

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
～飼育の最新情報・学術データまとめ～



編: 杉山 遥

※ 許可なく産業・商業への二次利用をすることを固く禁じます。

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 (2023/5/5 更新)

- ・ メキシコサラマンダーにおける腸内細菌と成長制御 (FBS 博士勉強会・研究発表資料)
杉山 遥 2023 年 3 月 25 ~ 26 日 (FBS 博士研究会) 筆頭著者, 最終著者, 責任著者
- ・ 過去論文の修正案内
杉山 遥 2023 年 3 月 12 日 ~ 4 月 19 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 2023 年 10 月 2 日 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 9 月 1 日, 10 月 31 日, 2023 年 3 月 26 日 改定 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, 2023 年 5 月 5 日 改定 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, 2023 年 4 月 5 日 筆頭著者, 最終著者, 責任著者



<FBS_博士勉強会 (オンライン発表)>

発表スライド: メキシコサラマンダーにおける腸内細菌と成長制御 (23/3/26 改定)

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

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

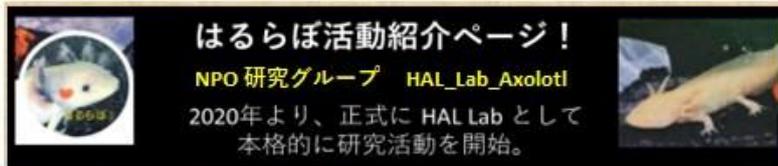
杉山 遥 (Ph D)*

*ウーパールーパー研究室はるらぼ __HAL_Lab_Axolotl



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、
可愛いですよね☆



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**

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)



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**



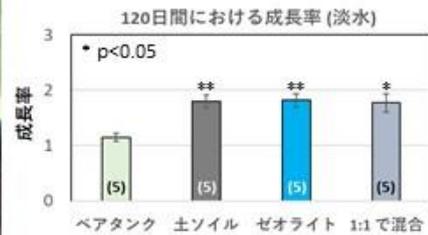
生育・成長に適した飼育(生育)環境の調査



(A) ベアタンク
(=底砂なし)



(B) ソイル(土,砂)を加えて
自然界に近づけた環境



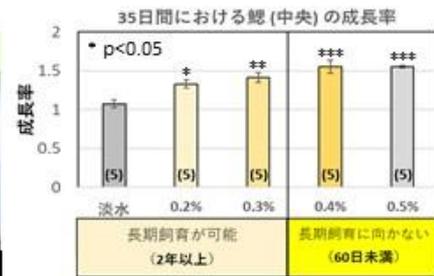
(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



(D) 汽水浴開始時の鯰



(D') 汽水浴(0.2~0.5%)で
約1ヶ月飼育後の鯰



(E) 汽水環境下での鯰の成長率
(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

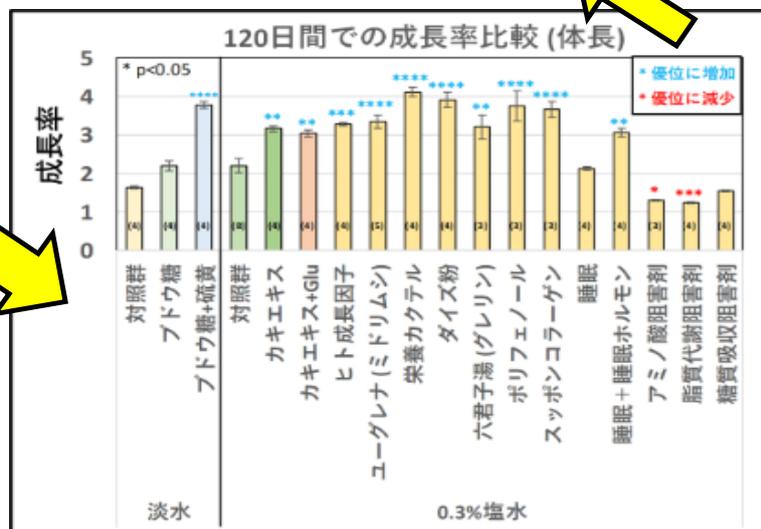
タンパク質(アミノ酸),
脂質(脂肪), 糖質等に注目

ビタミンB, D群,
グリシン, アルギニン,
鉄分, 亜鉛など

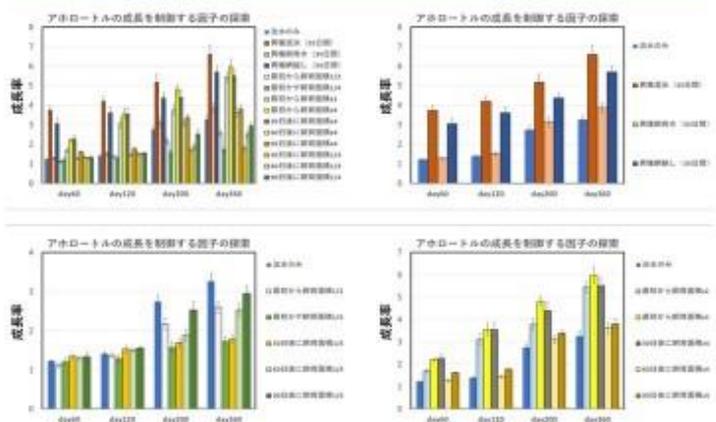
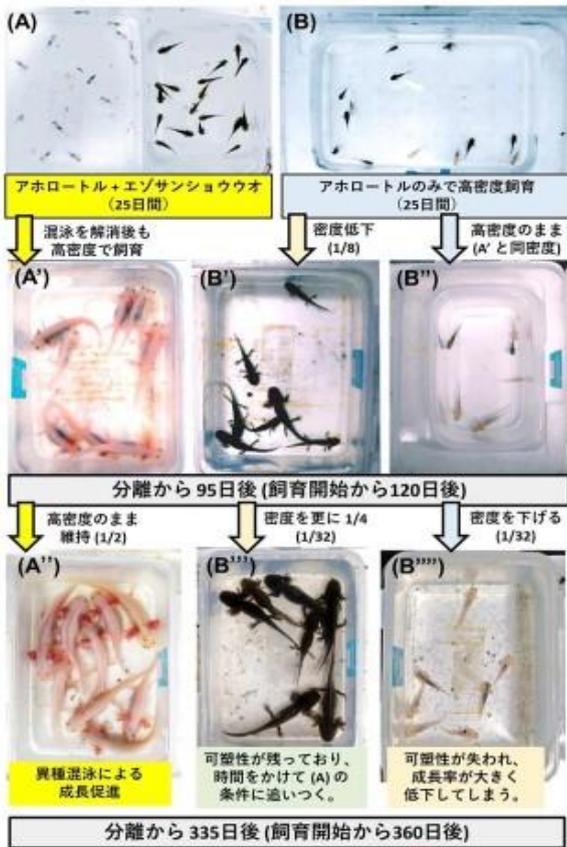


カキ粉末

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



参考: 異種混泳・生育密度はアポロートルの成長・生育に影響を及ぼす



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

異種混泳・飼育密度 最新報告

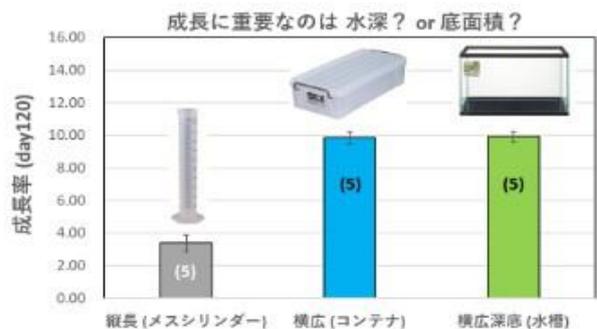
飼育開始から630日目; 約21ヶ月
(分離から605日目)

ウーパールーパー 単独飼育

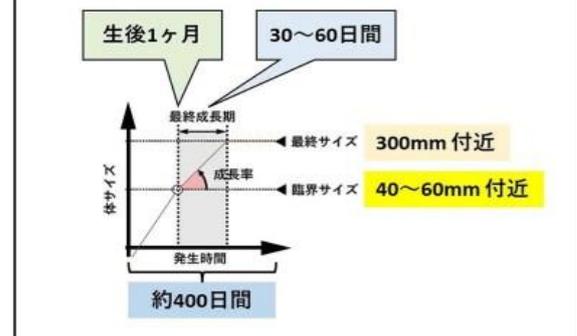
エゾサンショウウオと混泳した個体



生育には底面積の広さが重要



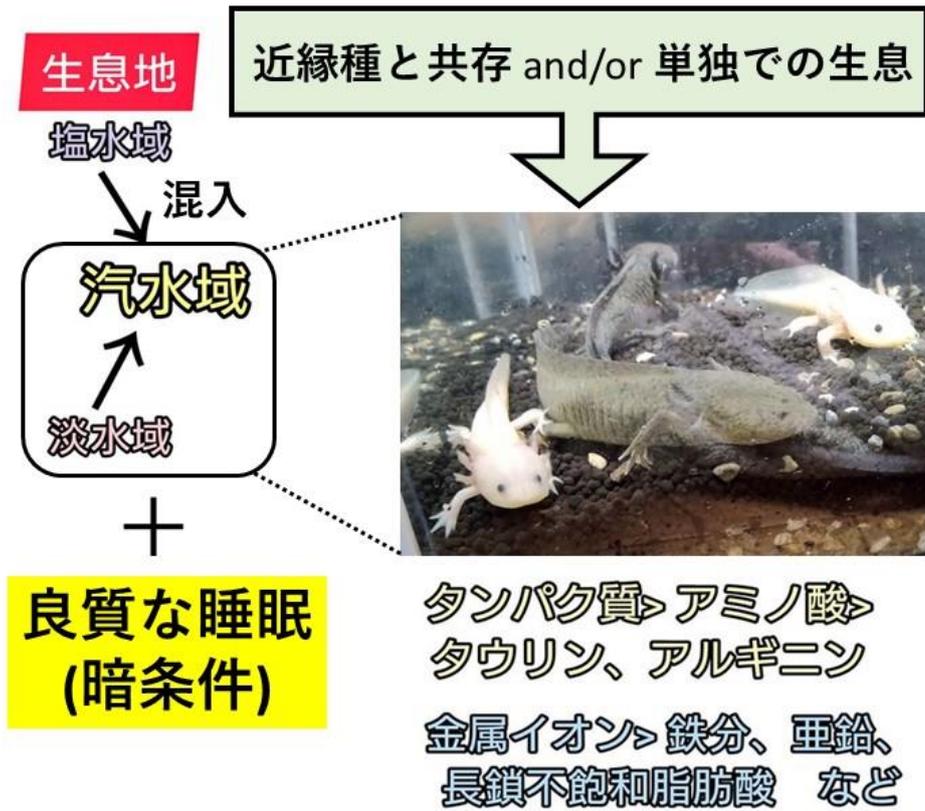
アポロートル (ウーパールーパー) の場合



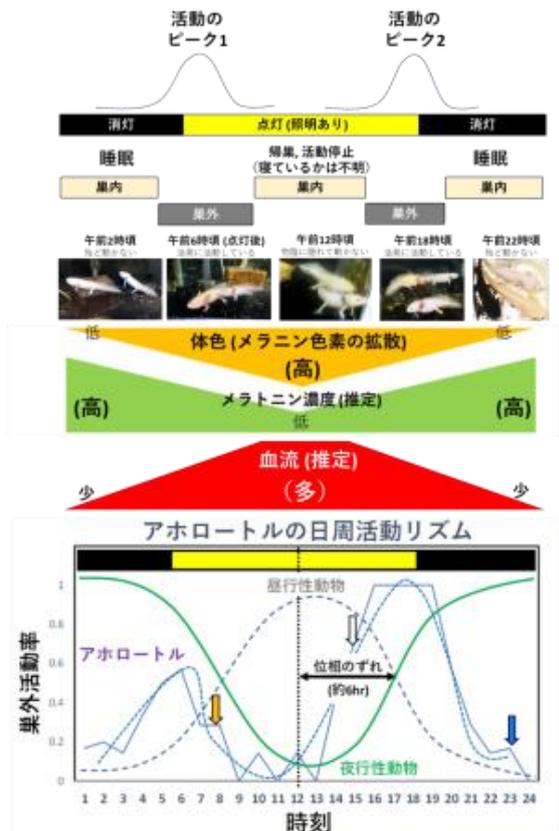
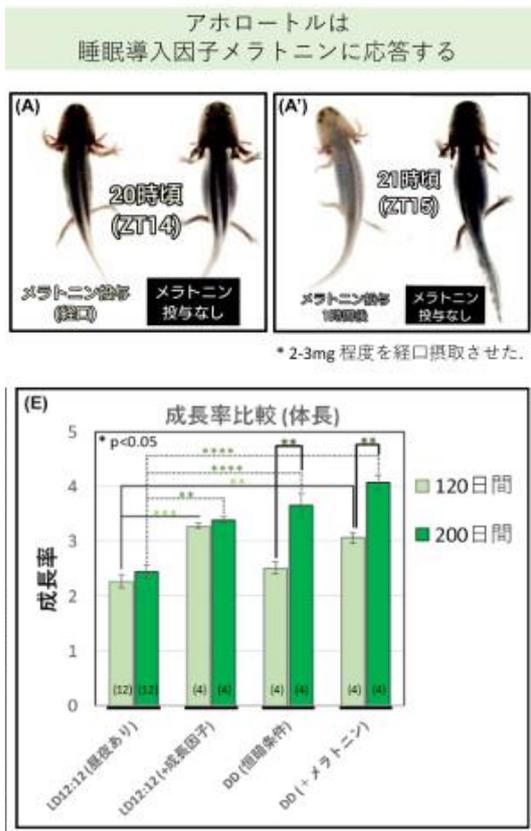
参考: ウーパールーパーの生育密度依存的な成長制御に関する可塑性モデル図



