s-hanai/clock_gene.html
- 18). 小島 慧一. (2021). Vol. 141, No. 10 YAKUGAKU ZASSHI 141, 1155-1160. 光受容タンパク質・ロドプシンの生物物理化学研究. https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/141/10/141_21-00144/pdf



- 19). https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/141/10/141_21-00144/_pdf
- 20). https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/50/5/50_325/_pdf/-char/ja
- 21). <https://kenko.sawai.co.jp/theme/202003.html>
- 22). https://brightlight-store.ovtp.net/topics2/post_16.html
- 23). https://www.aist.go.jp/Portals/0/resource_images/aist_j/aistinfo/science_cafe/pdf/ev20071220_3.pdf

＜ウーパールーパー研究報告＞

メキシコサンショウウオにおける攻撃行動制御機に関する調査報告

Ver.3.1 (最新版)

報告日: 2023/8/28 (Ver.1 & Ver.2), 同年 8/29 更新 (Ver.3), 同年 10/1 更新 (Ver.3.1)

著: 杉山 遥 (Ph. D)¹

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

所属:¹ ウーパールーパー研究室_はるらぼ
since 2020～

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

研究者ポータルサイト Research map

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja



※ CC-BY-NC-ND; 本文献の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

概要 Abstract

- ・アホロートルは幼少期や繁殖期のオスは攻撃性を示し、集団の密度が高まるとその攻撃性が強まる傾向が見られる。
- ・ショウジョウバエ *Nervy* 遺伝子 [1] (マウス *MTG8* [2]) に着目
→ 発現する集団飼育個体で、攻撃性の低下に關与すると報告あり。

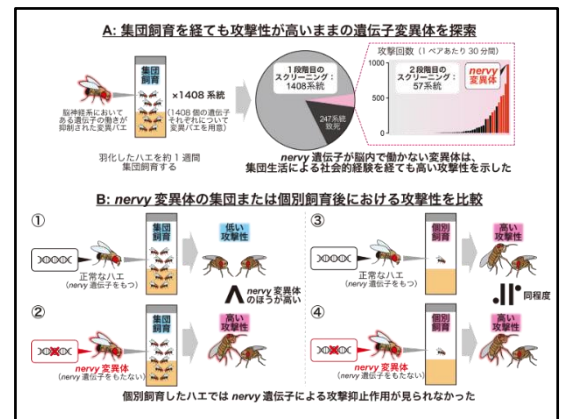
A neurogenetic mechanism of experience-dependent suppression of aggression

Kenichi *et al.* (2022). *SCIENCE ADVANCES*.. Vol 8, Issue 36.

DOI: [10.1126/sciadv.abg3203](https://doi.org/10.1126/sciadv.abg3203)

[社会経験に応じて過度な攻撃を抑える脳内の「ブレーキ」をハエの研究から](#)

[発見 - 東京大学 大学院理学系研究科・理学部 \(u-tokyo.ac.jp\)](#)



- ・アホロートルには、類似の遺伝子 **MTGR1, 2** および **相同因子 MTG8** が共に発現している。[3]
- ・アホロートルにおいてもセロトニン受容体の発現が確認できる。[5]
- ・単独飼育と比較して、集団飼育時にアホロートル *MTGR* の発現 (特に生後 60 日まで) は非常に高く、時間経過と共に他の攻撃行動抑制因子として知られる因子と発現強度が入れ替わりになる。
- ・異種混泳での成長促進や密度依存的な成長制御 [13] と *MTGR* の発現動態に一部相関が見られた。
- ・セロトニンによる攻撃性の制御に加え、攻撃の制御や逃避行動に関わる因子の発現とも相関が見られた。[10-11]
- ・集団になると、逃避行動を示す集団から追いやられる可能性のある個体は、上陸化が促進される可能性がある。

導入 Intriduction

ウーパールーパーとして知られるメキシコサンショウウオ (以下、アホロートル) は、基本的に単独飼育が推奨されている。これは集団になると噛み合い行動等を起こす場合があり、傷口からの感染症や共食いのリスクがあるためであるとされてきた。しかしながら、当ラボにおける先行研究では、アホロートルは互いを嗅覚や側線等で感知する一方で、他個体に対して攻撃行動 [4] を示す割合は、たとえ過密な条件であってもせいぜい 2 割程度にとどまり、巷で囁かれている程狂暴ではないといえる [14]。一方で、異種混泳を行った際は、密度効果を見逃して成長が過剰に促進される機構があることも明らかとなっている [13]。これらの当ラボにおける先行報告から、アホロートルは他個体を認識した上で、攻撃を抑制または回避するような行動制御を中枢神経系を介して行っている可能性が推察されたため調査を実施した。

攻撃的な行動を司る神経伝達物質にセロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン、5-HT) が知られており、このセロトニンも単に濃度が増減することで攻撃が制御するだけでなく、状況や生活環境に応じて攻撃誘導にも抑制にも作用することが明らかとなっている [5]。また、攻撃抑制に関する因子として、ショウジョウバエの *Nervy* 遺伝子 [1] (相同因子: マウス *MTG8* [2], アホロートル *MTGR1, 2* [3]) に着目し、集団飼育時や異種混泳時等における攻撃行動とこれらの因子の相関について調査した。その結果、集団飼育の過程で、幼若な時期 (day0~60) とそれ以降、繁殖誘導条件下ではそれぞれ *MTGR* やセロトニン特異的受容体 (*HTR3*) の発現が入れ替わるように変化し、亜成体 (day120 頃) からは同程度の発現強度で発現が一定レベルに維持されることが明らかとなった。この傾向は、異種混泳条件でも同程度に顕著であり、

成長初期には *MTGR* の高い発現によってセロトニンによって誘導される周囲への攻撃行動の衝動を抑制し、成長が経過する中でセロトニンによる攻撃性は活性化と抑制が混在することで平衡状態となることが示唆された。実際に、セロトニンのシグナルを活性化または抑制することで、アホロートルの行動が変化する結果が得られている。グラニセトロン塩酸塩 (5-HT₃ 受容体拮抗薬) を経口投与された個体群は特に幼少期や繁殖期における攻撃性が顕著に抑制された。一方で、脳内のセロトニン量を増加させることでセロトニンの効果を強める薬剤である、トリフルオロメチルベンゼン誘導体の一種であるフルオキシセチンを与えると、同様のタイミングにおける攻撃性が顕著に上昇するという結果が得られた。

こうした集団における攻撃性と併せて、逃避行動を取る個体や積極的な行動を示さず安静にしている個体が混在して見られることが分かった。まず攻撃性の高い個体では、攻撃性を抑制する因子である *Nr2e1* [10] の発現が低い一方で、活発な行動 (逃避行動時などの運動性に関与) に繋がる因子 *USP46* [12] の高い発現が見られた。逃避行動を示す個体では、甲状腺ホルモン制御が活性化することに加え、*Nr2e1* と *USP46* が共に非常に高い発現を示し、一部の個体が上陸することが明らかとなった。これらのいずれとも異なり、低応答性を示した個体では中枢神経系における *Nr2e1* の発現が顕著に高くなり行動が抑制されている一方、*USP46* や甲状腺制御に関連する因子の発現が成長しても継続的に低いまま維持される (すなわち活動量が低下し、成長が抑制される) という結果を示した。

これらの研究結果から、アホロートルは単独行動個体の方が集団個体と比較して、攻撃行動を制御する因子の発現が顕著に抑制されている傾向があることが明らかとなった。一方で、集団の中では主に 3 つの行動タイプに分かれる傾向があり、集団の中で逃避する傾向のある小集団は積極的に上陸する傾向があることが示唆された。また、特に縄張りに異種が移入してきた際には成長が過剰に活性化される一方で、攻撃性に関する制御機構が強く作用し、実際に攻撃行動に移行することが無いよう制御されていることが分かった。

今回の報告の中で、これらの調査結果について可能な限り詳細に報告し、アホロートル生態や生息地について理解を深めたいと思う。

材料と手法 Materials & Methods

本研究には、メキシコサンショウウオ(ウーパールーパー)を用いた。

明暗条件

適切な成長制御・体内の概日リズムを保持するため、LD12:12 (明期: ZT0 (午前 6 時)~ / 暗期: ZT12 (18 時)~) の日周リズムで飼育を実施した。

攻撃行動に関連するセロトニンを十分に生合成・分泌させるためにも、上記の明暗周期での管理を徹底した。

飼育水の条件

飼育時の水温は、通常は 18~22℃, 繁殖モード誘導時は 18℃ → 8℃ (5 日間) → 18℃ (5 日間) という処理を施した。

今回は行動への影響を加味し、全ての飼育・調査において淡水飼育条件で統一した。

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8~5.4

飼育密度の設定

飼育水槽: GEX_マリーナ60cm水槽 (60×30×36cm MR600BKST—N 269467)

- ・ 単独飼育...上記水槽中に 1 個体を投入し、常に単独で生育する環境とした。
- ・ 集団 (低密度) 飼育...上記水槽中に 6 個体を投入し、常に他個体と接する環境とした。
- ・ 集団 (高密度) 飼育...ポリ容器 (25cm×18cm×9.5cm; <https://jp.daisonet.com/products/4549131590630>) に 10~14 個体相当の飼育密度を設定し、成長に応じて生育に支障のない程度に高い密度を維持した。

(上記飼育水槽の約 4 倍程度の密度)

- ・ 異種混泳...上記の高密度飼育と同様だが、半数がエゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) となっている。
- ・ 過密飼育...定義は明確ではないが、上記のポリ容器に 14 個体程度を上限に、多くの個体で過密にした状態。

給餌条件

給餌は週 2-3 回、ZT および CT13-15 (午後 7~9 時) に必ず行った。

薬剤投与の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。

成長過程の記録・撮影

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミング (撮影開始から 30, 60, 90, 120, 200, 360 日後) における成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。

闘争/逃避行動の観察

行動観察の行動; day0~day30 までの間、飼育水槽の観察・撮影を実施し、以下の行動の頻度について確認を行った。

攻撃(闘争)行動; 相手への強い突進・噛みつき行動 (食砂や周辺への攻撃なども含む)

求愛行動; 相手に対して顔をこすりつける、顔で身体をつつくなど、排卵誘発する行動。

逃避行動; 攻撃を受ける、受けないに関わらず、他個体から距離を置く行動。

無反応・無応答: 他個体に影響されず、あまり積極的に行動を示さない状態。

※ 行動観察の際の逃避行動が過剰に誘発されないように、生体の状態; 四肢や眼の欠損, 突然変異などが無いように注意して飼育・観察を継続的に実施した。損傷が起こりそうな際は速やかに観察を中断し、生体を回収し一定以上の時間隔離した。

各集計結果の統計解析

統計解析には、Graphpad Prism ver.6 を用いて One Way ANOVA; turkey test, * $p < 0.05$ にて有意差解析を行った。

結果と考察 Result & discussions

集団飼育時の他個体に対する応答性(行動)の解析

飼育界限の中でアホロートルを集団飼育したの他個体への攻撃行動へのリスクについて議論があるが、過去の当ラボにおける調査の結果から、集団としての攻撃行動の比率は、過密飼育条件 (材料と手法 Materials & Methods 参照) であっても 20% 未満であることが分かっている。[13-14]

今回、過去の調査に加え、高密度と低密度の条件にて 360 日間調査を実施したところ、生後間もなくは殆どが無反応であり、生後 30~60 日頃の期間では攻撃的な個体だけでなく反応性の薄い個体と逃避する行動をする個体に均等に分離する傾向を示したが、成長に伴って互いの行動に対して大きな反応を示さない“無反応”の個体が過半数を示すという結果が得られた。(図 1 参照)

集団飼育時における遺伝子 MTGR1, MTGR2 等の攻撃行動制御に関連する因子の発現動態

アホロートルにおいて、集団行動時に攻撃性が抑制されている傾向があることは明らかとなったが、行動がどのように抑制されているのかについては報告が見られないため、ショウジョウバエにおいて攻撃行動の抑制に関与するとされる Nervy 遺伝子の相同因子である MTGR1 および MTGR2 や、攻撃性・攻撃性の抑制など複数の効果を示す神経伝達物質として知られるセロトニンの特異的受容体である HTR3、ヒトにおける攻撃性・反社会的行動の抑制因子とされる MAOA 等に注目し、中枢神経におけるこれらの因子の遺伝子発現動態について、成長ステージに沿って RT-qPCR 法を用いた経時的な定量を行った。(図 2 参照)

定量の結果、集団飼育を行っている個体群では傾向として、検討開始 day0~day90 まで MTGR1, MTGR2 の発現が高く、HTR3 や MAOA の発現は相対的には低い傾向を示すが、day200 以降になると発現の傾向が全く反対の傾向を示すようになった。(図 2. (A) 参照) 一方で、単独飼育における遺伝子発現は、集団飼育時と比較して相対的に低い傾向を示した。(図 2. (B) 参照)

高密度飼育時 および 異種混泳条件下における関連因子の発現動態

当ラボの先行研究において、飼育密度が高い条件では成長が有意に抑制を受けることが明らかとなっている。(材料と手法 Materials & Methods 参照) これに加え、エゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) が半数を示すような異種混泳環境下では、こうした密度効果による成長抑制を無視できる程に成長が有意に促進される。この成長促進の要因として、各種成長因子やストレス応答因子の発現活性化が挙げられ、特に異種と併せて密集する環境下に置かれることで強いストレスを感じ、成長を促進することで競争に勝利するような応答が起こると考えられた。(参考 1. 参照) [13]

異種混泳を 25 日間行った個体は、体の成長率の可塑性がギリギリ発揮される 生後 60~90 日のタイミングを超えても MTGR1, 2 の発現が非常に高いという傾向を示すが、これは高密度飼育条件下でも同様の傾向があり、更に異種混泳を経験した個体では MTGR1, 2 の発現がより長期間持続されることが分かった。一方で、密度を低下させるために、可塑性が発揮されるタイミングでより広い水槽へ移動させて一定期間飼育すると、MTGR1, 2 の発現が相対的に有意に低下することが明らかとなった。更に、HTR3 の発現動態を比較すると、低密度下においた個体群では相対的に有意に発現が低下していることも分かった。すなわち、少なくとも密度が低下した条件では、セロトニンによる攻撃性の誘発/抑制が共に、密度の高い集団で生育した際と比べ、全体的に機能低下を起こしていることが考えられた。

アホーロトルにおいて MTGR1, 2 は攻撃誘発因子としての機能は見られるか？

ここまでの結果を踏まえると、以下のような機序・制御機構が想定される。

- 1). 生育初期の段階では、セロトニンによる攻撃性をその特異的受容体である HTR3 を一定に保つことで抑制しつつ、Nervy 遺伝子相同因子 MTGR によって抑制するよう作用させることで攻撃性を抑制している。
- 2). 抑制性のセロトニンニューロンと MTGR を成長時期によって段々と切り替えることで、成長初期にはセロトニンによる過剰な攻撃行動を抑制し、ある程度成熟したところでは攻撃と抑制を同程度に制御できるように遷移していく。

以下、セロトニン経路に関する特異的な阻害剤を経口投与することで、時期特異性や反応特性について追加調査を実施した。

アホーロトルにおける MTG8 の発現動態とその役割 (23/8/30 追記)

MTGR の役割については明らかになったことから、MTG8 の役割についても新たに調査を実施した。(補足図 2. 参照)
その結果、MTGR1, 2 と比較してやや発現動態や発現強度が異なり、全体的に発現強度が低く、MTG1, 2 や HTR3 の発現が入れ替わるタイミングの境目にかけてそのピークを示すことが明らかとなった。

従って、アホーロトルにおける MTG8 は、MTG1, 2 とセロトニンの拮抗するタイミングにて、攻撃性が強く発揮されすぎないように抑制的に機能している可能性が示唆された。

セロトニン拮抗阻害薬を用いた攻撃行動制御の時期特異性に関する調査

セロトニンの時期特異性や効果について、以下の二種類の薬剤を経口投与することで時期特異的な影響を確認した。

- ・グラニセロン塩酸塩錠 → セロトニンの効果は抑制される。
- ・選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) フルオキセチン → 脳内のセロトニン量は増加する。

仮説 → 検証 (図 4. 参照)

- ・幼い時 → セロトニンは攻撃性に関与？ (通常は MTGR によって抑制されている)
- ・成長後、繁殖時 → セロトニンは攻撃抑制にも関与 (平衡状態のため見かけ上穏やかに見える)

検討の結果、グラニセロンを経口投与した個体 (セロトニンの効果抑制) は雌雄共に攻撃性の抑制が見られた一方で、フルオキセチンを経口投与した個体 (脳内におけるセロトニンの効果活性化) は雌雄共に攻撃性の顕著な活性化が確認された。本結果から、上記仮説のうち幼体の場合は想定通りの効果を示す一方で、成熟個体においては (攻撃行動を余り示さないメス個体であっても)、セロトニンの効果 抑制 / 活性化 共に影響を受けているという傾向が見られた。これらの傾向から、セロトニンは攻撃性の抑制にも活性化にも関与し、互いに干渉しあうことで行動の出力としては見かけ上穏やかに見えている可能性が示唆された。

更に詳細な機構を明らかにするため、以下の因子群に更に注目し、遺伝子解析を実施した。(補足図 1. 参照)

- ・ストレス刺激によるセロトニン放出に関わる因子 [19-25]: Pet1, KIF17, Tph1, SLC6A4, Gchfr, Kcnj3, Drd2
- ・慢性的ストレスからの忌避行動に関わる因子 [26-32]: TLR4, TLR2, IL-1R, MAGL, COX-1, PTGER

検討の結果、闘争行動個体群は、セロトニン放出に関わる因子群 (Pet1, KIF17, Tph1, SLC6A4, Gchfr, Kcnj3, Drd2) の発現が特に幼生期に非常に高く、逃避行動を示す集団では慢性ストレスからの忌避行動に関わる因子群 (TLR4, TLR2, IL-1R, MAGL, COX-1, PTGER) の発現が特に幼生期に高い傾向を示した。一方で、低応答の個体群では全体的に発現量が低い傾向を示した。

闘争・逃避行動の制御とストレス応答に起因した変態制御

前述したように、集団飼育のアホロートルは、闘争を積極的に行う個体、逃避する個体、あまり攻防には関与しない個体の3つのタイプに分かれている傾向が見られる。特に幼体においては雌雄差も見られない。(図 5-1. (A). 参照)

加えて、逃避行動を積極的に行う個体の半数程度が変態する可能性を持つことが示唆された(図 5-1. (B). 参照)

これらの傾向から、3つのタイプの個体が時間経過に伴ってどのように成熟していくのか？変態するのか？について、当ラボの先行研究 [18] など踏まえて更に詳細な解析を行った。

その結果、闘争行動を示す個体では攻撃行動促進因子として知られる USP46 [12] の高い発現がみられた。一方で、攻撃行動の抑制に関わる Nr2e1 [10] このような個体では、従来のウーパールーパーのネオテニーとしての性質を保ち、成熟化しても甲状腺刺激ホルモンの活性が低いままであるという特徴が見られた。(図 5-2. (A). 参照)

次に、低応答性の個体の場合、基本的にはネオテニーの性質を示すものの Nr2e1 の発現強度が非常に高く、応答性の低い性質との相関が見られた。(図 5-2. (B). 参照) 更に、逃避行動を示す個体における遺伝子発現を確認すると、成長に従って甲状腺ホルモン制御に関わる因子が活性化し、逃避行動と攻撃行動が共に活性化し、ストレスの高さと変態促進による逃避応答が確認できた。(図 5-2. (C). 参照)

これらの一連の反応から、攻撃行動を示す個体はネオテニーとして自らの縄張りを守る一方で、逃避行動を示す個体は非常に高いストレスを感じて逃避し、場合によっては上陸しようとする事が分かった。一方で応答性の低い個体は、攻撃性が著しく抑制され、いわば“心無し”にして“空気”のようにして生息していることが示唆された。

総括 Conclusion

今回の調査結果から、以下の事が明らかとなった。

- 1). 幼少期はセロトニンによる攻撃行動が促進されるが、MTGRによって抑制を受ける。
- 2). 成長過程の中で、セロトニン経路によって活性化と抑制の二方向からの制御を受けるようになる。
- 3). セロトニンの感受性の違いによって、集団の中で更に、闘争/逃避 行動を示す個体 および 低応答個体の 3つの小集団に分割される。
- 4). 逃避行動を示す個体の一部では、他の応答性の個体群と比較して、変態・上陸化が促進される。

導入でも述べたように、飼育界限では噛み合い行動についての議論が時々見られるが、幼少期の攻撃性は中枢神経系におけるセロトニンによって活性化を受け一方で、MTGR やセロトニン受容体を介したシグナル伝達によって過剰にならないように調節を受けていることを今回ご理解いただけたら幸いである。

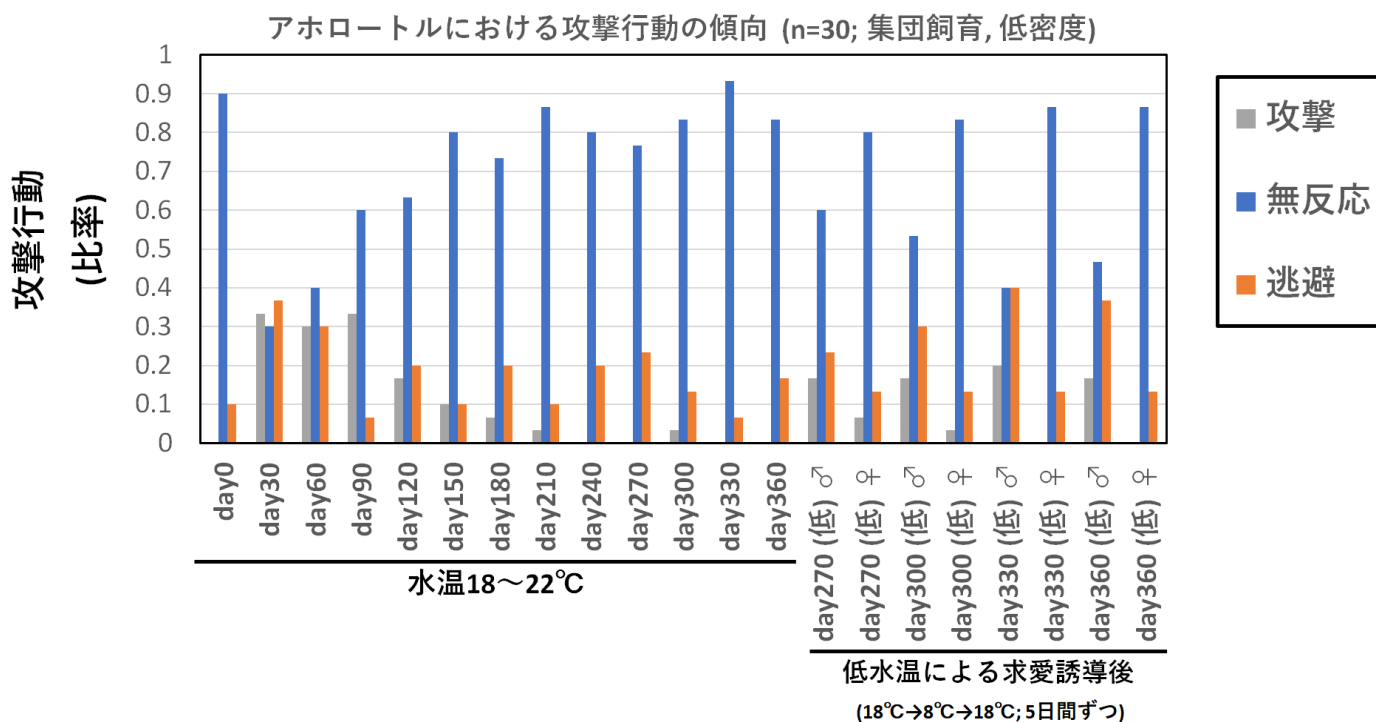
しかし一方で、集団飼育下では、幼少期に見られる攻撃性やその後の性格形成への影響を完全に排除することが難しい場合もあることが推察される。従って、どうしても不安がある方は、飼育密度を下げることで集団適応を回避するように調節されると安心かもしれない。

謝辞 Acknowledgments

本研究をまとめるにあたり、多くの研究者の皆様、サポーターの方々等のご助言・お力添えがありました。この場を借りて、改めて心より御礼申し上げます。誠にありがとうございました。

当ラボにおける活動は、今年（本論文発表時点）で 3 年目に突入し、益々多忙を極めておりますが、夏の暑さや台風にも負けずに研究活動に邁進する所存です。今後ともご愛顧の程、何卒宜しくお願い致します。

(A) 集団飼育時の攻撃行動 (低密度) … 材料と手法: 低密度条件 × 5 セット 相当



(B) 集団飼育時の攻撃行動 (高密度) … 材料と手法: 高密度条件 10 匹 × 3 セット 相当

(上記 (A) の 4 倍程度の密度)

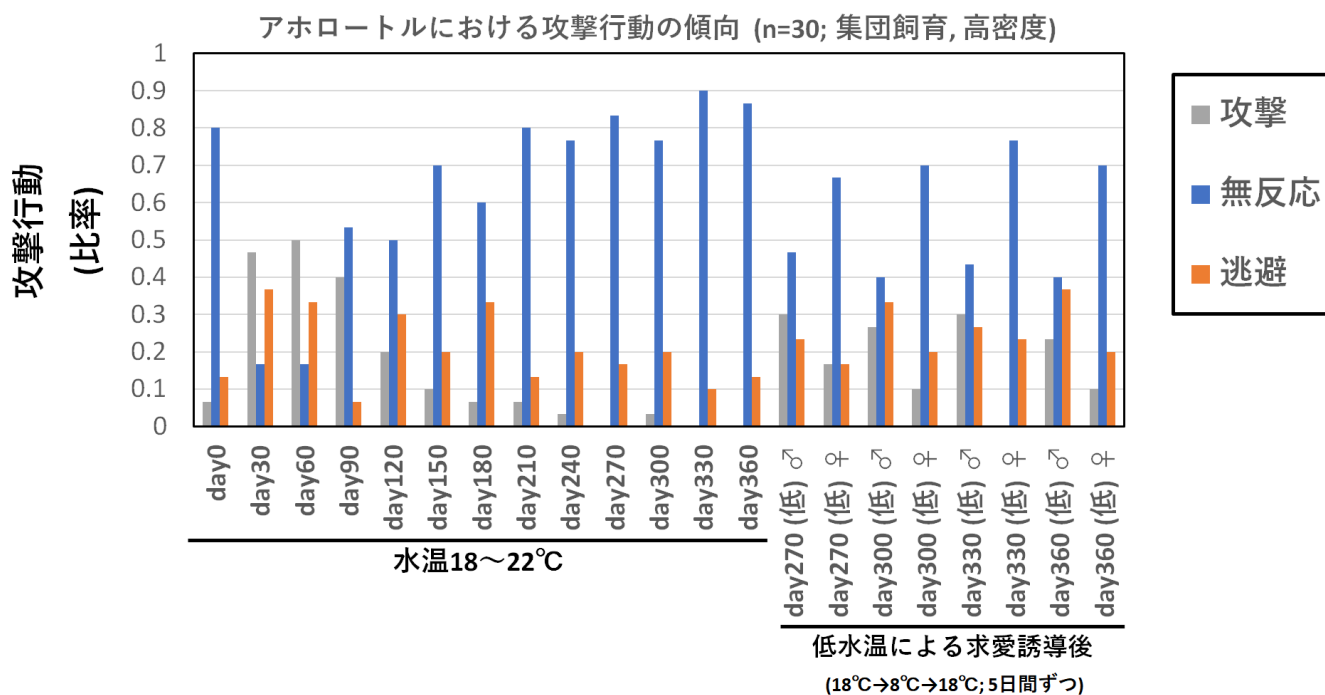
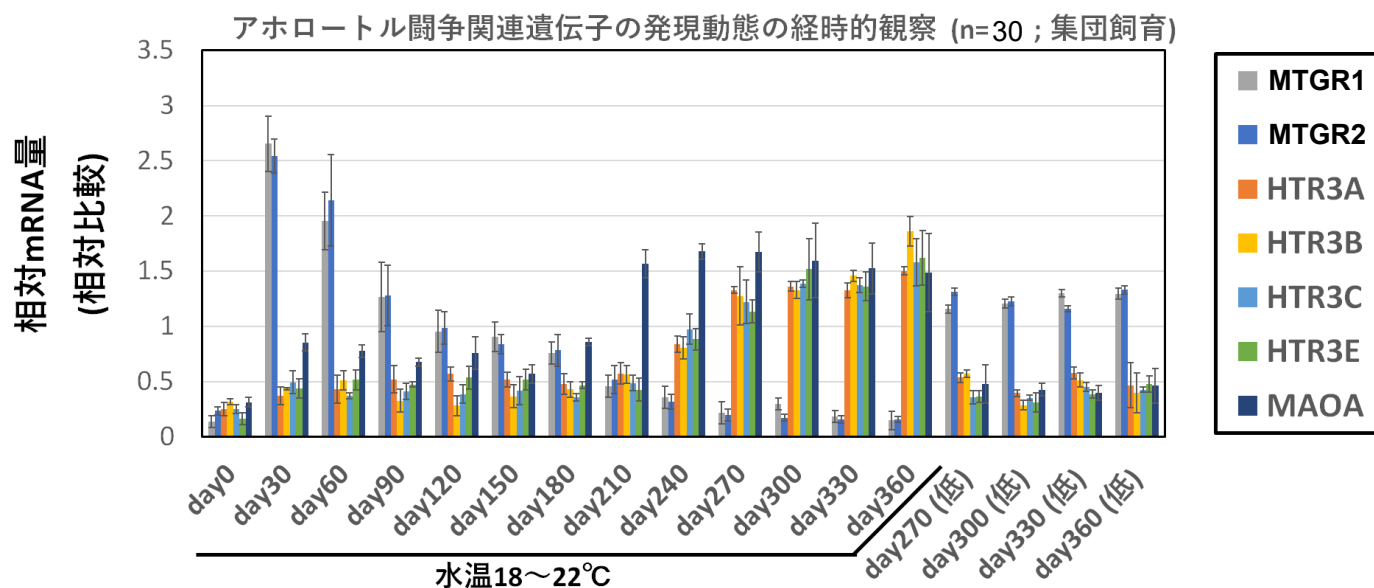


図 1: アホロートルの攻撃行動の習性について (成長過程 + 密度効果)

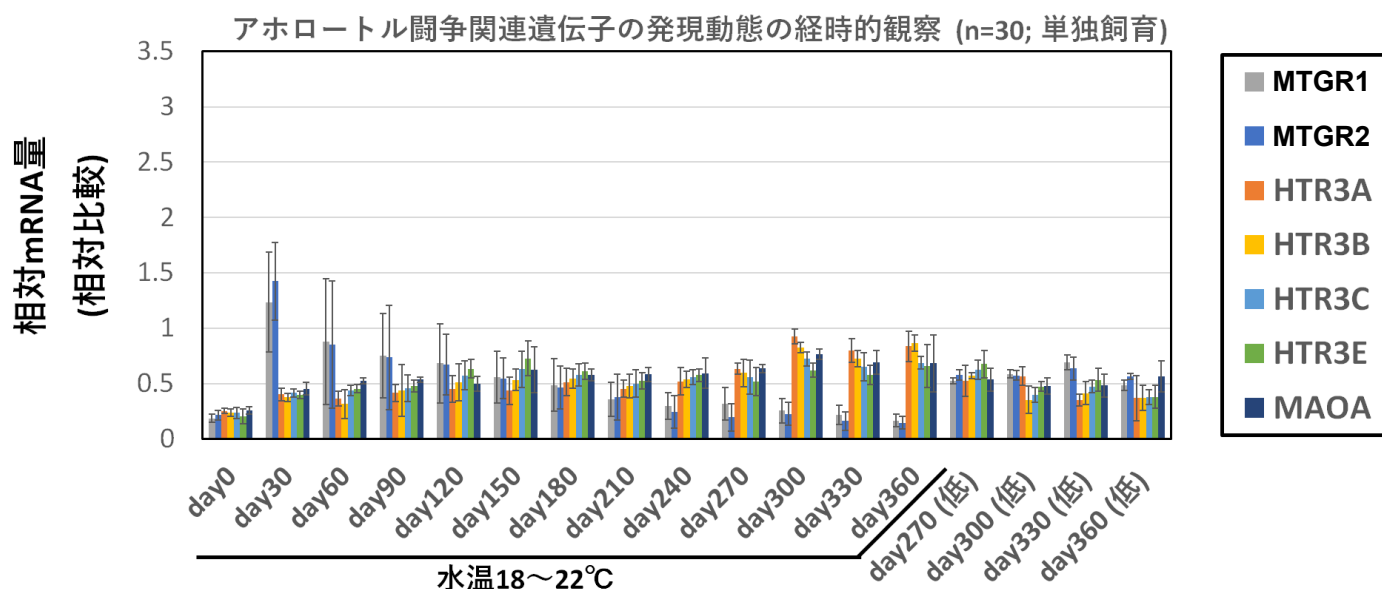
(A) 集団飼育時における Nery 遺伝子相同因子 MTGR1 & 2 の発現動態



各 stage 付近 (±24hr) において、危篤となった個体の中枢神経系から mRNA を収集し、technical triplicate で比較した。

(収集できた mRNA が特に幼体ではやや少ないこともあり、
試料は N=1~2 程度の mRNA を併せて逆転写して用いた。)

(B) 単独飼育時における Nery 遺伝子相同因子 MTGR1 & 2 の発現動態

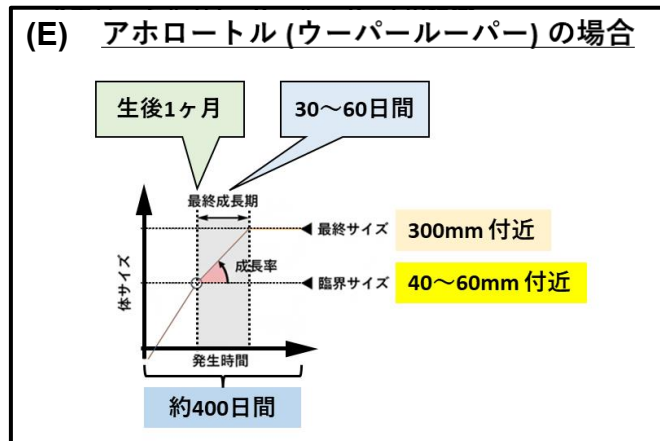
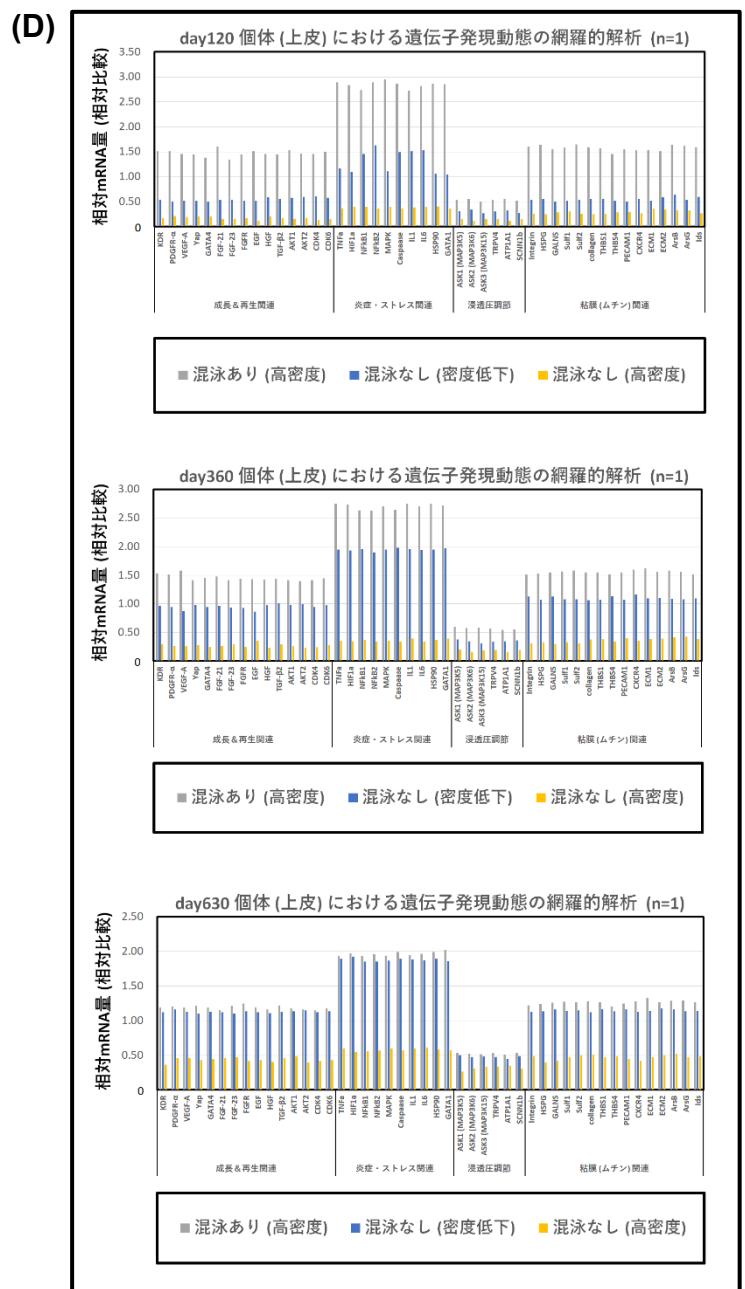
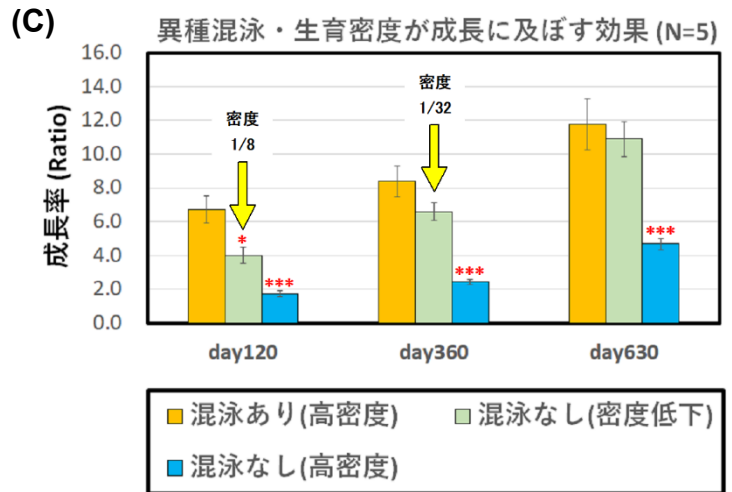
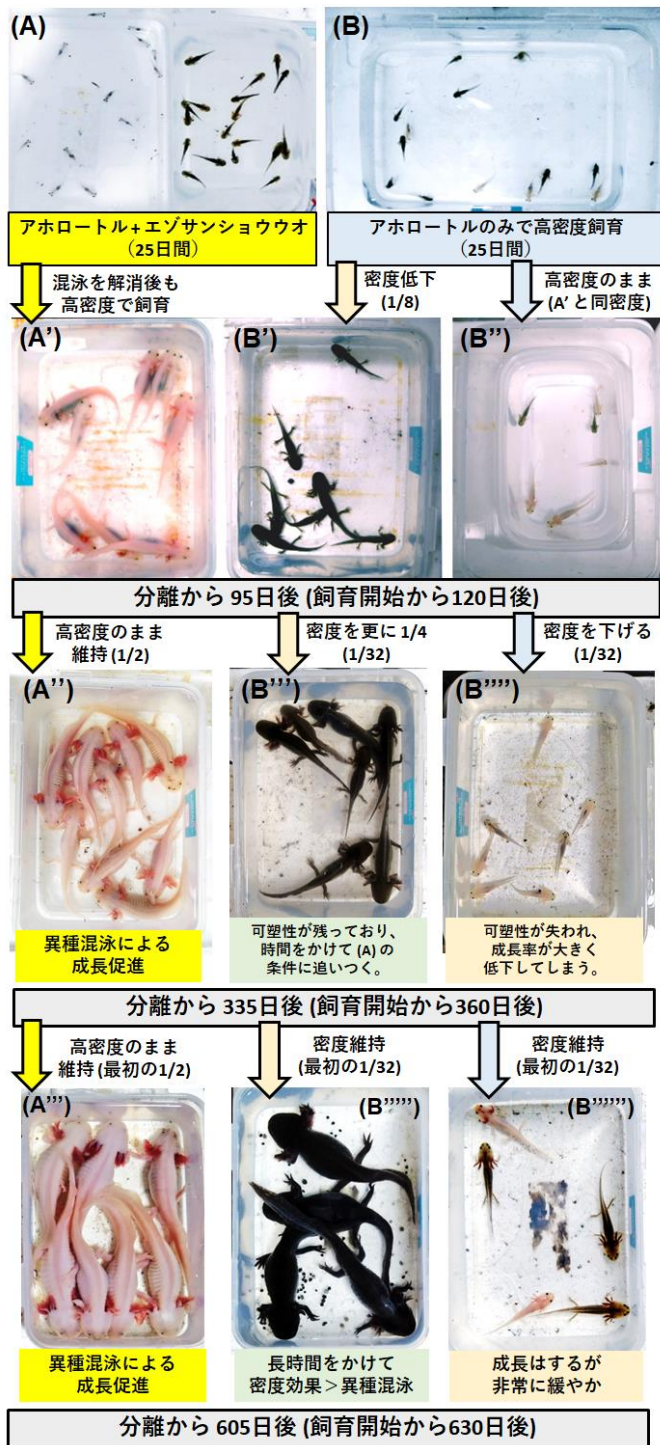


各 stage 付近 (±24hr) において、危篤となった個体の中枢神経系から mRNA を収集し、technical triplicate で比較した。

(収集できた mRNA が特に幼体ではやや少ないこともあり、
試料は N=1~2 程度の mRNA を併せて逆転写して用いた。)

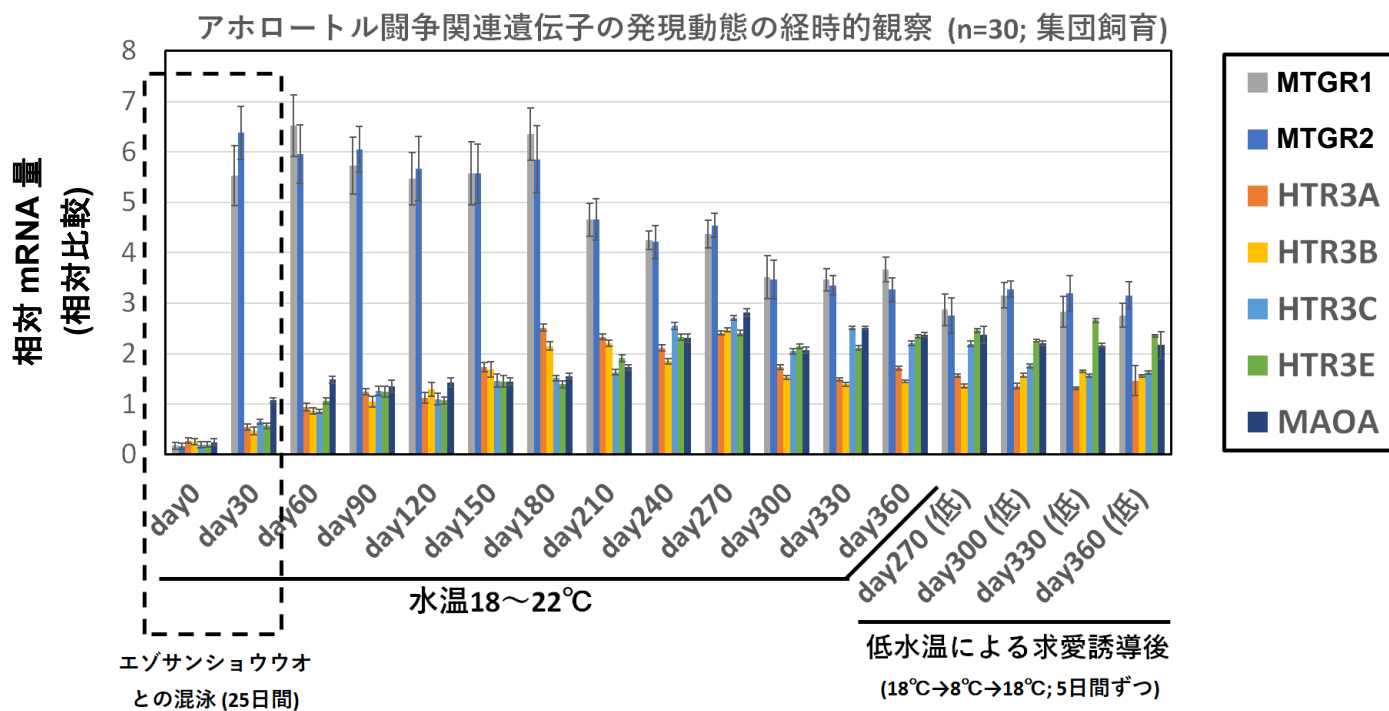
図 2: ショウジョウバエ Nery 遺伝子に相同のアホロートル因子 MTGR1, 2 の発現動態

疑問: 異種混泳による成長促進時、攻撃性関連遺伝子の発現はどのように変化するのか?