これまでの知見のまとめ



前回の発表: ウーパールーパーの睡眠



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_Axolotl



**“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。**

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)



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。



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/>

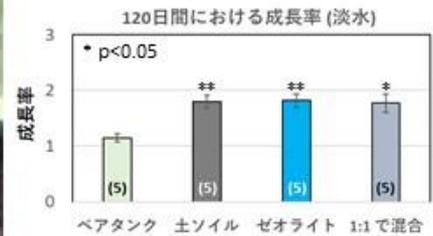
生育・成長に適した飼育(生育)環境の調査



(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



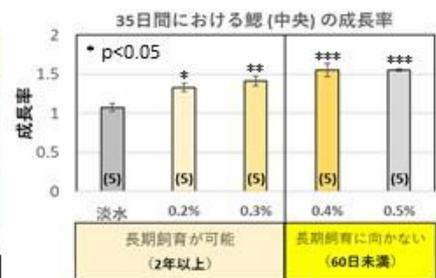
(C) ソイル有/無間の成長率比較
(水質は中性: pH 6.5-7.0)



(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!

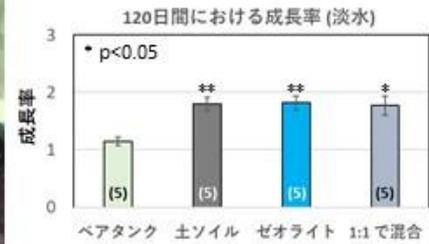
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ベアタンク
(= 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)

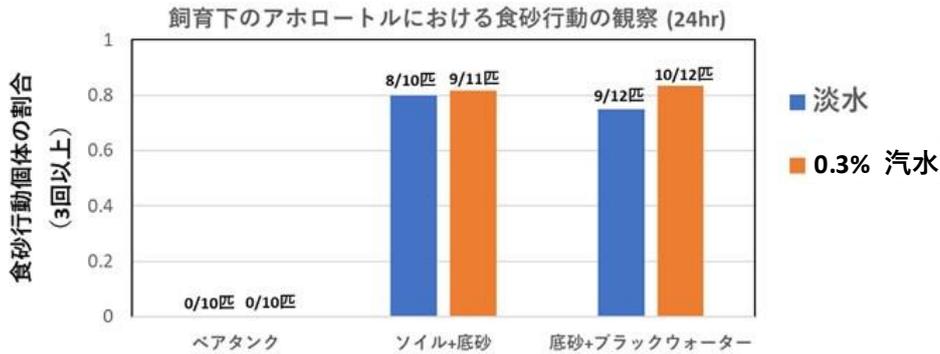


図3: 底砂と触れているアホロートルは食砂行動を示す
ソイルと触れている個体は複数回の食砂行動を示したことから、
底砂を摂取することは生育を促進している可能性が示唆された。

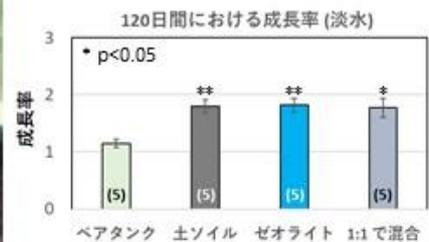
生育・成長に適した飼育 (生育) 環境の調査



(A) ベアタンク
(= 底砂なし)

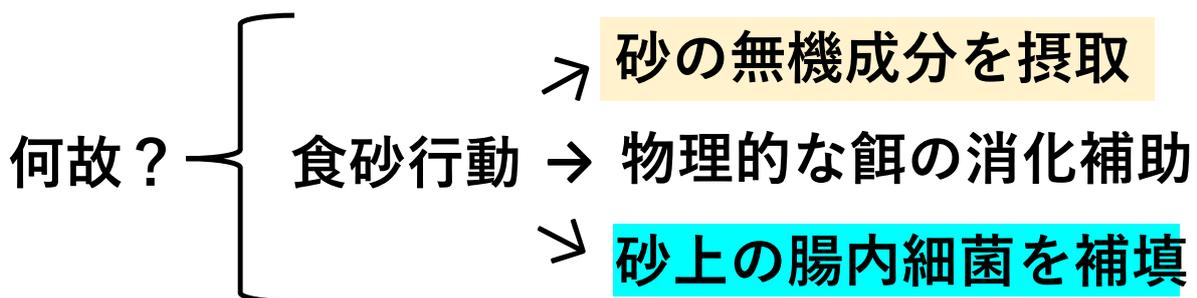


(B) ソイル (土, 砂) を加えて
自然界に近づけた環境



(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

Contents

The Axolotl Newsletter is prepared at the Indiana University Axolotl Colony, Bloomington, Indiana 47403. 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. Borford
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

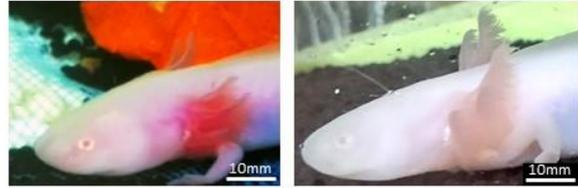
which they called the Laguna de Mexico. In addition, a causeway or dike crossing from north to south through Tlaloux separated Xochimilco from Chalco (Sander, et al., 1978). During the Aztec period nearly the entire Xochimilco-Chalco basin was devoted to chinampas horticulture, as was the Laguna de Mexico around Tenochtitlan. Also, as a result of the Aztec waterworks, salt water was largely prevented from entering the southern lakes, even during periods of flood (Sander, 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

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	$K_{1-2}Al_2Si_4Al_2Fe_{0.5}Mg_{0.5}O_8(OH)_2$	1.0~1.5
モンモリロナイト	$K_{0.5}Al_2Si_4Al_2Fe_{0.5}Mg_{0.5}O_8(OH)_2$	0.7~1.2
緑泥石	$Fe_2Mg_2(OH)_2Si_4Al_2O_8(OH)_2$	0.1~0.4
アタルジヤイト	$Mg_2Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot 2H_2O$	0.2
ハロイサイト	$Si_4Al_2O_{10}(OH)_2 \cdot 2H_2O$	0.05~0.5
カオリナイト	$Si_2Al_2O_5(OH)_4$	0.03~0.15



(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

本館の硬度 (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「非常に硬水」

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、現在で詳細は不明確ではあるものの、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。

ちなみに左巻は、メキシコ市内の水通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度であるとされ、その多量材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

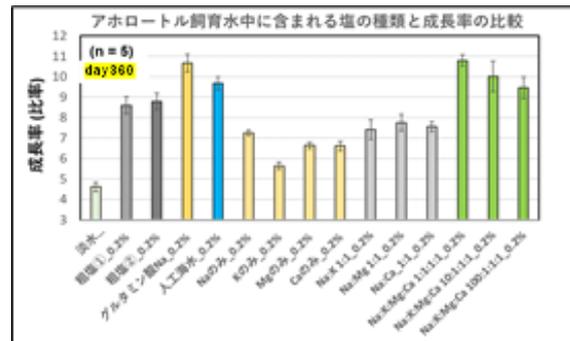


図1: 野生のアホロートルの生育には汽水・硬水の環境が好ましい

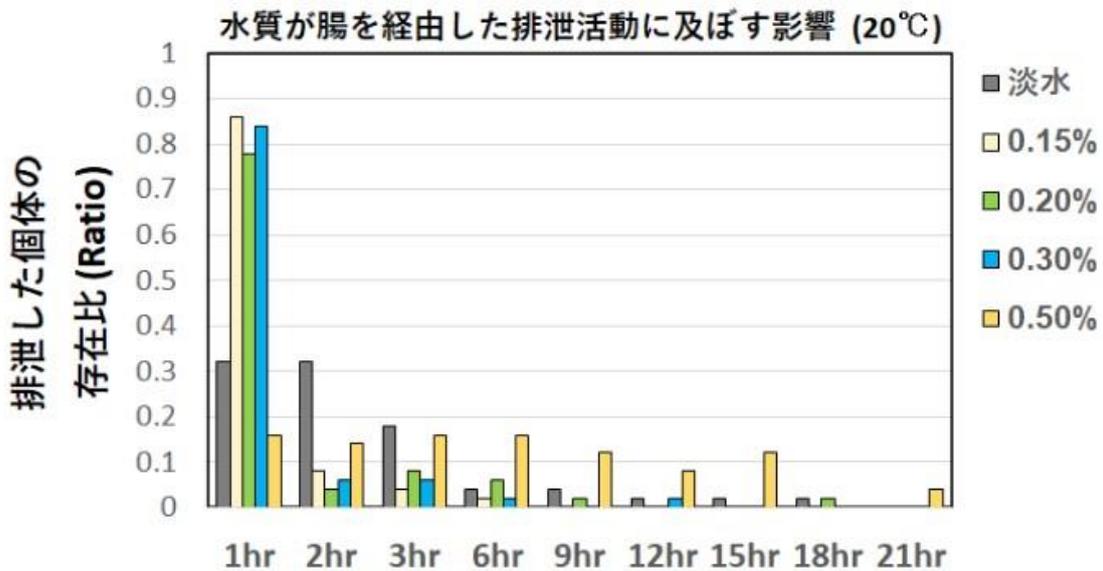
図2: 塩類を添加することでアホロートルの成長は促進される

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、厳密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。

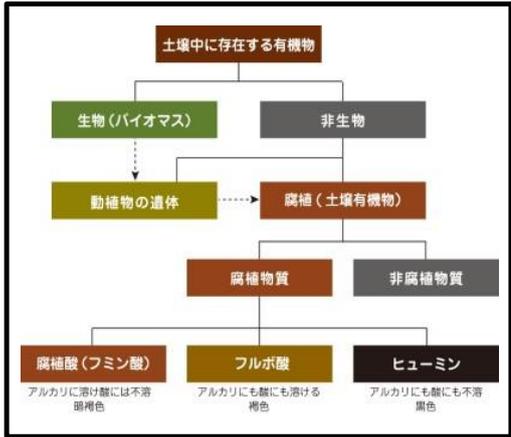
【フルボ酸とフミン酸の違い】

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

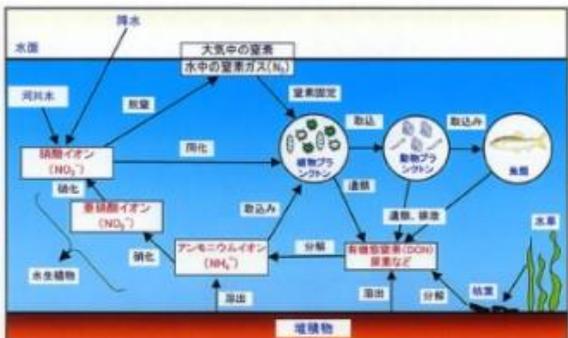


図 湖沼における窒素循環の模式図



飼育水槽や腸内にも細菌が生息している
= 腸内細菌

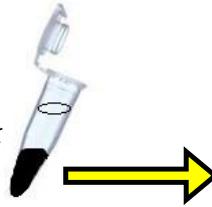
性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila, A. sobria</i>	エロモナス類	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス類	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス類	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター類	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ類	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌	腸内細菌
グラム陽性細菌	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌	腸内細菌
	<i>B. subtilis</i>	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>	テトラスポラ属	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. proliferata</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.

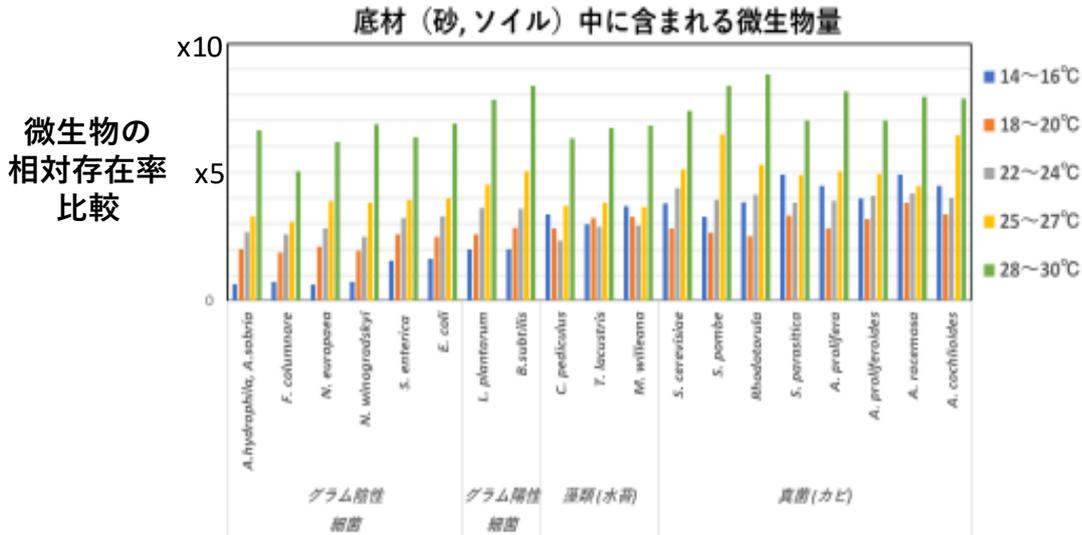
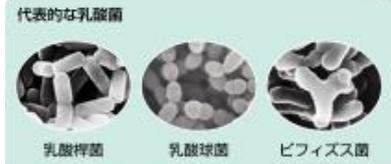
飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している
= 腸内細菌



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



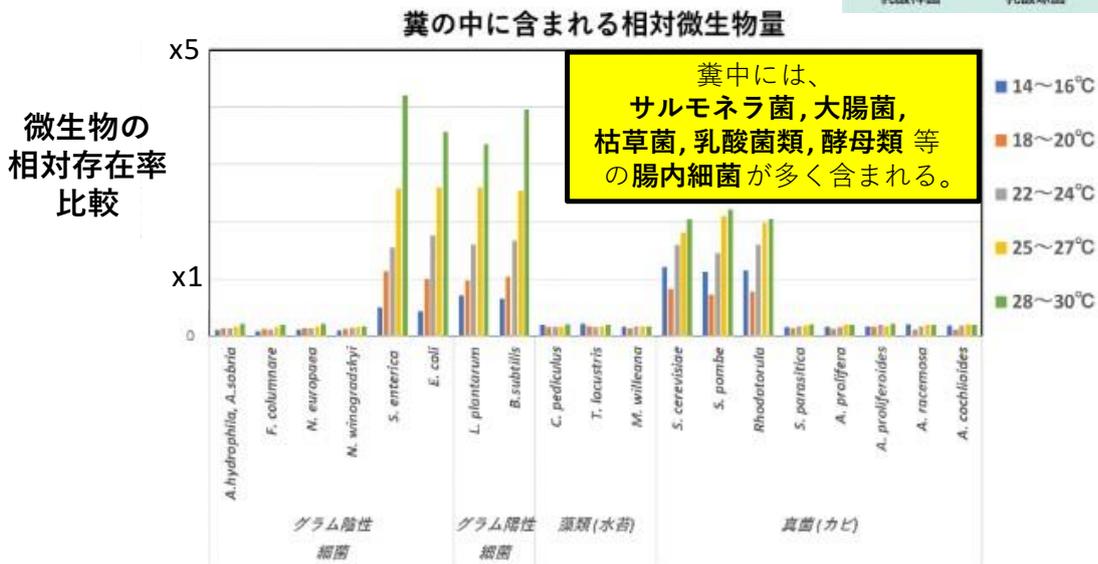
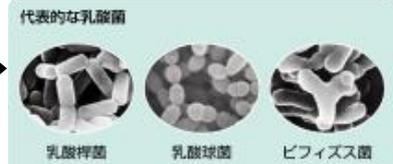
飼育水槽や腸内にもバクテリアが生息している
= 腸内細菌



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



腸内細菌を抗生剤等で殺菌すると生育率が低下する

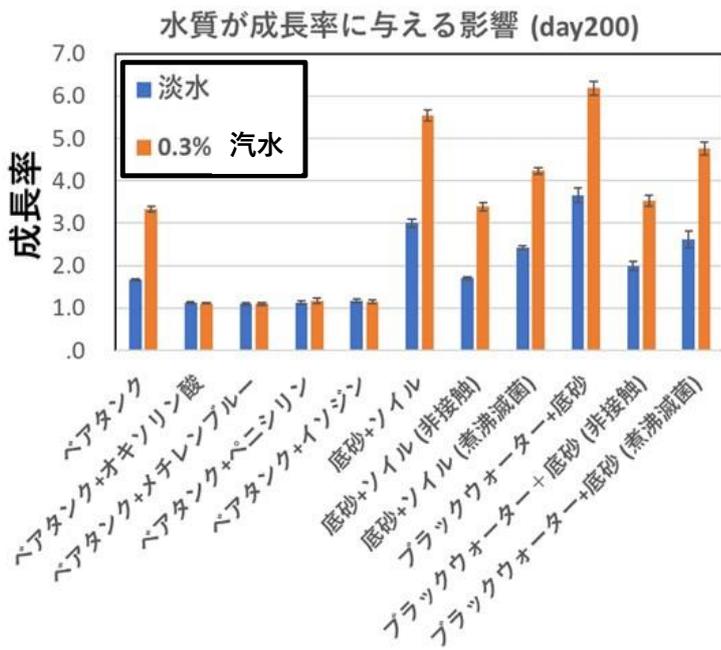


図2: 飼育水槽の水質が成長率に与える影響
飼育水槽にバクテリアが不在であると成長が著しく阻害される。同様に、底砂と直接接していないと成長率が低下する。



グリーンゴールド・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

PVPI (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)

0.3% ミネ水飼育 (対照群)

比較 0日目 → 120日目 → 200日目 → 360日目

0.3% ミネ水+メチレンブルー+同薬入り餌

0.3% ミネ水+バクテリア入り泥*

*餌に糞や底砂の泥を回収して混ぜた物を与えた個体

0.3% ミネ水+オキシリン酸+同薬入り餌

0.3% ミネ水+腸内細菌強化**

**餌に生きた乳酸菌+ビフィズ菌を混ぜた物を与えた個体

0.3% ミネ水+ペニシリン+同薬入り餌

0.3% ミネ水+イソジン+同薬入り餌

0.3% ミネ水+グレリン (六君子湯)

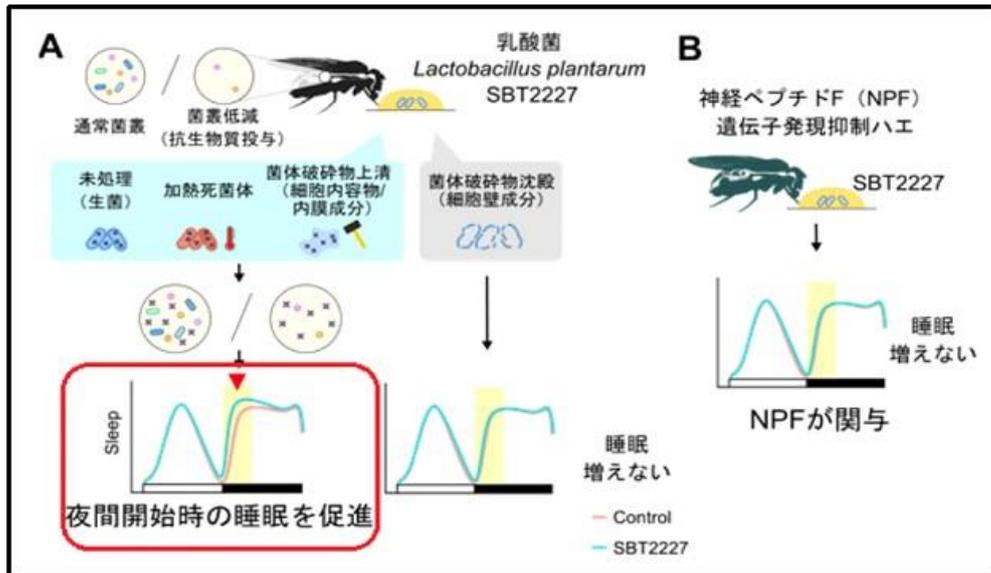
グレリン: 特に200日付近までの成長が顕著に促進されている印象。長期化すると、やや効果の程度に個体差が見られた。

・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 → グラム陰性の球菌 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

各スケールバー: 50mm

ショウジョウバエにおける神経ペプチド NPF 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。

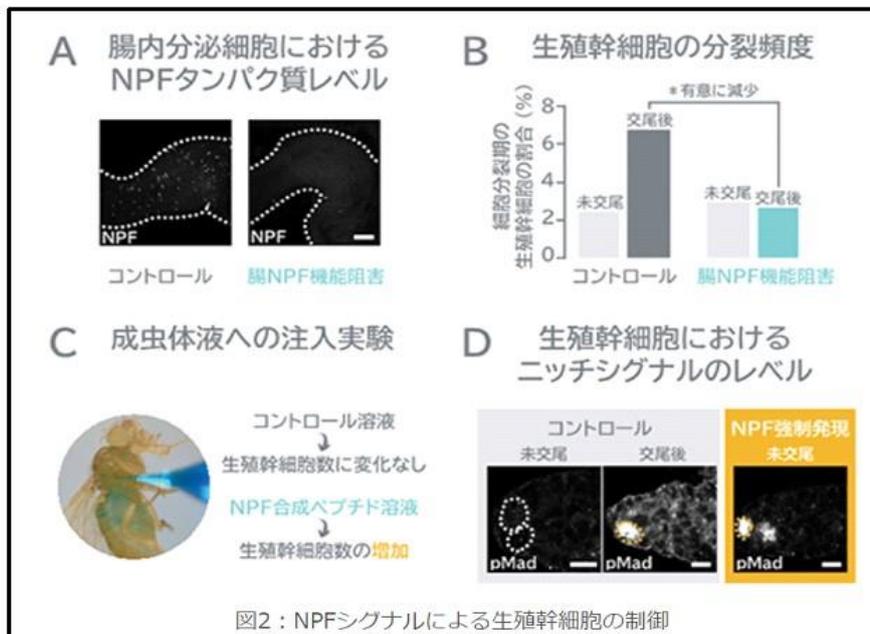


(Taro Ko et al., *iScience*, 2022)

<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 NPF 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。

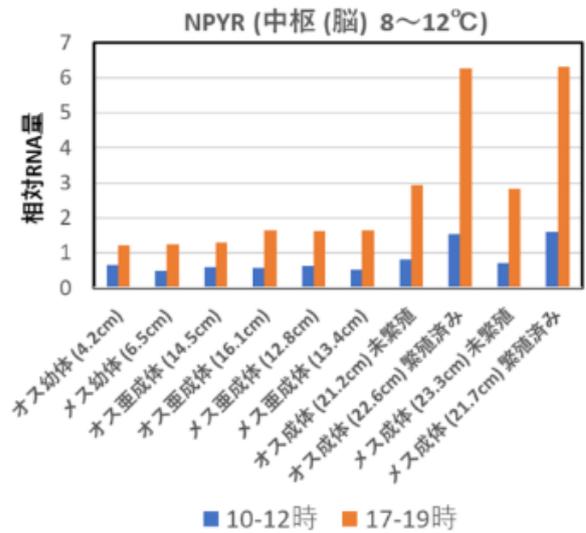
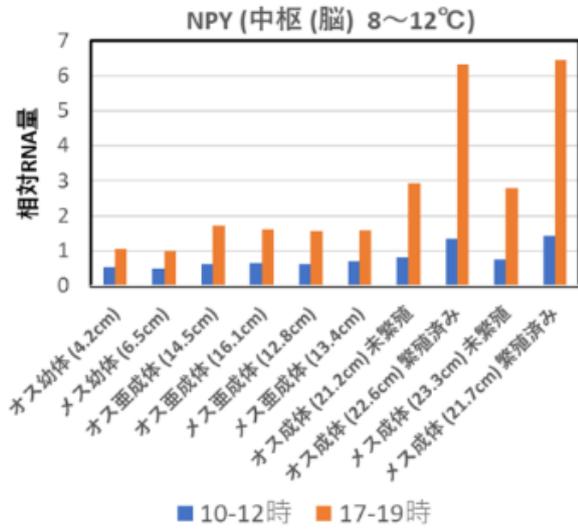
予想される産卵促進の作用機序