参考 1: 異種混泳による成長促進機構

(A) 異種混泳飼育時における Nervy 遺伝子相同因子 MTGR1&2 の発現動態



(B) 高密度飼育時における Nervy 遺伝子相同因子 MTGR1&2 の発現動態

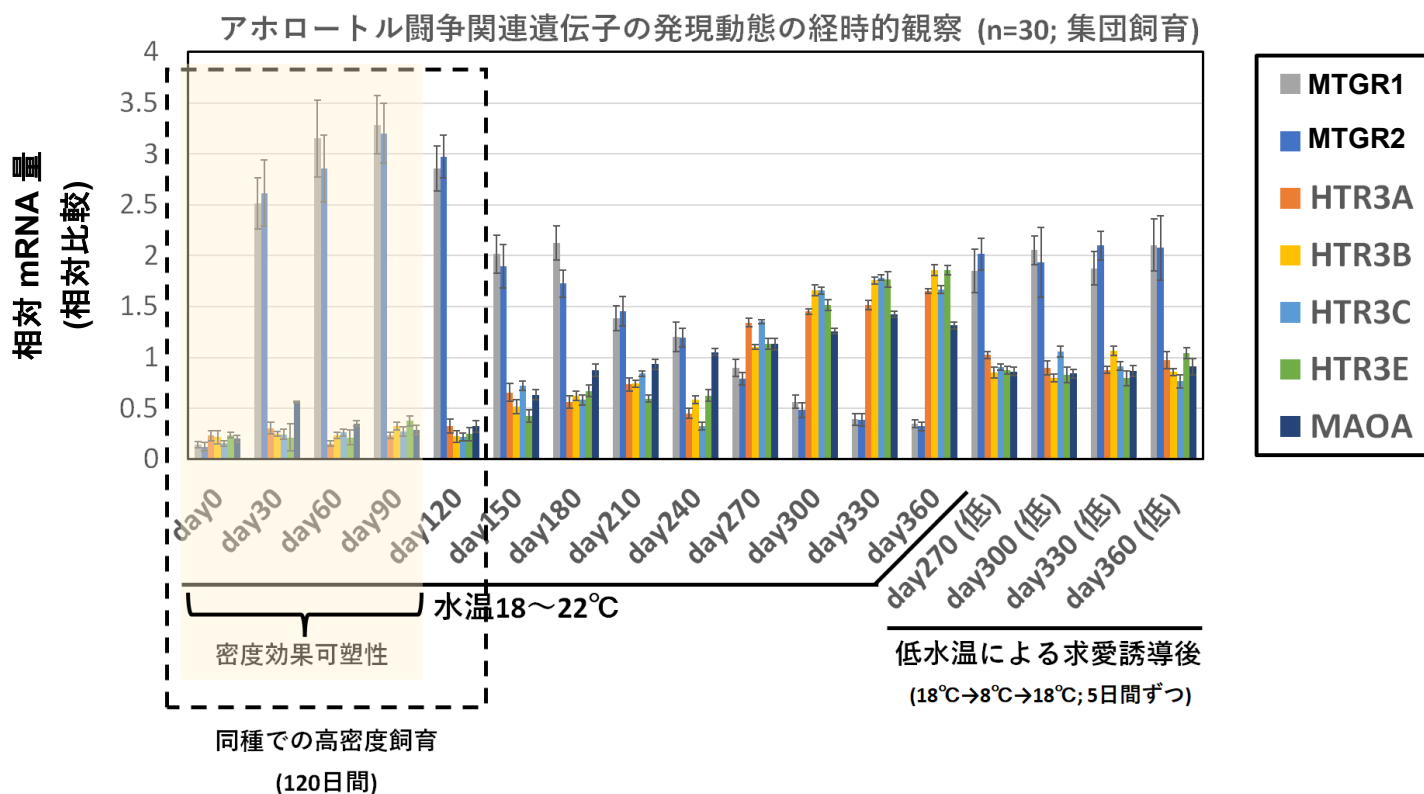


図 3-1: 異種混泳および密度効果による成長促進時の攻撃性因子の発現動態 1

(C) 密度可塑性発揮時における Nervy 遺伝子相同因子 MTGR1&2 の発現動態

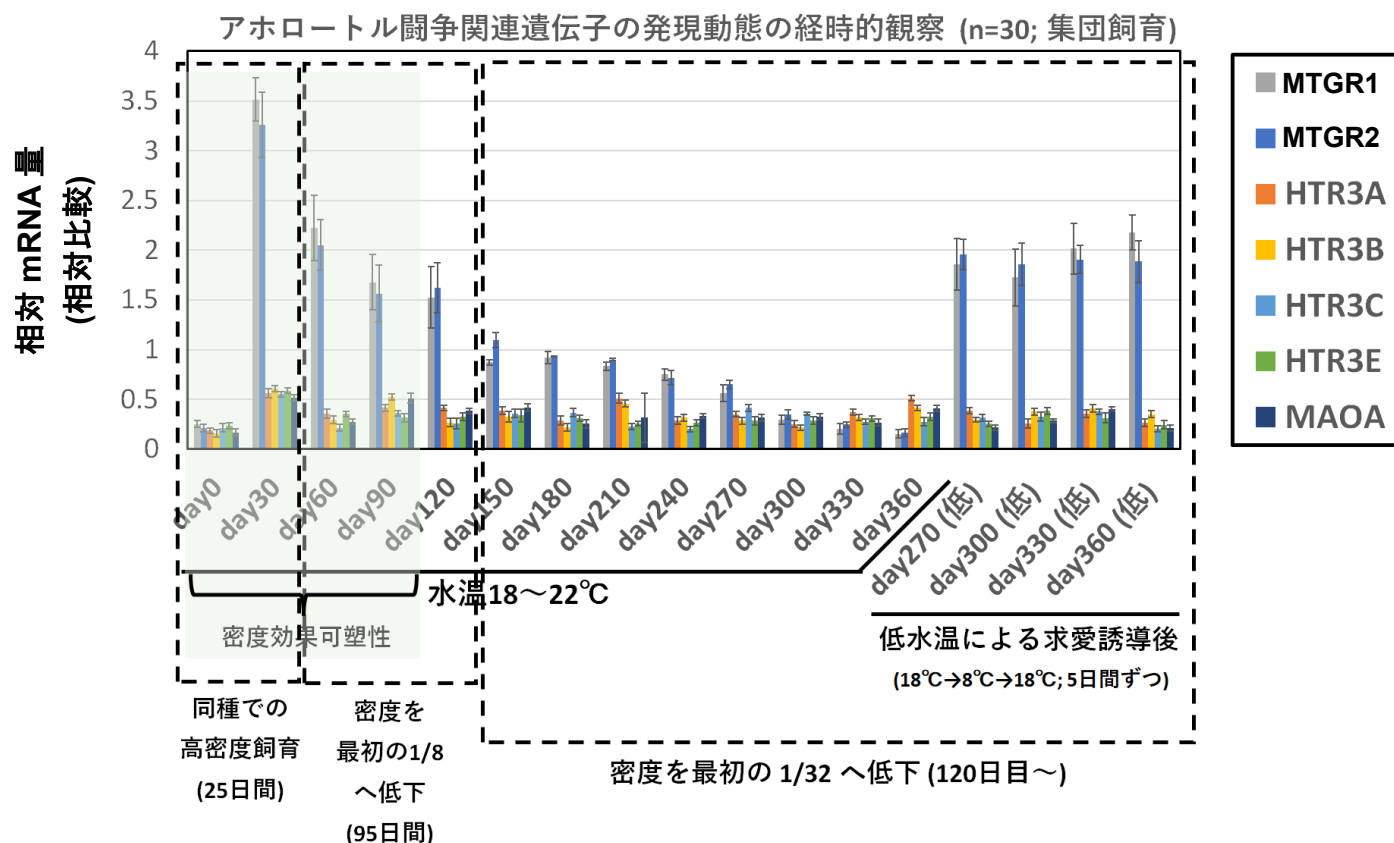


図 3-2: 異種混泳および密度効果による成長促進時の攻撃性因子の発現動態 2

疑問 2: MTGR もアホロートルで攻撃抑制因子として働く？

→ セロトニンによる攻撃性を、最初は受容体ある HTR3 を一定に保つことで抑制しつつ、MTGR によって抑制するよう作用させることで攻撃性を抑制している。

抑制性のセロトニンニューロンと MTGR を成長時期によって段々と切り替えることが考えられ、成長初期にはセロトニンによる過剰な攻撃行動を抑制し、ある程度成熟したところでは攻撃と抑制を同程度に制御できるように遷移していく制御機構が推察された。

疑問 3: セロトニン拮抗阻害薬の効果が時期によって異なるのでは？

→ 以下の二種類の薬剤を経口投与し、時期特異的な影響を確認する。

- ・グラニセトロン塩酸塩錠 → セロトニンの効果は抑制される
- ・選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) フルオキセチン → 脳内のセロトニン量は増加する

仮説 → 検証

- ・幼い時 → セロトニンは攻撃性に関与？ (通常は MTGR によって抑制されている) → おそらく想定の効果あり。
- ・成長後, 繁殖時 → セロトニンは攻撃抑制にも関与 (平衡状態のため見かけ上穏やかに見える) → 仮説通りの傾向。

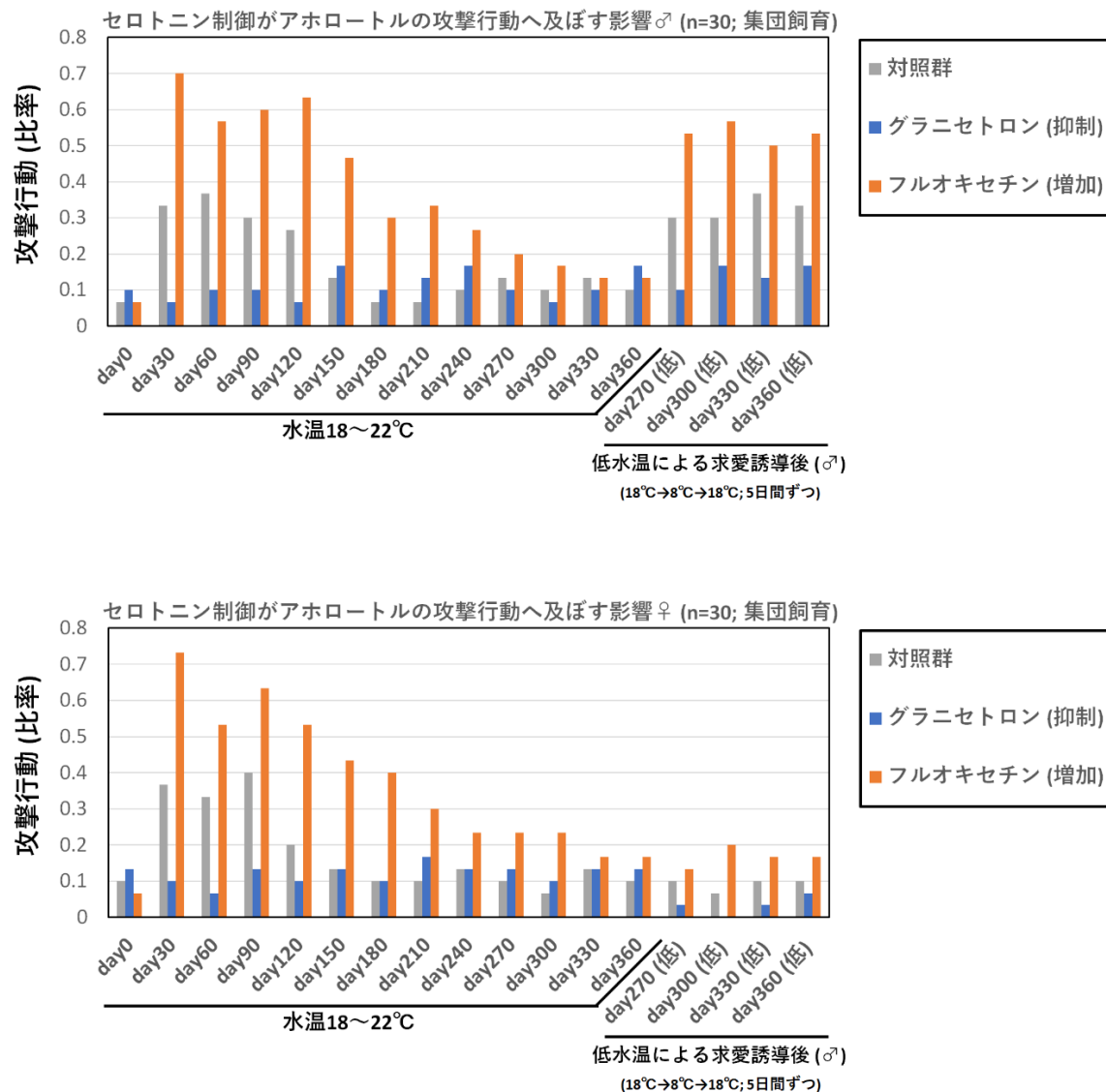
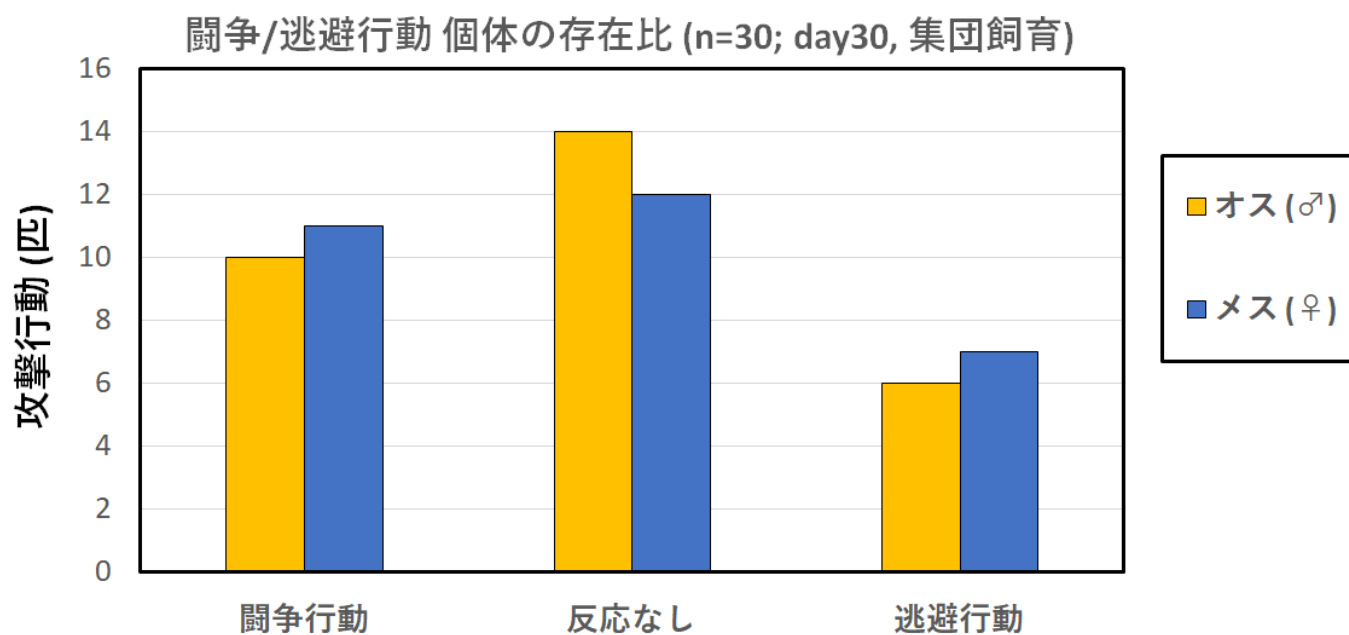


図 4: セロトニン制御による攻撃行動への影響の調査

(A)



(B)

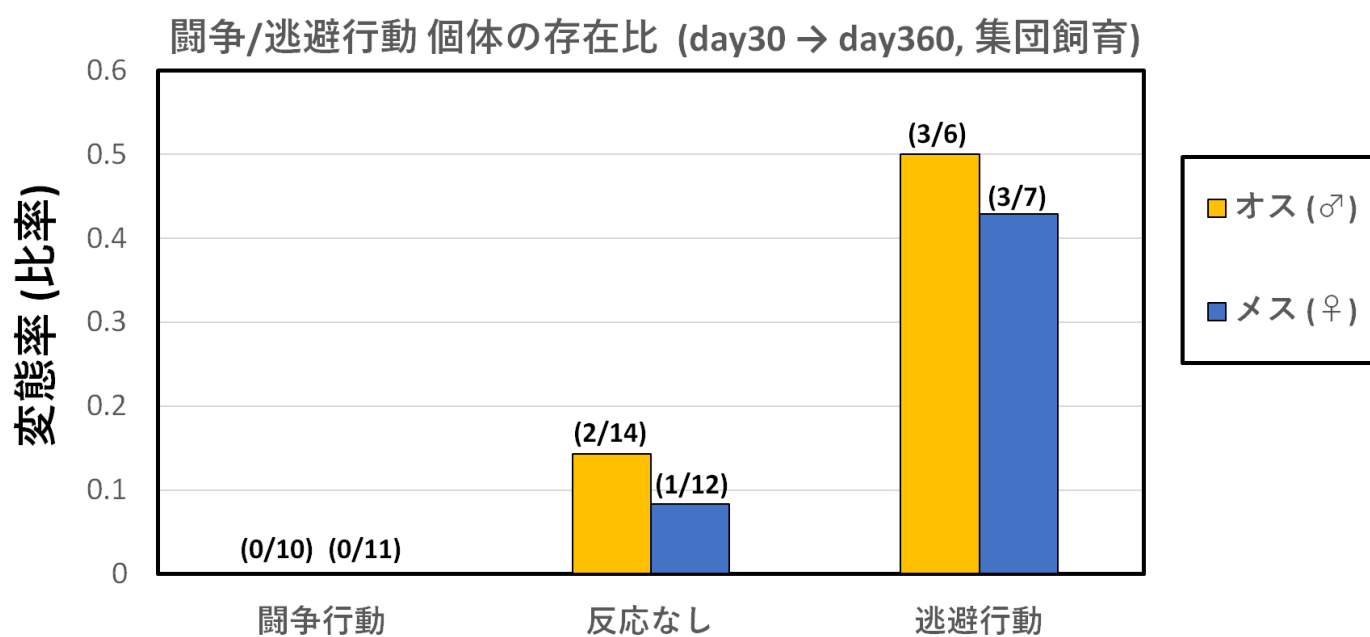


図 5-1: 闘争/逃避行動と成熟化・上陸化促進の関係性 (18~22℃) 1

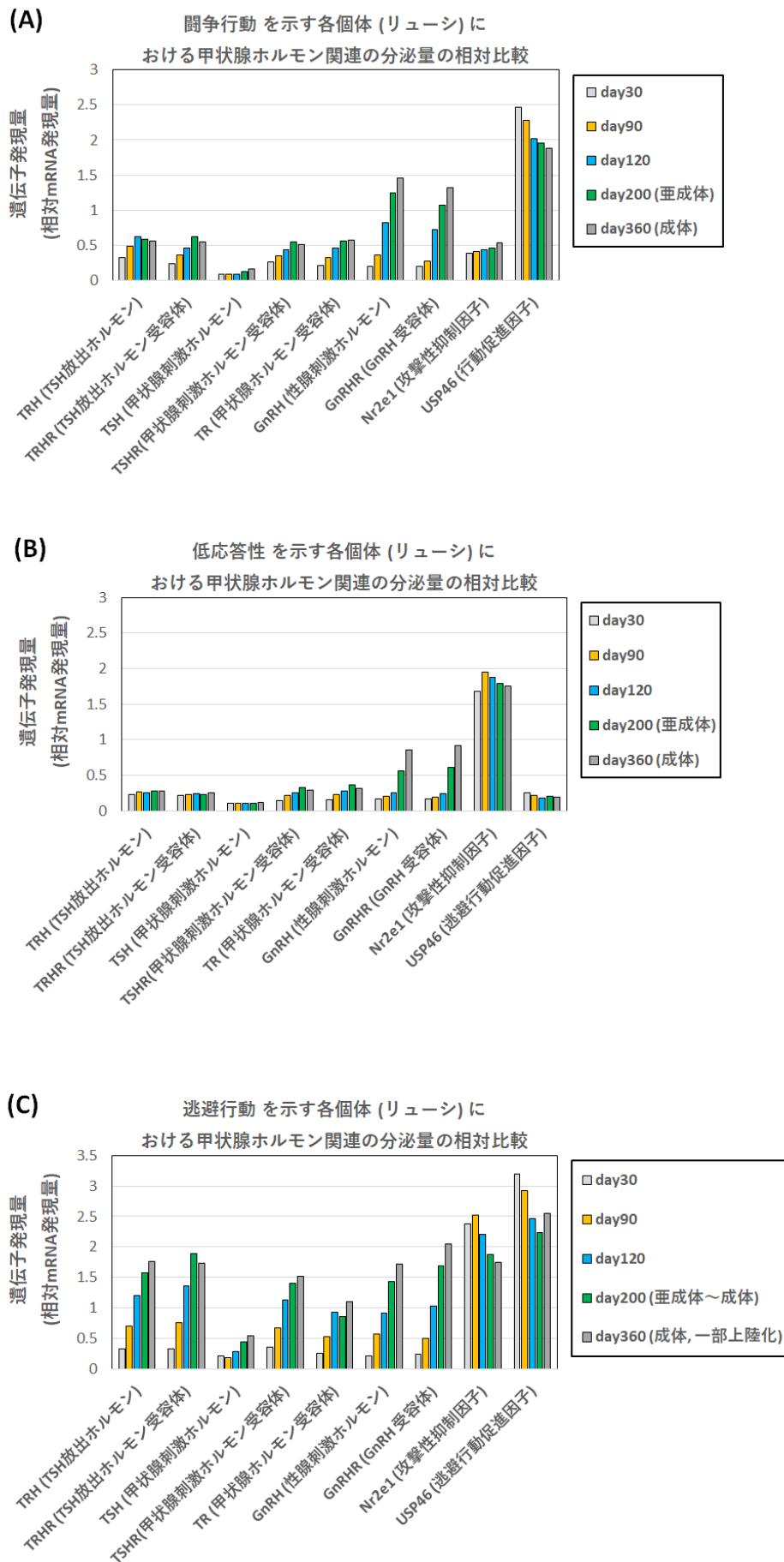


図 5-2: 闘争/逃避行動と成熟化・上陸化促進の関係性 (18~22℃) 2

< 単独生活個体 >



VS

< 集団生活するアホロートル >



幼少期: MTGR1, 2 > セロトニン受容体
成育に伴い... MTGR1, 2 < セロトニン受容体

攻撃性誘発因子の活性

単独 < 集団

セロトニンの効果: 幼少期は攻撃性に関与し、成長後は攻撃性の抑制にも作用し、集団生活での均衡を保つ?

成育密度効果: 密度が高い方が、攻撃性が一層強まる?
→ その分強く抑制されるよう制御を受ける。

< 異種混泳個体群 >



異種混泳条件下では、
・ 成長促進 (成長過剰)
・ 攻撃性上昇
・ それに伴う攻撃性の抑制
といった防御応答が起こる。

< 集団生活において発生する3つの行動型 >



攻撃性が高い個体
・ 高い行動力
・ 水中生活を維持

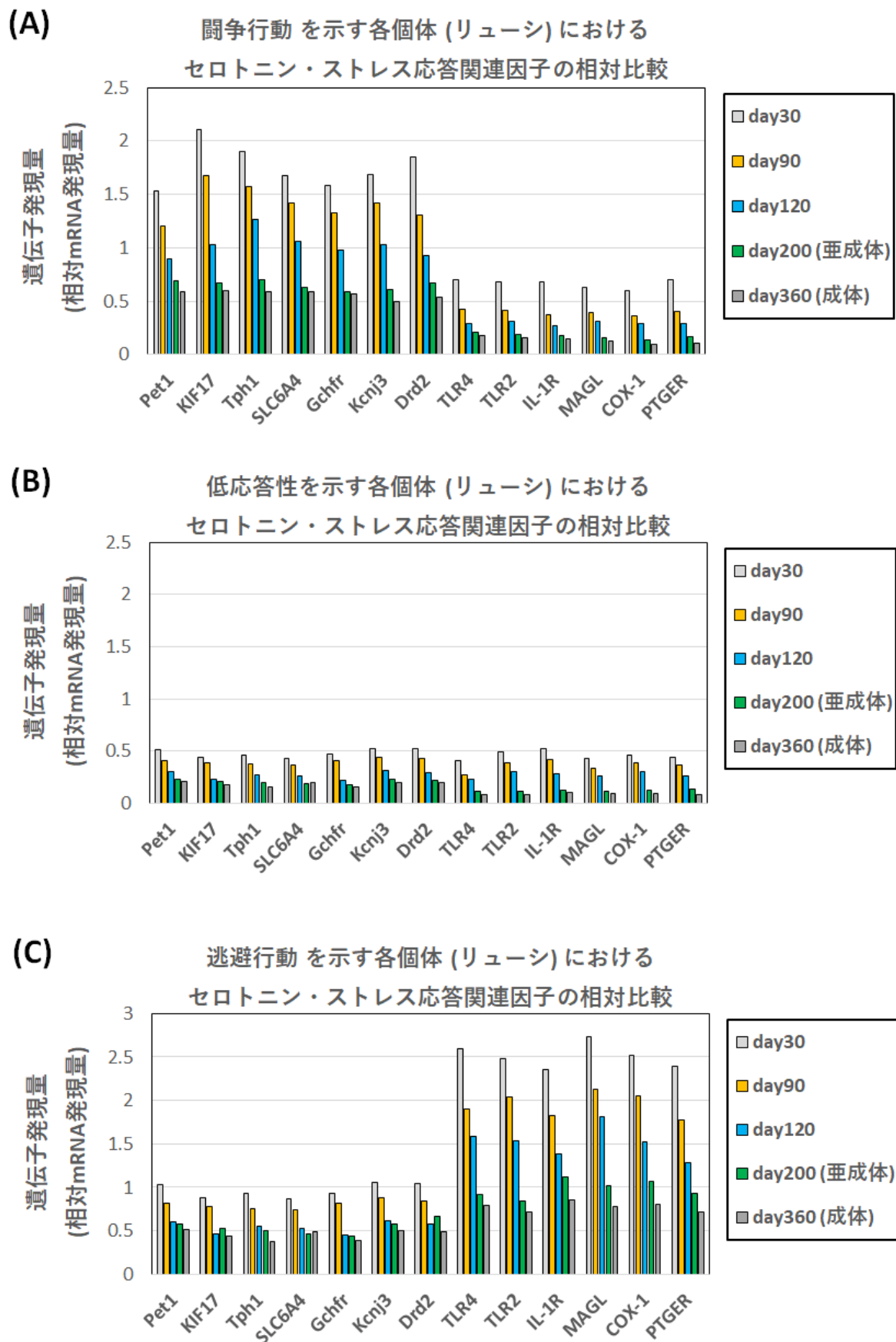


周囲に影響されない個体
・ じっとしている
・ 攻撃性は抑制されている
・ 水中生活を維持



逃避行動を取る個体
・ 一定以上の行動力
・ 上陸化する場合あり

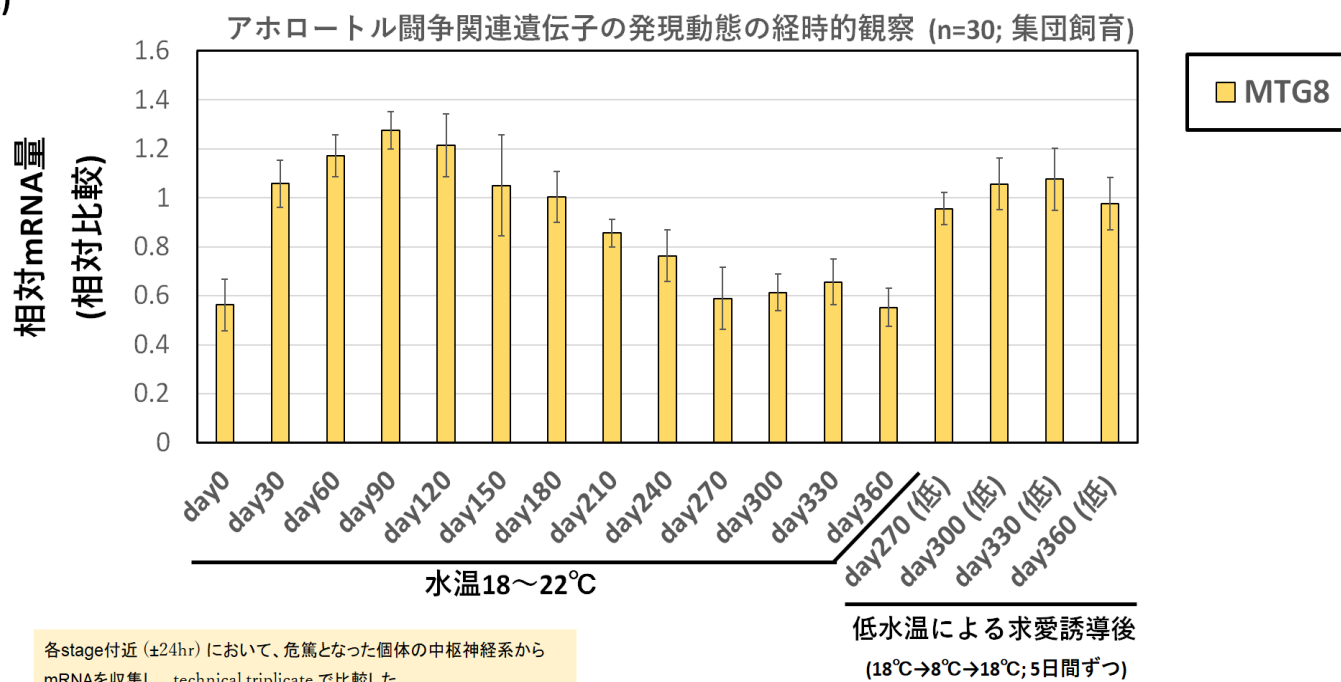
図 6: アホロートルにおける攻撃行動の制御と闘争/逃避行動の相関モデル図



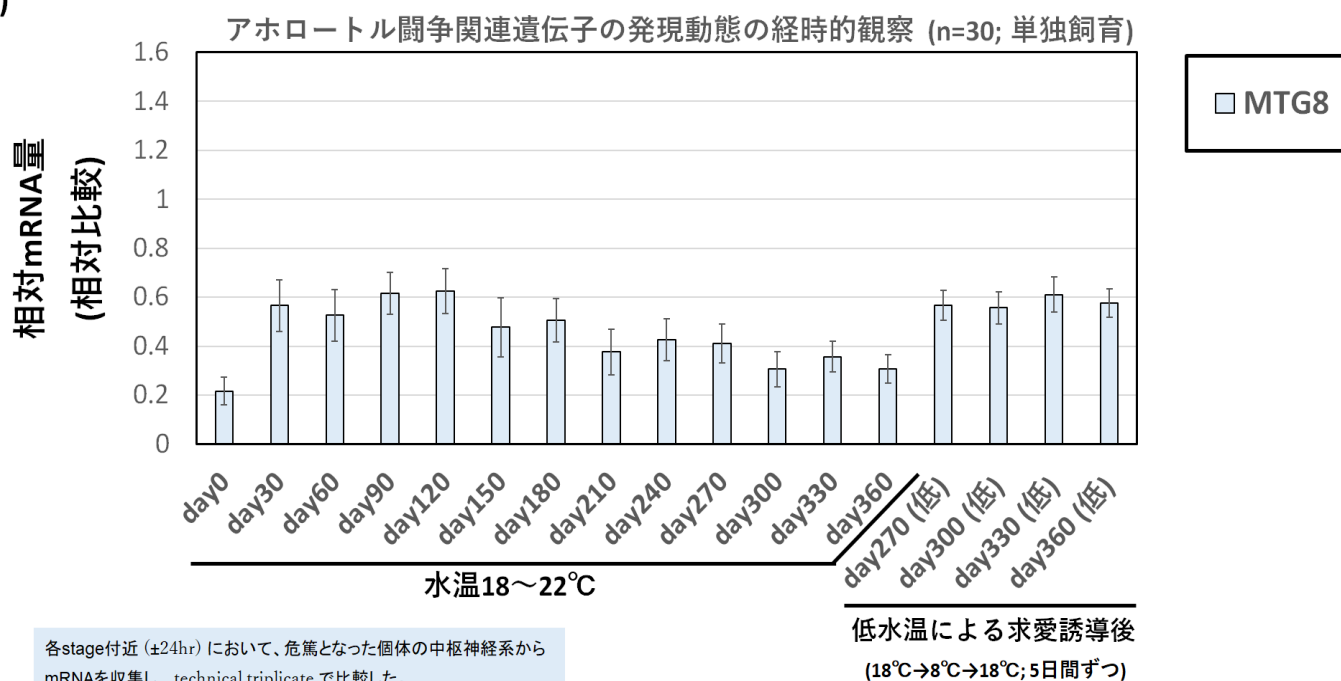
- ・ ストレス刺激によるセロトニン放出に関わる因子: Pet1, KIF17, Tph1, SLC6A4, Gchfr, Kcnj3, Drd2
- ・ 慢性的ストレスからの忌避行動に関わる因子: TLR4, TLR2, IL-1R, MAGL, COX-1, PTGER

補足図 1: アホロートルにおけるストレス応答性制御機構の追加調査

(A)



(B)



補足図 2: アホロートルにおける MTG8 発現動態の追加調査

参考文献 References

[1] *Drosophila* Nervy gene

東大など、社会経験に応じて過度な攻撃を抑える脳内の「ブレーキ」をハエの研究から発見 - 日本経済新聞 (nikkei.com)

01_202209061508.pdf (nikkei.co.jp)

社会経験に応じて過度な攻撃を抑える脳内の「ブレーキ」をハエの研究から発見 - 東京大学 大学院理学系研究科・理学部 (u-tokyo.ac.jp)

A neurogenetic mechanism of experience-dependent suppression of aggression

SCIENCE ADVANCES . Sep 2022. Vol 8, Issue 36. DOI: [10.1126/sciadv.abg3203](https://doi.org/10.1126/sciadv.abg3203)

[A neurogenetic mechanism of experience-dependent suppression of aggression | Science Advances](#)

[2] MTG8: Nervy, a *Drosophila* homolog of the mammalian **MTG8** proto-oncogene, was identified in a yeast interaction screen as a Plexin A-interacting protein.