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？

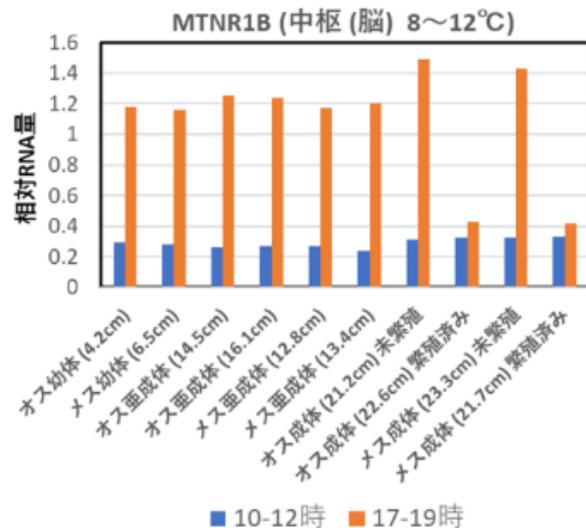
メキシコサラマンダーにおける神経ペプチド NPY と睡眠 および 腸内乳酸菌の関係性



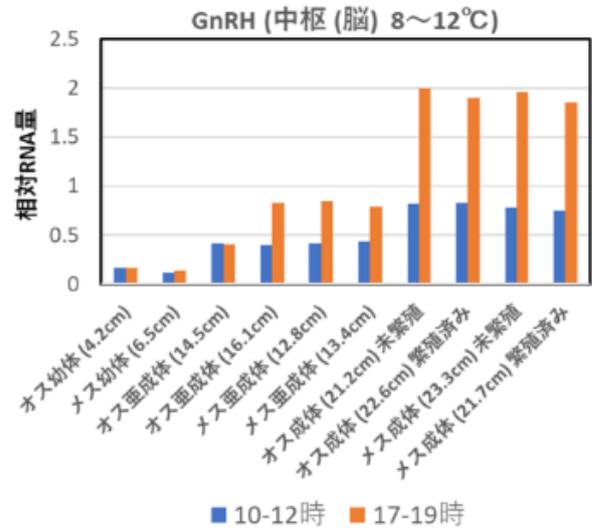
産卵誘導時 (低温) の中枢におけるNPY および 関連因子mRNAの相対発現量の比較

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



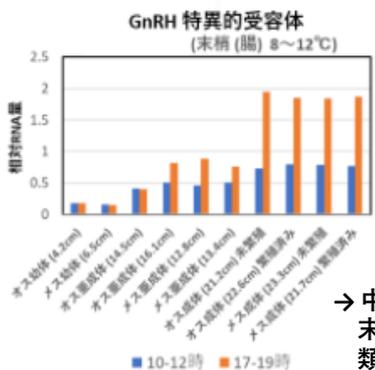
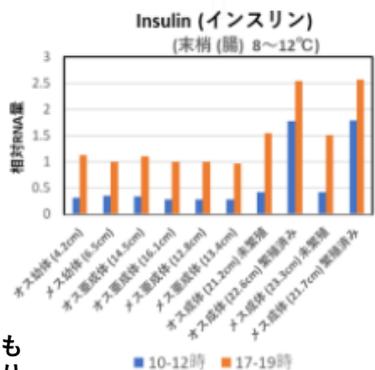
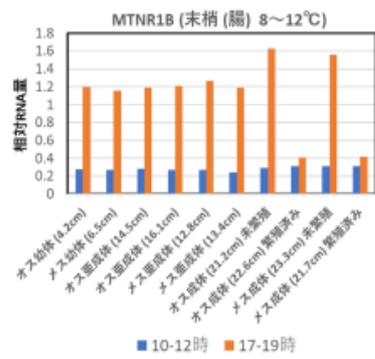
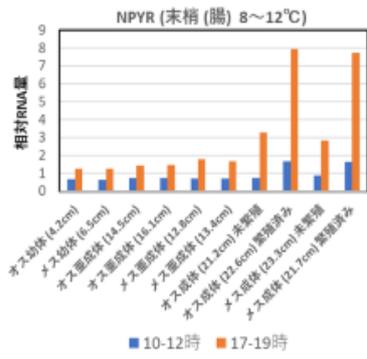
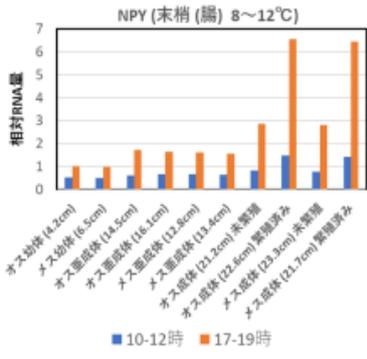
生腺刺激ホルモン放出ホルモン



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。

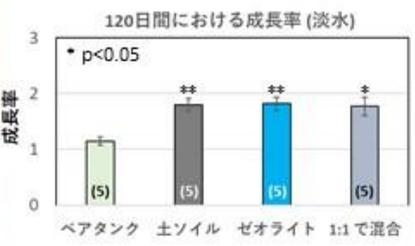
底砂追加による成長促進効果の正体



(A) ベアタンク (=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 6.5-7.0)

底砂あり・・・成長促進

相乗効果!

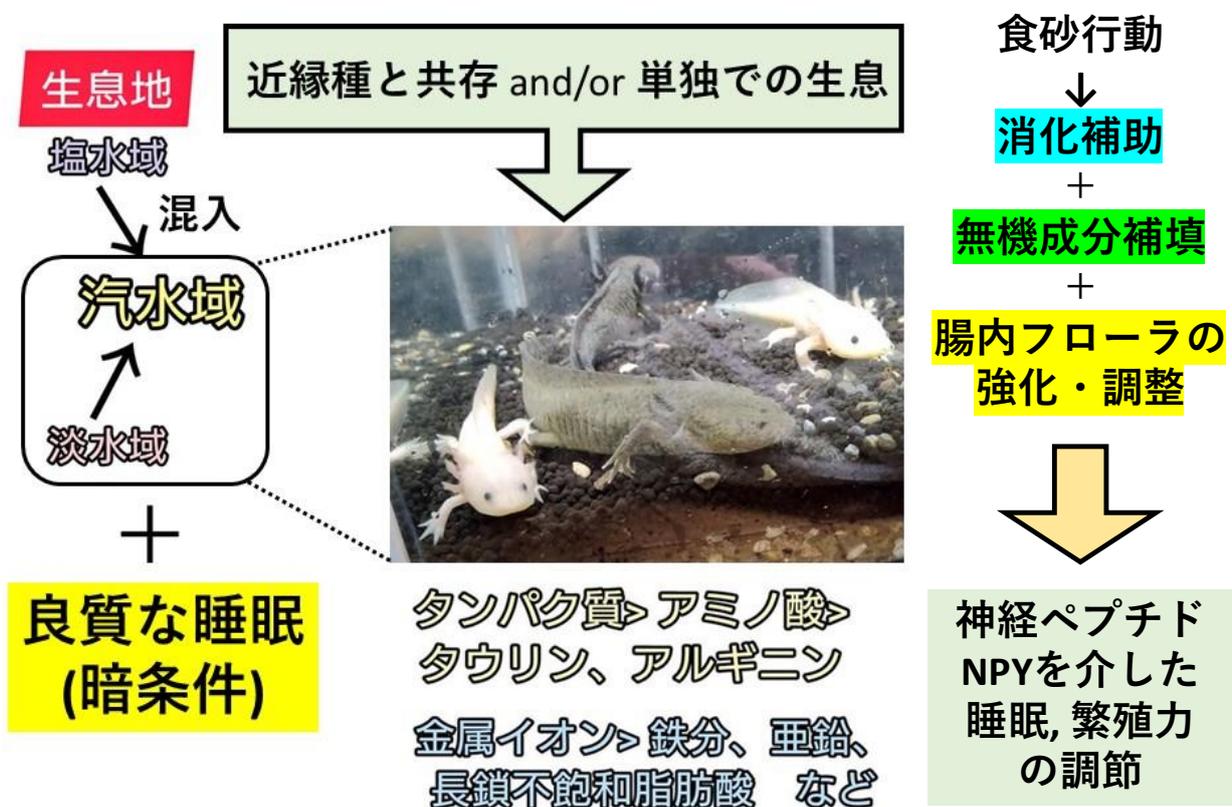
- 何故? { 食砂行動 → 砂の無機成分を摂取
 → 物理的な餌の消化補助
 → 砂上の腸内細菌を補填



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



閑話休題：一息、つきましょ？



<23/3/10～23/4/19 お詫びと訂正, 情報の更新報告>

以下の点について、差し替え・加筆修正・最適化 致しました。

平素より当ラボ関連文献をご愛読の皆様、筆者の不手際による 不正確な情報共有 ならびに ご確認のお手数をおかけしてしまい、大変申し訳ございません。

今後も、常に適宜本文の最適化や加筆修正を実施して参ります。

著者の不手際のため、皆様への報告・共有が遅れてしまう場合も時折ございますが、適宜、更新に関する情報は当ラボの Twitter 等のメディアにて公開するよう努めたく存じます。