[Sdbonline.org](https://www.sdbonline.org/sites/fly/hjmmuller/nervy1.htm) <https://www.sdbonline.org/sites/fly/hjmmuller/nervy1.htm>

[Nervy - Society for Developmental Biology](#) [Nervy \(sdbonline.org\)](#)

[Nervy Links Protein Kinase A to Plexin-Mediated Semaphorin Repulsion | Science](#)

[The expression and function of MTGR/ETO family proteins during neurogenesis - ScienceDirect](#)

[Drosophila melanogaster nervy \(nvy\), transcript variant A, mRNA - Nucleotide - NCBI \(nih.gov\)](#)

[RUNX1T1 RUNX1 partner transcriptional co-repressor 1 \[Homo sapiens \(human\)\] - Gene - NCBI \(nih.gov\)](#)

[3] Axolotl ortholog: Axolotl-MTGR1, 2-like (MTGR = Myeloid Translocation Gene-Related), MTG8

MTGR1

[Cbfa2t2|AMEX60DD102028456.4 at chr3p:807639642-807969080](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD201028456.1 at chr3p:807507047-807950883](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD201028456.2 at chr3p:807615540-807969080](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD201028456.3 at chr3p:807639634-807969080](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD301028456.5 at chr3p:807639647-807950883](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD102028456.6 at chr3p:807639717-807969080](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD201028456.7 at chr3p:807639717-807969080](#)

[Cbfa2t2|AMEX60DD201028456.8 at chr3p:807639721-807969080](#)

MTGR2

[Cbfa2t3|AMEX60DD201017110.4 at chr1q:87221306-87275347](#)

[Cbfa2t3|AMEX60DD201017110.2 at chr1q:87120156-87275347](#)

[Cbfa2t3|AMEX60DD301017110.3 at chr1q:87121322-87232224](#)

[Cbfa2t3|AMEX60DD301017110.1 at chr1q:86750991-87275347](#)

[Cbfa2t3|AMEX60DD201017110.5 at chr1q:87243680-87275347](#)

Axolotl MTG8

[Runx1t1|AMEX60DD201040096.1 at chr5q:807983904-808169662](#)

[Runx1t1|AMEX60DD301040096.3 at chr5q:807983977-808169662](#)

[Runx1t1|AMEX60DD301040096.4 at chr5q:807983981-808168837](#)

[Runx1t1|AMEX60DD201040096.2 at chr5q:807983974-808090216](#)

[4] 攻撃行動

[KAKEN — 研究課題をさがす | 衝動的攻撃行動を生み出す内分泌および脳内環境の解析 \(KAKENHI-PROJECT-17790144\) \(nii.ac.jp\)](#)

[5] セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン、5-HT)

哺乳類の体内全体に広く分布しており、胃腸管のクロム親和性細胞内およびセロトニン作動性ニューロン内で L-トリプトファンから合成される。ドーパミンやノルアドレナリンを制御し、精神を安定させる働きや攻撃性を抑制する作用を持っている。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/149/1/149_27/pdf/-char/ja

[セロトニン受容体 \(sigmaaldrich.com\)](#) [セロトニン受容体 - Wikipedia](#)

セロトニン受容体 (攻撃性を抑制する場合もある) … HTR3A, HTR3B, HTR3C, HTR3D, HTR3E

https://en.wikipedia.org/wiki/5-HT3_receptor#:~:text=The%20genes%20encoding%20human%205-HT%203%20receptors%20are,5-HT%203C%20%205-HT%203D%20and%205-HT%203E%20subunits.

アホロートル HTR3

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3a \[hs\]||AMEX60DD201017791.3 at chr1q:405861641-406241897](#)

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD201017791.6 at chr1q:405865095-406390167](#)

[Loc102350588 \[nr\]||Htr3a \[hs\]||AMEX60DD201053676.4 at chr9p:82418192-82424448](#)

[Loc115099600 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD301001486.1 at chr10p:661901120-661984894](#)

[Loc115099600 \[nr\]||Htr3c \[hs\]||AMEX60DD301001486.2 at chr10p:661901994-661984894](#)

[Uy3_01476 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD102017798.2 at chr1q:407769414-408225034](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD301053679.3 at chr9p:82778348-82788715](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD102053679.4 at chr9p:82778349-82788715](#)

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD201017791.1 at chr1q:405861616-406390130](#)

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD201017791.2 at chr1q:405861619-406390167](#)

[Loc108793906 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD201017791.4 at chr1q:405861659-406390130](#)

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3e \[hs\]||AMEX60DD201017791.5 at chr1q:405865095-406389476](#)

[Dr999_pmt18419 \[nr\]||Htr3a \[hs\]||AMEX60DD301017798.1 at chr1q:407764834-408225034](#)

[Loc108697235 \[nr\]||Htr3a \[hs\]||AMEX60DD201053676.3 at chr9p:82418176-82521130](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD201053679.1 at chr9p:82778345-82788715](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD201053679.2 at chr9p:82778345-82788715](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD101053679.5 at chr9p:82778349-82788715](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD201053679.6 at chr9p:82778350-82895423](#)

[Htr3b.l \[nr\]||Htr3b \[hs\]||AMEX60DD301053679.7 at chr9p:82778527-83096794](#)

[6] セロトニン受容体拮抗阻害薬 → 脳内でのセロトニンの作用を抑制する

グラニセトロン塩酸塩錠: [5-HT3 受容体拮抗薬 - 処方薬の種類 | MEDLEY\(メドレー\)](#)

[7] 選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) → 脳内のセロトニン量は増加する → セロトニンの効果は亢進する

<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E9%81%B8%E6%8A%9E%E7%9A%84%E3%82%BB%E3%83%AD%E3%83%88%E3%83%8B%E3%83%B3%E5%86%8D%E5%8F%96%E3%82%8A%E8%BE%BC%E3%81%BF%E9%98%BB%E5%AE%B3%E8%96%AC>

フルオキセチン(トリフルオロメチルベンゼン誘導体)

<https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%95%E3%83%AB%E3%82%AA%E3%82%AD%E3%82%BB%E3%83%81%E3%83%B3>

[8] 攻撃行動遺伝子 ヒト MAOA

[犯罪を起こしやすい、攻撃的な遺伝子「MAOA」 | 初めての遺伝子検査 \(first-genetic-testing.com\)](#)

[Abnormal Behavior Associated with a Point Mutation in the Structural Gene for Monoamine Oxidase A | Science](#)

Axolotl MAOA

[Loc103774741 \[nr\]\[Maoa \[hs\]\]AMEX60DD201047104.1 at chr7p:150817825-150819700](#)

[Loc115092336 \[nr\]\[Maoa \[hs\]\]AMEX60DD102047599.2 at chr7p:439419426-439919333](#)

[Loc115092336 \[nr\]\[Maoa \[hs\]\]AMEX60DD301047599.1 at chr7p:439419168-439919333](#)

[9] クロルブルマジン(マウスの鎮静剤) → 中枢神経に作用し、マウスの行動を抑制する。

[マウスの自発運動を長時間自動的に評価する方法を開発 | 東京大学大学院農学生命科学研究科・農学部 \(u-tokyo.ac.jp\)](#)

[10] その他の攻撃抑制因子: *Nr2e1* 遺伝子 (マウス)

[【神経科学】ショウジョウバエの攻撃行動を遺伝的に制御する機構 | Nature Communications | Nature Portfolio \(natureasia.com\)](#)

[Nr2e1|AMEX60DD201034056.1 at chr4p:901144784-901309708](#)

[Nr2e1|AMEX60DD102034056.4 at chr4p:901144831-901233270](#)

[Nr2e1|AMEX60DD201034056.2 at chr4p:901144796-901233270](#)

[Nr2e1|AMEX60DD301034056.3 at chr4p:901144814-901309708](#)

[11] ショウジョウバエにおいて痛みによる逃避行動を抑制する因子 “*belly role(bero; CG9336)*”

→ Axolotl に相同因子・配列はみられない。

[痛みを抑制する新しい調節機構を発見 | 医療技術ニュース - MONOist \(itmedia.co.jp\)](#)

<https://flybase.org/reports/FBgn0032897>

Ref. Kai et. Al. (2023), **Genetics and Genomics Neuroscience**. Doi: <https://doi.org/10.7554/eLife.83856>

Gene locus: [Drosophila melanogaster chromosome 2L - Nucleotide - NCBI \(nih.gov\)](#)

cccaaaccttgagtcgattcattatttcagagggatttgcgtcgtgagctgcgctattgcggtgttacaaccaccaacgccacacaatttcagacgtgcagcagacatcgttgacggcgg
ttgataatcgtgcctgactttaaaaaaaaaaatcgttttcgaaaagcaattcccacactcgaagtattcgcgaaatggtgtccgctcgaatgcagttggccgtggtgatcagctt
ggctgttcgggtgcgttggttcgaaagtgtggcgttgaaattgtatttaacggagtgctcaaggagagccagctgacggaaaactaagaaaatttataagacaaaatttctaacgg
ctattatgtagaaccgttctatataacattttttctattatcattttttctcgtatcctttttatatacaaatattagcagaaatgttagatttaaaataattacaaatattgttatcacctaactgaa
gtctattcctgggaccgaccaaagctccttctcttctcctcaaaagtcttttagactgtgattatattaaaggcgttttatctgtagtagttttatccatataactaatacatattaatccatgcctatat
cccatagcctacgcatcaagtgtaccagtgagctccctcacaatgcccaagtgtggcctgaagttcagaggtgatgagacgttgctgctggactgtccaggatcggacccccacgc
tacctgcagaacttctccccctcggaacgccactggtgcatgaagaagaccctcgaaagcggtaggtcacagtccttaggactatcatattgttagtactataacatataggaagaaa
acacaatctaagattcataaatcagcaaaaactgagaagaaaaactctatgattcctcattattaaagctagaaatagcgcaattaagcaatacaagccccctgagatcatcgagaaaaatc
gggtgttattagctctgtagtgcgtgaatatttcgtacctgatttcagacgttactttttcccttcgacgtgatttctagtcacttttttgcgtcttattttccagcaattacataaattgagag
cttaattcgttttctgtaaaaaataaatgacagggacgagagagaatgccgcaagctccgagctattcagactatcaaaactagcatttctgaattatttacaaggcagatcgcccgataa
attaatccgtcacaatatattgtgatcgtttttgatcgtttttgaacgcccaagccaaatcagctcgtatctagtagtcaattttatcagaggaatcaaaaaaagttgtagaaaaatcgcatttga
gataacaggggcaacgaattatgtttcatcgaggtgtgaagcaaatgttgatctttgttttcttgacaataaaactacagtggtttgactgaataaataagcaattaacaagtatccgaagccaa
aggataaatgggtcattcagcaaccccaaccagagaaagtgttgcccaattgctcatcaaaccaacaatttgcctcattccagtgccggacatccgcagatcgtgaggagctg
ctacttcggggacatcaacaatatcaagctggcgtccagtcggatccctctatgccgttcgttaagcagctgggctgcgtatgtgcaccaaggacgagtgcaacggatcctcctccctg
gccccatcgccggagccatcctgctcttctcggcgtggcgtcgtcgtcgtcgttagatcttaactagctagtaaatctcgtgcgttagtatttaacgatctgttctctggaaatttctctaaatt
gttttaataataaatgcacgacgaatggtgtcatagcaacatgccaaact

[12] USP46 gene (マウスにおいて無動運動を制御する; 逃避行動等を活性化?)

https://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu//public-relations/researchinfo/upload_images/20090525_agr.pdf

KAKEN — 研究課題をさがす | マウスをモデルとした精神疾患へのアプローチ (KAKENHI-PROJECT-22248033) (nii.ac.jp)

Axolotl Usp46 gene

[Usp46|AMEX60DD301045565.5 at chr6q:1071355056-1071785793](#)

[Usp46|AMEX60DD301045565.6 at chr6q:1071355081-1071785793](#)

[Loc109927996 \[nr\]|Usp46 \[hs\]|AMEX60DD201045565.1 at chr6q:1071354896-1071785793](#)

[Usp46|AMEX60DD201045565.2 at chr6q:1071354930-1071785793](#)

[Usp46|AMEX60DD201045565.3 at chr6q:1071354930-1071785793](#)

[Loc109927996 \[nr\]|Usp46 \[hs\]|AMEX60DD201045565.4 at chr6q:1071354930-1071785793](#)

[13] アホロートルにおける密度と成長の関係性に関する調査報告

【改訂版】メキシコサンショウウオ等の栄養と成長に関する最新報告_(初稿) 2022/10/2

杉山 遥. 2023 年 4 月 19 日 (改定版).

Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41527304

[14] アホロートルの多頭飼育について

総説: メキシコサンショウウオにおける多頭飼育_他個体認識

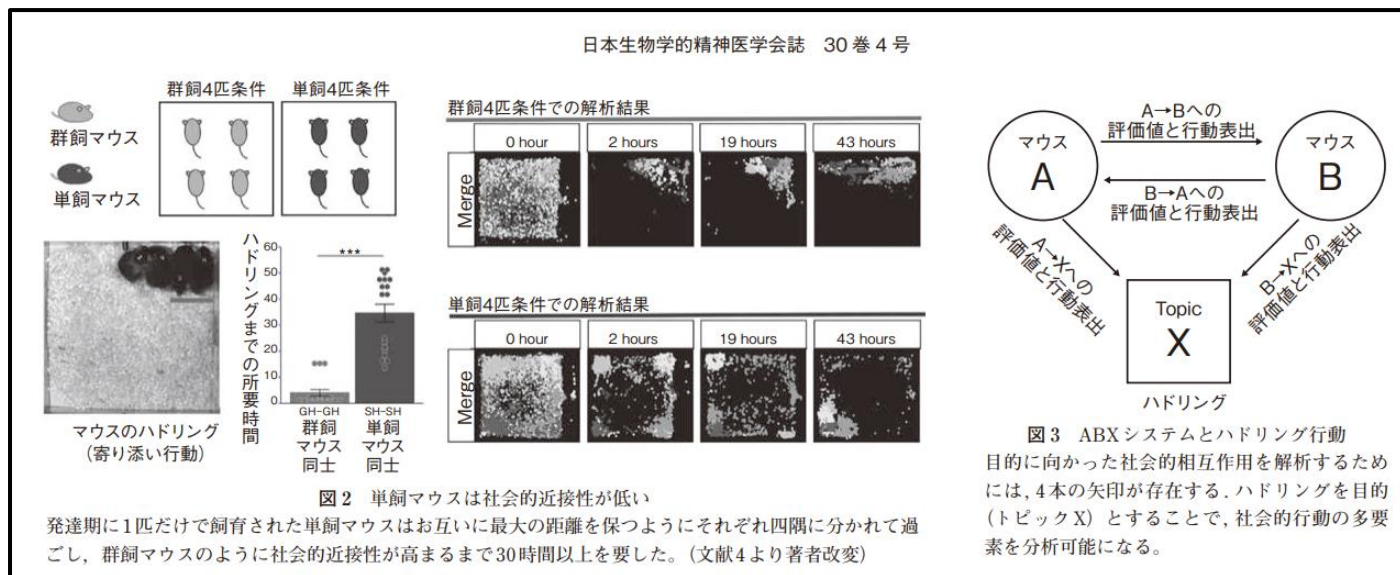
杉山 遥. 2022 年 5 月. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41322786

[15] 4. マウスの集団内社会行動の客観定量分析

> 特集 2: 社会行動とその障害の客観定量化—表情, 発話特徴, 行動の定量分析を通じた基礎と臨床の融合

掛山 正心 & 藤原 昌也. (2019). 日本生物学的精神医学会誌 30(4): 182-186,

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbjpp/30/4/30_182/pdf/-char/ja



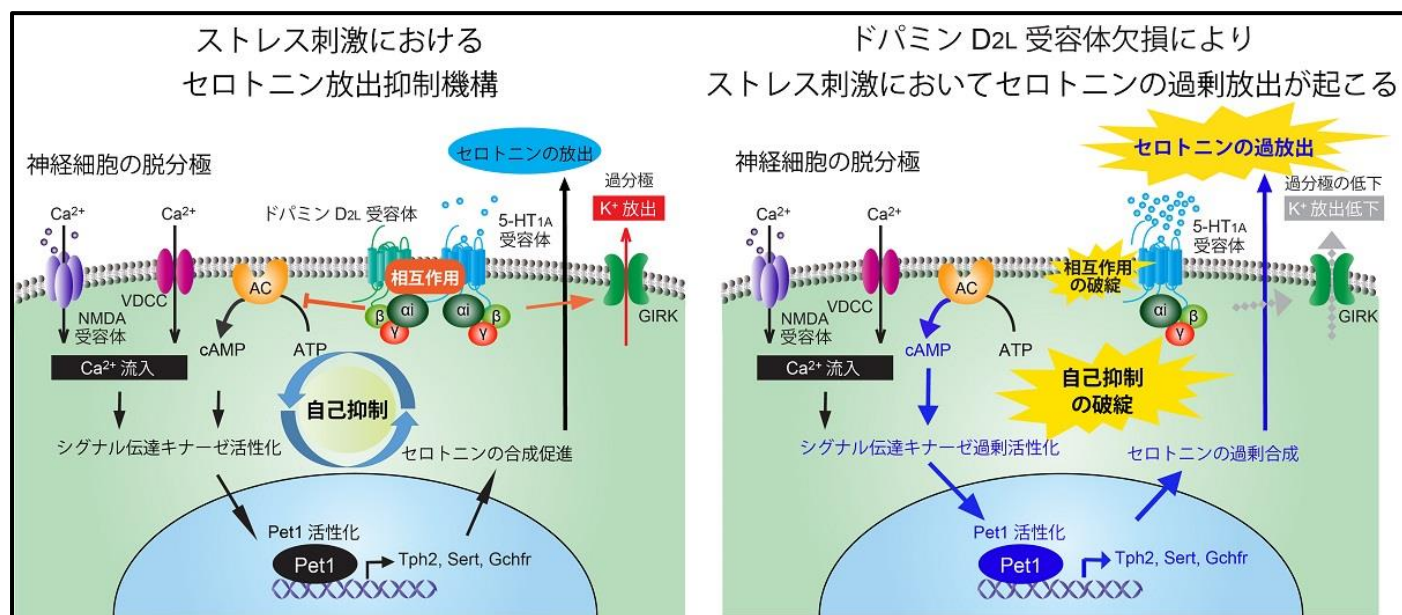
[16] ドパミン D2L 受容体は 5HT1A と相互作用することで、ストレス刺激を受けた際にセロトニンを放出を誘導する。

Norifumi et al., (2019). *Journal of Neuroscience*. in press. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0079-19.

熊本大学発生医学研究所_ニュースプレス

ドパミン D2L 受容体異常はセロトニン神経 5-HT1A 受容体の機能低下により精神ストレス脆弱性を引き起こす

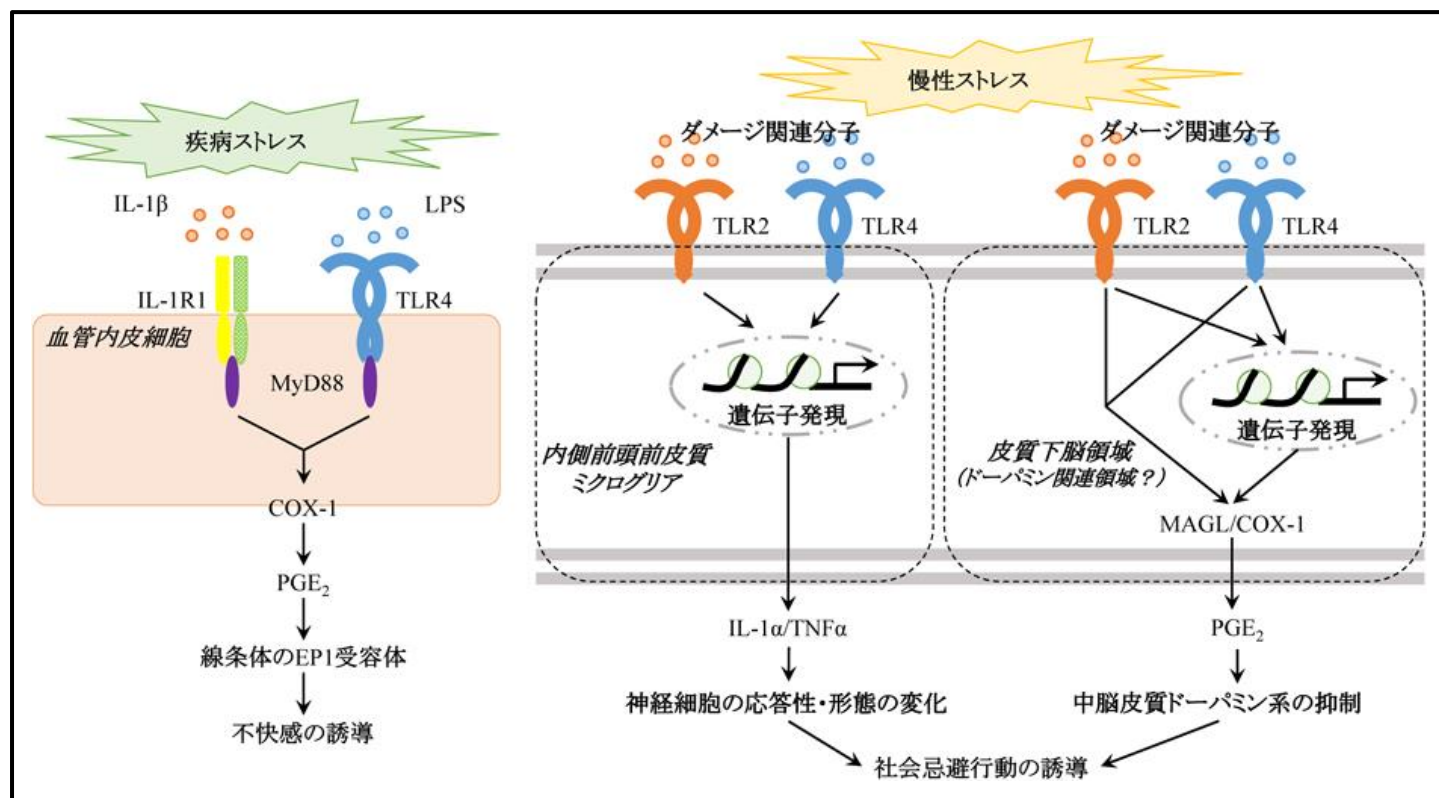
- 熊本大学発生医学研究所 (kumamoto-u.ac.jp)



[17] 疾病ストレスと非感染性の慢性ストレスによるうつ様行動の誘導における TLR の役割

北岡 志保 他., (2020). ストレスによる情動変容における Toll 様受容体の役割 *Journal of Japanese Biochemical Society* 92(3): 458-461. doi:10.14952/SEIKAGAKU.2020.920458

<https://seikagaku.jbsoc.or.jp/10.14952/SEIKAGAKU.2020.920458/data/index.html>



[18] アホロートルの上陸化について

【改訂版】ネオテニーの上陸化制御に関わる因子_ウーパールーパー研究報告 (初稿 22/11/1)

杉山 遥, 久木崎 玲美

2023 年 4 月 5 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41330950

セロトニン制御機構・ストレス応答関連遺伝子群

Pet1 [19]

[Pet-1 は一生の異なる段階でセロトニン作動性機能を制御するために必要である | 文献情報 | J-GLOBAL 科学技術総合リンクセンター \(jst.go.jp\)](#)

Pet1 遺伝子

[Pet100|AMEX60DD102031613.5 at chr3q:1350349166-1350494945](#)

[Loc115081149 \[nr\]|Pet100 \[hs\]|AMEX60DD301031613.4 at chr3q:1350349163-1350500044](#)

[Pet117|AMEX60DD301034771.8 at chr4q:86387472-86780805](#)

[Loc114468213 \[nr\]|Pet100 \[hs\]|AMEX60DD201031613.1 at chr3q:1350349116-1350500044](#)

NMDA 型グルタミン酸受容体 [20]

[NMDA 型グルタミン酸受容体 - Wikipedia](#)

https://www.istage.jst.go.jp/article/jsbpjpp/30/3/30_101/_pdf

キネシンスーパーファミリータンパク 17 (Kinesin superfamily protein 17: KIF17)

[Bn2614_locus3 \[nr\]|Kif17 \[hs\]|AMEX60DDU001026468.1 at C0160272:5081-6699](#)

[Kif17 \[nr\]|AMEX60DDU001040527.1 at C0211228:15460-46008](#)

[Kif17|AMEX60DD301038729.1 at chr5p:1220089460-1220257603](#)

[Kif17 \[nr\]|AMEX60DD301038730.1 at chr5p:1220320261-1220425767](#)

[Kif17|AMEX60DD201051492.1 at chr8p:578768652-579536952](#)

[Kif17|AMEX60DD301051492.2 at chr8p:578768731-579536952](#)

[Celaphus_00014730 \[nr\]|Kif17 \[hs\]|AMEX60DD201051494.1 at chr8p:579706032-579708504](#)

[Bn2614_locus3 \[nr\]|Kif17 \[hs\]|AMEX60DD301051499.1 at chr8p:581198758-581200391](#)

[Dnts_026603 \[nr\]|Kif17 \[hs\]|AMEX60DD301038730.2 at chr5p:1220320261-1221693957](#)

[Rohu_004744 \[nr\]|Kif17 \[hs\]|AMEX60DD301038730.3 at chr5p:1221506973-1221720357](#)

[Kif17 \[nr\]|AMEX60DD301051491.1 at chr8p:578302442-578620593](#)

[Kif17 \[nr\]|AMEX60DD301051491.4 at chr8p:578302471-578620593](#)

Tph (トリプトファンヒドロキシラーゼ) [21]

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-17K08540/>

Human Tph2

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY098914?report=GenBank>

Zebrafish (*Danio rerio*) Tph2

<https://zfin.org/ZDB-GENE-040624-4>

Axolotl Tph1

[Tph1|AMEX60DD301004665.1 at chr11q:287591525-287842719](#)

[Aftph|AMEX60DD301035618.1 at chr4q:573636420-574460036](#)

[Aftph|AMEX60DD301035618.2 at chr4q:573636420-574460036](#)

[Aftph|AMEX60DD301035618.3 at chr4q:573636420-574460036](#)

[Aftph|AMEX60DD201035618.4 at chr4q:573636420-574460036](#)

[Aftph|AMEX60DD301035618.5 at chr4q:573636420-574308330](#)

SERT (セロトニントランスポーター) [22]

[SERT \(hiroshima-u.ac.jp\)](http://hiroshima-u.ac.jp)

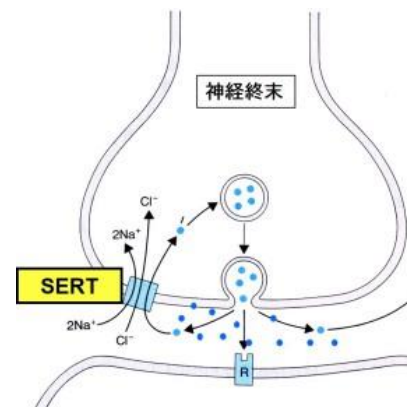
遺伝子 SLC6A4

[Llap_20918 \[nr\]|Slc6a4 \[hs\]|AMEX60DD301000820.1 at chr10p:321537016-321591128](#)

[Slc6a4|AMEX60DD201054806.3 at chr9q:96683903-97086714](#)

[Slc6a4|AMEX60DD201054806.1 at chr9q:96683903-97086714](#)

[Slc6a4|AMEX60DD301054806.2 at chr9q:96683903-97086714](#)



Gchfr (GTPシクロヒドロラーゼ1フィードバック調節タンパク質) [23]

https://www.jichi.ac.jp/spr/meeting_folder/2019_34th/spr2019_program.pdf

<https://patents.google.com/patent/JP2015508281A/ja>

Axolotl Gchfr

[sequence](#)

GIRK (G 蛋白質活性型内向き整流性カリウムチャンネル) [24]

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbjpp/22/4/22_263/pdf-char/ja

<https://patentimages.storage.googleapis.com/6d/b0/77/80e6658891fb49/JPW02013099808A1.pdf>

Mouse GIRK (Kcnj3; GIRK1; Kcnf3; Kcnj1; GIRK-1; Kir.3.1)

[Kcnj3 potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 3](#)

[\[Mus musculus \(house mouse\)\] - Gene - NCBI \(nih.gov\)](#)

Axolotl Kcnj3

[Loc114664399 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DDU001032424.1 at C0181751:19058-23612](#)

[Loc114664399 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DDU001032424.2 at C0181751:19111-23612](#)

[Loc114664399 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DDU001032424.3 at C0181751:19136-23612](#)

[Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DD201055838.1 at chr9q:579413463-579436322](#)

[Loc115481662 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DD201009979.1 at chr13q:260253725-260480824](#)

[Loc115481662 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DD201009979.2 at chr13q:260253735-260480824](#)

[Loc107704014 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DD201009979.3 at chr13q:260253791-260480824](#)

[Loc107704014 \[nr\]|Kcnj3 \[hs\]|AMEX60DD201009979.4 at chr13q:260254545-260480824](#)

[Kcnj3|AMEX60DD201055840.1 at chr9q:579719232-580003046](#)

[Kcnj3|AMEX60DD201055840.2 at chr9q:579929027-580003046](#)

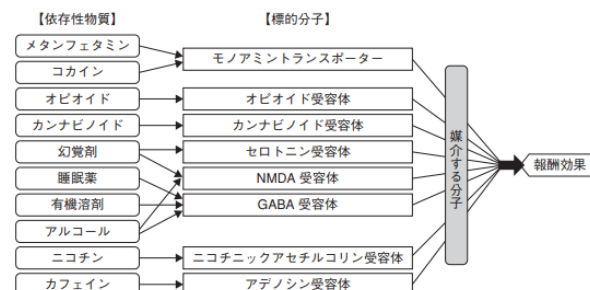


図1 報酬系に影響を与える依存性物質とその標的分子

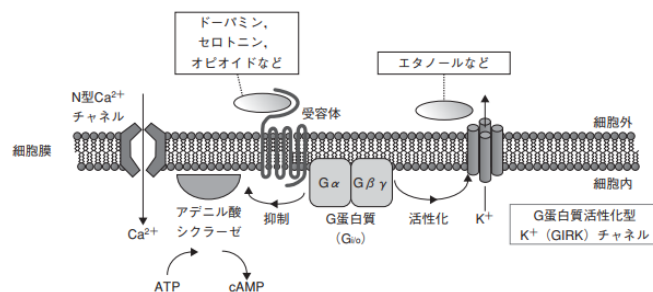


図2 GIRK チャンネルによる依存性物質のシグナル伝達

DRD2 (Dopamine D2 Receptor) [25]

Human DRD2

[Dopamine D2 Receptor gene - Gene - NCBI \(nih.gov\)](#)

Axolotl Drd2

[Drd2|AMEX60DDU001003696.1 at C0019223:209180-251317](#)

[Drd2|AMEX60DDU001003696.2 at C0019223:209191-251317](#)

[Drd2|AMEX60DDU001003696.3 at C0019223:228447-251317](#)

[Drd2|AMEX60DD201053692.1 at chr9p:88974527-88980041](#)

[Drd2|AMEX60DDU001003699.1 at C0019225:164299-164841](#)

TLR4 (Toll-like receptor 4) [26]

[TLR4 - Wikipedia](#) istage.jst.go.jp/article/fpj/144/4/144_167/pdf

<https://www.bing.com/search?q=TLR4+&qsn&form=QBRE&sp=-1&ghc=1&lq=0&pg=tlr4+&sc=10-5&sk=&cvid=31A095B0D9214AF6A29C4081DD826557&qhsh=0&qhacc=0&qhpl=>

[日本糖尿病学会誌第 54 巻第 7 号 \(jst.go.jp\)](#)

Axolotl TLR4

https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr6p%3A239432451%2D239432669&hsid=69715_5uEAzFI0qCx310CTXtpTbcU5J

IL-1R (インターロイキン 1 受容体) [27]

<https://www.bing.com/search?pglt=41&q=IL1R&cvid=8e8de353063c4c8da22794ac73f1d896&aqs=edge..69i57j0l8.6236j0j1&FORM=ANNTA1&PC=DCTS>

https://www.jstage.jst.go.jp/article/yakushi/133/6/133_13-00064/pdf/-char/ja

[Interleukin 1 receptor, type I - Wikipedia](#)

[The IL-1 receptor signaling pathway - PubMed \(nih.gov\)](#)

[Il1rap|AMEX60DD301003195.2 at chr10q:492523634-492580714](#)

[Dr999_pmt01044 \[nr\]|Il1rapl2 \[hs\]|AMEX60DD201037282.1 at chr5p:260867876-260885683](#)

[Loc103300433 \[nr\]|Il1rapl2 \[hs\]|AMEX60DD201037283.1 at chr5p:261122341-261254331](#)

[Dv515_00007127 \[nr\]|Il1rapl2 \[hs\]|AMEX60DD201037288.1 at chr5p:262398831-262843882](#)

[Loc104080477 \[nr\]|Il1rapl2 \[hs\]|AMEX60DD201037289.1 at chr5p:262657506-262742815](#)

[Loc102945219 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD102048109.6 at chr7p:752042048-752352082](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD201048109.13 at chr7p:752042239-752353976](#)

[Il1rap|AMEX60DD201003195.1 at chr10q:492436064-493076853](#)

[Il1r2|AMEX60DD201047866.1 at chr7p:615974993-616084861](#)

[Il1r1|AMEX60DD301048108.1 at chr7p:751219755-751646615](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.1 at chr7p:752041961-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.2 at chr7p:752041961-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.3 at chr7p:752042019-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.4 at chr7p:752042041-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD102048109.5 at chr7p:752042048-752352082](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.7 at chr7p:752042151-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD102048109.8 at chr7p:752042186-752352082](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.9 at chr7p:752042216-752350023](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.10 at chr7p:752042216-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD201048109.11 at chr7p:752042228-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD301048109.12 at chr7p:752042239-752353976](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD201048111.1 at chr7p:752684297-753121692](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD201048111.2 at chr7p:752686110-753121692](#)

[Loc115469120 \[nr\]|Il1r1 \[hs\]|AMEX60DD201048111.3 at chr7p:752686110-753121692](#)

TLR2 (Toll-like-receptor 2) [28]

[https://www.bing.com/search?q=Toll-like-receptor+type2&qs=n&form=QBRE&sp=-1&fq=0&pq=toll-like-receptor+type2&sc=8-24&sk=&cvid=948EDAF1DE2D4F578E12DE7616DE0EDE&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=Toll-like receptor 2 - Wikipedia](https://www.bing.com/search?q=Toll-like-receptor+type2&qs=n&form=QBRE&sp=-1&fq=0&pq=toll-like-receptor+type2&sc=8-24&sk=&cvid=948EDAF1DE2D4F578E12DE7616DE0EDE&ghsh=0&ghacc=0&ghpl=Toll-like+receptor+2+-+Wikipedia)

Axolotl TLR2

[Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301045076.2 at chr6q:747124426-747153116](#)

[Tlr2\[AMEX60DD201045076.3 at chr6q:747124435-747184326](#)

[Loc115458293 \[nr\]Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301015195.1 at chr1p:781677788-781765868](#)

[Loc115458293 \[nr\]Tlr2 \[hs\]AMEX60DD201015195.2 at chr1p:781677887-781765868](#)

[Tlr21 \[nr\]Tlr3 \[hs\]AMEX60DD301018080.1 at chr1q:513449262-513475491](#)

[Loc106886850 \[nr\]Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301026420.1 at chr3p:28982421-29009492](#)

[Loc106886850 \[nr\]Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301026420.2 at chr3p:28982640-29009492](#)

[Tlr22a \[nr\]Tlr8 \[hs\]AMEX60DD201027746.1 at chr3p:560941761-560949908](#)

[Loc115476667 \[nr\]Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301030278.1 at chr3q:742286941-742329805](#)

[Tlr2 \[hs\]AMEX60DD301045076.1 at chr6q:747124236-747184326](#)

TLR4 (Toll-like-receptor 4) [29]

[TLR4 - Wikipedia](#)

Axolotl TLR4

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr8p%3A239432451%2D239432669&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

[bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr8p%3A239432451%2D239432669&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr8p%3A239432451%2D239432669&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

MAGL; MGLL; MGL (monoacylglycerol lipase) [30]

<https://seikagaku.jbsoc.or.jp/10.14952/SEIKAGAKU.2020.920458/data/index.html>

https://www.jsbp.org/publication/32-1/05_.pdf

<https://cir.nii.ac.jp/crid/1390846609813477632>

<https://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/bitstream/2433/253438/2/dseik00435.pdf>

<https://bibgraph.hpcr.jp/abst/pubmed/31772309>

[MGLL Gene - GeneCards | MGLL Protein | MGLL Antibody](#)

[Selective blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects - PubMed \(nih.gov\)](#)

Axolotl MGLL

[Mgll\[AMEX60DD301023389.4 at chr2q:107880883-108381320](#)

[Mgll\[AMEX60DD201023389.3 at chr2q:107880654-108381320](#)

[Mgll\[AMEX60DD301023389.1 at chr2q:107880502-108381320](#)

[Mgll\[AMEX60DD301023389.2 at chr2q:107880597-108381320](#)

COX-1; MTCO1 (Cytochrome c oxidase I) [31]

[Cytochrome c oxidase subunit I - Wikipedia](#)

https://www.istage.ist.go.jp/article/jsir1981/19/2/19_2_69/pdf

https://www.istage.ist.go.jp/article/yakushi/131/3/131_3_347/pdf-char/ja

[bing.com/ck/a?!&p=b8c022875b2abb1aJmldHM9MTY5MzAwODAwMCZpZ3VpZD0wZjE5ZTI3MzY0MTZLTU5MDgtMzhiNi1IZDNhNTIyZDY4NWEmW5zaWQ9NTI0Mw&ptn=3&hsh=3&fclid=0f19e273-5357-6908-38b6-ed3a522d685a&psq=MGCL+COX-](https://www.bing.com/ck/a?!&p=b8c022875b2abb1aJmldHM9MTY5MzAwODAwMCZpZ3VpZD0wZjE5ZTI3MzY0MTZLTU5MDgtMzhiNi1IZDNhNTIyZDY4NWEmW5zaWQ9NTI0Mw&ptn=3&hsh=3&fclid=0f19e273-5357-6908-38b6-ed3a522d685a&psq=MGCL+COX-1&u=a1aHR0cHM6Ly93d3cubWVYY2ltaWxsaXBvcnUuY29lQlQVQV9SU0hPUC93ZWlvV0ZTL01cmNrlUpQLVnpdGUvamFfSIAvLS9KUfKvU2hvd0RvY3VlZW50LVByb25ldD9pZD0yMDEwMDU2&ntb=1)

[1&u=a1aHR0cHM6Ly93d3cubWVYY2ltaWxsaXBvcnUuY29lQlQVQV9SU0hPUC93ZWlvV0ZTL01cmNrlUpQLVnpdGUvamFfSIAvLS9KUfKvU2hvd0RvY3VlZW50LVByb25ldD9pZD0yMDEwMDU2&ntb=1](https://www.bing.com/ck/a?!&p=b8c022875b2abb1aJmldHM9MTY5MzAwODAwMCZpZ3VpZD0wZjE5ZTI3MzY0MTZLTU5MDgtMzhiNi1IZDNhNTIyZDY4NWEmW5zaWQ9NTI0Mw&ptn=3&hsh=3&fclid=0f19e273-5357-6908-38b6-ed3a522d685a&psq=MGCL+COX-1&u=a1aHR0cHM6Ly93d3cubWVYY2ltaWxsaXBvcnUuY29lQlQVQV9SU0hPUC93ZWlvV0ZTL01cmNrlUpQLVnpdGUvamFfSIAvLS9KUfKvU2hvd0RvY3VlZW50LVByb25ldD9pZD0yMDEwMDU2&ntb=1)

Axolotl MTCO1

https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr6p%3A239432451%ZD239432669&hsid=69715_5uEAzFI0qCx310CTXtpTbcU5J

PGE (プロスタグランジン E) 受容体; EP; PTGER [32]

[プロスタグランジン E2 - Wikipedia](#)

<https://www.bing.com/search?q=PGE2&qs=n&form=QBRE&sp=-1&ghc=1&lq=0&pq=pge2&sc=10-4&sk=&cvid=5067DB3D24AB4233A5D420E21D0495F6&qhsh=0&qhacc=0&qhpl=>

[bing.com/ck/a?!&p=2004efeebc4b9336JmldHM9MTY5MzAwODAwMCZpZ3VpZD0wZjE5ZTI3MzY0MTZLTU5MDgtMzhiNi1IZDNhNTIyZDY4NWEmW5zaWQ9NTI1Ng&ptn=3&hsh=3&fclid=0f19e273-5357-6908-38b6-ed3a522d685a&psq=PGE2&u=a1aHR0cHM6Ly9hYnVvYVY5vLWWhbmFzaGkua3VuaS1uYWthLmNvbS80MTI2&ntb=1](https://www.bing.com/ck/a?!&p=2004efeebc4b9336JmldHM9MTY5MzAwODAwMCZpZ3VpZD0wZjE5ZTI3MzY0MTZLTU5MDgtMzhiNi1IZDNhNTIyZDY4NWEmW5zaWQ9NTI1Ng&ptn=3&hsh=3&fclid=0f19e273-5357-6908-38b6-ed3a522d685a&psq=PGE2&u=a1aHR0cHM6Ly9hYnVvYVY5vLWWhbmFzaGkua3VuaS1uYWthLmNvbS80MTI2&ntb=1)

https://en.wikipedia.org/wiki/Prostaglandin_EP2_receptor

<https://kaken.nii.ac.jp/en/file/KAKENHI-PLANNED-15H05904/15H05904seika.pdf>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-19K16510/>

<https://academic-accelerator.com/Manuscript-Generator/jp/Prostaglandin-E3>

<https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%83%97%E3%83%AD%E3%82%B9%E3%82%BF%E3%82%B0%E3%83%A9%E3%83%B3%E3%82%B8%E3%83%B3>

Axolotl PTGER

[Ptger3.s \[nr\]|Ptger3 \[hs\]|AMEX60DD301019273.2 at chr1q:1129938422-1130049937](#)

[Ptger3|AMEX60DD301019273.1 at chr1q:1129837284-1130049937](#)

[Ptger1 \[nr\]|Ptqfr \[hs\]|AMEX60DD201031715.1 at chr3q:1382904334-1383018773](#)

[Ptger1 \[nr\]|Ptqfr \[hs\]|AMEX60DD102031715.2 at chr3q:1382931376-1383018773](#)

[Ptger4|AMEX60DD301041959.1 at chr6p:359634117-359665650](#)

[Ptger4|AMEX60DD301041959.2 at chr6p:359634221-359665650](#)

〈ウーパールーパー研究報告〉

メキシコサンショウウオにおける密度効果と 異種混泳による成長制御機構に関する調査報告

報告日: 2023/10/16

著: 杉山 遥 (Ph. D)¹, あすみ 悠¹, 横江 誼衡¹

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

所属:¹ウーパールーパー研究室_はるらぼ

since 2020～

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

研究者ポータルサイト Research map

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja



※ CC-BY-NC-ND; 本文献の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

概要 Abstract

- ・生物の成長率は、成長可塑性のある期間において、生育密度等の環境因子によって制御されている。[3]
- ・アホロートルの成長率は、生後 90 日間の生育密度依存的にある程度決定される。[1-2]
- ・集団生活をするアホロートルは、単独で生育する個体と比較して、セロトニン分泌や行動促進因子として知られる USP46 による攻撃性の活性化と MTG, MTGR、攻撃行動抑制に関わる因子 Nr2e1 等を介した抑制が両立することで外見上の平静な状態を保っており、生育の過程でこれらの関連因子の発現動態を変化させる。その結果として、闘争型・逃避型・静観(無反応)型の三つの行動型に分かれていく。[1]
- ・アホロートルは、周囲の個体の存在を側線器官 [4] で感知し、摂食量を制御することで成長の速度を調整している。
- ・過密条件で生育したアホロートルは個体の生存を優先し、摂食量の減少に伴う代謝の抑制、ミオスタチン [5] 活性化による筋組織の発達抑制が起こることで成長率を低下させる。
- ・一方で、異種混泳されたアホロートルは、過密条件で生育した場合であっても摂食量が低下することがなく、筋肥大・成長に関わるステロイドホルモンの活性化やミオスタチンの抑制が起こることで生育が顕著に促進される。[5-6]
- ・密度効果による成長抑制や異種混泳による成長活性化は、薬剤の経口投与によるセロトニン分泌の制御や筋肥大の制御によってある程度再現することが可能である。[7-11]
- ・脳幹から分泌されたセロトニンの血中への分泌・放出は、闘争/逃避行動の制御のみならず、夜間に松果体において睡眠導入因子メラトニンへと変換されることで、適切な睡眠の制御とそれに伴う成長促進にも影響を与える。[2]
- ・先行研究 [1-2] および 本研究により、アホロートルの集団生活時における側線器官による感知に伴った成長制御や、異種との共存時における睡眠誘導に伴った成長促進による防衛応答までに至る一連の制御機構が明らかとなった。

導入 Intriduction

ウーパールーパーとして知られるメキシコサンショウウオ (以下、アホロートル) は、基本的に単独飼育が推奨されている。これは集団における噛み合い行動とそれに伴った傷口からの感染症や共食いのリスクがあるためであるとされてきた。しかしながら、当ラボにおける調査により、アホロートルは側線器官を介した他個体認識を経て中枢神経系を介した攻撃を抑制 または回避するような行動制御を行うことで、攻撃行動の割合を 2 割以下に留めるよう調節していることが明らかとなった。更に、集団生活してるアホロートルは主に 3 つの行動タイプ [闘争型・逃避型・静観(無反応)型] に分かれる傾向があり、集団の中で逃避する傾向のある小集団は積極的に上陸する傾向があることが示唆された。こうした集団生活における攻撃行動の制御は、セロトニン分泌による攻撃行動の促進と行動促進因子として知られる USP46 による攻撃性の活性化や、MTGR, MTG8, Nr2e1 等に代表される行動抑制因子の発現が両立することで成立し得る。このように、集団での生育の過程でこれらの関連因子の発現動態を時期に合わせて変動させ、外見上の平静な状態を保つことで、同族間で互いに対して危害を加える可能性を最小限に留めていることが示唆された。[1-3]

こうした集団における互いの認識や集団適応のためには、周囲の個体の存在を側線器官 [3-4] で感知することが想定され、実際に側線器官の欠損個体では集団適応能力の低下が見られることが明らかとなった。この側線器官による生育環境の感知は、過去の調査や飼育者の方々への聞き取り調査によって明らかとなっている、飼育個体における飼育時の密度依存的な生育速度・生育率の調節機構と相関があることが示唆された。これに加えて、飼育下の個体における密度依存的な摂食量と成長率の相関が見られることから、生育時の密度を感知して摂食量を調整する機構が作用していることが考えられた。特に、過密条件で生育したアホロートルは個体の生存を優先し、摂食量の減少に伴う代謝の抑制が見られた。こうした過密環境で育った個体は、筋肉の過剰発達の抑制にも関わるミオスタチン [5] の活性化により、筋組織の発達抑制が起こることで成長率を低下させることも明らかとなった。このような、密度環境が生育に対して影響を与える例は他の生物種でも多くの報告が見られており [3]、本知見によりアホロートルでも同様の影響を与えることが明らかになったといえる。

一方で、アホロートルとエゾサンショウウオのような異種と混泳させることで、上記のような密度上昇に伴った成長抑制の効果を無視して成長促進が起こることが示唆されていたが、その詳細な機構がこれまで未解明であった。[1-2] 今回我々が調査を実施した結果、異種との混泳時に限り、例え過密条件で生育した場合でも摂食量やそれに伴ったインスリン・TOR 等の栄養に関する因子の発現低下が生じないことが示唆された。更に、脂肪の分解・糖新生を介して筋肥大・成長にも関わるステロイドホルモン(糖質コルチコイド = グルココルチコイド)受容体の活性化や前述のミオスタチン発現の抑制が起こり、同種との低密度条件下での集団生活時以上に各アホロートル個体の肥大・成長が顕著に促進されることが明らかとなった。[5-6]このような異種混泳による成長活性化は、ミオスタチンによる筋成長抑制効果を阻害することで達成できると仮定し、ステロイドホルモン剤やカカオポリフェノールであるフラバノールに代表されるエピカテキン類等の筋成長促進効果の報告がある成分の経口投与を実施した。その結果、セロトニン分泌の制御や筋肥大の制御を行うことで再現された。[7-11]

当ラボにおける先行研究において、アホロートルの睡眠に伴った成長促進が明らかとなっており、その本質は睡眠時のメラトニン分泌と各成長因子、成長ホルモン (GF) 分泌の促進であることを報告した。[1-2] このメラトニンの前駆物質として、先述の検討時における闘争/逃避行動に関わるセロトニンの存在があることから、集団行動制御のために血中に分泌されたセロトニンが変換される可能性を想定し、セロトニン制御に関わる薬剤 (抑制: グラニセトロン、促進: フルオキセチン) による成長制御の可否を検討した。検討の結果、明暗周期が明確に存在する際は、脳幹から分泌されたセロトニンの血中への分泌・放出は、闘争/逃避行動の制御のみならず、夜間に松果体において睡眠導入因子メラトニンへと変換されることで、適切な睡眠の制御とそれに伴う成長促進にも影響を与えることが明らかとなった。

先行研究 [1-2] におけるアホロートル集団適応 および 本研究における密度効果・異種混泳効果の知見により、アホロートルの集団生活時における側線器官による感知に伴った成長制御や、異種との共存時における睡眠誘導に伴った成長促進による防衛応答までに至る一連の制御機構を明らかにすることができた。今回の報告の中で、これらの調査結果について可能な限り詳細に報告し、アホロートルの生態や生息地について更に理解を深めたいと思う。

材料と手法 Materials & Methods

本研究には、メキシコサンショウウオ(ウーパールーパー)を用いた。

飼育条件は、一部を除き文献 [1] と同様の条件にて実施している。

明暗条件

適切な成長制御・体内の概日リズムを保持するため、LD12:12 [明期: ZT0 (午前 6 時)～ / 暗期: ZT12 (18 時)～] の日周リズムで飼育を実施した。

攻撃行動に関連するセロトニンを十分に生合成・分泌させるためにも、上記の明暗周期での管理を徹底した。

飼育水の条件

飼育時の水温は、通常は 18～22℃, 繁殖モード誘導時は 18℃ → 8℃ (5 日間) → 18℃ (5 日間) という処理を施した。

今回は行動への影響を加味し、全ての飼育・調査において淡水飼育条件で統一した。

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8～5.4

飼育密度の設定

飼育水槽: GEX_マリーナ60cm水槽 (60×30×36cm MR600BKST—N 269467)

- ・ 単独飼育・・・水槽中に 1 個体を投入し、常に単独で生育する環境とした。
- ・ 集団 (低密度) 飼育・・・水槽中に 6 個体を投入し、常に他個体と接する環境とした。
- ・ 集団 (高密度) 飼育・・・ポリ容器 (25cm×18cm×9.5cm; <https://jp.daisonet.com/products/4549131590630>) に 10～14 個体相当の飼育密度を設定し、成長に応じて生育に支障のない程度に高い密度を維持した。
- ・ 異種混泳・・・上記の高密度飼育と同様だが、半数がエゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) となっている。
- ・ 過密飼育・・・定義は明確ではないが、上記のポリ容器に 14 個体程度を上限に、多くの個体で過密にした状態。

給餌条件

給餌は週 2-3 回、ZT および CT13-15 (午後 7～9 時) に必ず行った。

薬剤投与の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。

成長過程の記録・撮影

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミング (撮影開始から 30, 60, 90, 120, 200, 360 日後) における成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。

闘争/逃避行動の観察

行動観察の行動; day0～day30 までの間、飼育水槽の観察・撮影を実施し、以下の行動の頻度について確認を行った。

攻撃(闘争)行動; 相手への強い突進・噛みつき行動 (食砂や周辺への攻撃なども含む)

求愛行動; 相手に対して顔をこすりつける、顔で身体をつつくなど、排卵誘発する行動。

逃避行動; 攻撃を受ける、受けないに関わらず、他個体から距離を置く行動。

無反応・無応答; 他個体に影響されず、あまり積極的に行動を示さない状態。

※ 行動観察の際の逃避行動が過剰に誘発されないように、生体の状態; 四肢や眼の欠損, 突然変異などが無いように注意して飼育・観察を継続的に実施した。損傷が起こりそうな際は速やかに観察を中断し、生体を回収し一定以上の時間隔離した。

各集計結果の統計解析

統計解析には、Graphpad Prism ver.6 を用いて One Way ANOVA; turkey test, * $p < 0.05$ にて有意差解析を行った。



結果と考察 Result & discussions

アホロートルは生育密度依存的に成長制御の速度を制御する

多くの生物では、生育環境に影響して成長速度を調節したり、遺伝子発現を変化させることでその形態を変化させることが知られている。トノサマバッタやサバクトビバッタのような直翅目の昆虫は、生育密度の影響で従来の穏やかな成育形態(孤独相)ではなく群生相という翅が大きく飛翔に適した形態へと変貌し、農業へ甚大な被害を与える場合がある。また、一部の甲虫類では飼育密度によって顎や角が小型化することが知られている。[3] 当ラボの調査においても、飼育密度によって、カブトムシ (*Trypoxylus dichotomus*) や キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)、フタホシオコログ (*Gryllus bimaculatus*) などの昆虫類の生育に影響を与えるという結果が得られている。また、メダカ (*Oryzias latipes* var) において、飼育密度が高くなることで背曲がり異常の表現型を示すこともあることが分かっており、当ラボのあすみ 悠 研究員を中心にその詳細な機構について現在も調査を実施している。(補足図 1~4. 参照)

今回、アホロートルの生育密度と成長の関係性を調査するに際し、飼育水槽 (または容器) の影響について調査を実施した。この際、水深と底面積のいずれが重要であるかを確認するため、通常の 60cm 水槽 (材料と手法. 参照) と比較対照として、同等の水深はあるが底面積が約 1/800 であるメスシリンダーと、底面積は水槽と同等だが水深が約 1/2.5 であるコンテナをそれぞれ用いた飼育を実施した。検討の結果、水深と底面積の内、底面積が 60cm 水槽と同等であるコンテナを用いた方がより近い成長率を示したことから、生育においては底面積の広さの方が重要であることが明らかとなった。(図 1. 参照)

この底面積の感知に関する詳細な機構については明確に示せてはいないものの、餌や他個体の認識において側線器官による感知の関与が挙げられている [1-4] ため、同様の感知機構が底面積の広さについて感知するように作用している可能性が考えられた。(図 8-1~8-3. 参照)

異種混泳による成長促進効果, 成熟化の促進, 妊性向上 および 他個体への応答性の向上.

日本国内の在来種であるエゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) は、環境依存的に幼形成熟 (ネオテニー) になることが知られており、幼体の頃はアホロートルに酷似している。また前述の例と同様、生育環境に応じて2型を示すことが知られている。[2] 特にアカガエルのような異種と共存する環境に置かれることで、頭が肥大化した形態になり(“大食い”形態) 摂食が促進されるようになる。(図 2. 参照) そこで、同じくネオテニーであるアホロートルでも異種と混泳することで同様の頭部肥大化現象が見られると予測し、幼体期の生育様式の酷似している前述のエゾサンショウウオと混泳させ、その影響について確認を行った。同時並行で、生育密度を早期に変化させることで成長率に関する可塑性が残る時期がどのタイミングであるかの調査も実施している。(材料と手法 & 図 3. 参照)

検討の結果、以下のような知見が得られた。

- ・ 同種との混泳 (多頭飼育) で生育密度を低いまま維持していると、成長が著しく抑制される。(図 3-1. & 図 6. 参照)
- ・ 同種との混泳 (多頭飼育) で、水槽の底面積を広くすることで、生育密度を生後 1ヶ月の状態から混泳を開始し、開始後 30~60 日の間に低下させると成長速度は抑制を受けない。すなわち、成長の可塑性は生後 30~90 日の期間は保持されている。(図 3-1. & 図 6~7. 参照)
- ・ 同数のエゾサンショウウオと幼生期に混泳させた結果、同種・低密度飼育の個体と比較して、成長率が有意に高くなる。また、このような肥大成長促進個体の生殖能力 (妊性) も顕著に高くなった。(図 3-1. & 図 5~図 6. 参照)
- ・ これらの混泳個体における関連遺伝子発現動態は、上皮・中枢・末梢共に以下ようになった。(図 4-1~4-3. 参照)
 - ✓ 成長・再生に関わる因子および粘膜分泌に関わる因子は、同種との飼育密度が高くなると大きく低減する。
 - ✓ 炎症に関する因子も、同種との高密度飼育条件下では顕著に低下している。
 - ✓ 異種混泳時は、密度が高い場合であっても、各因子は同種・低密度条件個体と同等以上の発現強度を示す。
- ・ 異種混泳個体は、側線器官による感知力 [4] が向上する。
- ・ 異種混泳個体を経験した個体は、他個体への攻撃性が向上し、餌への応答性の若干の向上が確認できた。また、異種を飼育した飼育水ではあまり影響がみられないことから、異種が行動時に示す微小な電流等を側線器官で感知していると考えられた。(図 8-1~8-2. 参照)
- ・ 異種混泳個体は、セロトニンへの応答性が同種との低密度飼育個体と比較して顕著に高く、攻撃性がやや高めの個体が多く確認された。(図 9. 参照)
- ・ 意図的にセロトニン分泌量を制御した結果、セロトニン阻害個体は成長を抑制され、セロトニン分泌促進個体では成長が顕著に活性化された。(補足図 5. 参照)
- ・ 明暗周期を調査した結果、同種の高密度飼育下では活動量が低下する一方、異種混泳個体では逆に活動量が顕著に増大し、同種の低密度個体と比較しても摂食量が有意に増加する。(図 10~11. 参照)

今回得られた多くの知見から、アホロートルにおける密度効果 および 異種混泳による成長促進効果の制御機構について、以下のように考察することができる。

- ・ 通常、密度が高い状況になると、他個体が活動時に放出する微小電位を感知し、活動量を低下させることで摂食量を低減して代謝を大きく低下させることで、生育を抑制することで集団生活に適応しようとする。
- ・ 異種 (よそ者) の存在を側線で感知すると、逆に活動量を増加させて、摂食量や代謝を活性化させることで生育を促進させ、成長を早めることで自らの生息域を保持しようとする。

異種混泳時の成長促進の本質は筋肉の肥大成長化である

異種混泳による成長活性化の効果については、

側線器官による他個体感知力の活性化 → 活動量上昇 → 採餌行動の促進 → 代謝と成長の亢進

という一連の流れが明らかとなった。

そこで、異種混泳時に生じている成長制御の本質について更に調査を進めた。(図 12. 参照)

調査の結果、アホロートル活動が活性化する 18 時前後 から (図 10 & 文献 [2]. 参照) 夜間にかけて、睡眠に関わるメラトニン受容体 (MTNR1B) の発現上昇や、腸内乳酸菌による代謝亢進と妊性の向上に関わる NPY の受容体 (NPYR) の高い発現を示すことが明らかとなった。これらの結果や、フルオキシセチン経口投与によるセロトニン分泌促進個体における成長率が、メラトニンや抗ヒスタミン剤投与による睡眠促進時と同等であった結果 (補足図 5. 参照) を踏まえると、脳幹由来のセロトニンから夜間の松果体中でのメラトニンへの変換に繋がり、良質な睡眠を摂取することに繋がる結果、成長が顕著に促進される機構が考えられた。

また、インスリンとその特異的受容体や、副腎皮質で合成・分泌されることで全身の臓器における無機金属イオンの取り込み・再吸収に関わるステロイドホルモンである硬質コルチコイド (ミネラルコルチコイド) とその特異的受容体 (MR) [8] の発現も同様の発現上昇を示していた。

更に、異種混泳個体では、これらの因子が更に有意に高くなることも明らかとなった。(図 12-1~12-2. 参照)

先述の伝子発現動態の調査において、ストレス応答因子として知られる HSP90 の発現が見られた。この HSP90 および HSP70 は分子シャペロンとして、副腎皮質から分泌され脂肪の分解や糖新生・免疫の強化に関わるステロイドホルモンとして知られる糖質コルチコイド (グルココルチコイド) の分泌に関与することが知られている。[6-7] また、糖質コルチコイドの特異的受容体 (GR) の発現が、夜間 (特に異種混泳個体で顕著) に顕著であり、HSP90 および HSP70 との関連性が示唆された。(図 12-3. 参照) 一方で、同種と高密度条件下で生育した個体では、筋肉の成長を抑制するミオスタチン (MSTN) の発現が顕著に亢進していることを踏まえると、異種混泳個体では筋肉の分解や肥大成長が積極的に起こっている可能性が考えられた。

これらの結果を踏まえ、異種混泳による成長の活性化時に筋肥大が起こっている可能性が想定されたことから、筋肉成長に有効とされる成分の経口投与を実施することで成長率について比較・定量を実施した。(図 13~17. 参照)

以下、検討結果および考察について列挙する。

- ・ 筋肉増強剤として知られるアナボリックステロイドとして、オキシメロン および アンドリオール [6] を投与した結果、未投与群と比較して有意な肥大・成長が確認できた。(図 13. 参照)
- ・ 筋肉成長抑制に作用するミオスタチンの阻害に関わるとされる成分、3-ヒドロキシ-3-メチル酪酸 (HMB) [10] およびクレアチン [9] を投与した結果、未投与群と比較して有意な肥大・成長が確認できた。(図 14. 参照)
またクレアチンは、アルギニン・グリシン・メチオニンの 3 種類のアミノ酸から合成されることが明らかとなっている [9] が、グリシン・アルギニン または 2 つの同時投与の結果、クレアチン投与と同等の効果を示した。(図 15. 参照)
- ・ カカオポリフェノールであるフラバノールは、血流の活性化によって筋成長・肥大に繋がるとされていることから [11]、クレアチンや HMB と同等の効果があると予想し投与を実施した所、効果が発揮される時期に若干のズレは見られるものの、未投与群と比較して有意な肥大・成長が確認できた。(図 15. 参照)
本結果は、ヒト成長因子 (hGF) の摂取時と同等の成長促進効果であることも明らかとなっている。(図 15. 参照)
- ・ 上記の経口投与によって成長肥大した個体は、投与無し個体と比較して有意に高い妊性を示した。(図 16. 参照)
- ・ これらの筋肥大促進個体では、夜間のミオスタチン発現低下や糖質コルチコイドの発現促進を示し、これらの表現型は異種混泳条件に匹敵することが明らかとなった。(図 17-1~17-3. 参照)

総括 Conclusion

文献 [1] および 本研究によって得られた知見に基づき、アホロートルの集団生活自の制御機構について総括する。
詳細は、以下のまとめ および 図解にて示す。(図 18. 参照)

前回の調査結果から、以下の事が明らかとなっている。

- 1). 幼少期はセロトニンによる攻撃行動が促進されるが、MTGR によって抑制を受ける。
- 2). 成長過程の中で、セロトニン経路によって活性化と抑制の二方向からの制御を受けるようになる。
- 3). セロトニンの感受性の違いによって、集団の中で更に、闘争/逃避 行動を示す個体 および 低応答個体の 3 つの小集団に分割される。
- 4). 逃避行動を示す個体の一部では、他の応答性の個体群と比較して、変態・上陸化が促進される。

今回の調査結果から、アホロートルの生育時の密度環境と異種混泳時の応答について、以下の事が明らかとなった。

- 5). アホロートルは側線器官で、周囲の個体の活動や個体数、生育地の広さ等を感じすることで摂食量を調節し、成長速度を最適化している。
- 6). 同種が周囲に沢山居るような環境では、睡眠状態が悪く、摂食量や代謝の低下と筋組織の発達阻害による成長抑制がかかることで、周囲の個体との餌の取り合いにならないように調節している。
- 7). 一方で、異種が自分の領域に紛れて繁栄しそうになると、起床時の活動量を増大させつつ夜間には良質な睡眠を摂ることで、餌の摂取量を増やしつつ筋組織の肥大成長を促進させることで対抗しようとする。
- 8). 異種が紛れることでセロトニンの分泌量が増大することで攻撃性が高まるが、夜間に松果体で睡眠因子であるメラトニンに変換されることで成長を効率化するように作用している。

今回の調査の中で、アホロートルがメキシコで繁栄した背景に、異種混泳時の採餌行動活性化や筋肥大促進のような行動・性質の変化があった可能性が感じられた。

また、原種の成体が 40cm 超であることを踏まえると、攻撃性に関与するセロトニンを巧く利用した良質な睡眠の確保により、筋肉ムキムキの巨大なアホロートルが他種を寄せ付けないように闊歩していた当時の光景が目に見え、現在の絶滅危惧の状態から過去の繁栄を取り戻すためにも、本知見を可能な限り役立てたいと改めて感じた。

謝辞 Acknowledgments

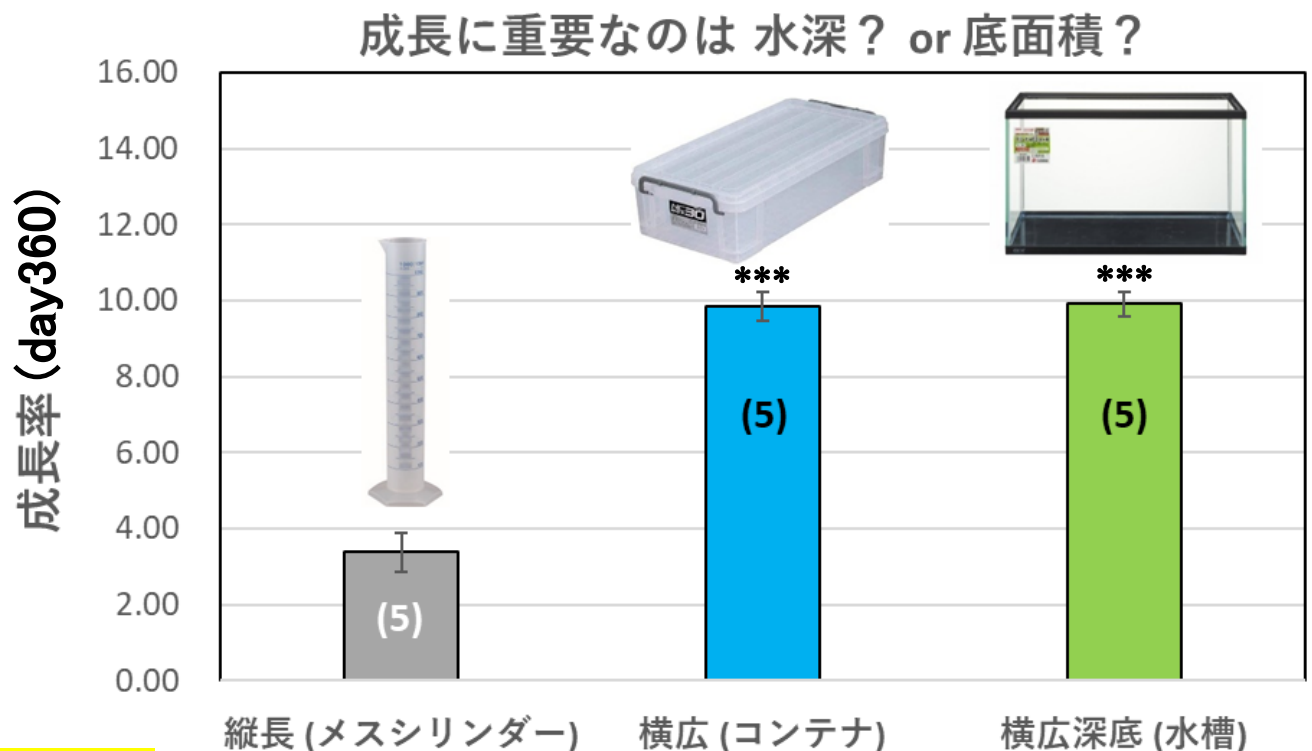
本研究をまとめるにあたり、多くの研究者の皆様、サポーターの方々等のご助言・お力添えがありました。この場を借りて、改めて心より御礼申し上げます。誠にありがとうございました。

また常々、当ラボにおける活動に協力して下さっている横江様、あすみ様、やみん様、萩原様、三太子様には本当に感謝しても感謝しきれません。皆様常々本当にお世話になっております。

当ラボの活動 3 年目もいよいよ残す所僅かとなり、学会発表を目指して更に多忙を極めております。季節も秋に移り変わり、肌寒いころ合いになって参りましたが、そんな季節の変化ニモ負ケルこと無く、日々研究活動に邁進する所存です。今後ともご愛顧の程、何卒宜しくお願い致します。

表 1: 飼育条件と生育率の相関を調査するための実験条件

		縦長 (メスシリンダー)	横広 (コンテナ)	横広深底 (水槽)
		【3023-5441】 トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JEJアステージ 収納ボックス 日本製 NC ボックス #30 積み重ね	GEX マリーナ 幅 60cm 水槽スリム ブラック MR600BK
容器サイズ		φ 61x3.14xH400 (mm)	619×277×H155 (mm)	600×275×H360 (mm)
アホロートル (0.3%ミネ水)	開始日 (mm); n=5	2.47	2.55	2.51
	day360 (mm); n=5	8.35	25.15	24.90
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	9.86	9.92
容器外見				



*** p<0.001

図 1: アホロートルの生育には水深よりも底面積の広さの方が重要である

参照: エゾサンショウウオ の環境依存的な多型



若原正己 北海道大学大学院生命科学院
生命科学専攻

https://www.brh.co.jp/publication/journal/049/research_11_2



図2: アホロートルにもエゾサンショウウオのような二型が存在するのか？

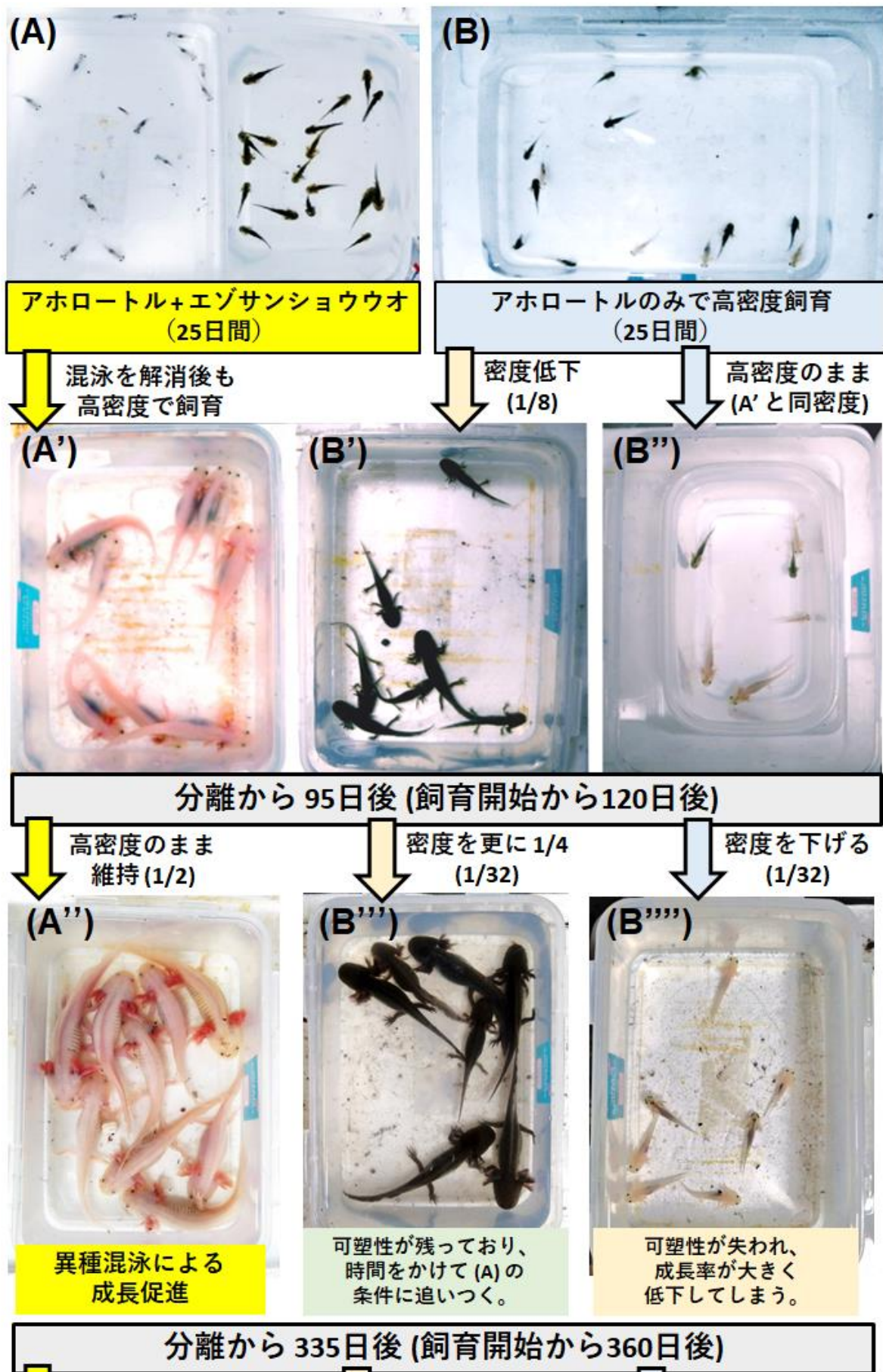
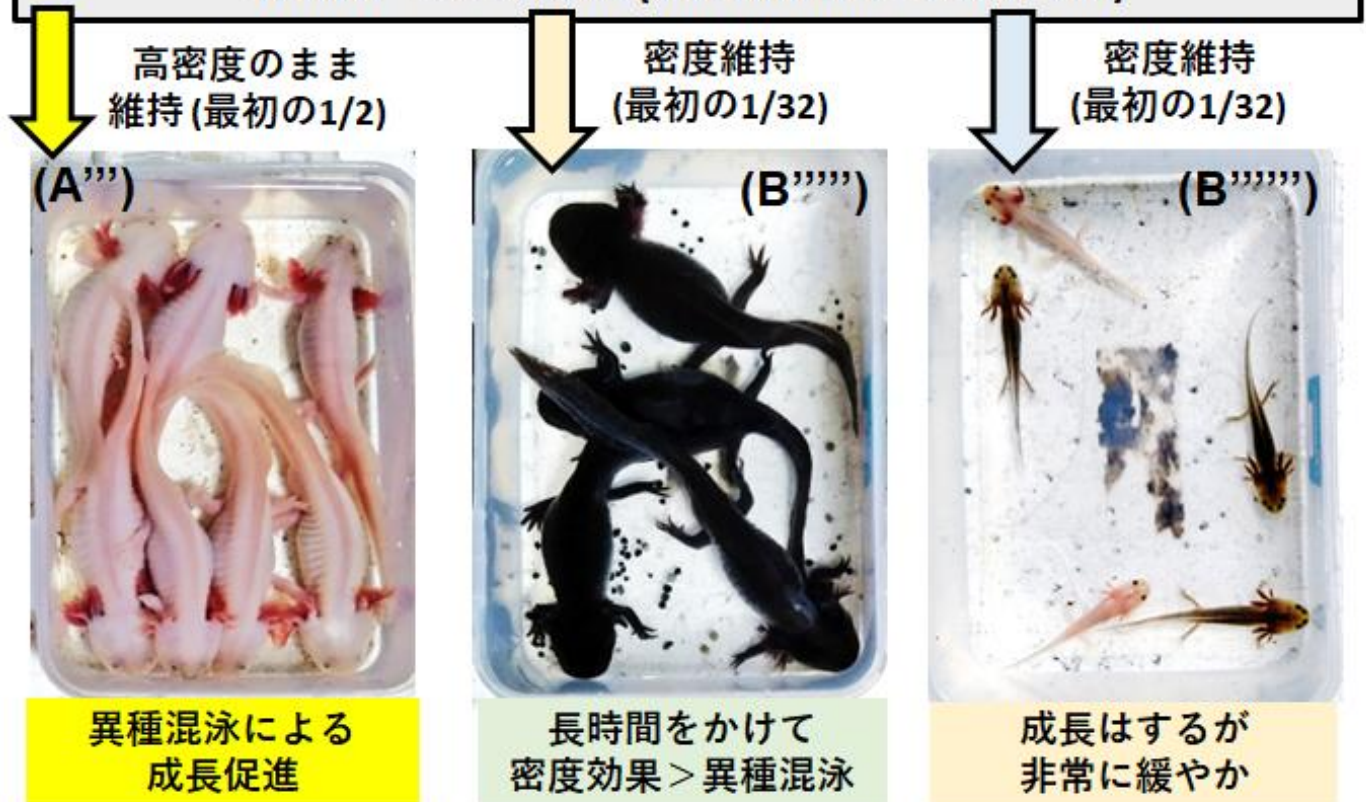


図 3-1: 異種混泳によってアホロートルの成長が促進される 1

分離から 335日後 (飼育開始から360日後)



分離から 605日後 (飼育開始から630日後)

異種混泳・生育密度が成長に及ぼす効果 (N=5)