まだまだ未熟な点多々ございますが、今後とも ”はるらぼ” とのお付き合いの程、何卒宜しくお願い致します。

23/4/19 追加・修正事項 重複している項目を解消 + 糖質関連の画像を追加。

重複項目 ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>



追加項目 (糖代謝関連) ↓

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

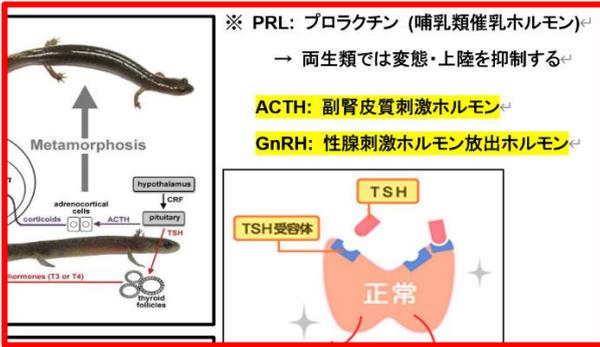


全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



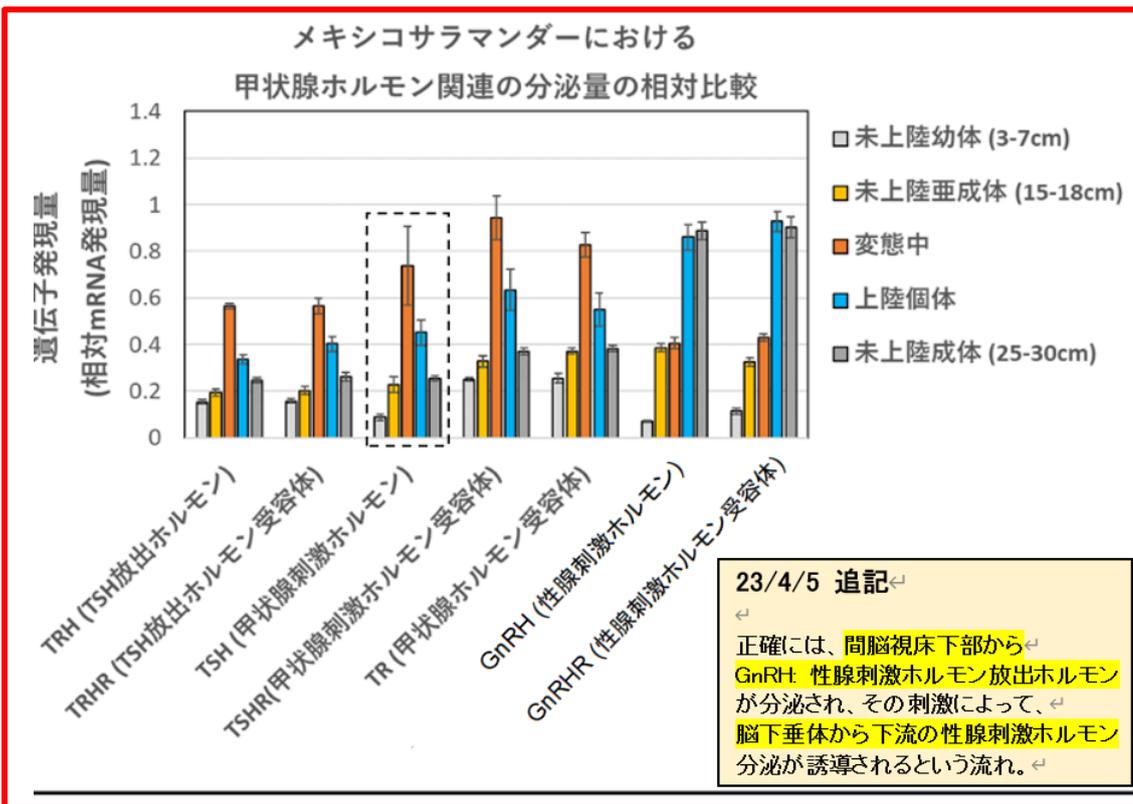
23/4/5 修正

プロラクチン (PRL), GnRH に関する表記を加筆・修正。



プロラクチンを“性腺刺激ホルモン”と記載の誤り箇所あり。

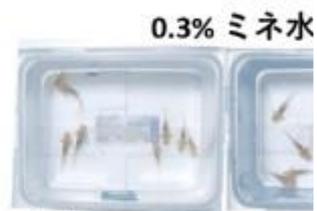
正確には、**プロラクチンは哺乳類では“催乳ホルモン”**として作用する = 乳腺を刺激する。



23/3/26 修正

差し替え内容 23/3/26

発表の趣旨や結果の解釈には特に影響はございませんが、以下の点修正致しましたので、ご確認の程お願い致します。



0.3% ミネ



ラベルに該当する写真へ差し替え



杉山, 2022, 飼育・治療最新案内より引用

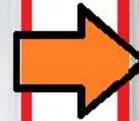
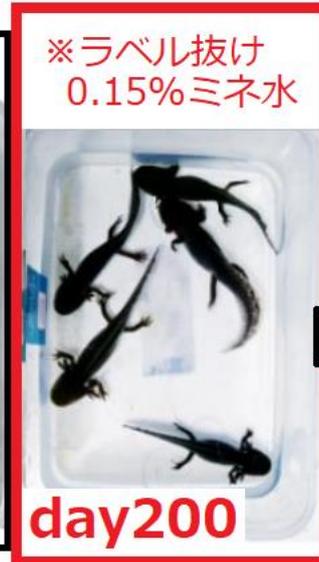
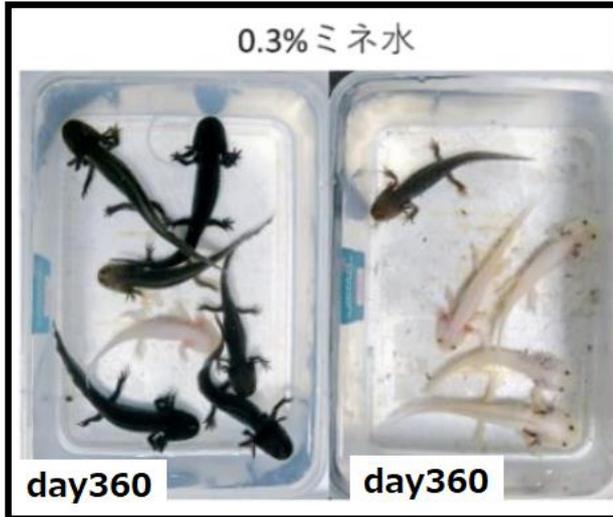
23/3/10, 26 修正

※23/3/26 差し替え後のラベルが書かれていないので追記。

<360日間における栄養依存的な成長率の比較>

オン・金属・鉱物

0.15% ミネ水



23/3/12 修正

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があるとされており、広い所で飼育すればそれぞれ、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。)について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

		縦長 (メスシリンダー)	
		【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JEJ E
容器サイズ		φ61x3.14xH400 (mm)	619
開始日 (mm)		2.47	
アホートル (0.3% ミネ水)	day120 (mm); n=5 360		
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	

- 因子 2) アホートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長率
キイロショウジョウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生長や生育速度と密接な関係があるとされており、広い所で飼育すればそれぞれ、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているかで確定して変更できなくなるか。)について、様々な飼育条件を設定することで失われるタイミングについて順次調査を行った。

表: 飼育条件と生育率の相関を調査する

		縦長 (メスシリンダー)	
		【3023-5441】トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JE. E
容器サイズ		φ61x3.14xH400 (mm)	619
開始日 (mm)		2.47	
(0.3% ミネ水)	day360 (mm); n=5	8.35	
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	

閑話休題: ちびウパ達に、ご飯をあげました！



<ウーパールーパー研究報告>

メキシコサンショウウオや昆虫類の栄養状態と成長に関する最新・追加報告 (22/10/2)

著: 杉山 遥¹ (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)

アホロートルの味覚 (杉山, 2022) については、塩味と旨味 (イノシン酸, 油, 脂肪) に対する高い嗜好性が明らかになりました。

高タンパク・高脂質のアカムシ、昆虫類、環形動物類 (ゴカイ・ミズ・ユムシ) 等を好むのは納得いくような気がします。

これらの食物等の要因を含めてアホロートルの成長制御・生育との相関について、本項では触れていきたいと思う。

当ラボにおけるこれまでの調査の中で、アホロートルの成長制御にとって必要不可欠な因子は以下の3つあると考えている。

- ・ **因子1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌)**
- ・ **因子2) 生育環境・密度 (水質・生息地の広さ)**
- ・ **因子3) 両親からの遺伝 (成長時の最大サイズを決める遺伝的要因) → 繁殖後に経過を確認予定。**

今回、上記の大きく3つの要因の中で、主に **因子1), 2)** と成長制御の相関について可能な範囲で詳細な調査を実施した。

以下、その結果・経過について順次報告する。



参考1: アホロートルの成長・生育に重要な複数の因子:

上団: 様々な栄養成分, 中断左: 牡蠣粉,
中断右: グルタミン酸ナトリウム (味の素の主成分),
下段左: 異種との混泳 下段右: エゾサンショウウオ
(小型のサンショウウオ。環境依存的に二型を示す。)

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

生息地 近縁種と共存 and/or 単独での生息

塩水域

混入

汽水域

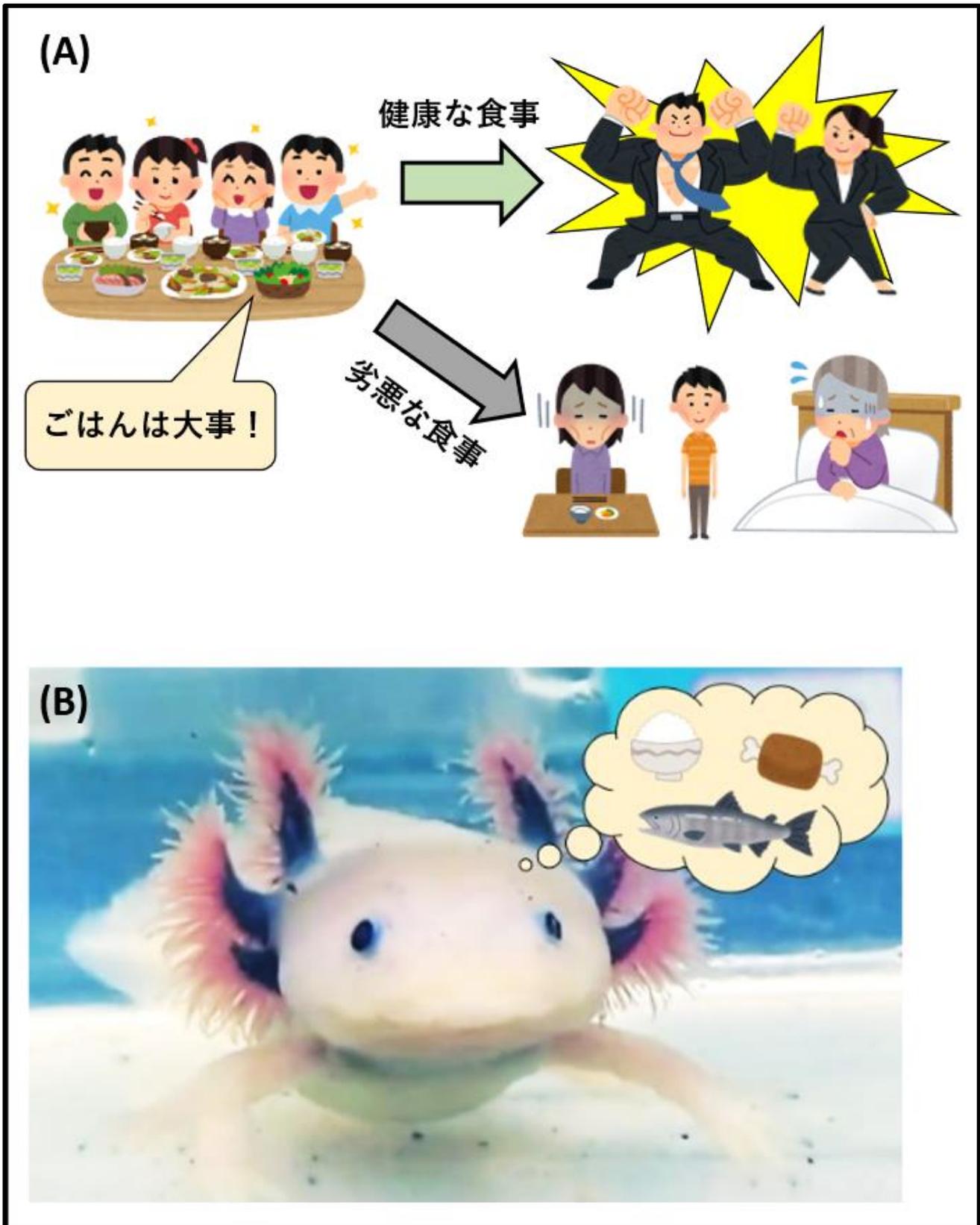
淡水域

参考2: アホロートルの成長制御と周辺環境
良質な睡眠 (暗条件)



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





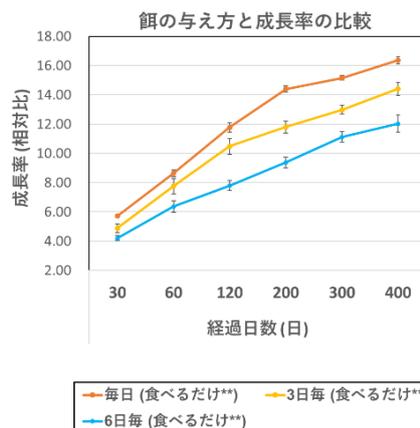
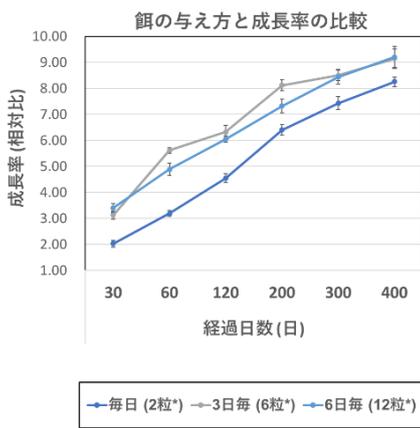
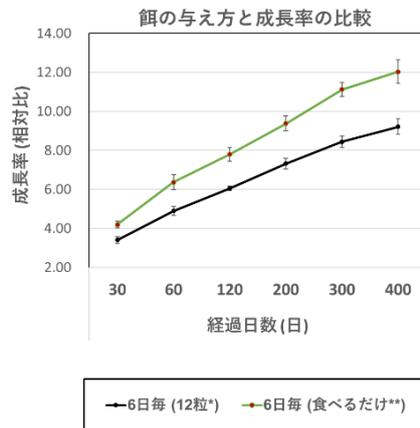
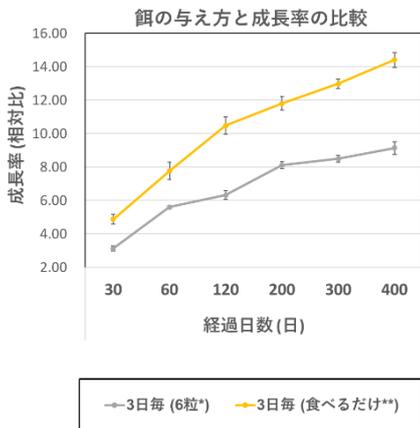
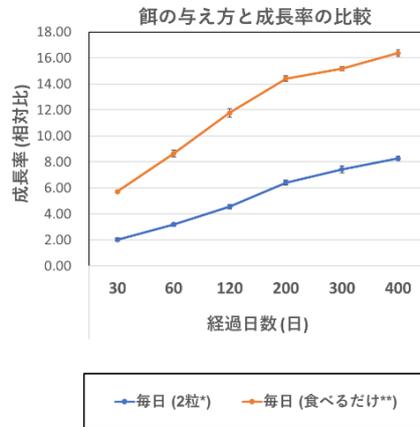
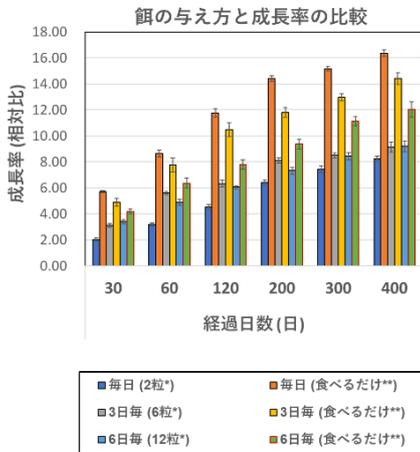
参考 3: モデル図; 適切な食事環境はあらゆる生物にとって適切な生育にとって必要不可欠である。

(A) 適切な食事は健康と成長に繋がる。

(B) ウーパールーパーもきつと同じ。何を食べたら良く育つ？

・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-1

以下、餌摂取頻度や量と成長率の相関について調査した結果を示す。今回の調査結果を踏まえ、摂食後の消化時の生体への負担等を考慮すると、”3日毎に各個体が食べられる量だけ餌を与える”手法が最もウーパールーパーを生育させるのにふさわしい手法であることが推察された。尚、成長率だけを考慮すれば、最も効果があるのは“毎日食べられるだけ餌を与える”手法ではあるが、腸への負担や寿命への影響・生育コストなどを踏まえると、前述の“3日毎に与える”という頻度が最良といえる。



* エサ: ひかりウーパールーパー (小粒)

** 30~60 日; 6~30 粒程度

120~200 日; 30~40 粒程度

300~400 日; 35~50 粒程度



・ 因子 1) 摂食頻度・量・代謝など (摂食 および 代謝・内分泌) と成長・生育の相関-2

以下、過去の調査時においてスクリーニング時に選択された栄養成分を含む複数の成分を加えた餌を投与した個体の成長・生育率について比較を行っている。

これまでに注目してきた栄養成分は、**金属イオン (鉱物)**、**糖質**、**タンパク質**、**脂肪 (脂質)** の4つに大別できる。また、成長に関わるその他の因子としては**腸内環境**や**睡眠**を取り上げてきた。

参照 (青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 成長制御因子のスクリーニング … [ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)
- ・ アホロートルの睡眠と成長 … [ウーパールーパーだより vol 2.4 \(2022\)](#)

これらの関連因子について、当ラボの先行研究の続報をこちらに示すので、是非ともご覧いただきたい。

< 360日間における栄養依存的な成長率の比較 >



< 360日間における栄養依存的な成長率の比較 >

腸内環境

0.3%ミネ水
六君子湯(グレリン)



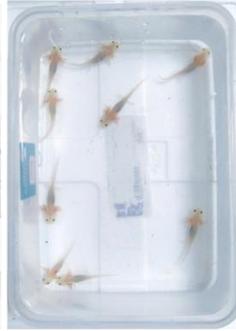
0.3%ミネ水
生乳酸菌摂取



0.3%ミネ水
通常エサ+糞
(腸内細菌摂取)



0.3%ミネ水
+オキシリン酸



0.3%ミネ水
+ペニシリン



脂肪・脂質

0.3%ミネ水
ユーグレナ



0.3%ミネ水
ポリフェノール



0.3%ミネ水
DHA・EPA



0.3%ミネ水
ベザトール
(脂質代謝阻害)



当ラボ開発品

0.3%ミネ水
人工合成餌



成長ホルモン

0.3%ミネ水
+hGF



0.3%ミネ水
DD



0.3%ミネ水
DD+メラトニン



0.3%ミネ水
LL

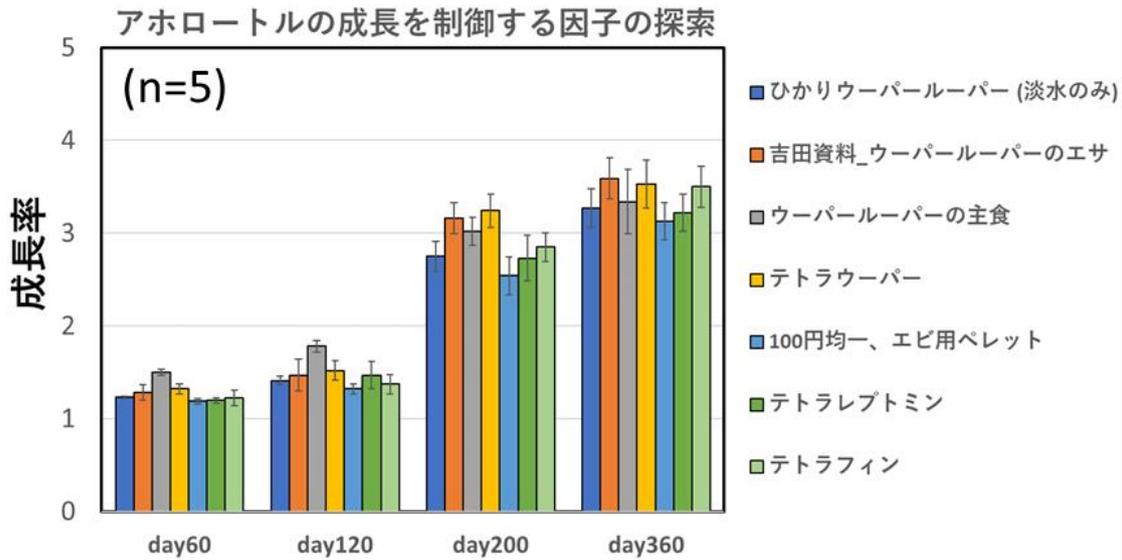


0.3%ミネ水
カフェイン



睡眠

※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。



参考: 市販ペット餌の成長率への影響の比較
 (成長率への影響に違い見られるのか検証)

組成の比較 (例)

ひかりウーパールーパー (キョーリン)

使用原料					
フィッシュミール、オキアミミール、でんぷん類、ビール酵母、大豆ミール、魚油、小麦粉、海藻粉末、スズルリナ、アミノ酸(メチオニン、リジン)、カロチノイド、ビタミン類(他)コリン、E、C、4-ヒドロキシ、B6、B12、A、B1、B2、B3、K、葉酸、D3、セオチン、B12)、ミネラル類(P、Mg、Zn、Mn、Co、Cu、B、食用色素(赤3))					
保証成分					
粗蛋白質	粗脂肪	粗繊維	水分	粗灰分	りん
47%以上	5.0%以上	3.0%以下	10%以下	17%以下	1.0%以上
ひとくちメモ					
飼育に適した水温は、15～25℃です。生存可能範囲は5～30℃ですが、高水温に長時間の曝露はエアーレーションやファンによる水温上昇が原因で、飼育に悪影響を及ぼす可能性があります。					

吉田資料 ウーパールーパーのエサ

原料材料	
フィッシュミール/オキアミミール/グルテンミール/小麦粉/デンプン/乾燥大豆/ふすま/海藻粉/クロレラ/乳酸菌/魚油/ビタミン/ミネラル類	
組成成分表示	
粗たん白質48%以上/粗脂肪6%以上/粗繊維3%以下/粗灰分15%以下/水分10%以下/りん1%以上	

コメット・ウーパールーパーの主食 (イトスイ)

原料材料	
フィッシュミール・オキアミミール・小麦・澱粉・バナナ粉末 海藻粉末・酵母・各種ビタミン・ミネラル類他	
組成成分表示	
粗蛋白質 48%以上	粗脂肪 3%以上
粗灰分 15%以下	水分 10%以下
粗繊維 3%以下	

100均(ダイソー)ザリガニの餌

材質: 魚粉 魚油 小麦粉 大豆油 かす 米ぬか ビタミン カルシウム

テトラウーパー (テトラ)

えさの与えかた	
1日に2～3回、数分で食べ尽くす量を与えてください。	
原材料	
フィッシュミール、植物性蛋白質、オキアミミール、野菜類、油脂、酵母、穀類、藻類、アミノ酸、ビタミン類、ミネラル類、β-グルカン	
保証成分	
粗蛋白質: 52.0%以上	粗脂肪: 11.0%以上
粗繊維: 2.0%以下	粗灰分: 14.0%以下
水分: 9.0%以下	
賞味期限: 底面に記載	
輸入販売元: ベクトラム プランズ ジャパン株式会社 〒220-0004 神奈川県横浜市西区北幸2-6-26 19階 製造元: ドイツ テトラ社 お問い合わせ: 0445-322-4330 テトラ ホームページアドレス: www.tetra-jp.com	

テトラフィン

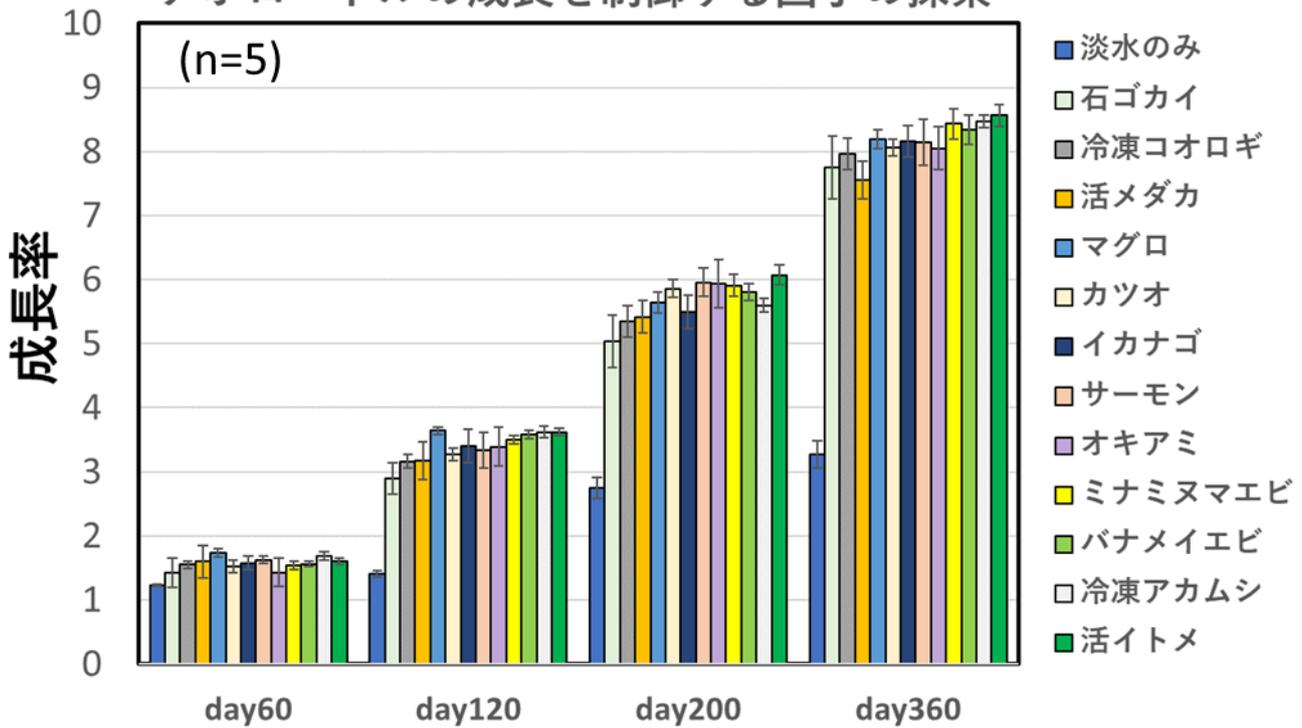
品名	
テトラフィン 50g	
原材料	
フィッシュミール、穀類、酵母、植物性蛋白質、シユリンブミール、油脂、海藻、糖類、レシチン、クエン酸、β-グルカン、ビタミン類、ミネラル類	
栄養成分	
粗蛋白質: 42.0%以上	粗脂肪: 11.0%以上
粗繊維: 2.0%以下	粗灰分: 10.5%以下
水分: 6.5%以下	