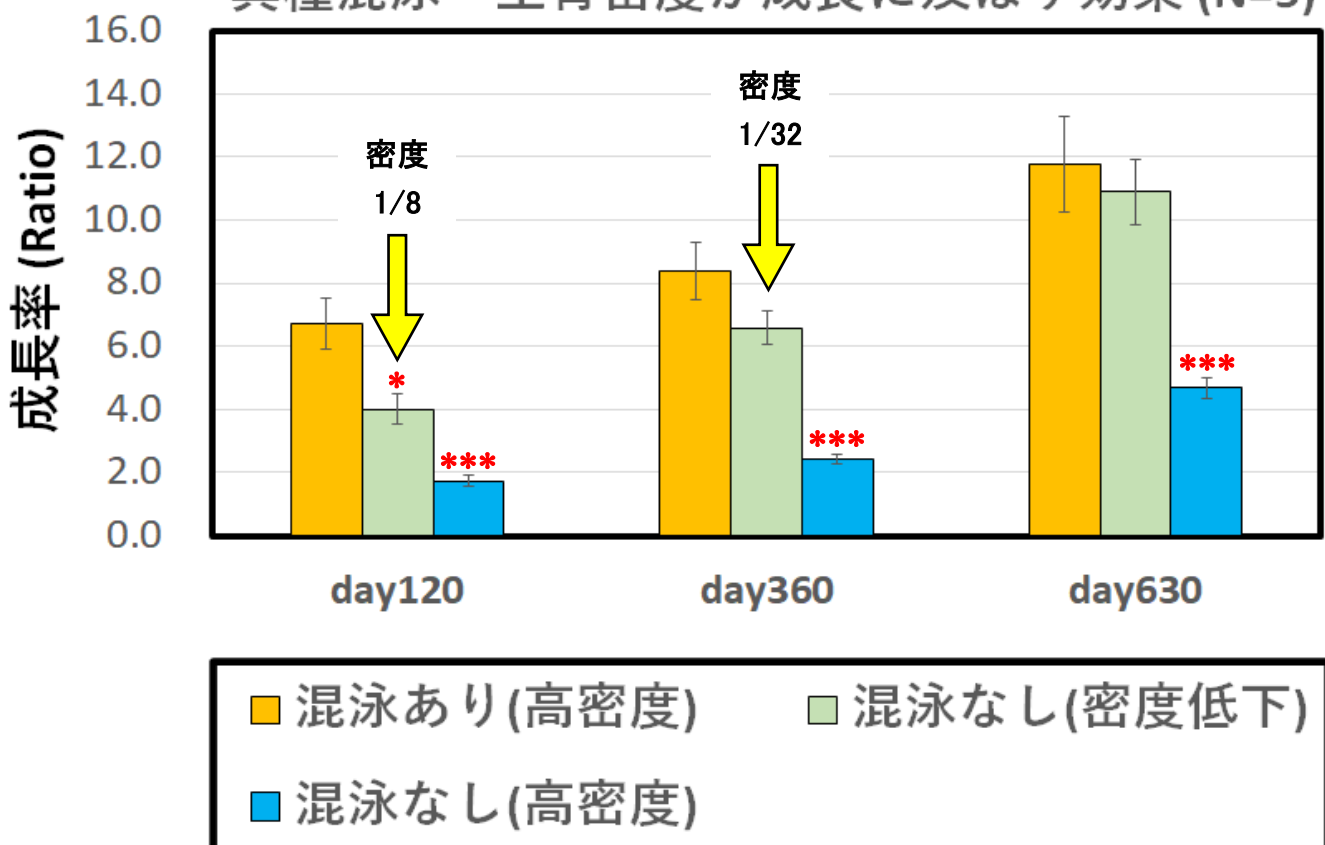


図 3-2: 異種混泳によってアホロートルの成長が促進される 2

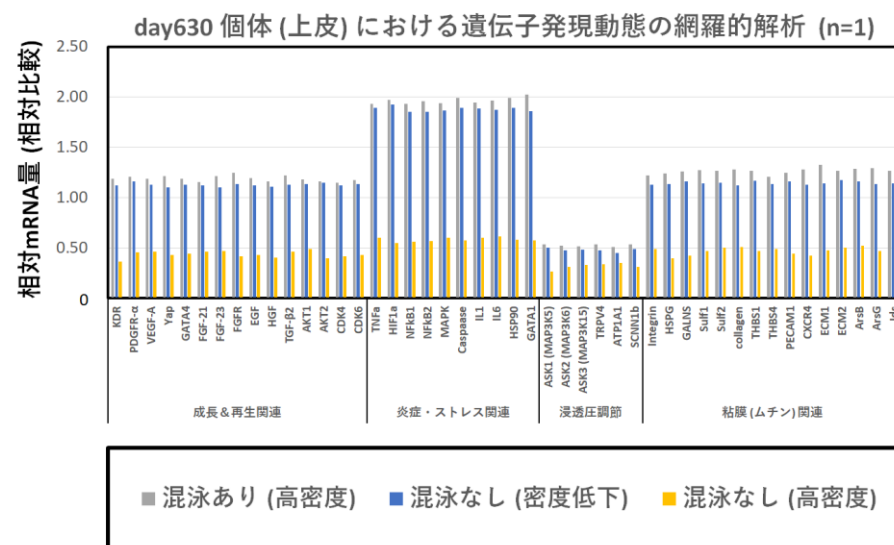
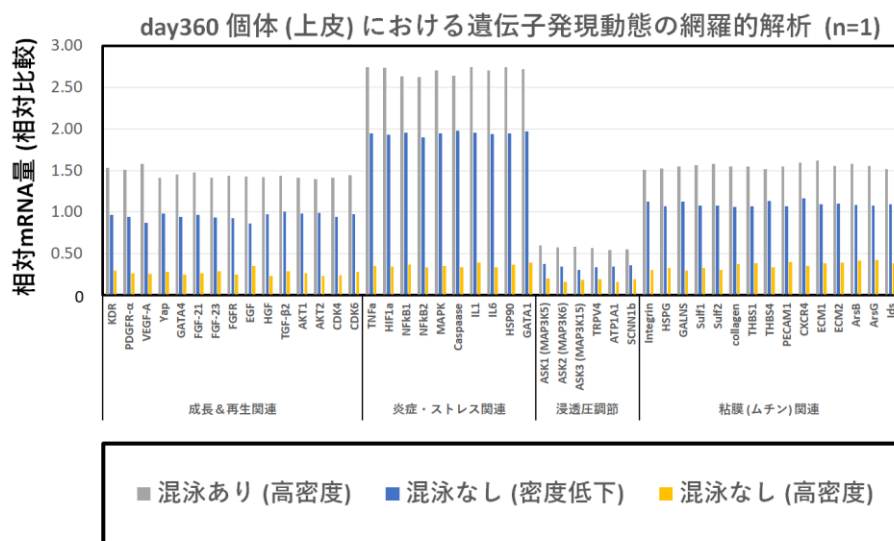
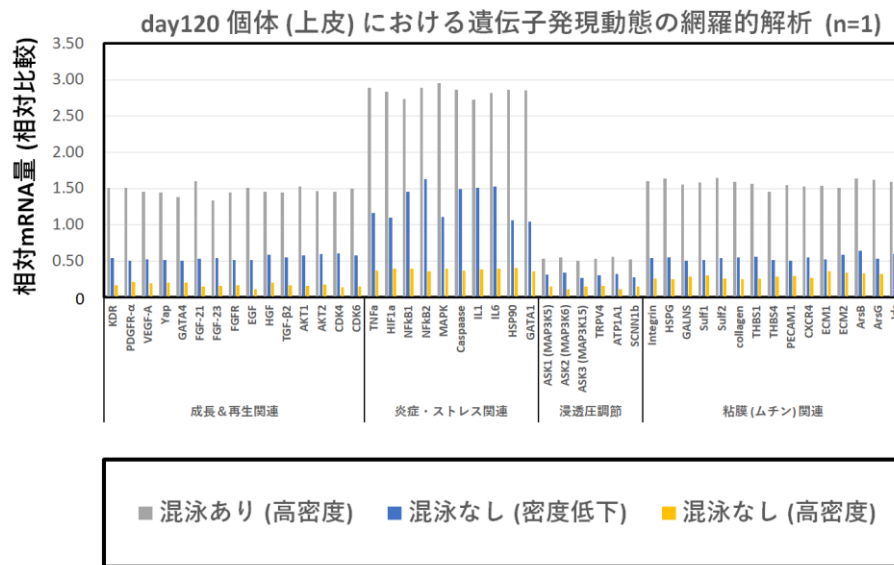


図 4-1: 混泳効果・密度効果による成長制御に関わる遺伝子群 1 (淡水, 18~20℃)

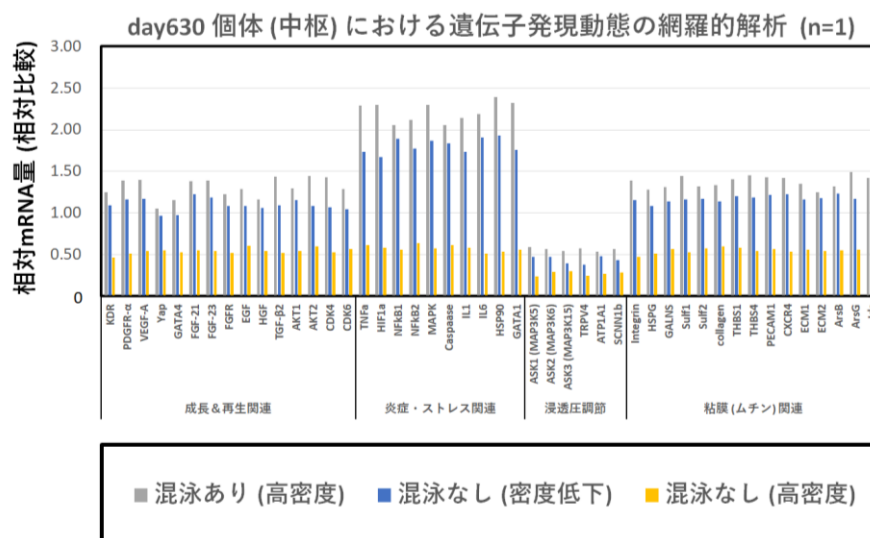
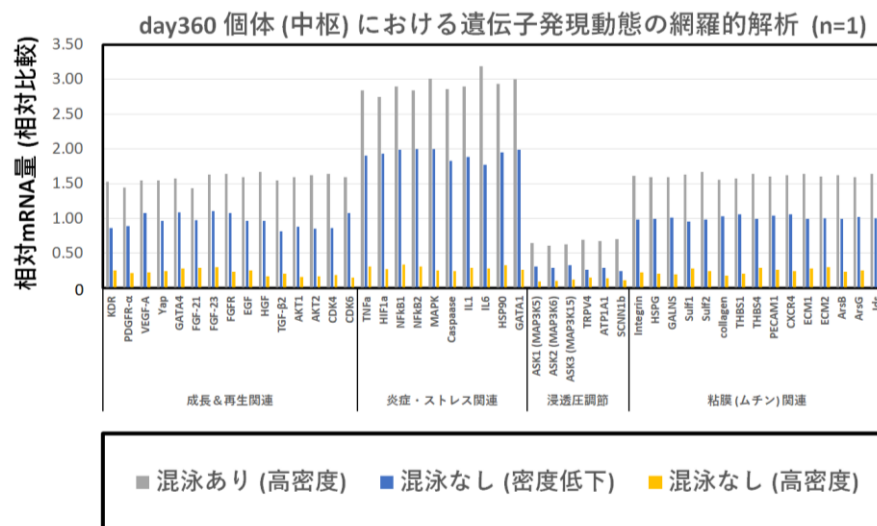
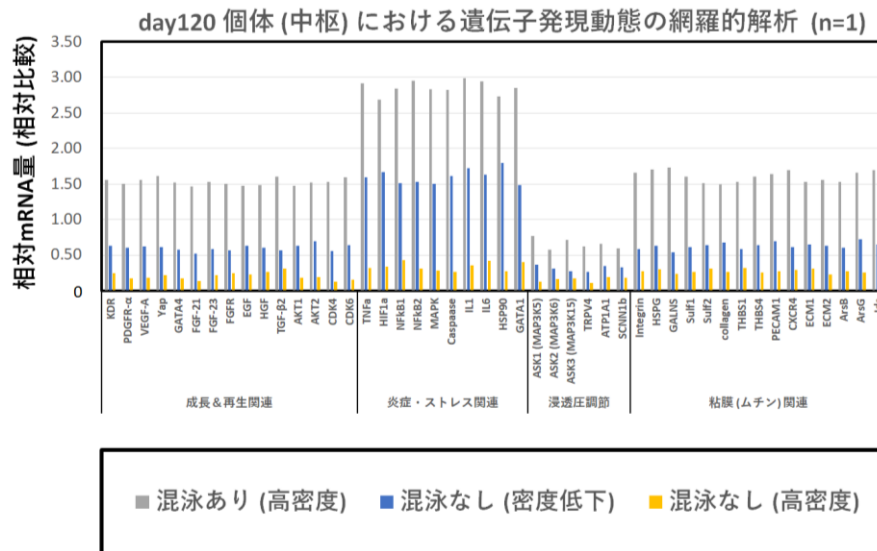


図 4-2: 混泳効果・密度効果による成長制御に関わる遺伝子群 2 (淡水, 18~20℃)

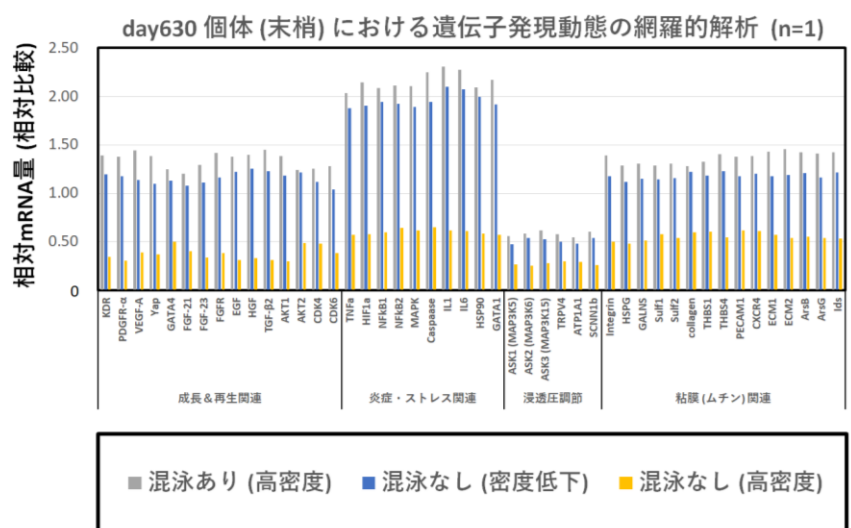
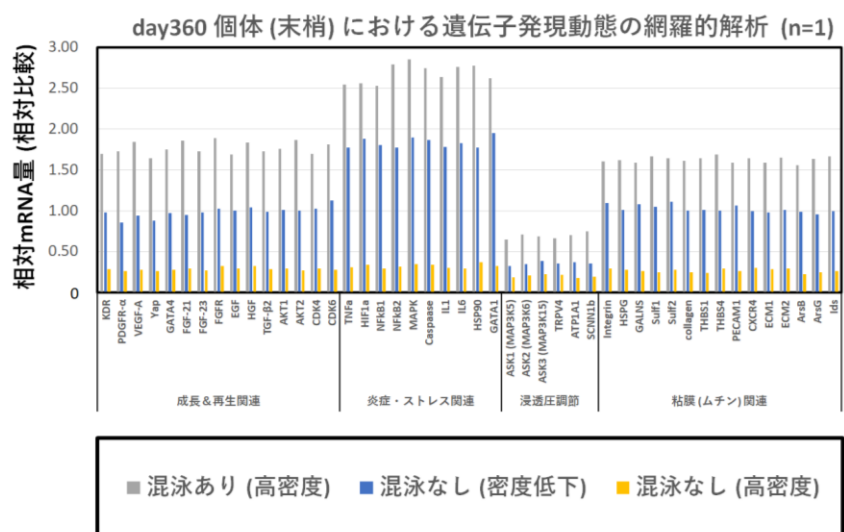
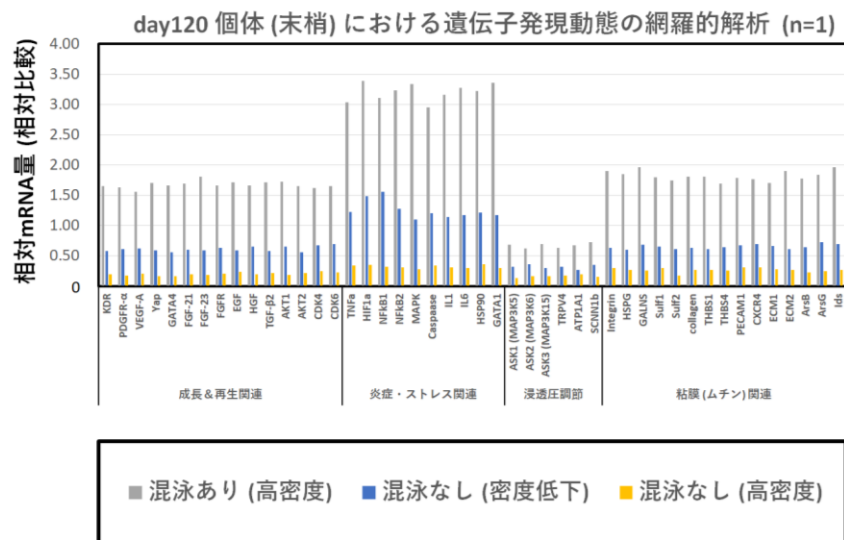
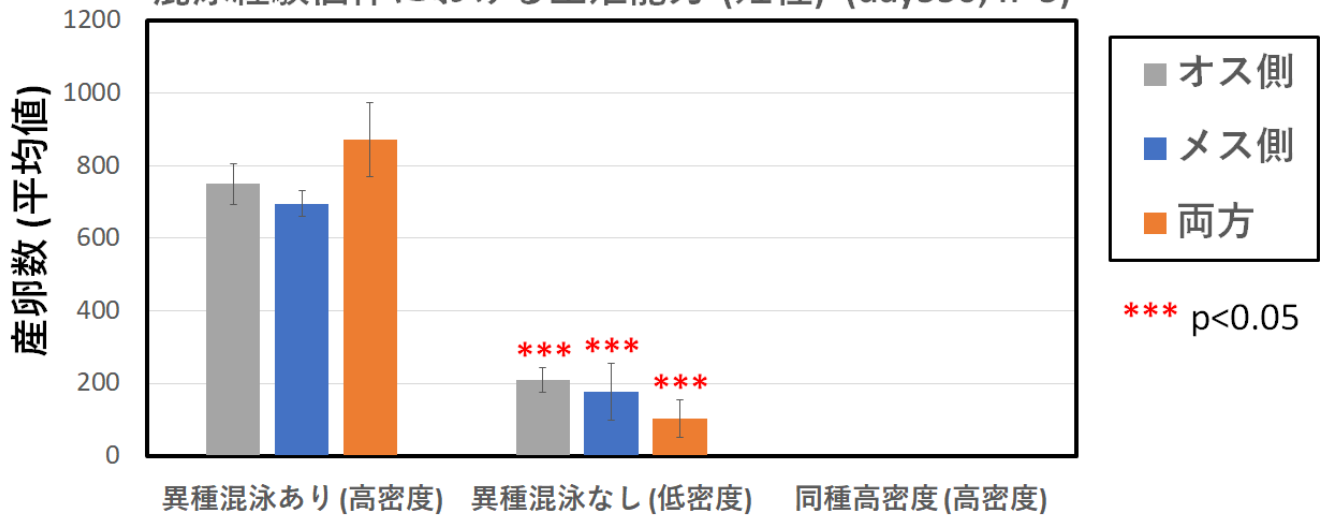


図 4-3: 混泳効果・密度効果による成長制御に関わる遺伝子群 3 (淡水, 18~20℃)

(A)

混泳経験個体における生殖能力 (妊性) (day550; n=5)



(B)

混泳経験個体におけるオスの求愛回数 (24hr, day550; n=5)

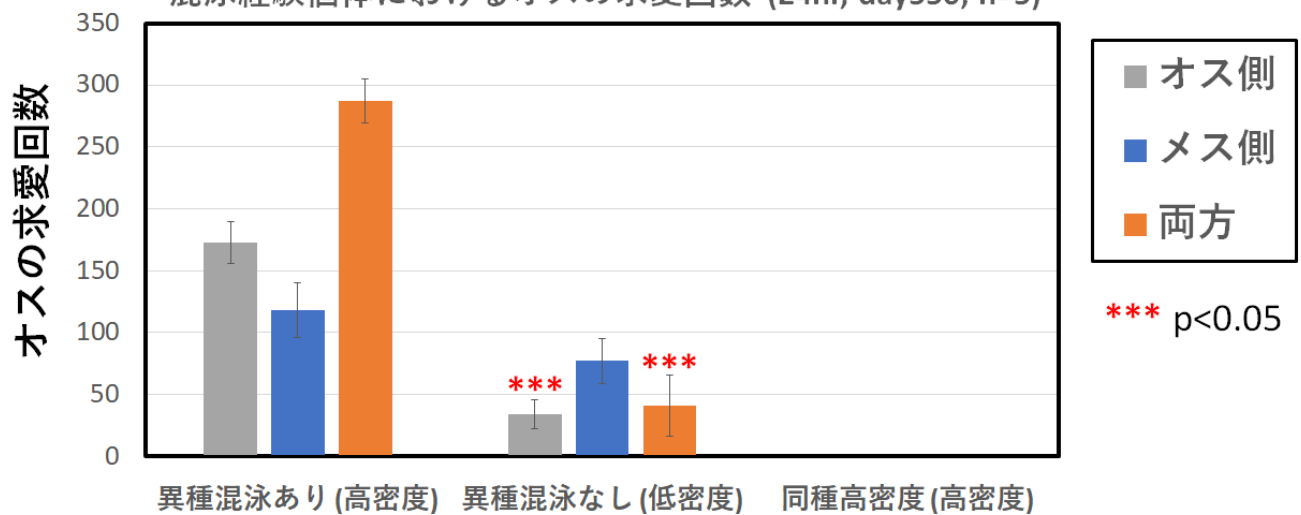


図 5: 異種混泳経験個体は生殖能力が向上する

※下記の結果は、到着時の個体の stage が基本的に4cm付近であることから day30とし、その地点からの成長比較をしています。
なので実験開始〇〇日目、と書きかえるなら、30日間を引いた値となります。

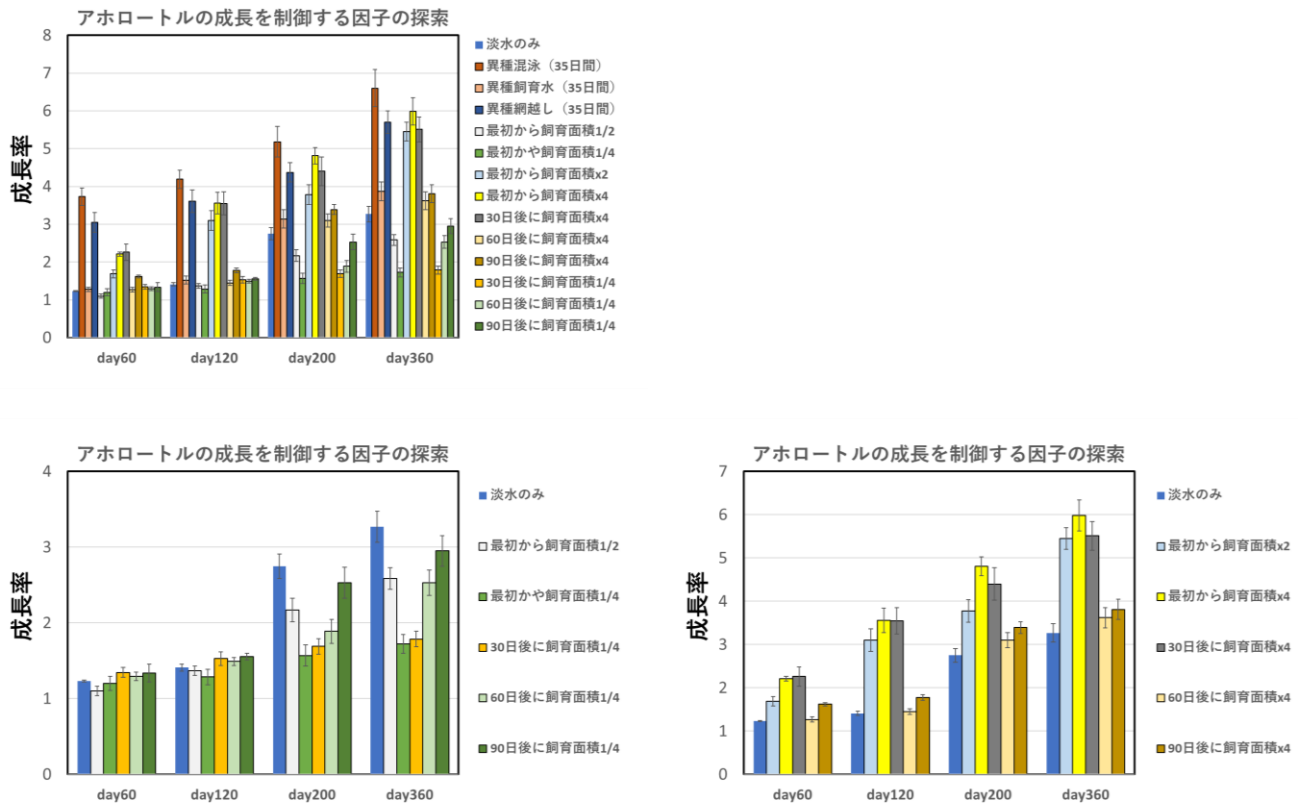


図 6: アホロートルの成長制御の可塑性はいつまで残っているのか？

成長制御の可塑性が残っている可能性のある時期:

生後 1 ヶ月、40mm 付近の stage 到達後 から 30 日目～60 日目の間の約 1 ヶ月

生育環境が固定されて一定の大きさになると、成長率が微調整される？)

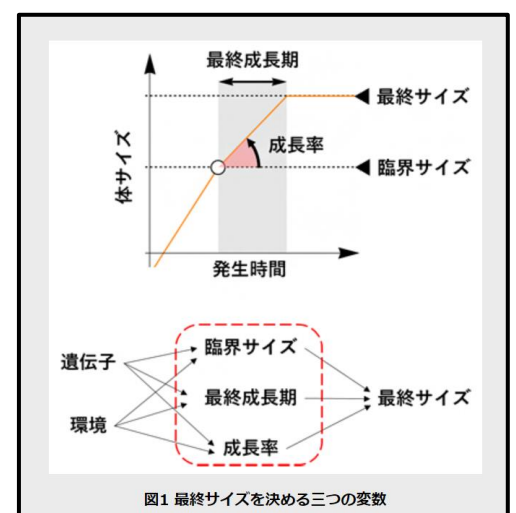
疑問・・・決定因子は何？水圧？どのように感知している？

参照

- ・ 理化学研究所>大阪大学>サイズ進化の法則を発見
 - 性成熟のタイミングと体の大きさの密接な関係ー(2019).
https://www.riken.jp/press/2019/20191125_1/
- ・ Frisch and Revelle. (1970). *Science* 169, 397-399.

動物の最終的な体の大きさは、以下の三つの変数によって決まる。

- ・ 性成熟の開始に必要な最低サイズである「臨界サイズ」
- ・ 臨界サイズに到達してから実際に成長が停止するまでの「最終成長期間」
- ・ 最終成長期における「成長率」



アホロートル (ウーパールーパー) の場合

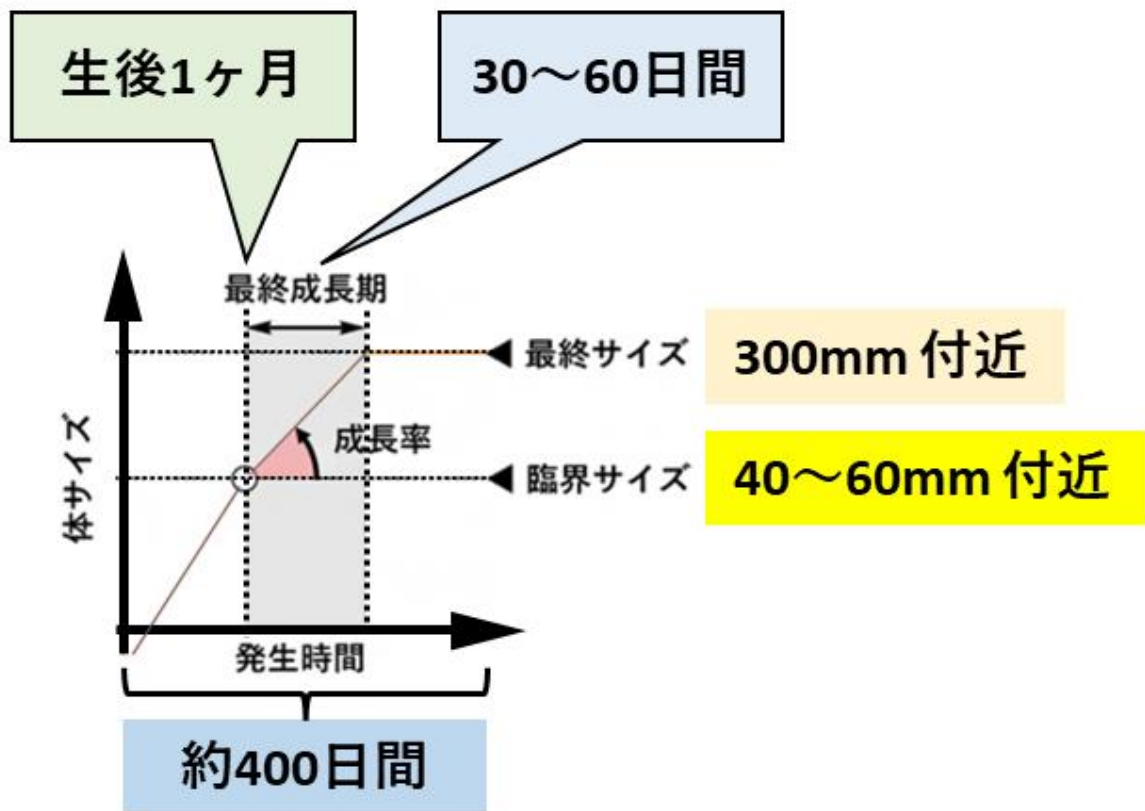
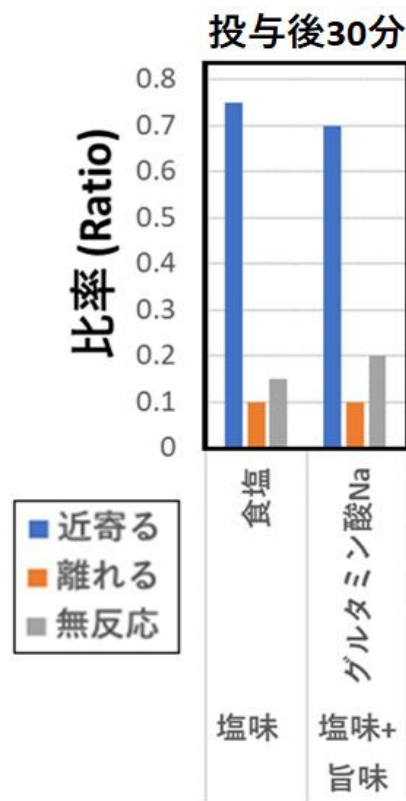
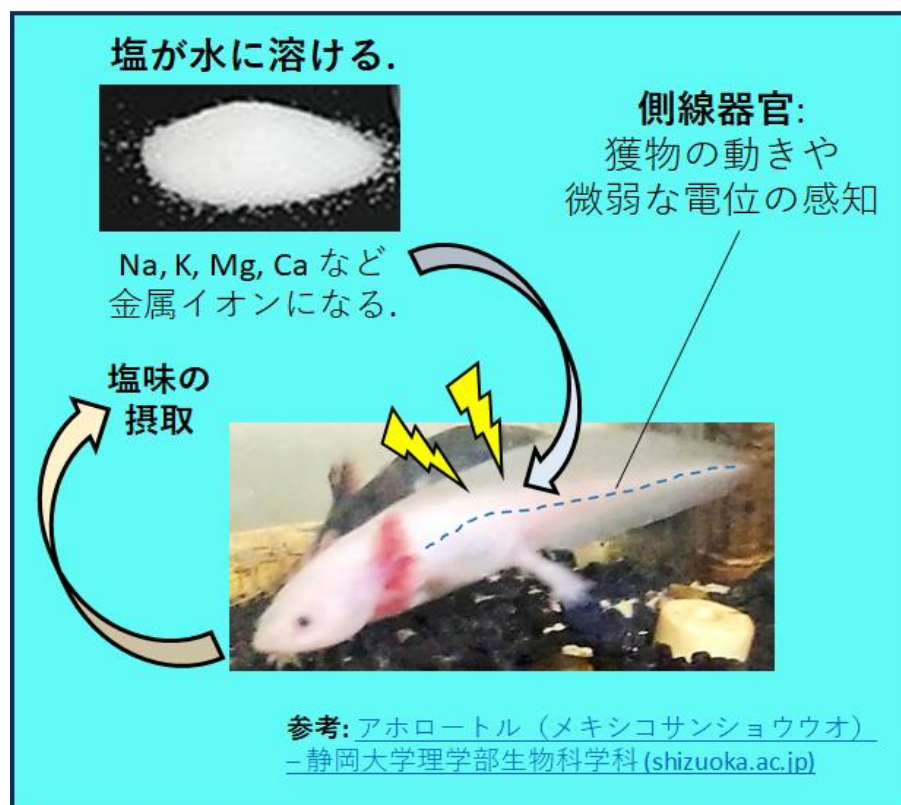


図 7: ウーパールーパーの生育密度依存的な成長制御に関する可塑性モデル図

ここまでのアホロートルの成長制御に関する複数の調査の結果、アホロートルの成長の可塑性は生後 1 ヶ月から 2 か月程度である可能性が高く、その臨界となる大きさが 40~60mm であり、この期間に至るまでの間にこのサイズの圏内に到達している個体であれば、生育面積が広くなることや十分な栄養を確保することで再び成長を再開できる可能性がある、と考えることができる。

疑問: アホロートルは、どの器官で、どのように密度を感知するのか?



参考: 側線器官による音・振動・電位の感知 (杉山, 2023)

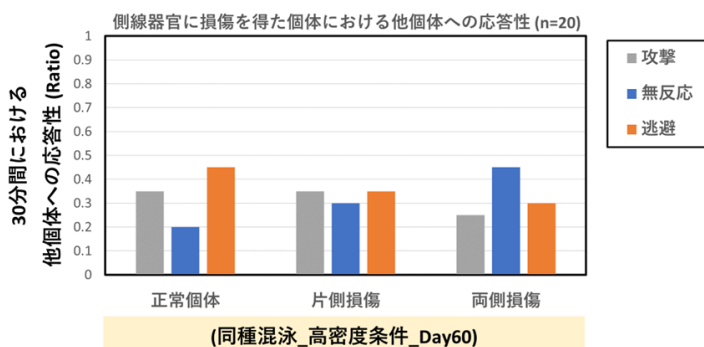
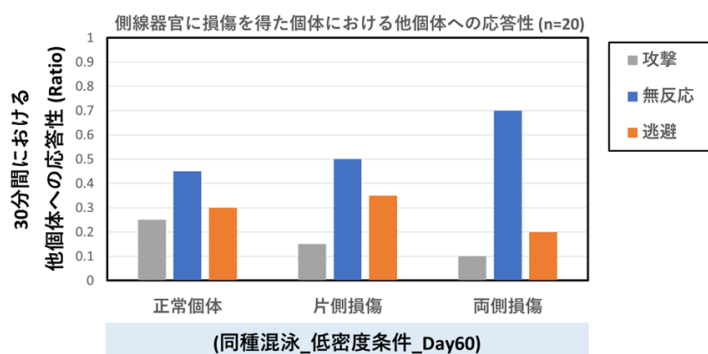
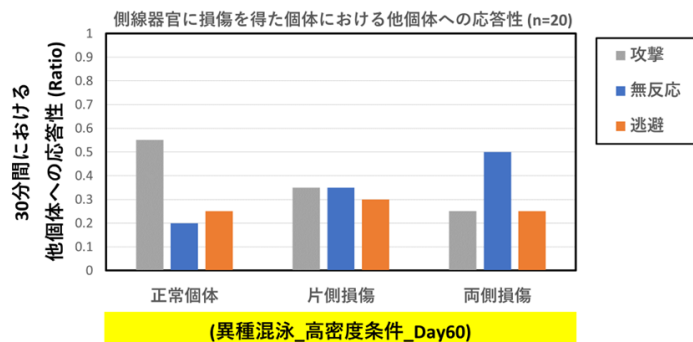
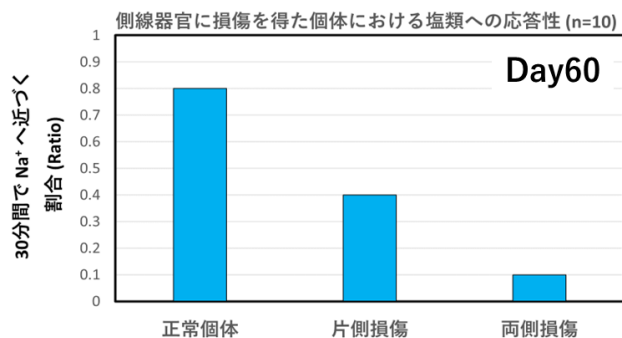


図 8-1: 側線器官による感知に対して飼育密度・混泳効果が及ぼす影響 1 (淡水, 18~20℃)

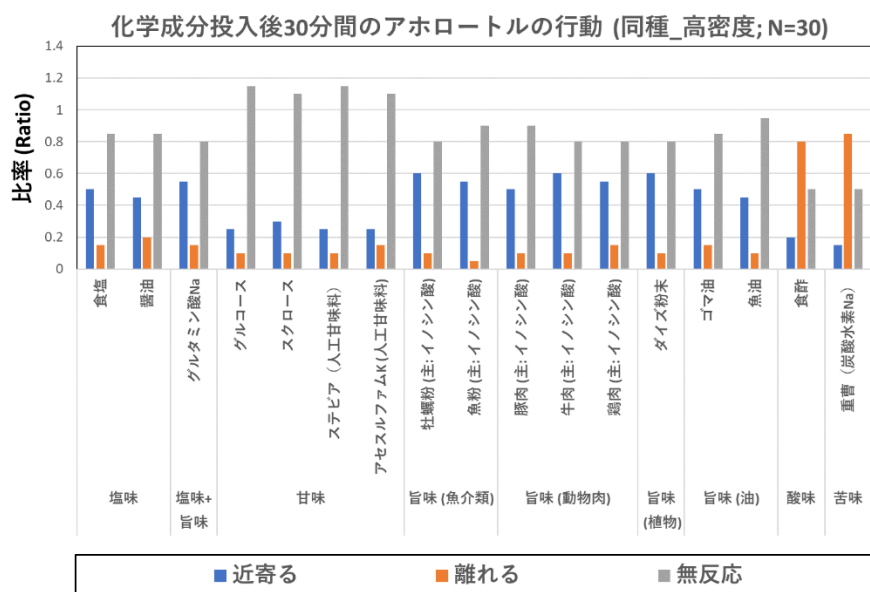
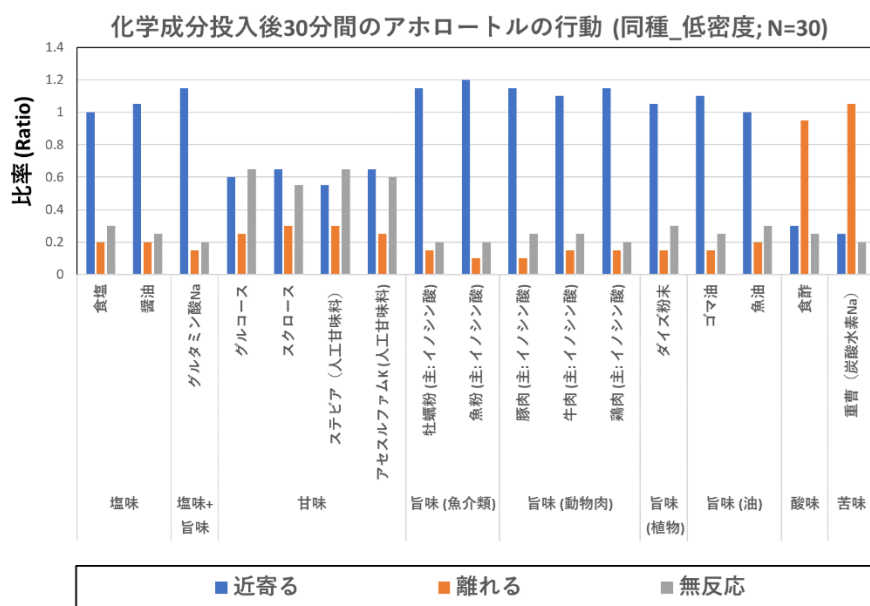
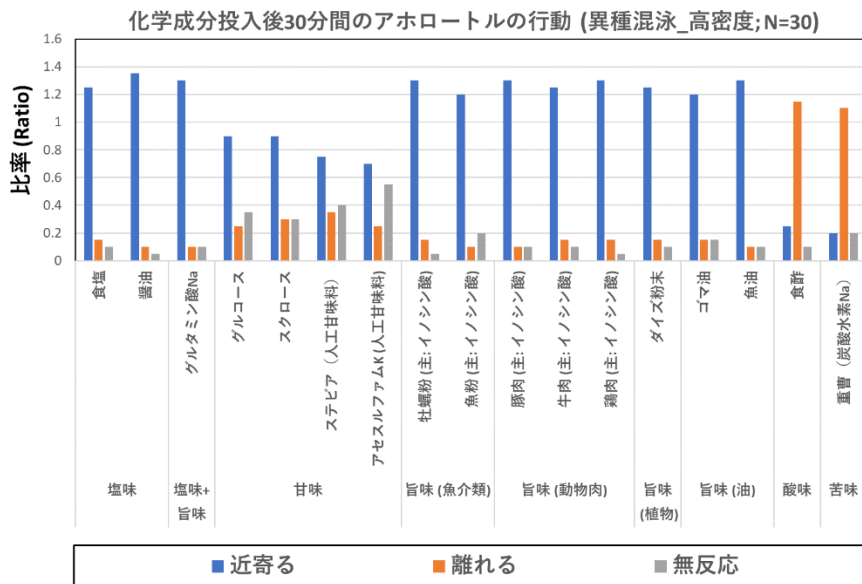


図 8-2: 側線器官による感知に対して飼育密度・混泳効果が及ぼす影響 2 (淡水, 18~20℃)

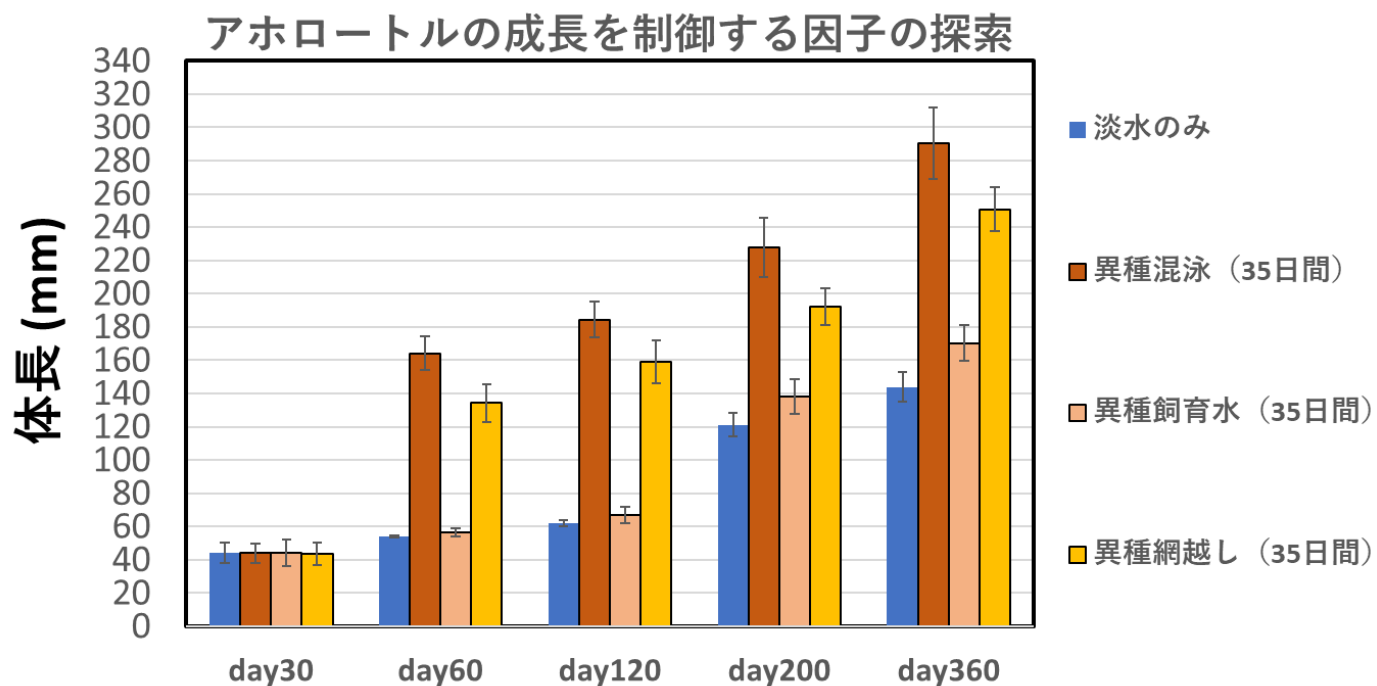


図 8-3: 側線器官による感知に対して飼育密度・混泳効果が及ぼす影響 3 (淡水, 18~20℃; N=5)

エゾサンショウウオから出る成分を感知している訳ではなく、動きや電位で同種と見分けている可能性あり。

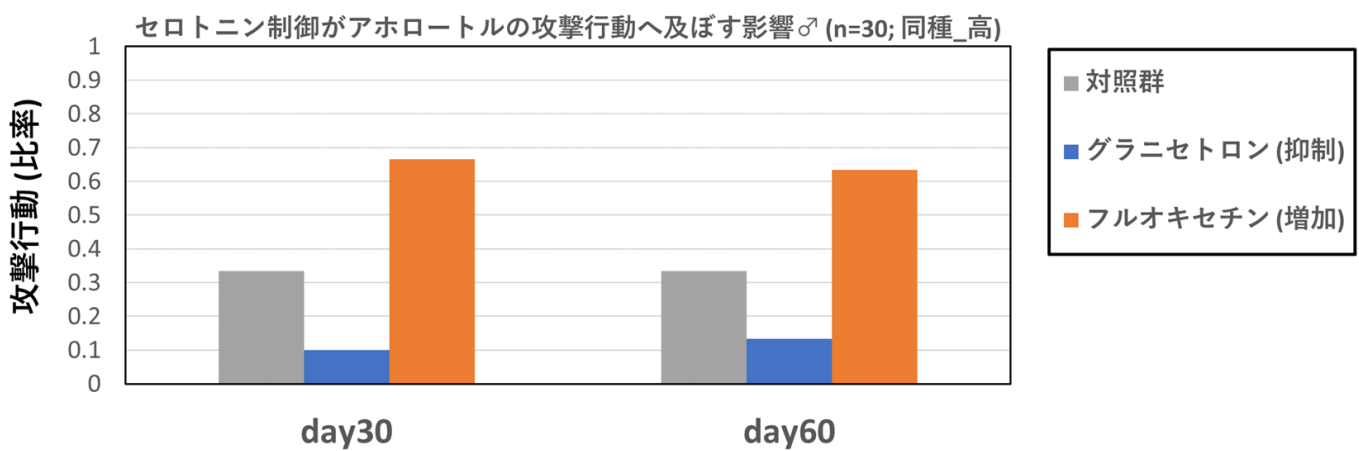
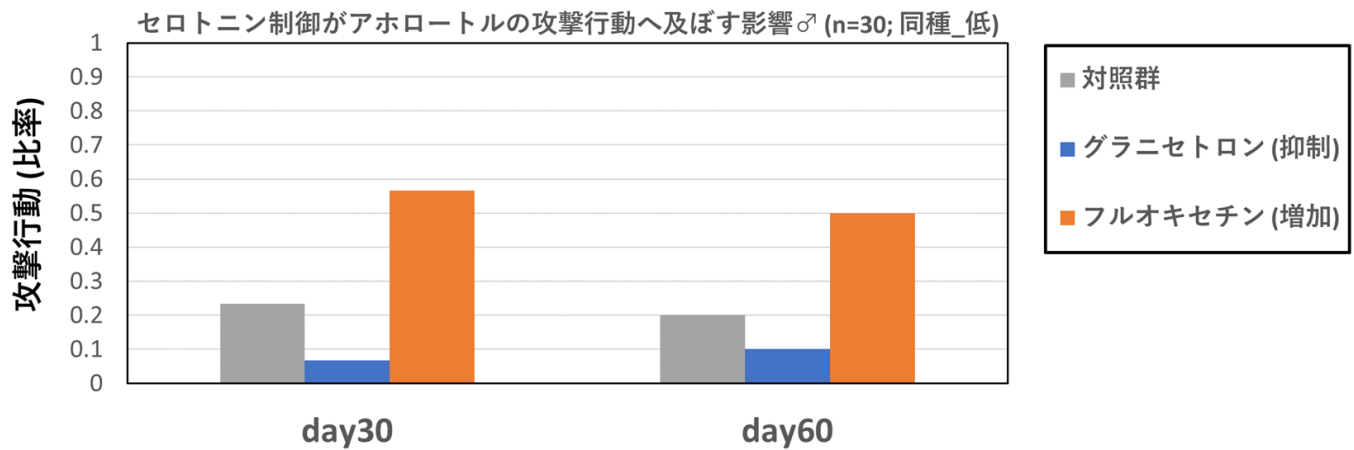
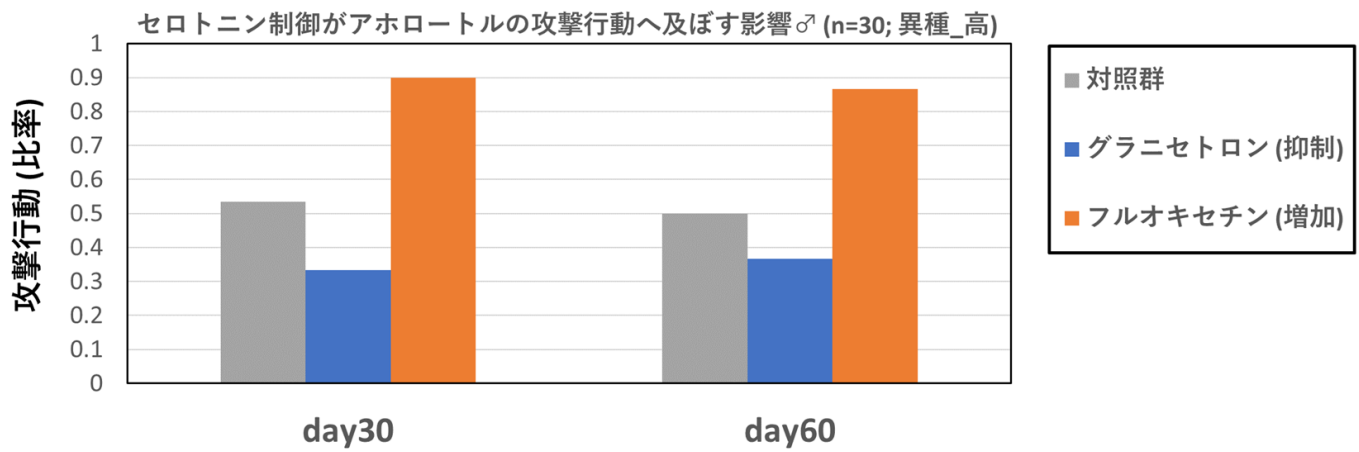
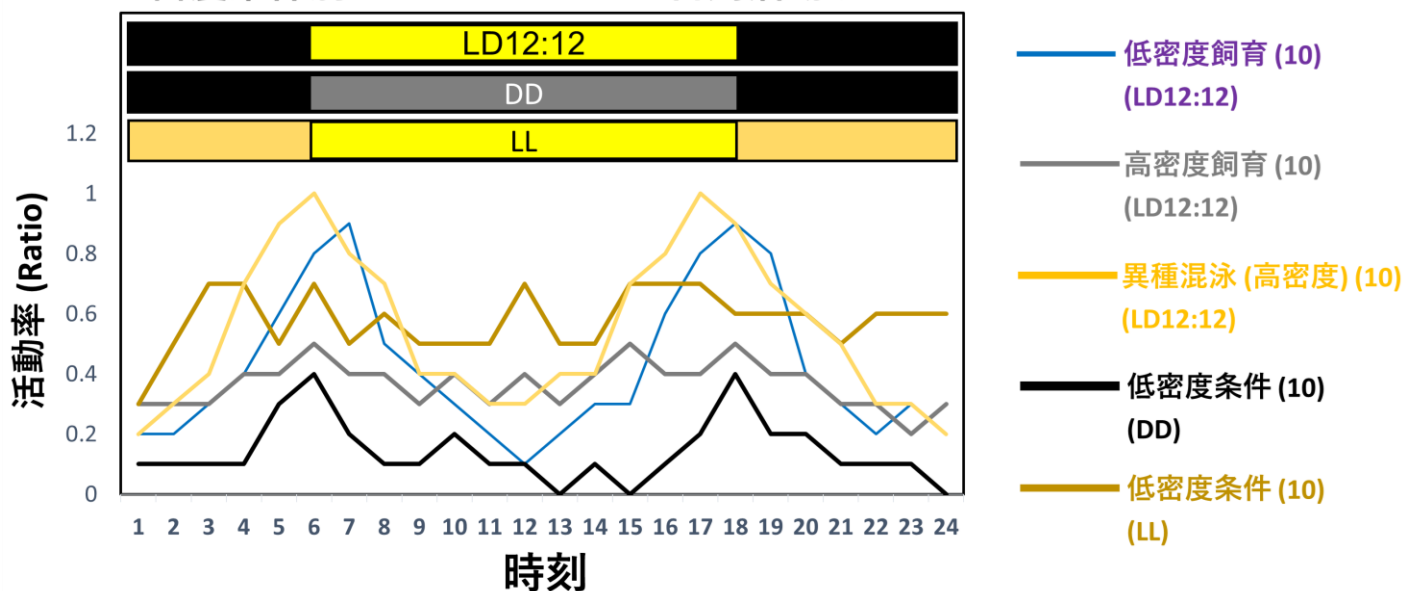
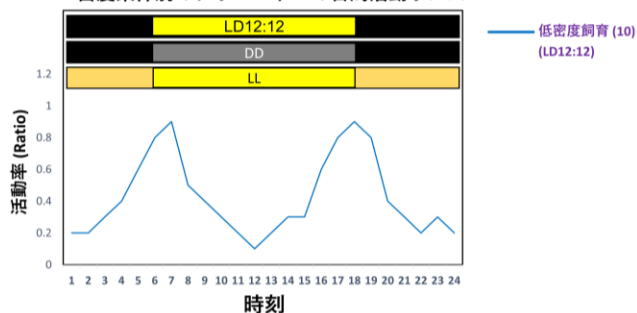


図 9: 高密度条件下ではセロトニンによる攻撃性がより強く発揮される (淡水, 18~20℃)

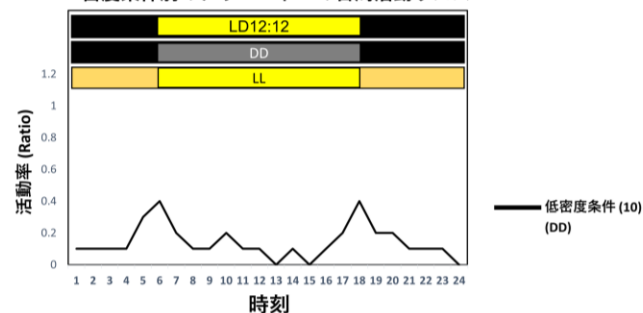
密度条件別のアホロートルの日周活動リズム



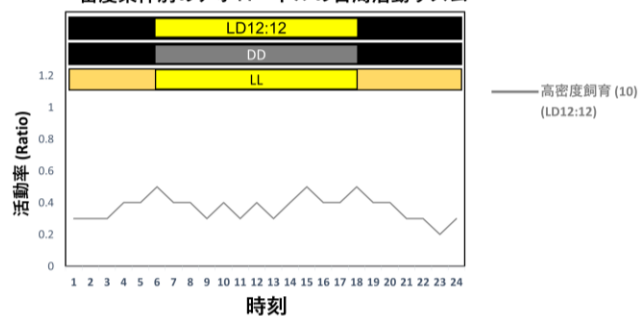
密度条件別のアホロートルの日周活動リズム



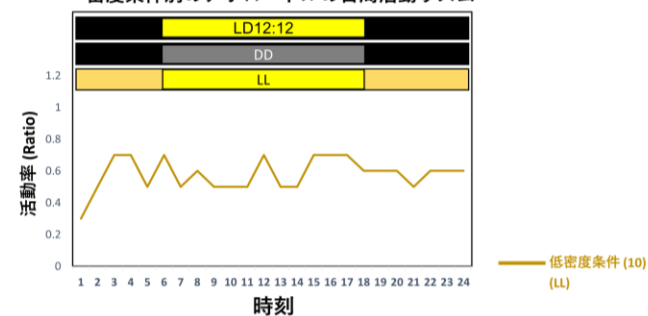
密度条件別のアホロートルの日周活動リズム



密度条件別のアホロートルの日周活動リズム



密度条件別のアホロートルの日周活動リズム



密度条件別のアホロートルの日周活動リズム

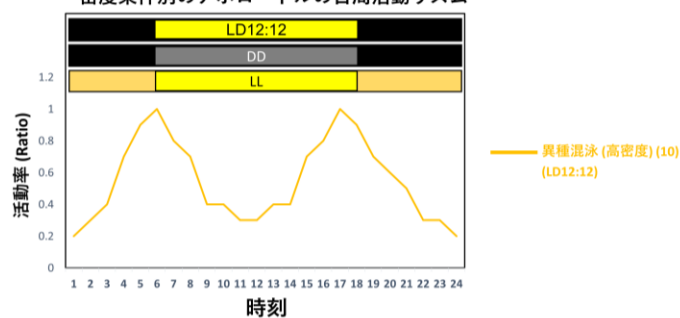


図 10: 密度別のアホロートルの日周活動リズム

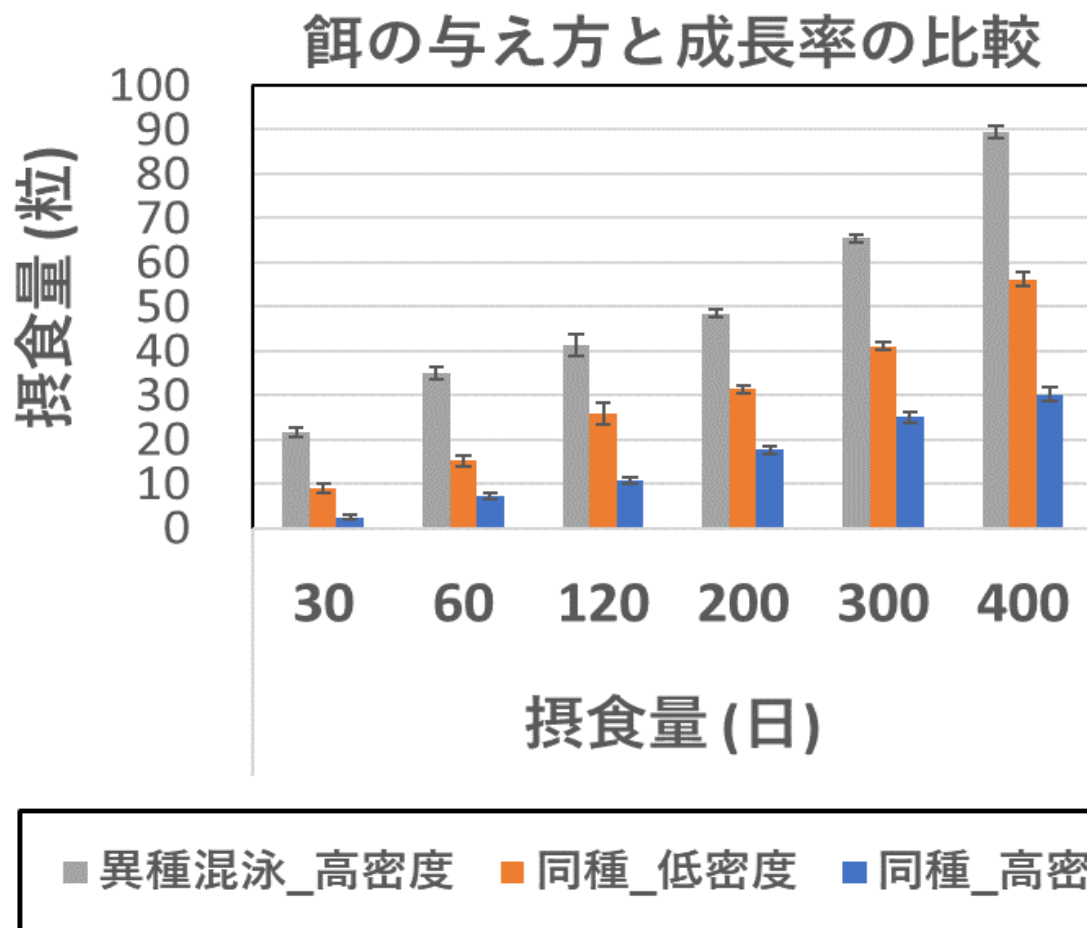


図 11: 密度別の摂食行動の観察記録

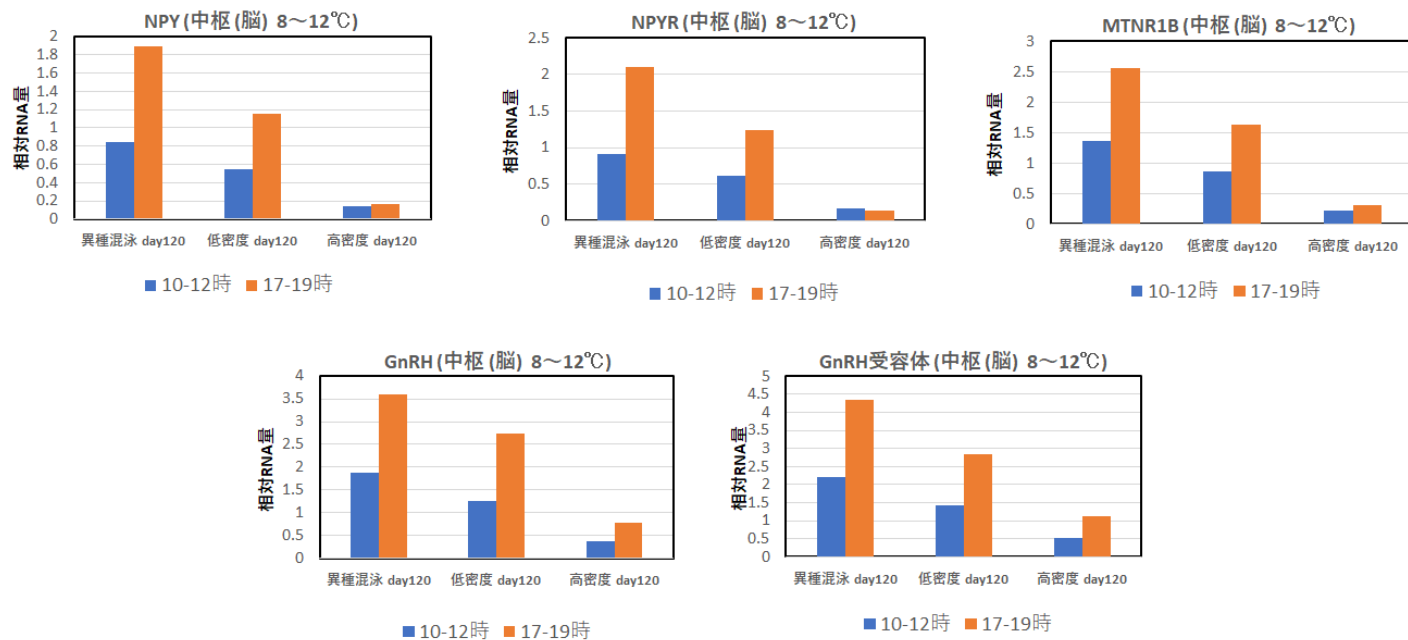


図 12-1: 異種混泳個体における睡眠・成長関連因子の発現動態の解析 1 (中枢)

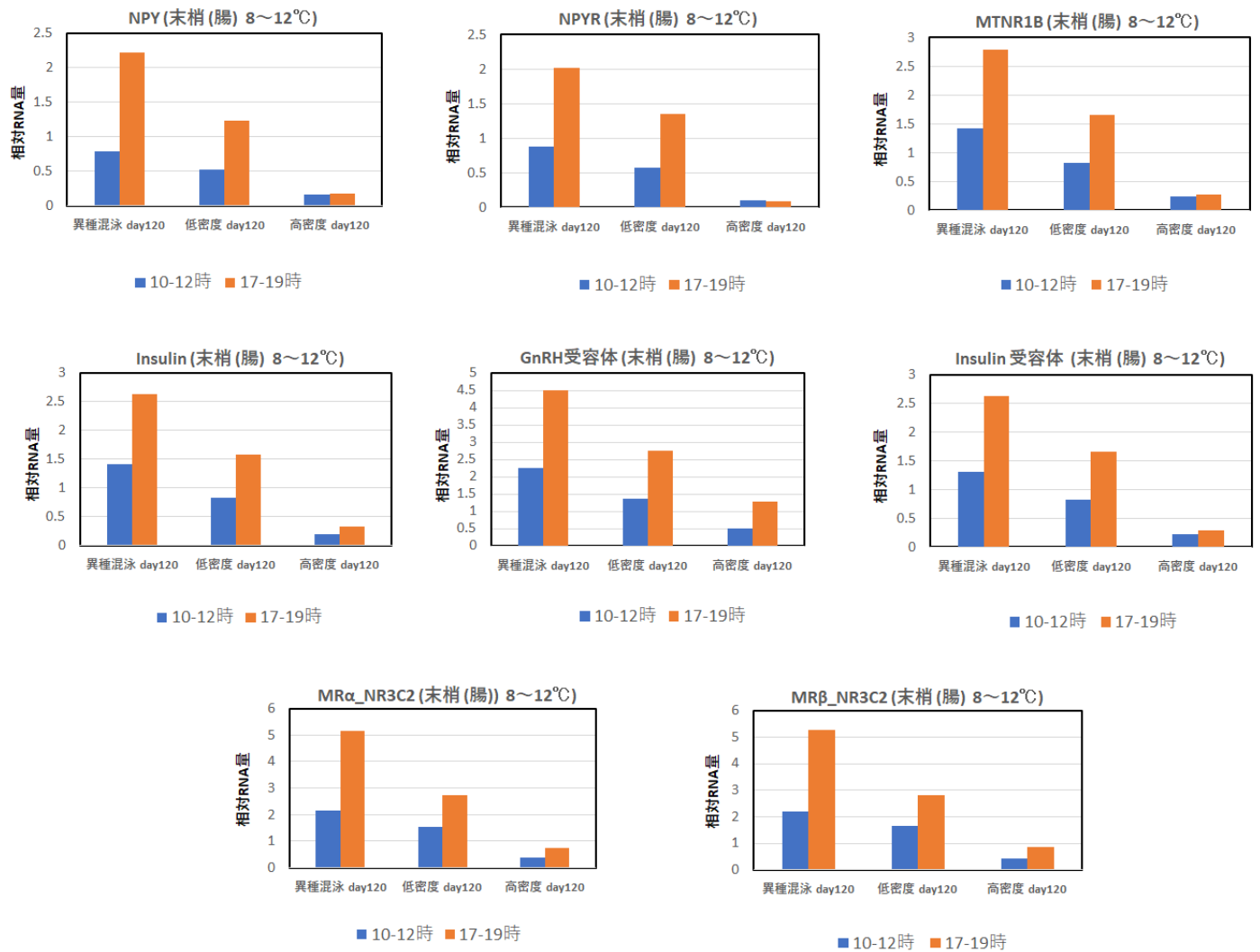


図 12-2: 異種混泳個体における睡眠・成長関連因子の発現動態の解析 2 (末梢)

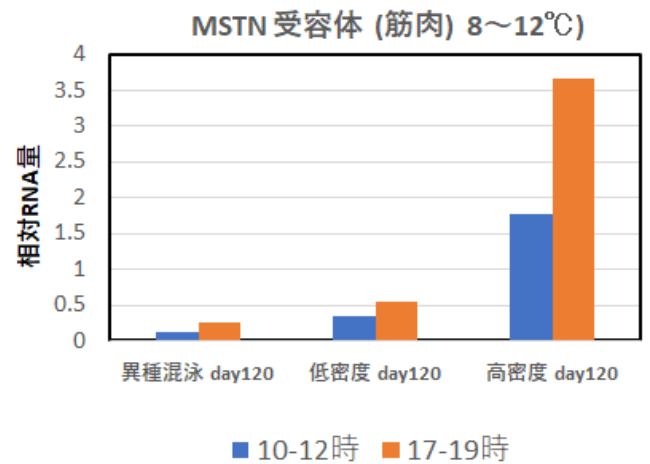
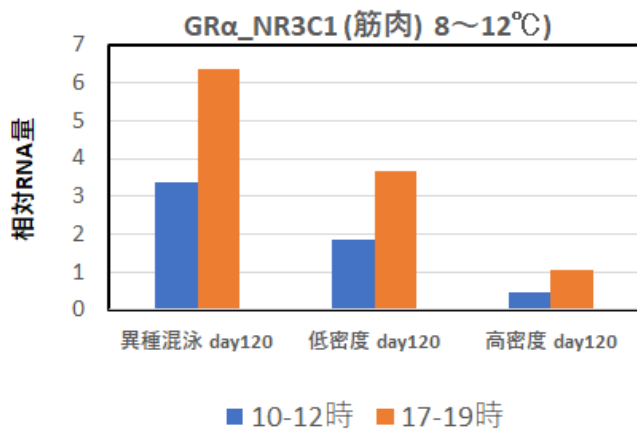
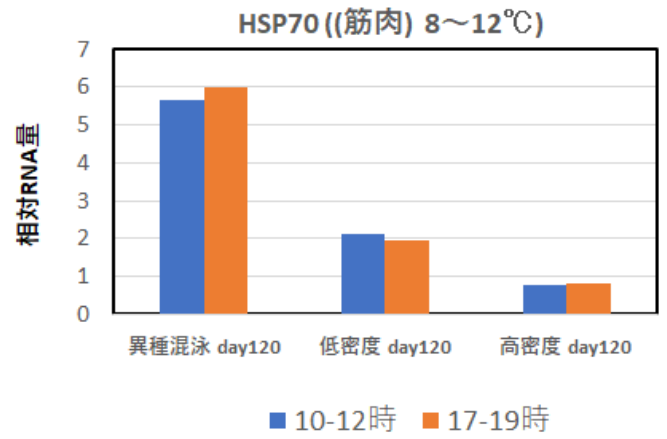
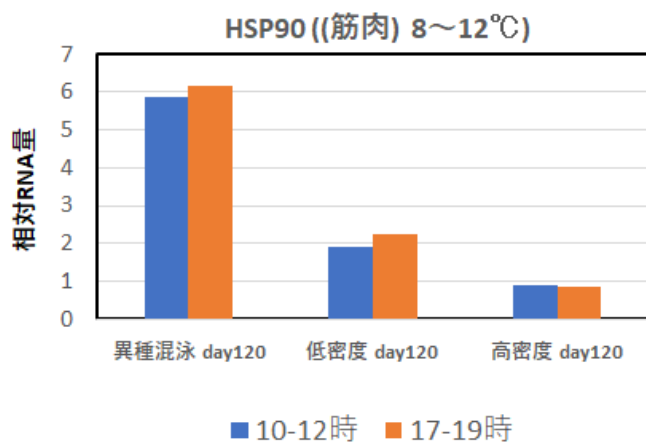
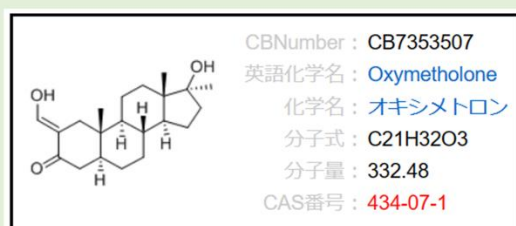
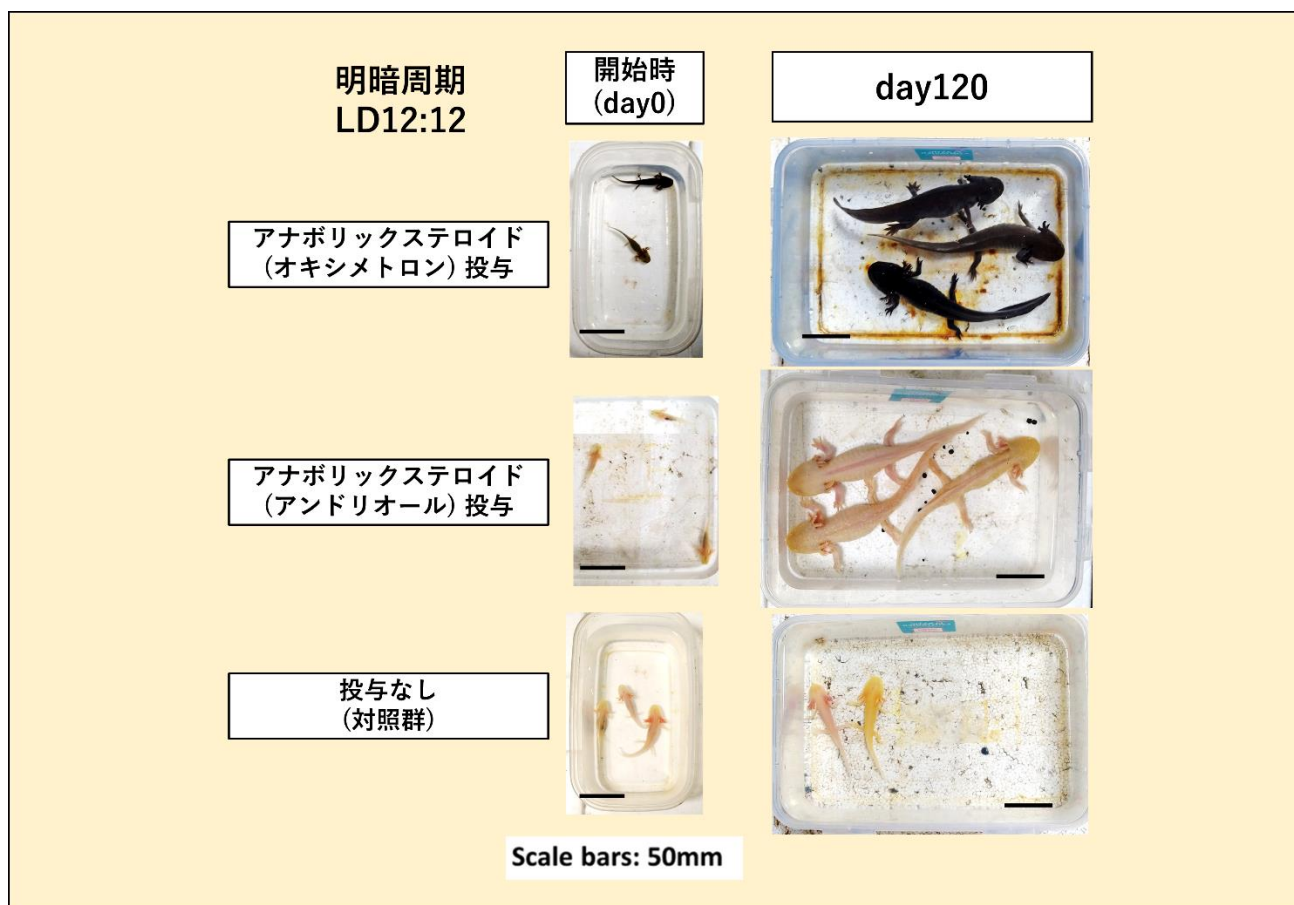
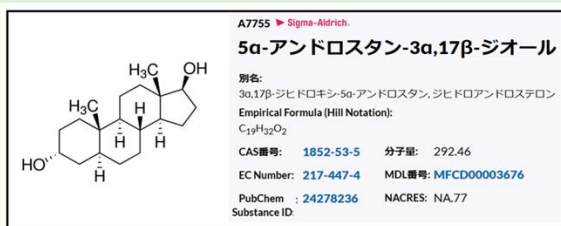


図 12-3: 異種混泳個体における筋肉の成長に関わる因子の発現動態の解析 3 (筋肉)



[オキシメトロン | 434-07-1 \(chemicalbook.com\)](http://chemicalbook.com)



[5α-アンドロスタン-3α,17β-ジオール | Sigma-Aldrich \(sigmaaldrich.com\)](http://sigmaaldrich.com)

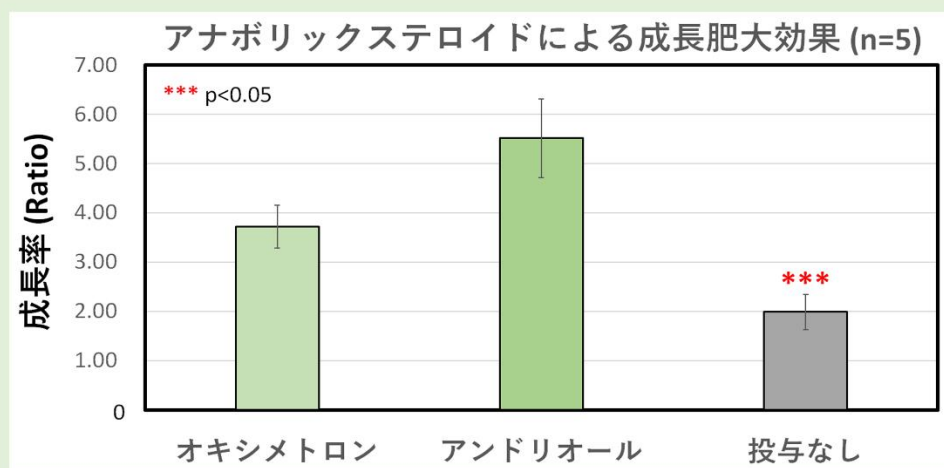
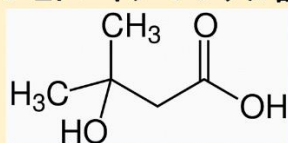


図 13: アナボリックステロイドの成長肥大効果 (LD12:12)



3-ヒドロキシ-3-メチル酪酸 (HMB)



[β-ヒドロキシイソ吉草酸 ≥95.0% \(T\) | Sigma-Aldrich \(sigmaaldrich.com\)](#)

Empirical Formula (Hill Notation):

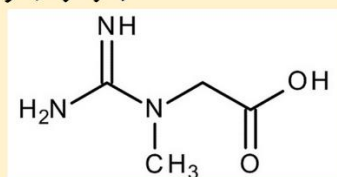
C₅H₁₀O₃

CAS番号: [625-08-1](#)

Beilstein: 1743952

分子量: 118.13

クレアチン



[クレアチン-水和物 MSDS - 841470 - Merck \(merckmillipore.com\)](#)

化学式	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂
モル質量	131.13 g/mol
融点	303 °C (分解)
CAS登録番号	57-00-1
EC番号	200-306-6

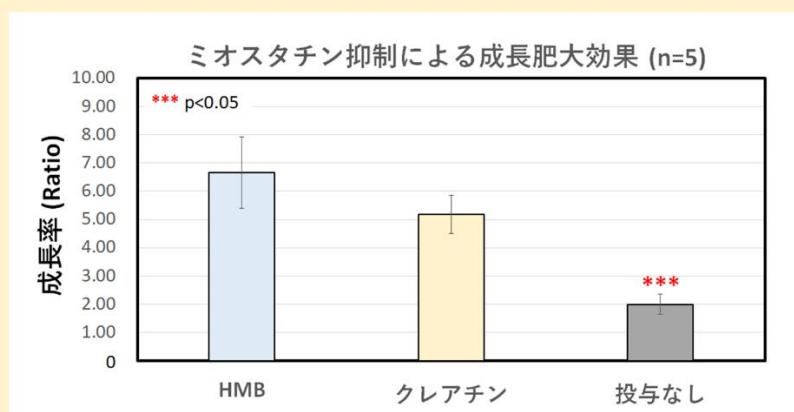


図 14: ミオスタチン阻害による成長肥大効果 (LD12:12)