テトラレプトミン

与え方	
1日最低2～3回、数分で食べ尽くす量を与えてください。えさの与えすぎに注意してください。	
原材料	
フィッシュミール、植物性蛋白質、酵母、甲殻類、油脂、藻類、ユッカ、ビタミン類(A、D他)、ミネラル類(Ca、P、Mg、Zn、Fe)、β-グルカン	
※天然原料を使用しておりますので、製造時期によりフードの色が多少変わる事がありますが、品質に影響ありません。	
保証成分	
粗蛋白質: 37.0%以上	粗脂肪: 4.5%以上
粗繊維: 2.5%以下	粗灰分: 15.0%以下
水分: 9.0%以下	
賞味期限: 下部に記載	



アホートルの成長を制御する因子の探索



参考: 生餌・活き餌の成長率への影響の比較
(成長率への影響に違い見られるのか検証)

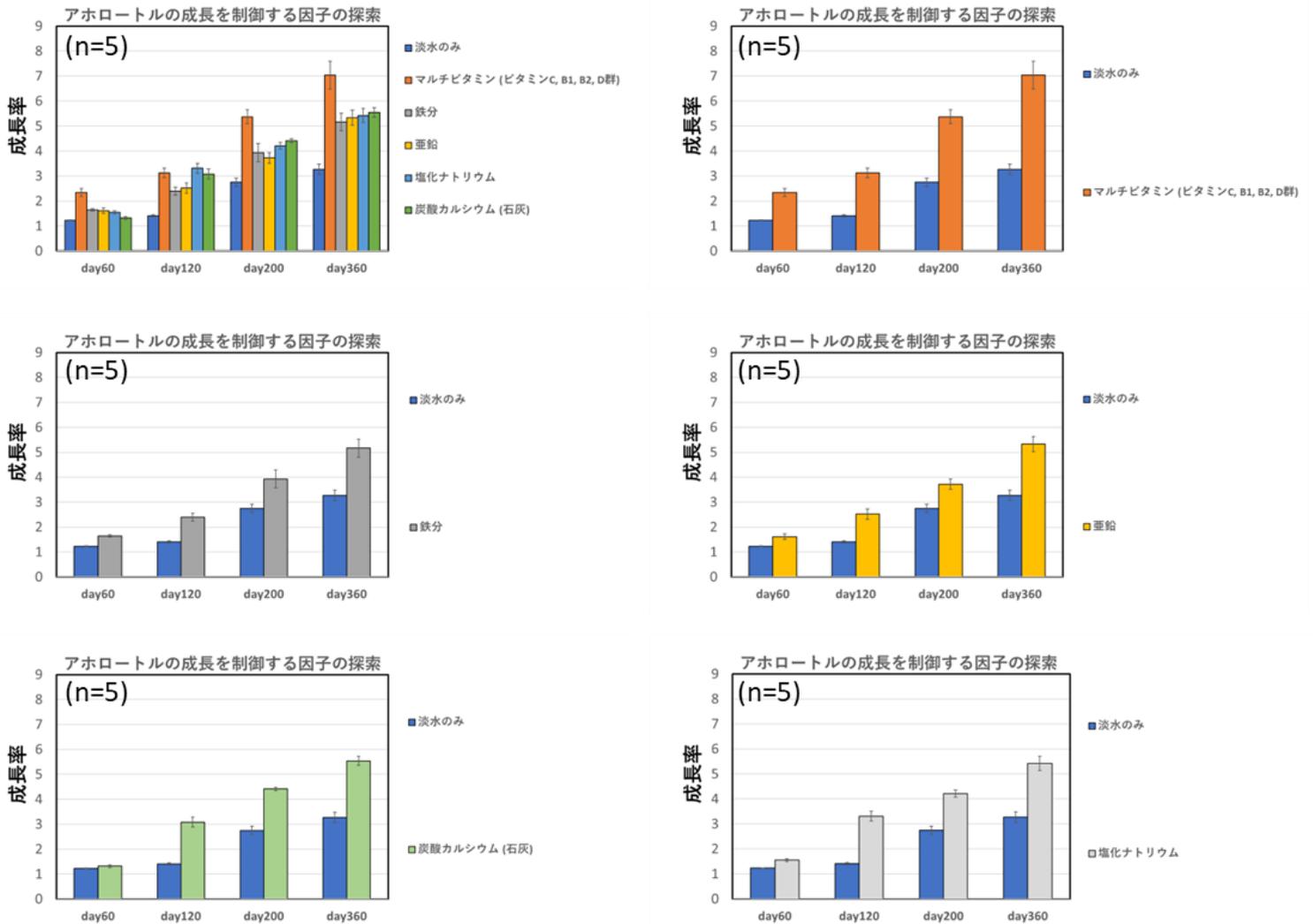


図3: ビタミン, 金属イオン関連 はウーパールーパーの成長促進に関わる

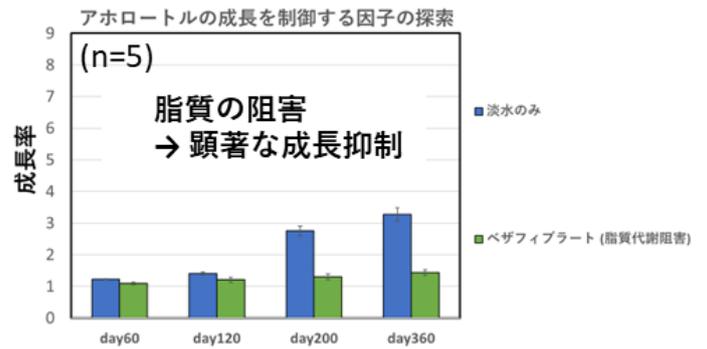
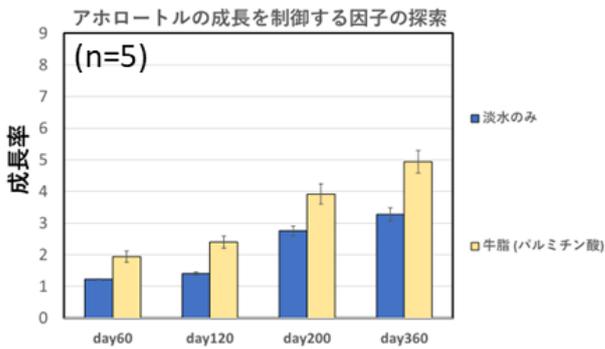
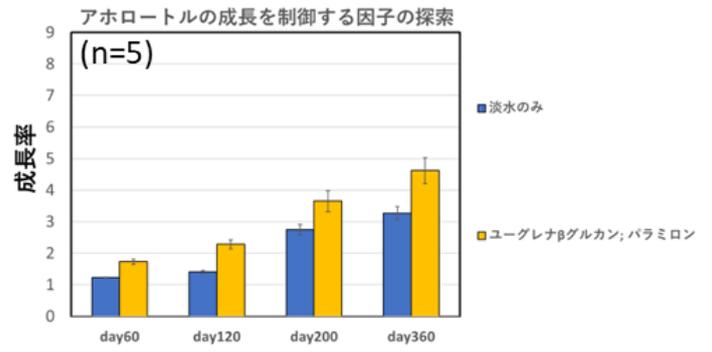
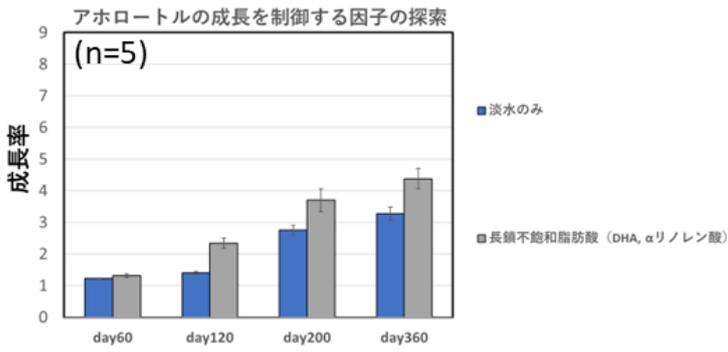
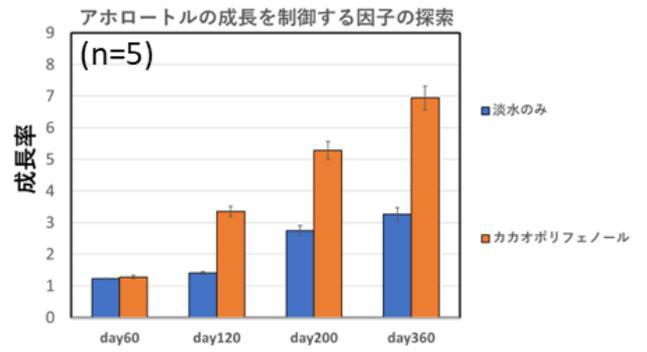
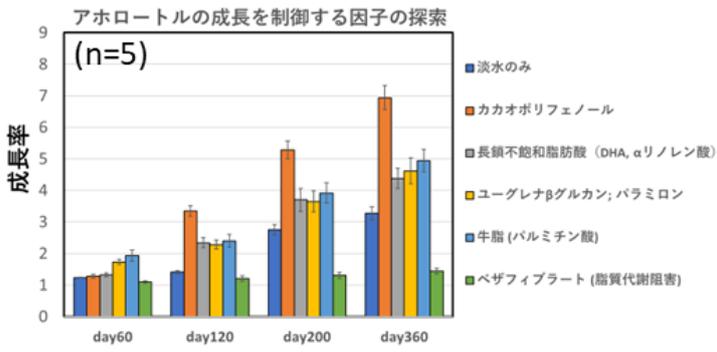