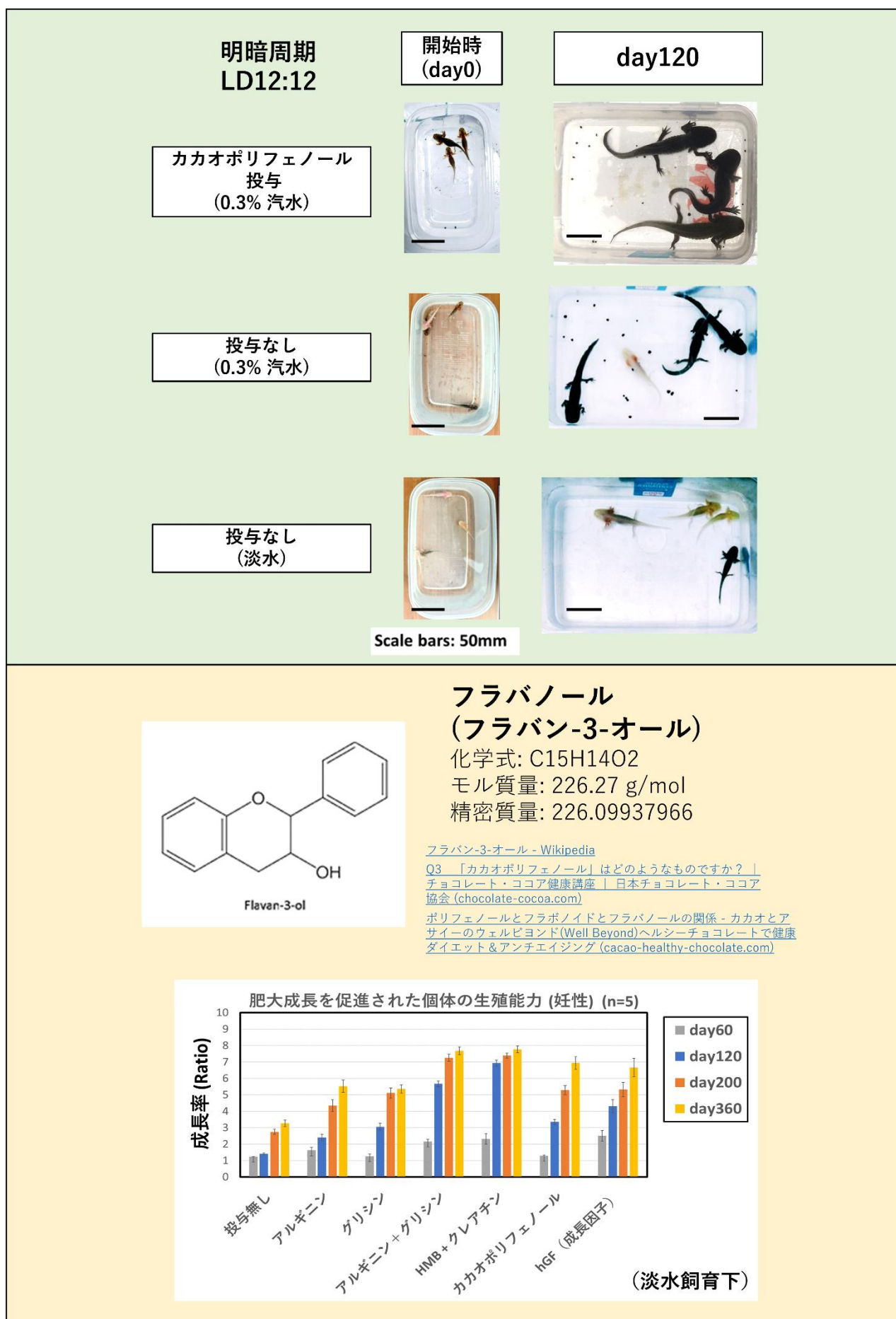
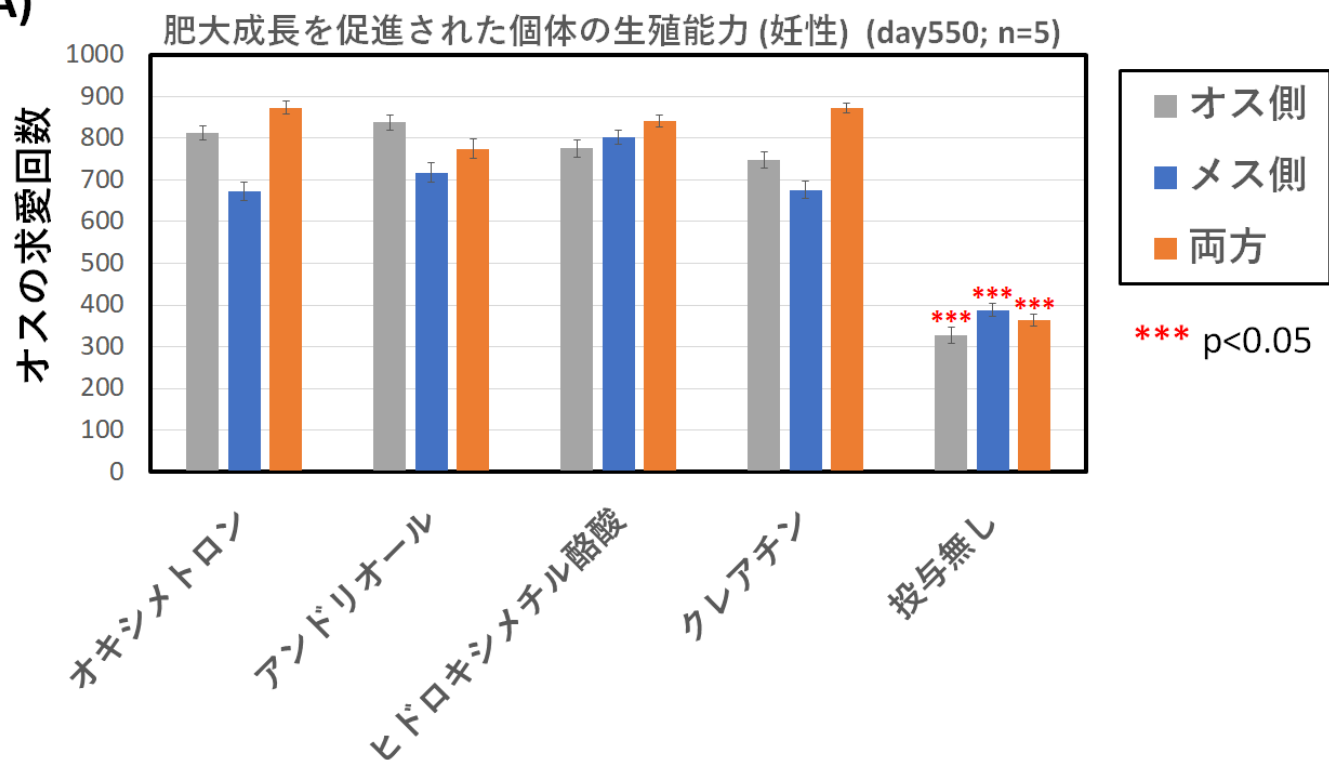


図 15: カカオポリフェノール (エピカテキン) による成長肥大効果 (LD12:12)

(A)



(B)

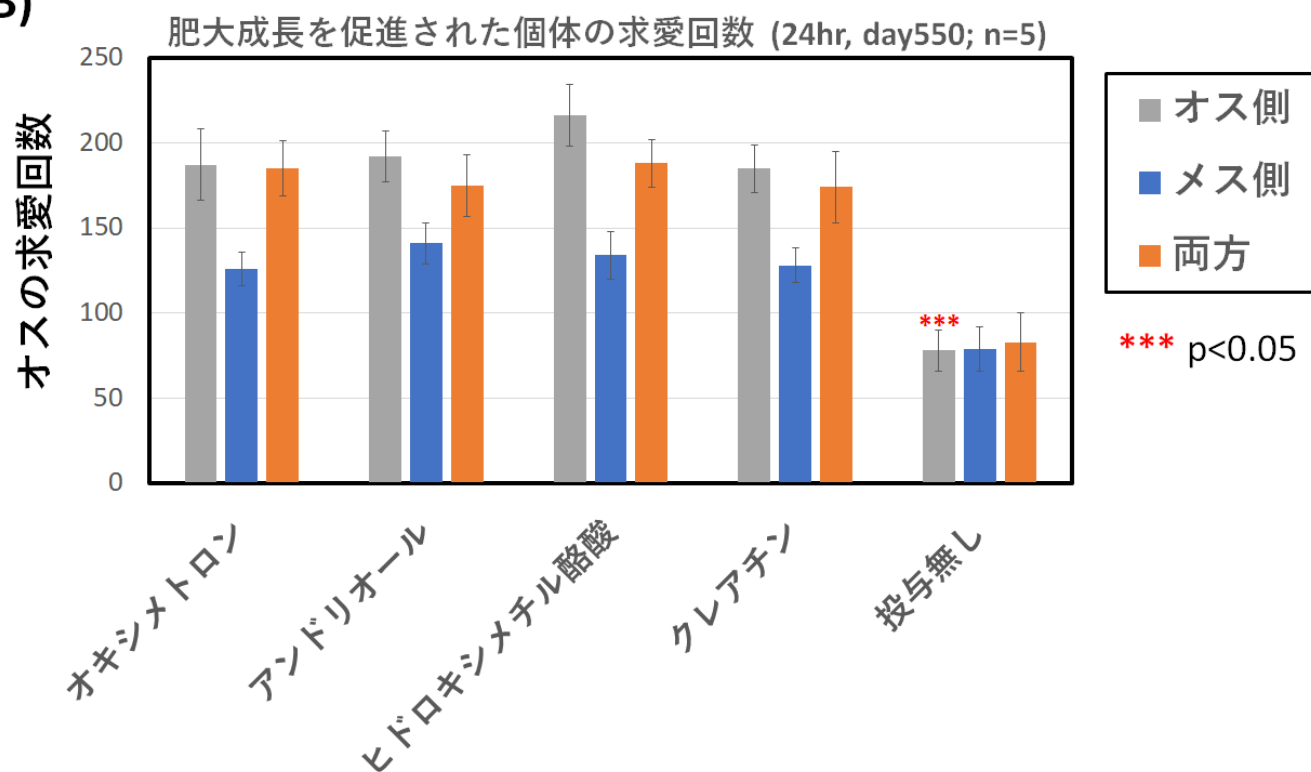


図 16: ステロイドホルモン投与による筋肥大成長個体は生殖能力が向上する

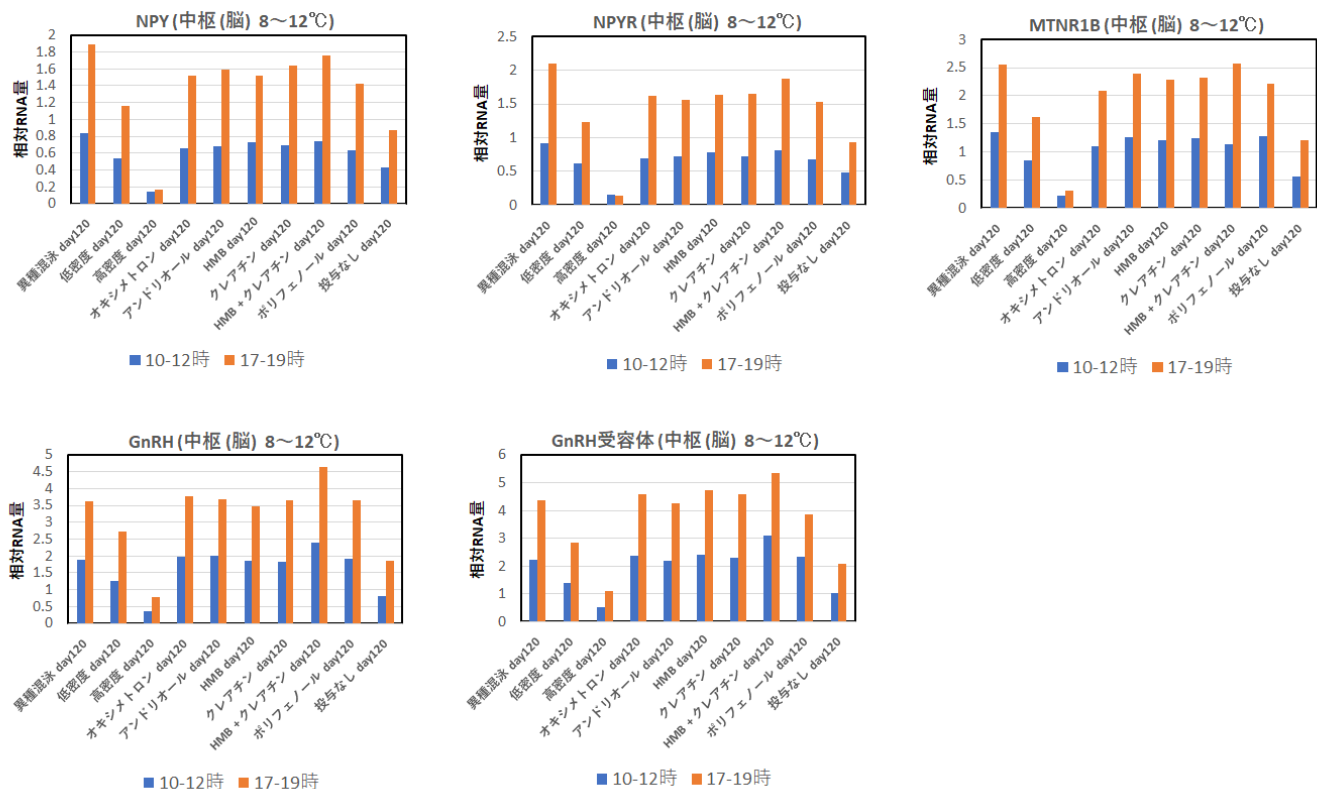


図 17-1: 肥大成長個体における睡眠・成長関連因子の発現動態の解析 1 (中枢)

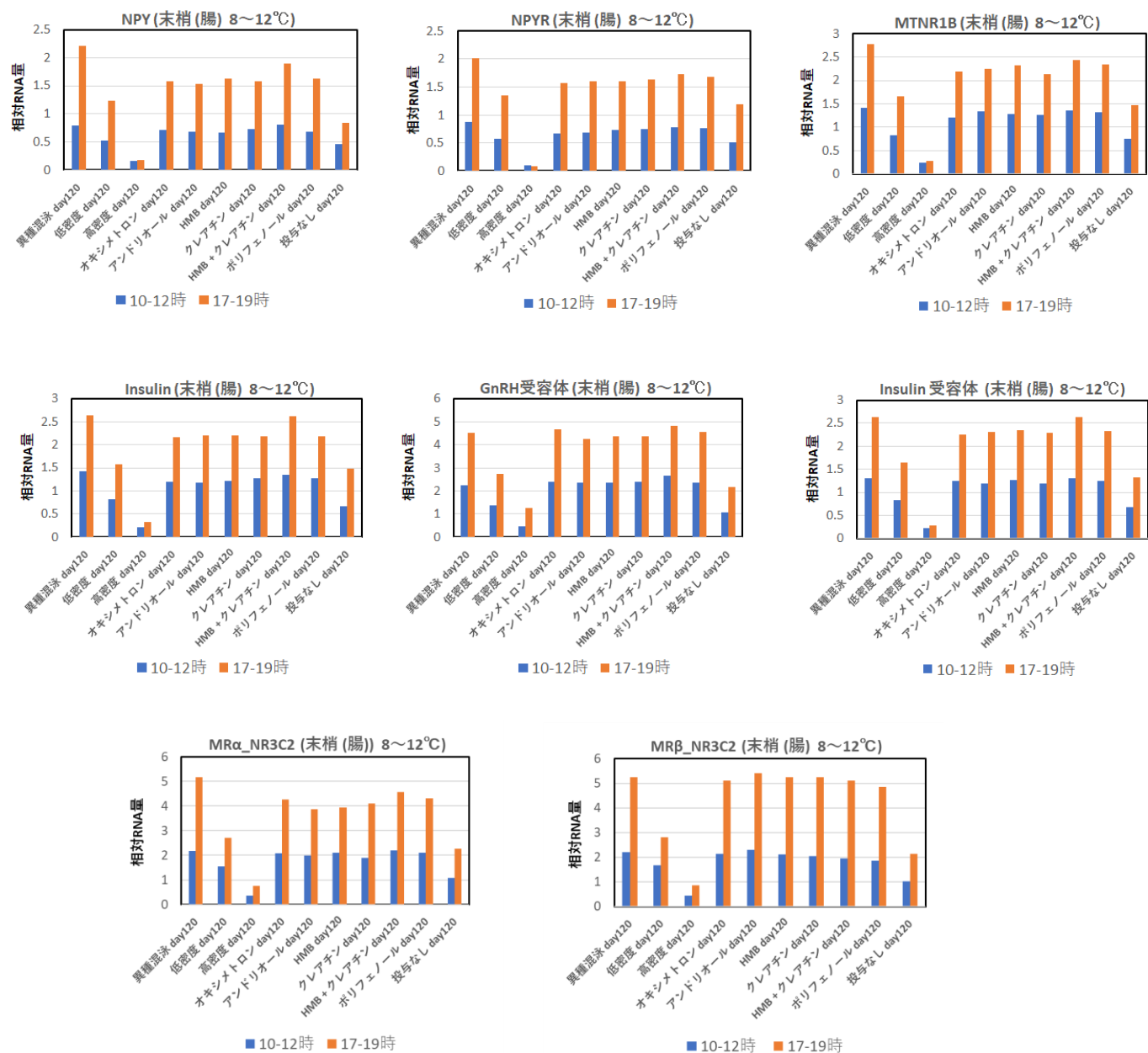


図 17-2: 肥大成長個体における睡眠・成長関連因子の発現動態の解析 2 (末梢)

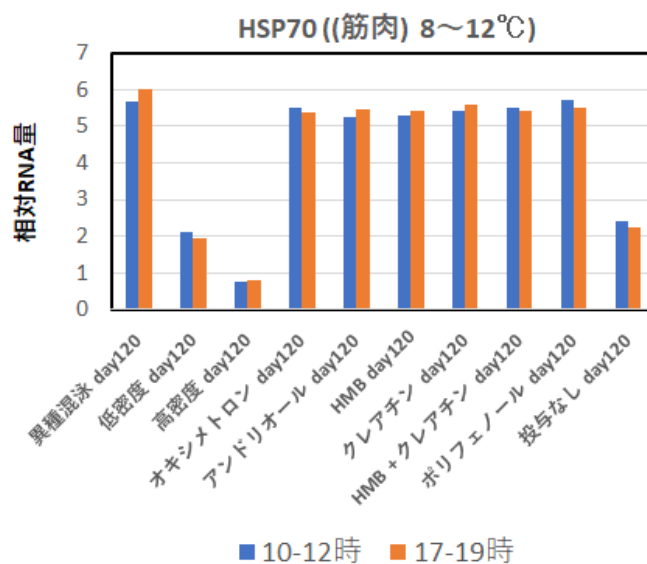
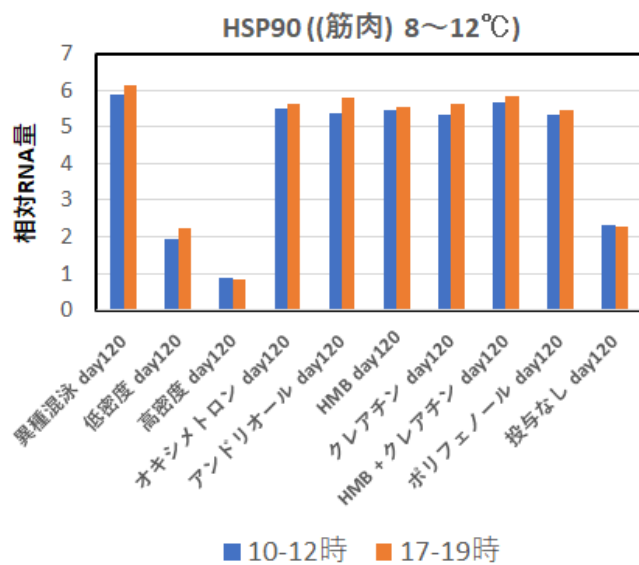
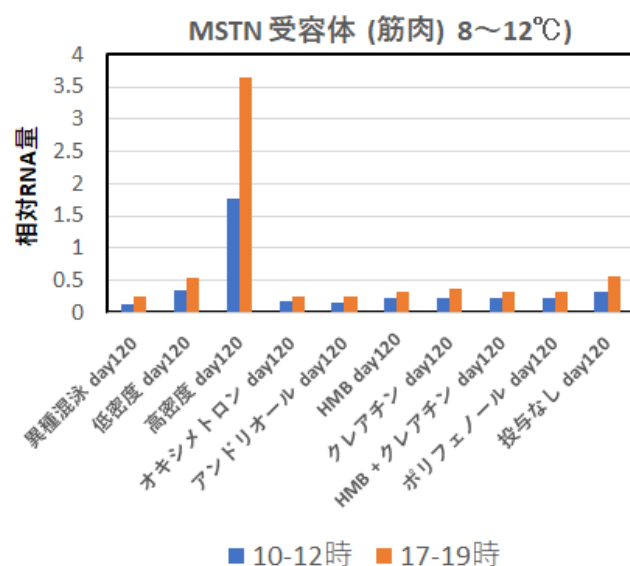
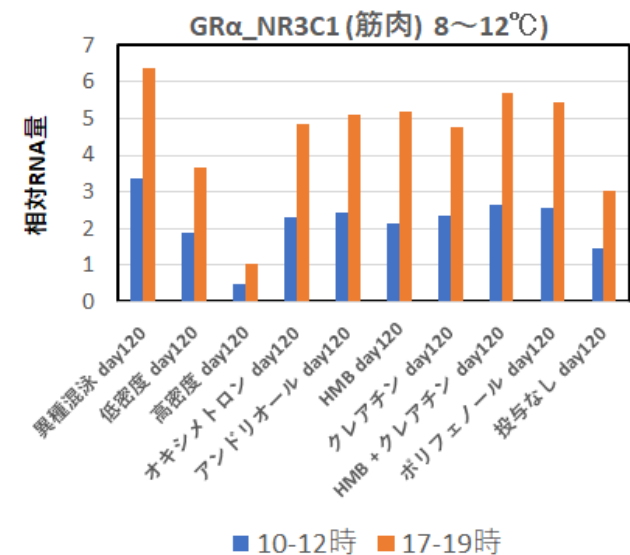


図 17-3: 肥大成長個体における筋肉の成長に関わる因子の発現動態の解析 3 (筋肉)

<単独生活個体>



各因子の
発現強度
単独<集団

セロトニンの効果: 幼少期は攻撃性に関与し、成長後は攻撃性の抑制にも作用し、集団生活での均衡を保つ?

成育密度効果: 密度が高い方が、攻撃性が一層強まる?
→ その分強く抑制されるよう制御を受ける。

<集団生活するアホロートル>



幼少期: MTG1, 2 > セロトニン受容体
成育に伴い... MTG1, 2 < セロトニン受容体

VS

側線器官による
他個体の感知・応答

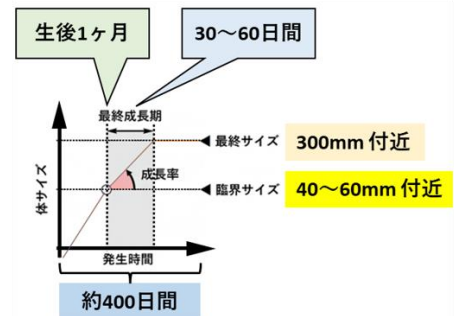


<異種混泳個体群>



異種混泳条件下では、
・攻撃性上昇
・それに伴う攻撃性の抑制
・摂食用増大・筋肥大の促進
(HSP90, 70, 糖質コルチコイド受容体の活性化)
→ 成長促進 (成長過剰)
といった防御応答が起こる。

成育密度の感知・成長速度の調整に
関する可塑性: 生後から90~120日



<"よそ者"が居る環境で起こること>

他の種類の
サンショウウオさん



異種混泳開始時

- ・やや攻撃性が高まる
- ・共食いの訳ではない
- ・側線器官で異種を感知 (飼育水の成分ではなく異種の持つ電位等に反応?)



食欲増進・成長促進

- ・摂食量が増大
- ・成長率が早い
- ・HSP70, 90, 糖質コルチコイド等の筋肥大に関わる因子の活性化



<集団生活において発生する3つの行動型>



攻撃性が高い個体
・高い行動力
・水中生活を維持



周囲に影響されない個体
・じっとしている
・攻撃性は抑制されている
・水中生活を維持



逃避行動を取る個体
・一定以上の行動力
・上陸する場合あり

集団飼育下で変態誘導された個体。

→ 外鰓が短くなり、肺呼吸へ移行していく。



低密度条件

成長はするが
非常に緩やか



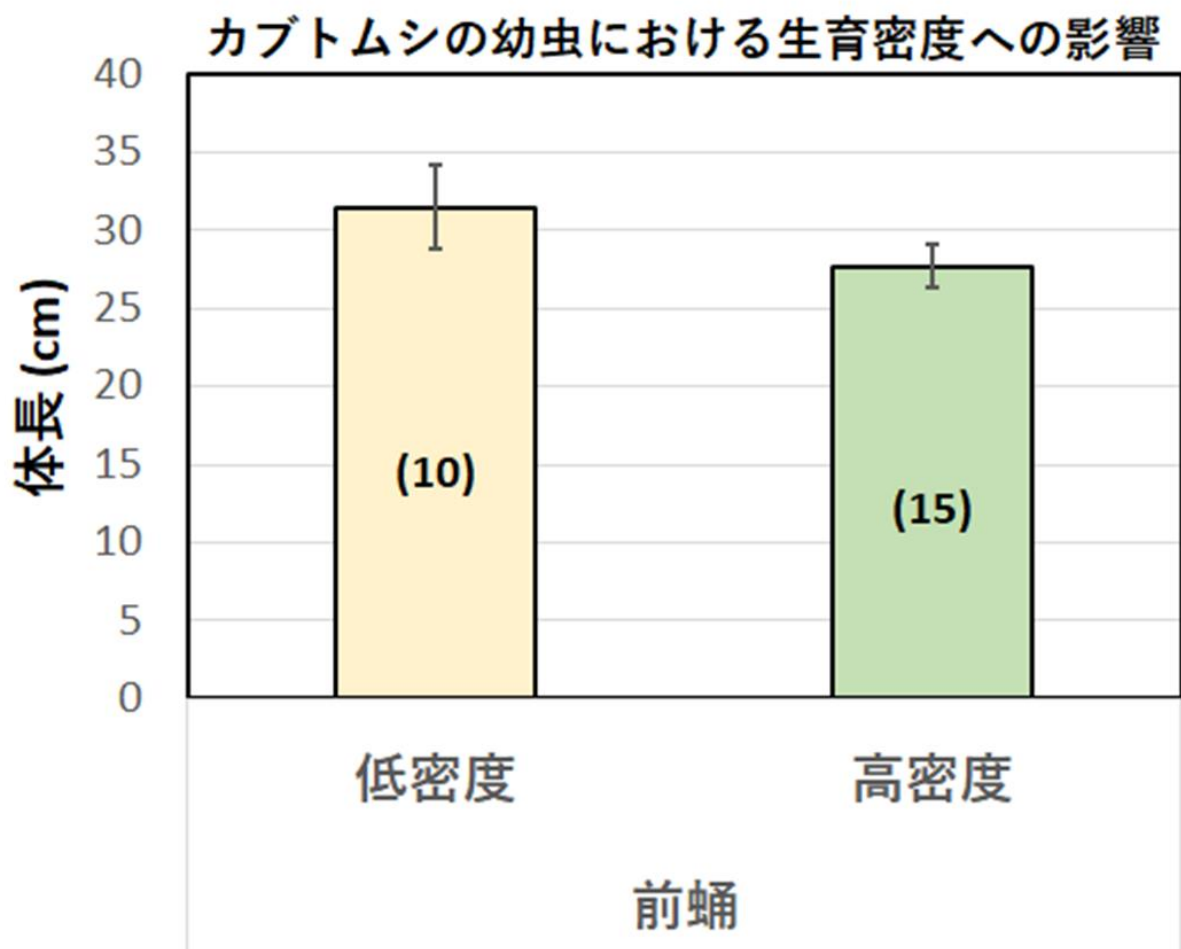
異種混泳による
成長促進

図 18: アホロートルにおける密度効果依存的な肥大成長制御機構モデル図

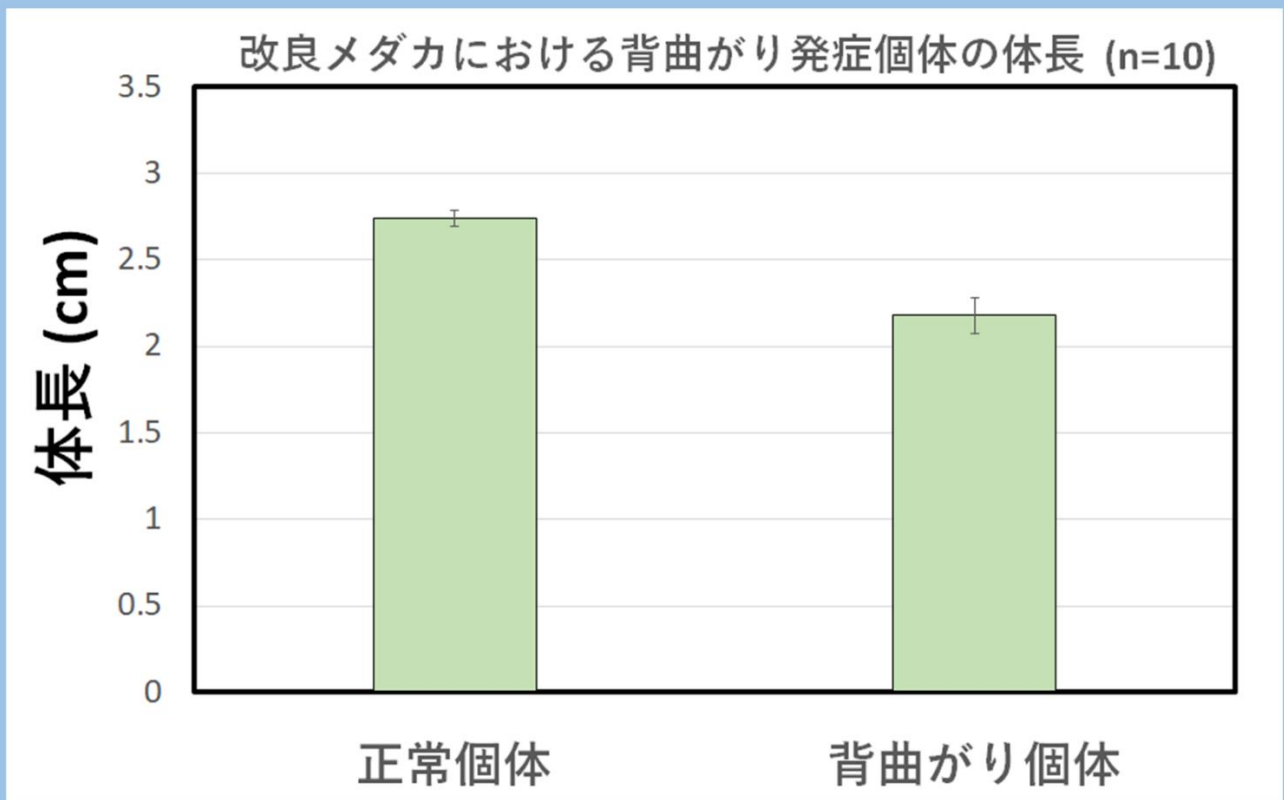
低密度



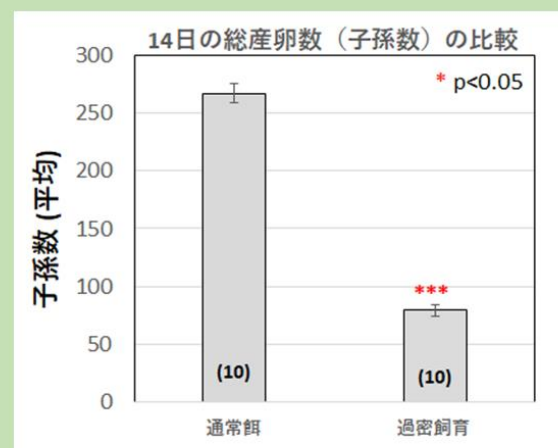
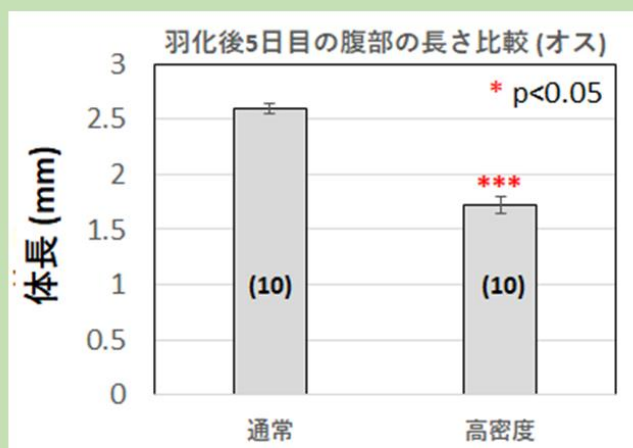
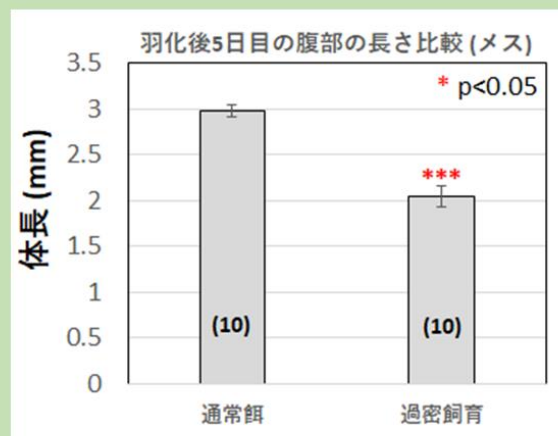
高密度



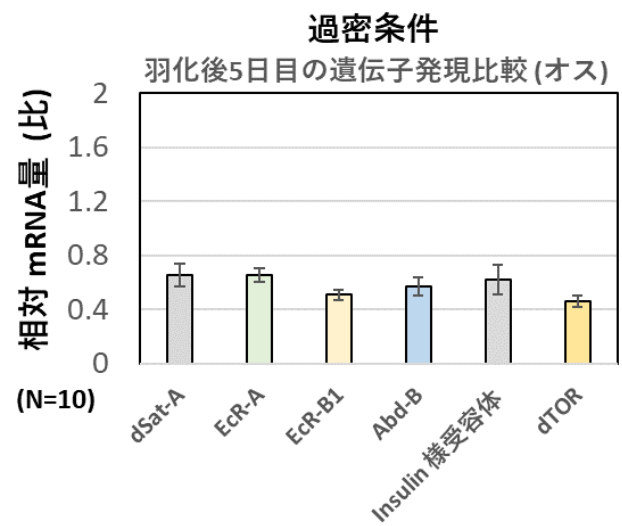
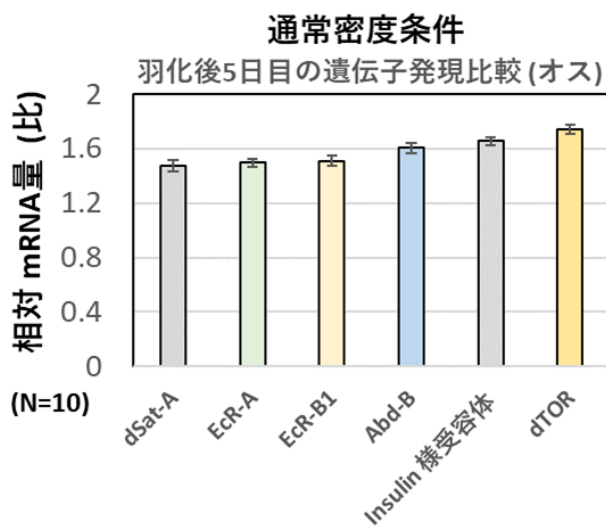
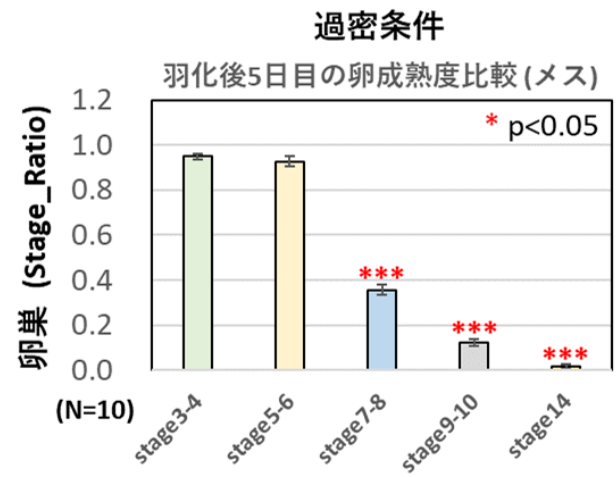
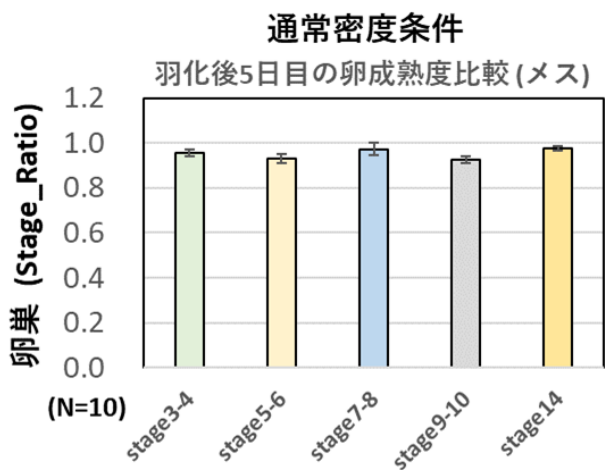
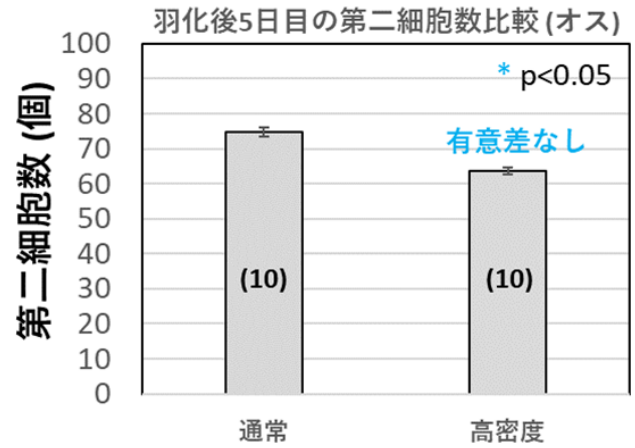
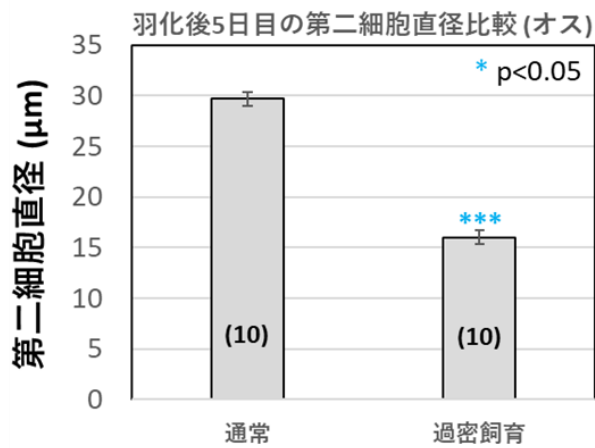
補足図 1: カブトムシにおける密効果が成長率に及ぼす影響



補足図 2: 高密度飼育によって発症するメダカの背曲がり



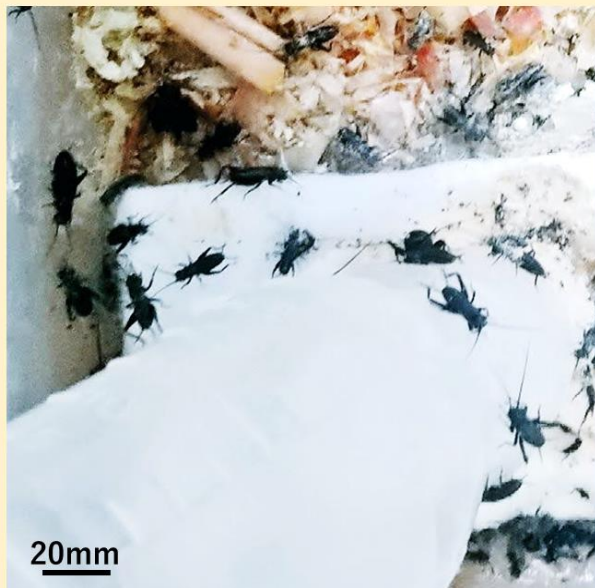
補足図 3-1: 高密度飼育に発症するキロショウジョウバエの成長不全・妊性低下 1



補足図 3-2: 高密度飼育に発症するキロショウジョウバエの成長不全・妊性低下 2

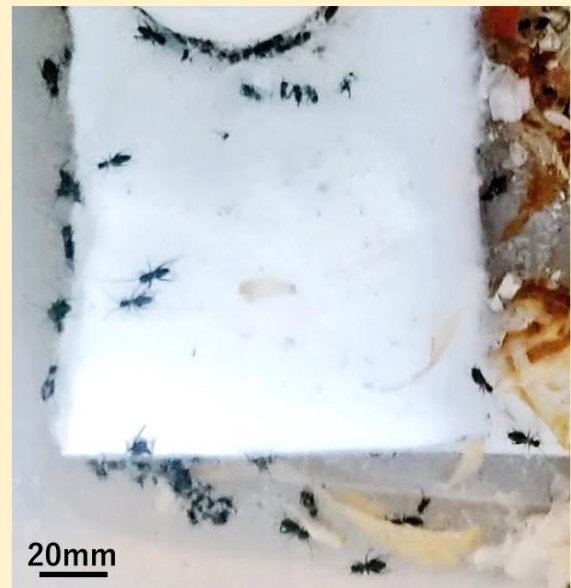
day30 (25°C)

低密度飼育

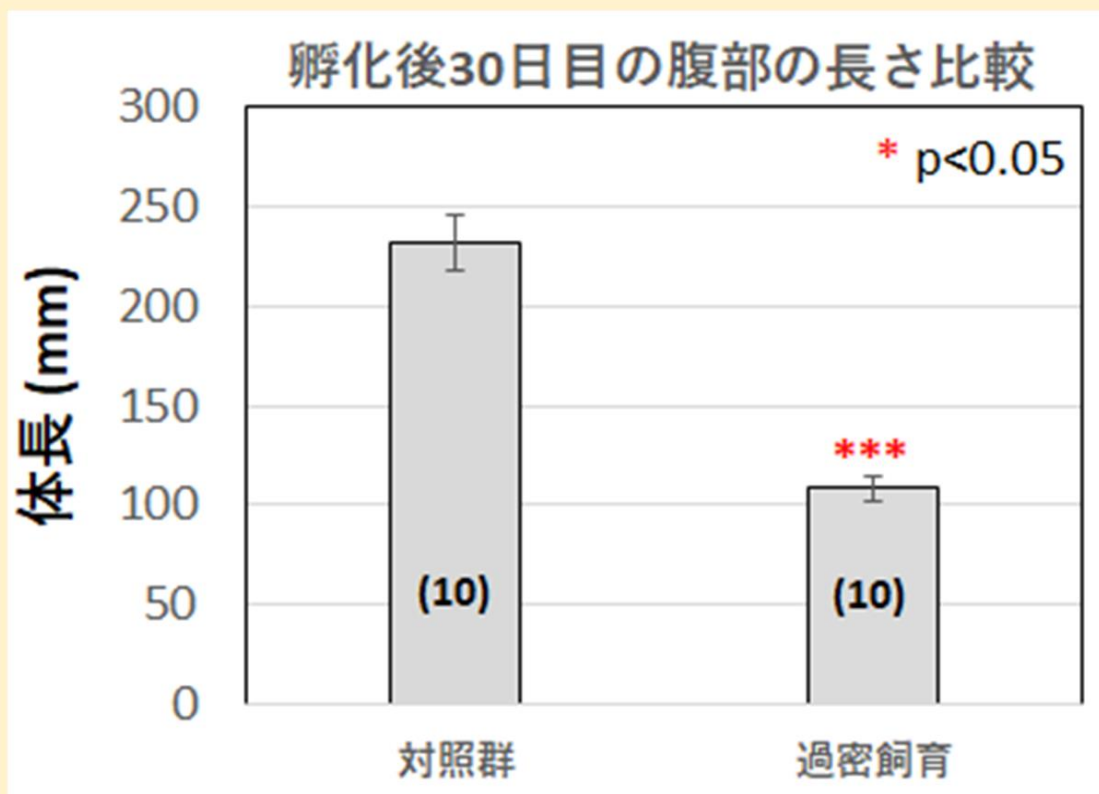


156mm×156mm×83mm
100個体

高密度飼育

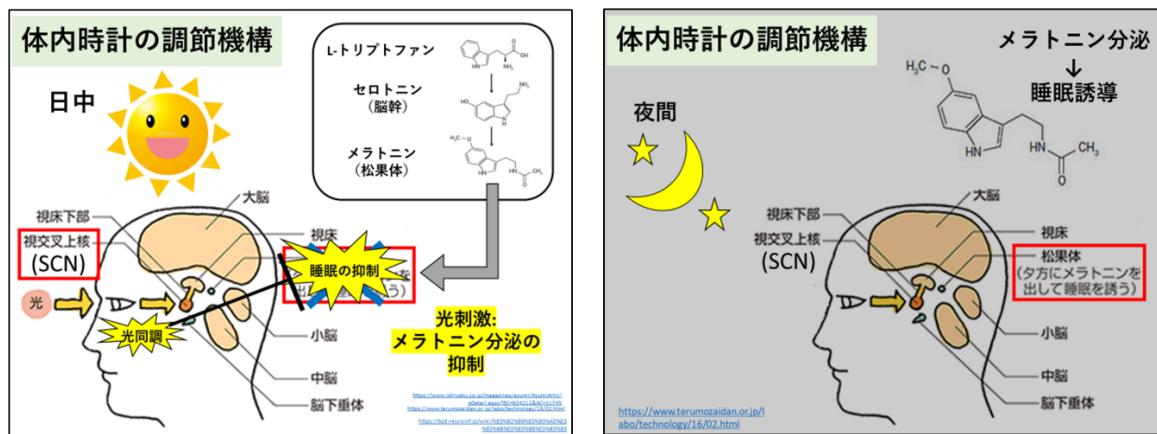


80mm×80mm×53mm
200個体 (密度約4倍)

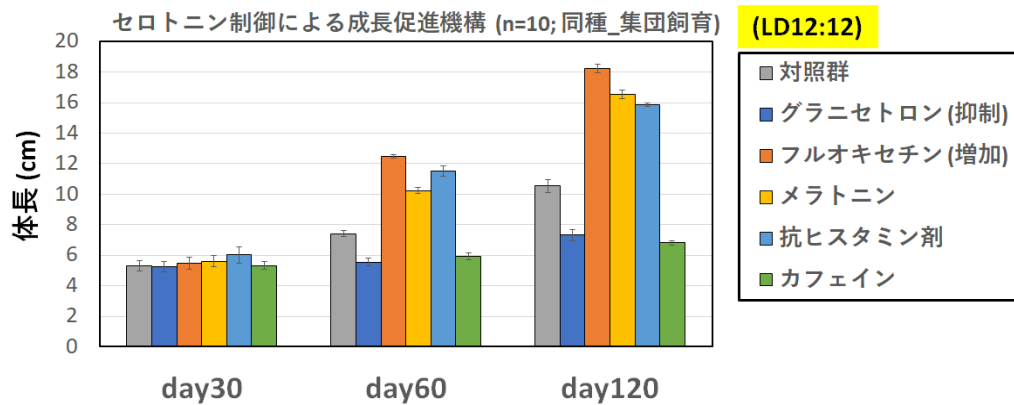


補足図 4: 高密度飼育に発症するフタホシコオロギの成長不全・妊性低下

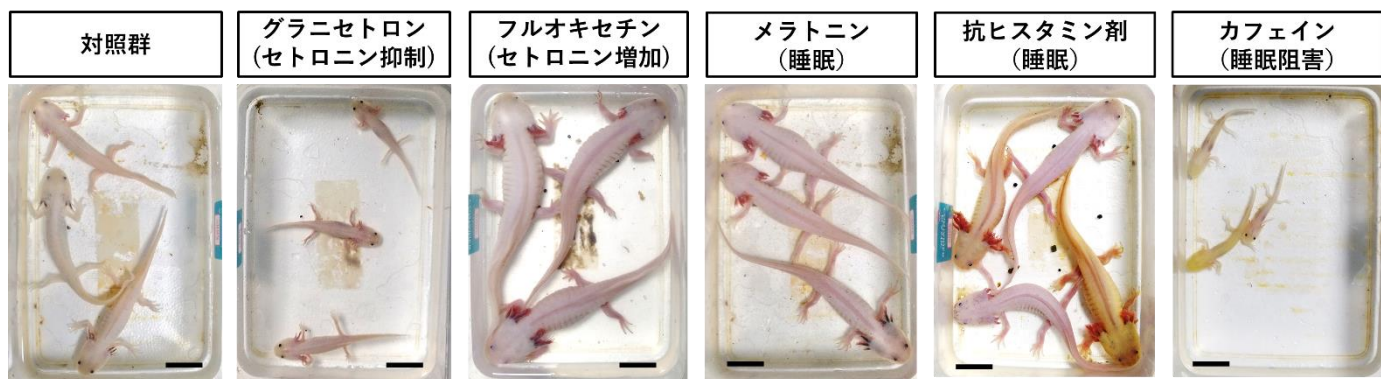
(A)



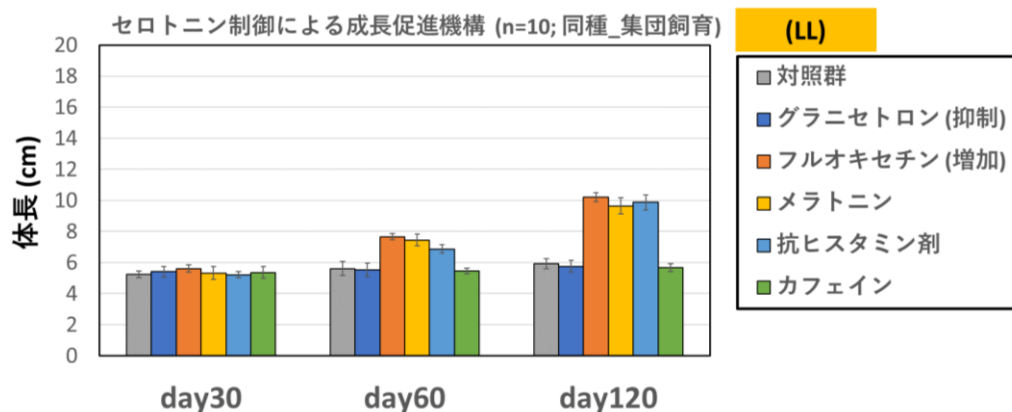
(B)



(C) LD12:12 条件下



(D)



補足図 5: セロトニン制御による疑似的な異種混泳効果の再現

参考文献 References

[1] 集団生活するアホロートルの示す攻撃性と関連因子

【最新版】メキシコサンショウウオにおける攻撃行動制御機に関する調査報告 (ver.3) __ウーパールーパー研究報告
杉山 遥

2023 年 8 月 29 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43232027

[2] アホロートルの異種混泳・集団飼育に関する報告

【改訂版】総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ~飼育の最新情報・学術データまとめ~
杉山 遥 ほか

2023 年 4 月 19 日. Doi. https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/41527304

[3] 密度効果と成長・奇形等に関する文献

[サイズ進化の法則を発見 | 理化学研究所 \(riken.jp\)](#)

[Optimal Scaling of Critical Size for Metamorphosis in the Genus Drosophila: iScience \(cell.com\)](#)

[密度効果 - Wikipedia](#)

[器官サイズの左右差を抑制する仕組み | 理化学研究所 \(riken.jp\)](#)

[個体群の成長\(成長曲線\)と密度効果 | バイオハック ch \(manabu-biology.com\)](#)

【研究成果】昆虫の個体数密度に依存して姿・行動を変える能力に関係する遺伝子の同定 | 広島大学 (hiroshima-u.ac.jp)

改良メダカ「背曲がり」個体から子個体への遺伝に関する研究① ~目的と背景~ | NPO 共同研究員「あすみ悠」Asumi 39 (note.com)

比較生理生化学_技術ノート>生物の体サイズとアロメトリー:エネルギー代謝量と体サイズ

八木 光晴 & 及川 信. (2008). Vol. 25, No.2. Doi. [04 技術ノート\(68-72\).pwd \(jst.go.jp\)](#)

飼育密度の違いが豚の発育性・産肉性および 脂肪組織 と筋肉の脂肪酸組成 に及ぼす影響

山田 未知 ほか. (2003). 6 月. 日豚会誌. 40 巻. 2 号.

Doi. [jstage.jst.go.jp/article/youton1987/40/2/40_2_65/_pdf/-char/ja](#)

モンシロチョウの幼虫密度が発育に及ぼす影響について

森本 尚武. (1960). 日本応用動物昆虫学会誌. 第 4 巻. 第 3 号.

Doi. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjaez1957/4/3/4_3_153/_pdf/-char/ja](#)

ニジマスにおける飼育密度と飼料効率の関係

石原 学 & 森 竜也. (2019). 水産研究部

Doi. [https://www.pref.tochigi.lg.jp/g65/documents/kennkyuuhoukoku02_04.pdf](#)

甲虫の性特異的な武器形質発現における幼若ホルモンの役割

後藤 寛貴. (2015). 比較内分泌学. Vol. 41. No. 154

Doi. [jstage.jst.go.jp/article/nl2008jsce/41/154/41_25/_pdf/-char/ja](#)

マナマコ種苗の成長におよぼす飼育密度の影響

畑中 宏之. (1994). 水産増殖. 44 巻. 2 号.

Doi. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/aquaculturesci1953/44/2/44_2_141/_pdf/-char/ja](#)

トノサマバッタの生態と防除. 大阪府立環境農林水産総合研究所研究報告_第2号.

田中 寛. (2015). 大阪府立環農水研報 2:1~8

Doi. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/knsk/2/0/2_1/_pdf/-char/ja](#)



[4] 側線器官による感知について

[サカナが持つ第六感『側線』のナゾ 振動の他に電気も感知できる？ | TSURINEWS](#)

[ゼブラフィッシュ側線器官のパターン形成メカニズム](#)

和田 浩則 (2020) 比較内分泌学. Vol. 46 No. 169. Doi. [JSCE-CE2020 46 16 \(jst.go.jp\)](#)

[KAKEN — 研究課題をさがす | 水流を受容する感覚器「感丘」の多様性とその進化 \(KAKENHI-PROJECT-19J13664\) \(nii.ac.jp\)](#)

[5] ミオスタチン

[ゲノム編集で肉厚に改良したマダイ、販売可能に...京大と近大が共同開発 : 読売新聞 \(yomiuri.co.jp\)](#)

[大注目！筋肉が作りだすミオスタチンなどのマイオカインの健康効果 | NHK 健康チャンネル](#)

[ミオスタチン | 筋肉の成長を妨げるそのメカニズムと対策 - Fitmo \(oliva.style\)](#)

[筋肉の成長を邪魔するミオスタチンの分泌をおさえよう - BodykeLIVE\(ボディークライブ\) \(bodyke-live.com\)](#)

[ミオスタチン/マイオスタチン\(Myostatin/GDF-8 :Growth Differentiation Factor-8\)測定キット: 酸化ストレス/アンチエイジング関連マーカー【日本老化制御研究所】\(jaica.com\)](#)

[馬の資料室\(日高育成牧場\): サラブレッドの骨格筋の運動特性とミオスタチン遺伝子型 \(jra.jp\)](#)

骨格筋肥大と萎縮におけるミオスタチンの役割

川田 茂雄 (2003). 東京大学博士論文. (報告番号: 甲 17773).

Doi. <http://gakui.dl.itc.u-tokyo.ac.jp/cgi-bin/gazo.cgi?no=117773>

Axolotl myostatin

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr9q%3A228294791%2D228336701&hgid=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

[bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr9q%3A228294791%2D228336701&hgid=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr9q%3A228294791%2D228336701&hgid=69715_5uEAztFlj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

[6] ステロイドホルモン関連

[ステロイド - 脳科学辞典 \(neuroinf.jp\)](#)

[ステロイドホルモン - Wikipedia](#) [ステロイドホルモン \(kusuri-jouhou.com\)](#)

[ステロイドホルモン\(すてろいどほるもん\)とは? 意味や使い方 - コトバンク \(kotobank.jp\)](#)

[ステロイドの筋肉増強効果とは? 副作用にも注意するべし! - Fitmo \(oliva.style\)](#)

[オキシメロン | 434-07-1 \(chemicalbook.com\)](#)

[5α-アンドロスタン-3α,17β-ジオール | Sigma-Aldrich \(sigmaaldrich.com\)](#)

糖質コルチコイド: [グルココルチコイド - 脳科学辞典 \(neuroinf.jp\)](#)

硬質コルチコイド: [糖質コルチコイド - Wikipedia](#)

昆虫ステロイドホルモン (エクジステロイド = エクダイソン)

- ・ カイコガ: https://www.jstage.jst.go.jp/article/konchubiotec/77/2/77_2_111/pdf-char/ja
- ・ ショウジョウバエ: [jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/54/7/54_508/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakutoseibutsu/54/7/54_508/pdf)

[7] 糖質コルチコイド受容体_Glucocorticoid Receptor; GR (NR3C1)・・・GRα

[糖質コルチコイド受容体 - Wikipedia](#) [jstage.jst.go.jp/article/jsir1981/20/6/20_6_657/pdf-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsir1981/20/6/20_6_657/pdf-char/ja)

Axolotl GR

[Gr \[nr\]|Nr3c1 \[hs\]|AMEX60DD201028813.1 at chr3q:136502768-137153131](#)

[Gr \[nr\]|Nr3c1 \[hs\]|AMEX60DD301028813.2 at chr3q:136549749-137153131](#)

[Gr \[nr\]|Nr3c1 \[hs\]|AMEX60DD201028813.3 at chr3q:136573697-137153131](#)

[Gr \[nr\]|Nr3c1 \[hs\]|AMEX60DD301028813.4 at chr3q:136574897-137153131](#)



[8] 鉱質コルチコイド受容体_Mineralocorticoid Receptor; MR (NR3C2)・・・MR α , MR β

[鉱質コルチコイド受容体拮抗薬 - Wikipedia](#)

[総説 吾郷ほか.indd \(jst.go.jp\)](#)

[jstage.jst.go.jp/article/jsir1981/20/6/20_6_657/pdf/-char/ja](#)

[Nr3c2|AMEX60DD201045020.2 at chr6q:710542063-711386990](#)

[Nr3c2|AMEX60DD201045020.5 at chr6q:712196781-712820340](#)

[Nr3c2|AMEX60DD201045020.1 at chr6q:710533268-711565991](#)

[Nr3c2|AMEX60DD102045020.3 at chr6q:710544665-712820340](#)

[Nr3c2|AMEX60DD201045020.4 at chr6q:712196677-712820340](#)

[9] クレアチン

[クレアチン-水和物 MSDS - 841470 - Merck \(merckmillipore.com\)](#)

[ミオスタチンの抑制にはクレアチンとHMBが効果的！？新事実みつかる！ \(xn--fdke1a6g.com\)](#)

[ハードな運動の際エネルギー源となるクレアチン | マイプロテイン \(myprotein.jp\)](#)

[10] 3-ヒドロキシ-3-メチル酪酸 (HMB)

[HMB | 栄養改善データベース | アボット \(nutritionmatters.jp\)](#)

[β-ヒドロキシイソ吉草酸 ≥95.0% \(T\) | Sigma-Aldrich \(sigmaaldrich.com\)](#)

[11] エピカテキン・フラバノール

[フラバン-3-オール - Wikipedia](#)

[エピカテキンとは？チョコレート以外に含む食品★サブリの副作用は？ | ナゼナニコミチ \(nazenani-komichi.net\)](#)

[Q3 「カカオポリフェノール」はどのようなものですか？ | チョコレート・ココア健康講座 | 日本チョコレート・ココア協会 \(chocolate-cocoa.com\)](#)

[ポリフェノールとフラボノイドとフラバノールの関係 - カカオとアサイーのウェルビヨンド\(Well Beyond\)ヘルシーチョコレートで健康ダイエット&アンチエイジング \(cacao-healthy-chocolate.com\)](#)

[10.【資料9:柴田\(重\)構成員】時間栄養について \(mhlw.go.jp\)](#)

＜魚類研究報告＞

改良メダカの背曲がり個体から産出される子個体への遺伝

～過密飼育による後天的環境要因に着目した検証と考察～

報告日: 2023/9/2～

著: あすみ 悠¹

監修: 杉山 遥 (Ph. D)¹

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

所属: ¹ウーパールーパー研究室_はるらぼ

since 2020～

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

研究者ポータルサイト Research map

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/?lang=ja



※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

改良メダカの背曲がり個体から産出される子個体への遺伝

～過密飼育による後天的環境要因に着目した検証と考察～

1 緒論

1.1 研究の目的

本研究の目的は、形態形成（奇形背曲がり）が後天的環境要因の変化に応じて、変化することを明らかにすることである。

1.2 研究の背景と問題提起

近年動物を飼育する家庭が増えている。一般社団法人ペットフード協会の令和 3 年全国犬猫飼育実態調査¹⁾では、新型コロナ前と比べ犬猫の新規飼育頭数は増加していると述べられている。この調査の中で、年代別ペット飼育状況では、家庭における飼育ペットとして犬・猫に次いで 3 番目にメダカが飼育されていること²⁾が明らかとされている。現在家庭において飼育されているメダカは品種改良された改良メダカがほとんどである。改良メダカの飼育過程においては体型やヒレの形の良し悪しを判別し、体型やヒレの形の悪い個体を取り除く選別という間引き（ハネる）が行なわれているケースがある。選別はメダカに限らずその他の観賞魚においても行われていることである。しかしその選別過程においてハネられた個体が不法投棄されるような問題も発生しており、日本固有の野生在来メダカの遺伝子汚染が懸念されている。インターネット上では様々な記事で選別方法の紹介がされており、選別の要素の 1 つとして体型が挙げられている。選別体型の 1 つとして背骨が曲がった個体（背曲がり）があるが、背曲がりの原因については近親交配が原因とされているが、具体的には明らかとされていない。

一方、荒木(1992)³⁾は、「メダカ目では多種類の形体的な突然変異が存在することや、同じ発生段階の初期胚が多く得られることから、形体形成の研究を行なっている発生学者が魚の形態形成に関与する遺伝子の研究を始めている。」と述べており、ドイツのマックスプランク研究所が「魚類には遺伝的要素だけではなく、後天的要因によっても性決定が左右される魚種が存在する」ことに言及している。このことから、遺伝形質として「背曲がり」という奇形の改良メダカの形態形成は後天的環境要因によって変化が起こる可能性があるとして仮説を立て、通常飼育環境と過密飼育環境で背曲がり状況の比較検証を行なうこととした。

2 マリンブルーメダカ背曲がり個体検証の概要

2.1 実験の材料と飼育方法

検証に用いた改良メダカの親は、マリンブルーという品種の改良メダカである。背曲がりの様子については図 1 の通りである。背曲がり個体は雌である。背曲がりについては、入手時の段階で、す



図 1 背曲がり個体の雌

※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

でに背曲がりの個体であったため、先天的なものなのか後天的なものなのかは不明である。

雄個体については背曲がりの個体を入手できなかったため、雄個体については背曲がりのない個体との交配を行なった。背曲がりのない個体と背曲がりのある個体のヘテロ接合である。

飼育環境は、屋外で太陽光が午前中のみあたる東側の壁沿いに飼育ケースは配置した。飼育ケースには、幅 25cm、奥行 37 cm、高さ 11.5 cm のプラケースを使用した。水量は約 7 L、低床は赤玉土、水草はアナカリスを使用した。飼育水は水道水を数日太陽光にあてたものを使用した。交配の方法については、雄親個体 6 匹、雌親個体(背曲がり含む)10 匹の計 16 匹を混泳させて、自然交配で行なった。雌雄の判別は卵がついているか否かと、NHK for school⁴「メダカのオス・メスの見分け方」を参考に行なった。

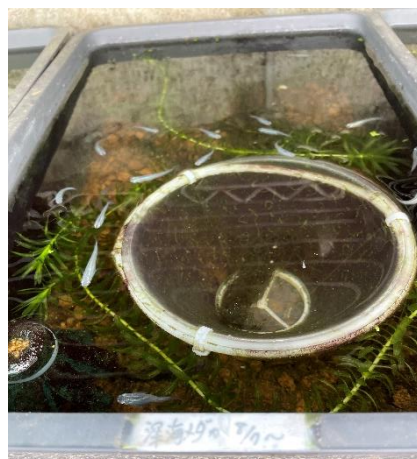


図2 マリンブルー親の飼育環境



図3 マリンブルー 雄個体



図4 マリンブルー 雌個体

2.2 採卵の時期と方法

(1) 過密飼育環境

採取した卵については、直径 9.5cm、高さ 6.6cm、ポリスチレン製のカップにメチレンブルーを 1 滴入れた飼育水を使用し、有精卵無精卵の判別を行なった。採卵の時期は 5 月 28 日から 6 月 18 日までの計 104 個を背曲がり個体から直接採取した。孵化後は、

ポリプロピレン容器(図 6)、水量 2.1L。幅 24.8cm×奥行 12.8cm×高さ 8cm の飼育ケースで成長させた。飛び出しを防止するために水深は 6 cm 程度を保ち、水量は約 1.5L ほどである。孵化に成功し、体長 4 mm～1 cm 程度まで成長することができたのは 104 個の卵のうち 32 匹である。エサは 7 時～9 時の間にタマジシコ(生餌)を与え、16 時から 19 時頃は「テトラ・キリミン・ベビー メダカ稚魚用」を与えた。1 L あたりの約 4～5 匹の飼育環境で背曲がりの発生状況を確認する。



図5 採卵した卵の飼育ケース

※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

過密飼育環境では、通常飼育環境と比べ、1L あたり約 14 匹で飼育する。元祖改良メダカ専門店「めだかの館」⁵によると、メダカ水槽の水量は、1 匹に対し 1L が目安とされている。改良メダカ専門店の見解と比較すると過密具合は約 15 倍で飼育、観察を行なった。



図 6 通常飼育と過密飼育容器の比較

2.3 稚魚の背曲がり状況

2022 年 7 月 16 日に過密飼育子個体(以下、過密ヘテロマリンブルーF1 個体)の背曲がり状況を確認した(図 7)。採卵から約 1~2 か月では、図 1 の親個体のように、明らかに背曲がりの状態のある個体を確認することはできなかった。



図 7 2022 年 7 月 16 日段階の飼育環境

次に、2023 年 8 月 31 日に過密飼育を開始から 1 年 2 か月経過した個体の背曲がり状態を確認した。越冬に成功し、体長約 2.5 cm を越えた個体は 5 匹であった。この 5 匹の背曲がりを確認したが、図 1 の親個体のように、明らかに背曲がりの状態のある個体は確認されなかった(図 8)。

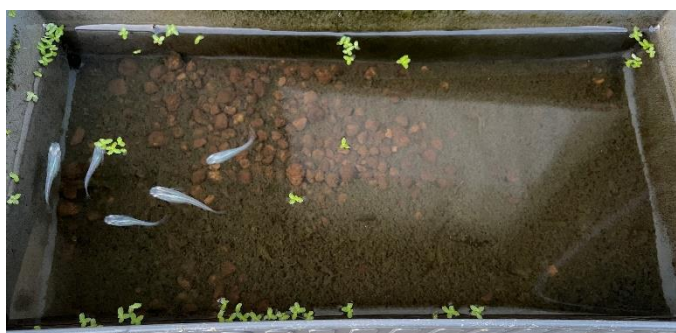


図 8 2023 年 8 月 31 日段階の様子

2.4 考察

今回 1.5L の過密飼育と越冬という過酷な環境で、体長 2.5 cm まで成長できた個体は 5 匹のみであった。この 5 匹から背曲がり確認できなかったことから、背曲がりの後天的要因は単純な水量による過密ではないと考えられる。

3 背曲がりのある白ヒレ長メダカと背曲がりのあるマリンブルーの交配

3.1 白ヒレ長メダカの背曲がり親個体

2022 年 7 月、前項までに調査したマリンブルー背曲がり個体とは別に飼育を行なっている白ヒレ長メダカの中に、背曲がり個体を発見した。尾ヒレの付け根あたりから背骨の曲が

※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

りを確認することができた(図9)。この個体を飼育している水槽内にいる他の白ヒレ長メダカには背曲がりとは確認されなかった(図10)。



図9 白ヒレ長メダカの背曲がりの様子



図10 白ヒレ長メダカの親個体

3.2 背曲がりマリンプルーと背曲がり白ヒレ長メダカの交配

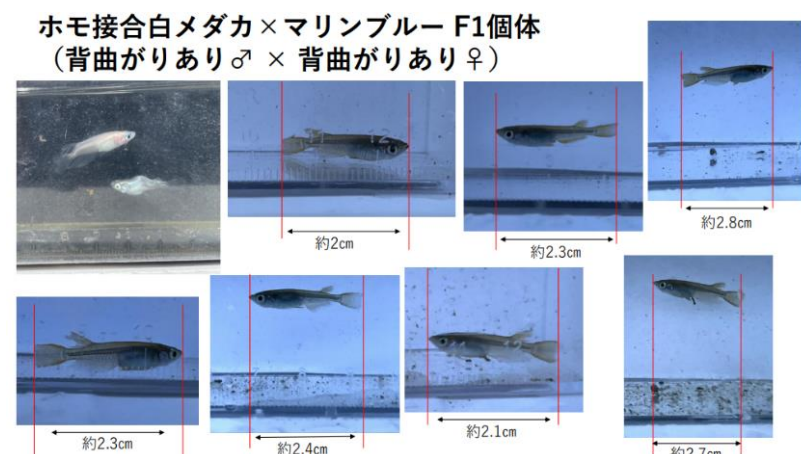
背曲がりのある白ヒレ長メダカは雄個体、背曲がりのあるマリンプルーは雌個体であったため、交配させ、その稚魚の背曲がり状況を観察することとした(以下ホモ接合個体F1)。

2022年6月24日～7月3日まで計107個を背曲がり個体から直接採取した。孵化後は幅24.8cm、横12.8cm、高さ8cmのプラケースを使用した。水量は約1.5Lである。低床は赤玉土、水草はアナカリスを使用した。7月16日段階で孵化に成功し、体長4mm～1cm程度まで成長することができたのは、107個のうち21匹であった。エサは前述の過密飼育環境と同様である。



3.3 稚魚の背曲がり状況

2023年8月31日に過密飼育子ホモ接合個体F1の背曲がり状況を確認した。過密飼育を開始から約1年1か月経過している。越冬に成功し、体長約2cmを越えた個体は7匹であった。白メダカとマリンプルーの掛け合わせにて産まれたホモ接合個体F1個体の体色は黒メダカのような色であった。この7匹の背曲がり状況を確認したが、背曲がり個体は確認されなかった。



※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

4 背曲がりのある白ヒレ長メダカと背曲がりのある白ヒレ長メダカ

4.1 白ヒレ長メダカの採卵及び針子及び稚魚の飼育環境

白ヒレ長メダカの採卵は、水槽内に産卵床を浮かべ、そこから採卵を行なっている。採卵した卵については、前項マリンブルーメダカ同様のポリスチレン製のカップで有精卵無精卵の選別を行ない、孵化後に下記画像（図 12）の容器へと移動させている。



図 12 白ヒレ長メダカの針子及び稚魚の飼育容器

飼育容器のサイズは、幅 15.5 cm、奥行 14cm、高さ 12.6cm となっている。飼育環境については前項のマリンブルー同様、低床に赤玉土、水草はアナカリスを使用している。水量は約 1L である。採卵個数については計測していないが、前項のマリンブルーと同時期に採卵を行ない同数程度確保している。

4.2 ヘテロ白メダカ稚魚の背曲がり状況

図 12 環境下において、子個体(以下、白ヒレ長 F1 個体) 1 匹背曲がり個体の発生を確認することができた。親個体は背曲がりありの雄と背曲がりなしの雌の交配であるヘテロ接合である。背曲がりの状態は右の図 13 の通りである。背骨の途中から尾ひれの付け根にかけて背曲がりを確認することができた。過密マリンブルーF1 個体の飼育環境と同じ水草や低床だが、白ヒレ長メダカ F1 個体に関しては、水量 1 L とさらに少ない水量で飼育している。また、同飼育容器にて、ダルマ体型の子個体の発生も 1 匹確認された。発生したダルマ体型の様子については、右の図 14 の通りである。同時期に産まれた別個体と比較してわかる通り、胴回りから尾ひれにかけて極端に短くなっている。



図 13 白ヒレ長メダカ F1 個体背曲がりの様子



図 14 白メダカのダルマ体型

※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。

5 結果と考察

今回マリンスプルーメダカの交配は、背曲がりのある親個体と背曲がりのない親個体の交配であることから、ヘテロ接合である。背曲がりは劣性遺伝のため、背曲がりが必ずしも子個体に発生するとは限らない。1.5L の過密環境で飼育しているマリンスプルーF1 個体は、約 104 個直接採卵、2022 年 7 月 16 日で孵化成長 32 匹確認したが、1 匹も背曲がりを確認することができなかった。また 2023 年 8 月 31 日においても 1 匹も背曲がりを確認することができなかった。同様の環境で飼育したホモ接合個体 F1 においても同様に背曲がり個体は確認されなかった。

しかし、白ヒレ長メダカのヘテロ F1 個体では、1 匹の背曲がりが確認され、ダルマ体型の個体も 1 匹確認された。このことから、ヘテロ接合のマリンスプルーメダカの飼育環境とヘテロ接合の白ヒレ長メダカの飼育環境を比較し、飼育容器の形に着目した。背曲がりが確認された容器と背曲がりが確認されなかった容器には、表面積に違いがあった。ヘテロマリンスプルーF1 個体、ホモ接合個体 F1 の飼育環境水面の表面積は 317.44 cm²であり、水深 6 cm と浅いが、表面積は一定の長方形である。それに対し、白ヒレ長メダカ F1 個体の飼育環境は水面の表面積が 232.5 cm²である。深さが 12.6 cm あるが、底にいくにつれて、表面積は狭くなっており、底面の表面積は約 11cm×約 10.5 cm の約 115.5 cm²となっている。

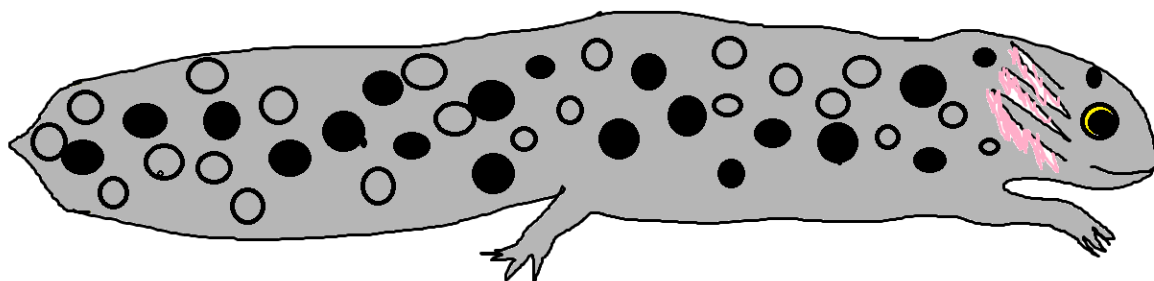
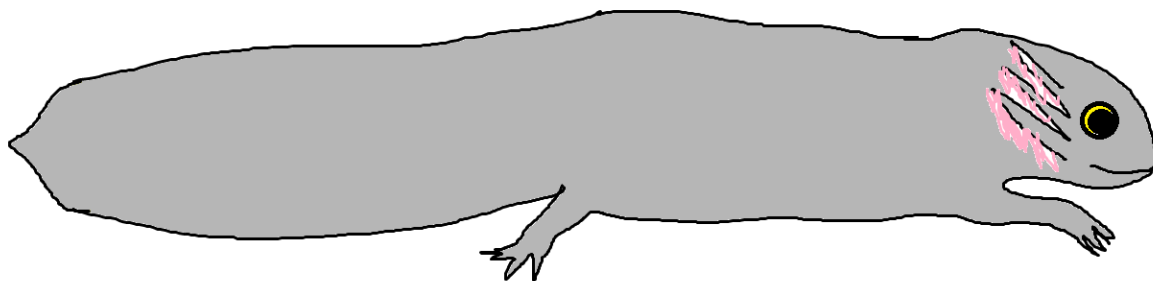
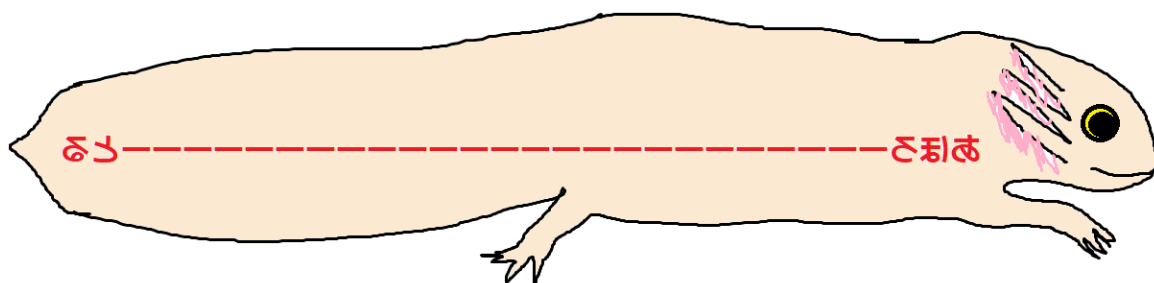
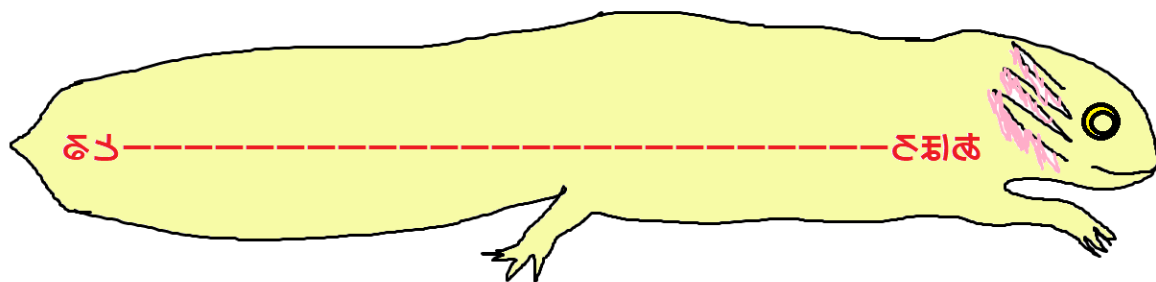
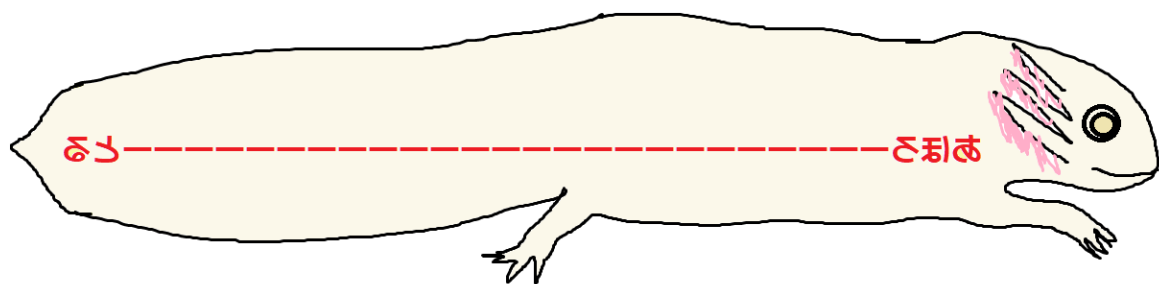
このことより、過密環境とは水量による過密より、表面積による過密さが、メダカの背曲がりを誘発する要因ではないかと考える。今後は、本調査で得られた知見を元に、表面積に着目した飼育環境における、背曲がり発生率について調査することが必要であると考え。

参考文献

- 1)一般社団法人ペットフード協会(2021):2021 年全国犬猫飼育実態調査結果報告書, p.20,2021
<https://petfood.or.jp/data/chart2021/3.pdf> (2022 年 5 月 30 日最終アクセス)
- 2)一般社団法人ペットフード協会(2021):2021 年全国犬猫飼育実態調査結果報告書, p.37,2021
<https://petfood.or.jp/data/chart2021/3.pdf> (2022 年 5 月 30 日最終アクセス)
- 3) 農林水産技術研究ジャーナル(1992):魚類における分子生物学研究の現状
<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2010441715.pdf>
- 4)NHK for school:メダカのおすとめすの見分け方
https://www2.nhk.or.jp/school/movie/clip.cgi?das_id=D0005300321_00000
- 5)新種・改良メダカ専門店めだかの館:これさえ押さえれば大丈夫!改良メダカの飼育方法
<https://www.medakanoyakata.jp/?mode=f6>

※ CC-BY-NC-ND; 本文の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。





奥付

総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ②
2023 年 当ラボメンバーの初学会参加記念 SP

発行日・・・ 2023/11/18

編集・著者 杉山 遥 (PN; Ph.D) ほか

発行元 ウーパールーパー研究室_はるらぼ, HAL_Lab_Axolotl

問い合わせ先 sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com または Twitter の DM へ

Twitter URL : https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)



良く学び、良く知ろう。

by 杉山 遥



@kanarin0922

ウーパールーパー研究室・はるらぼ

sugiyama.haruka.axoltl@gmail.com

since 2020～ (@lab_new2)

Twitter(X): https://twitter.com/lab_new2



※注意

本誌の許可なき改変・商業利用は、
我々は一切認めておりません。