図4: 脂質の摂取はアホロートルの成長を促進する

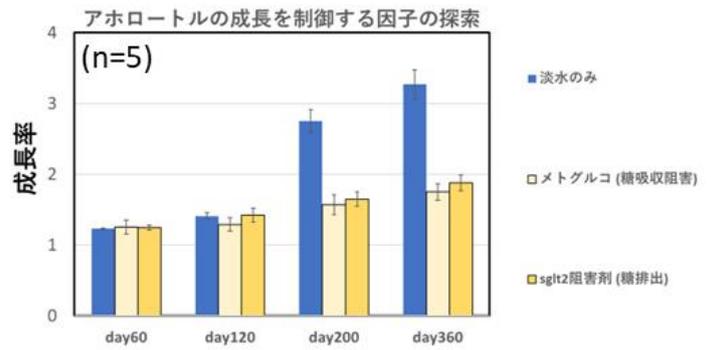
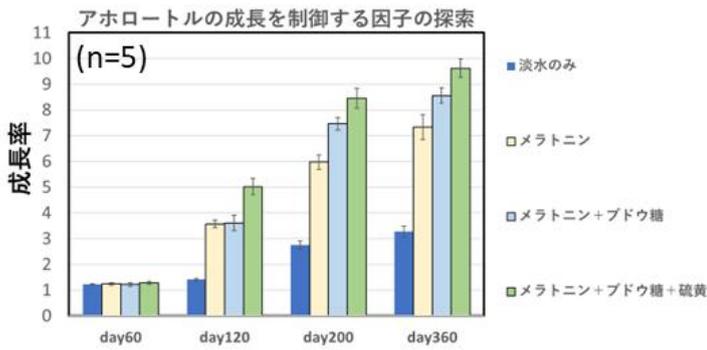
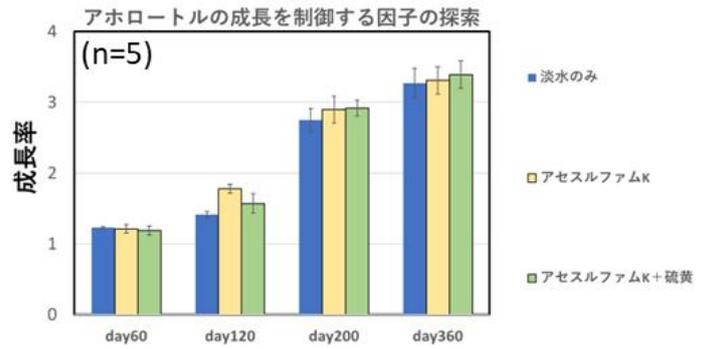
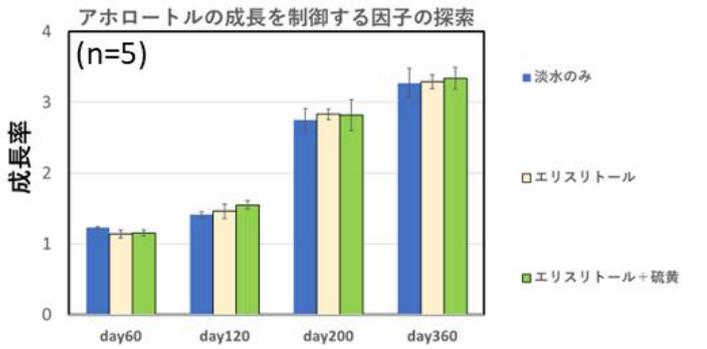
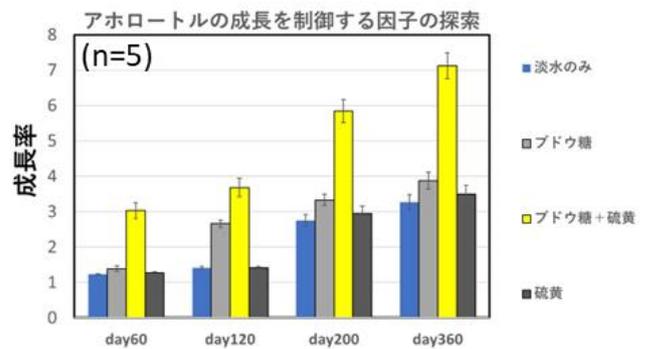
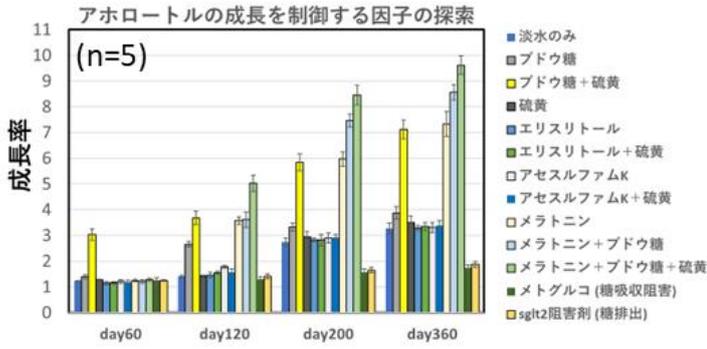


図5: 糖質・脂肪はウーパールーパーの成長促進に関わる

糖質・脂肪の阻害
→ 顕著な成長抑制

人工甘味料: エリスリトール, アセスルファミンK
 硫黄呼吸 (硫黄代謝): 硫黄を介した糖代謝経路によるATP生成
 → とはいえ、人工甘味料ではこの恩恵は得られない。

正常マウス 硫黄代謝不全マウス

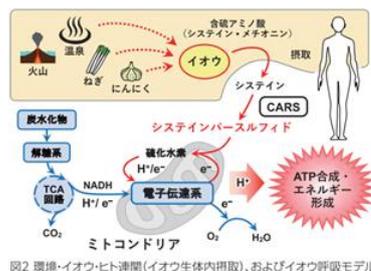
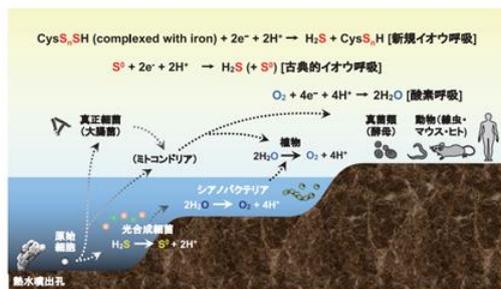


図2 環境・イオウと鉄のつながり(イオウ生体内摂取、およびイオウ呼吸モデル)

(参照:イオウ呼吸:創薬の新たな標的)

https://www.jaima.or.jp/resource/media/souyakunohoriba_vol10.pdf

<https://www.itmedia.co.jp/news/articles/1710/31/news126.html>

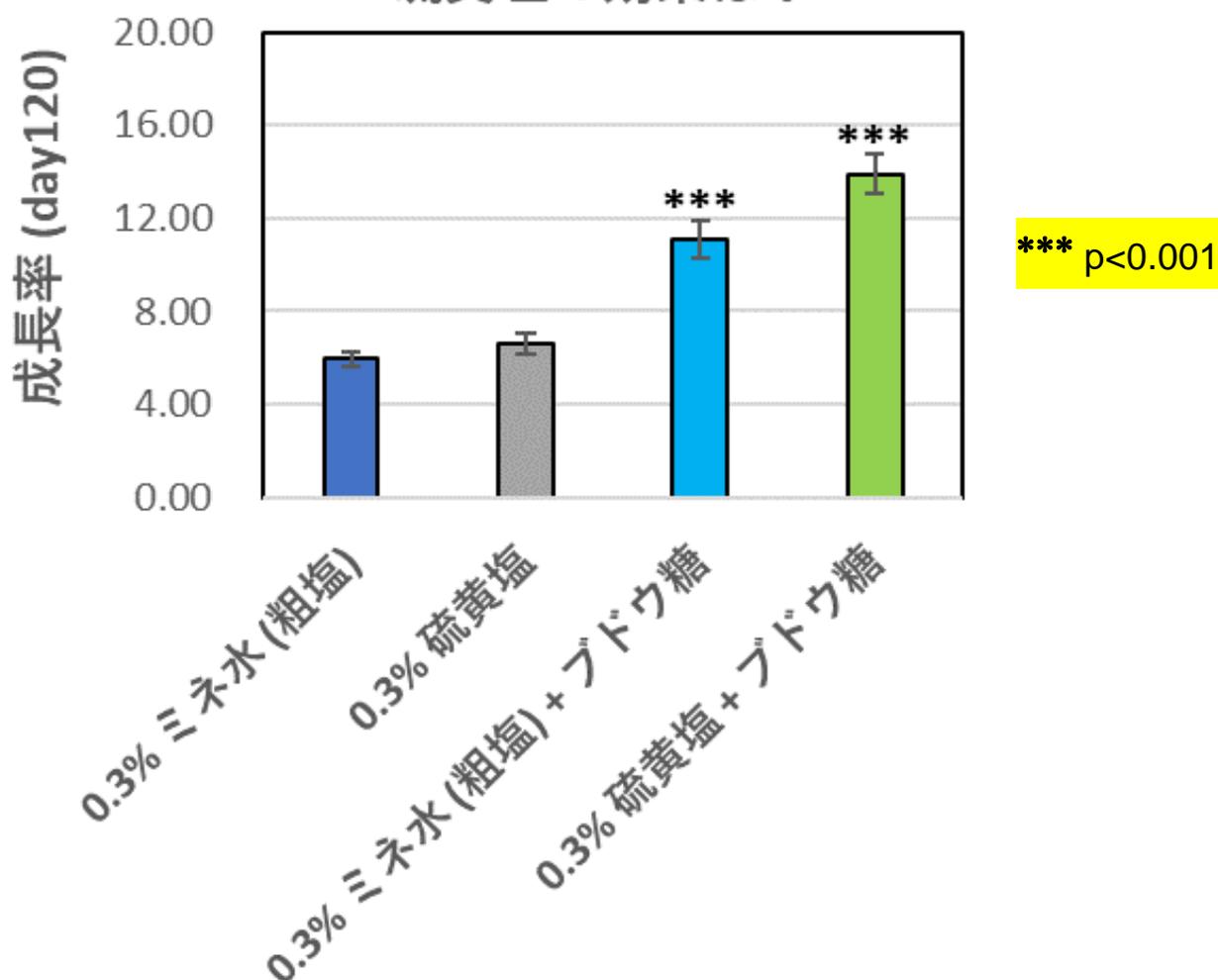
全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます!
 クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)



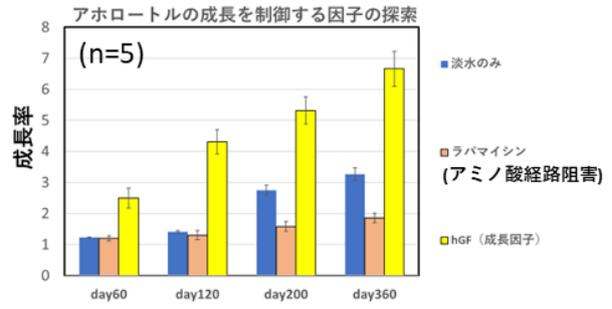
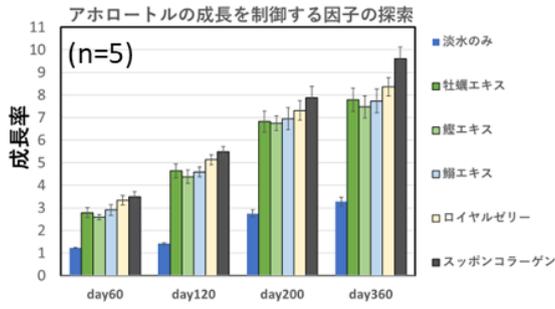
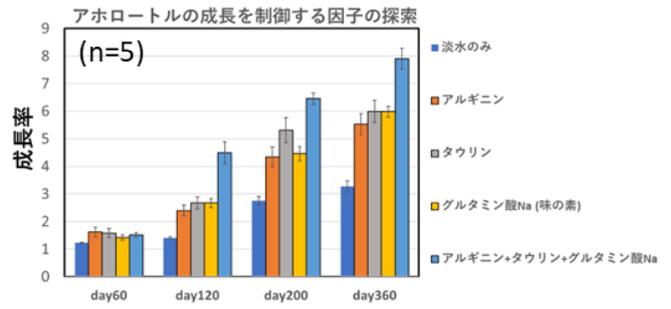
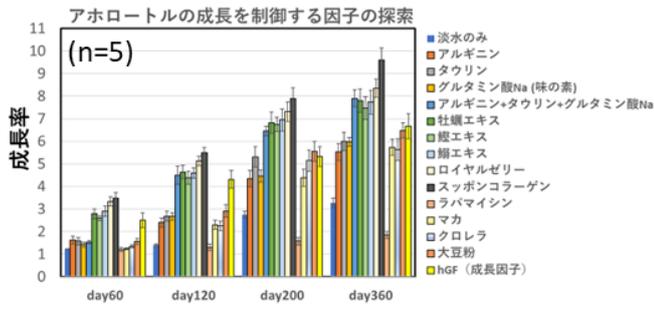
補足: 硫黄を含有する塩を用いた場合の成長率に関する詳細情報

	0.3% ミネ水 (粗塩)	0.3% 硫黄塩	0.3% ミネ水 (粗塩) + ブドウ糖	0.3% 硫黄塩 + ブドウ糖
容器サイズ	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)	600×275×H360 (mm)
開始日 (mm); n=5	2.56	2.55	2.49	2.52
day360 (mm); n=5	15.19	16.75	27.37	34.92
成長率 (5匹の平均値の比較)	5.94	6.60	11.06	13.91

硫黄塩の効果は？



尚、硫黄入りの岩塩を飼育に用いることで、硫黄呼吸と汽水による成長促進の相乗効果が狙えるという結果が得られたが、長期的な副作用・リスクについても継続して確認していきたい。



アミノ酸経路の阻害
→ 顕著な成長抑制

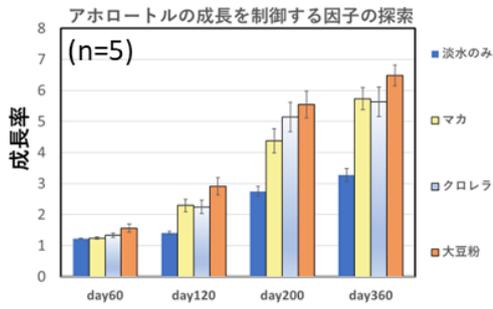


図6: タンパク質・アミノ酸はウーパールーパーの成長促進に関わる

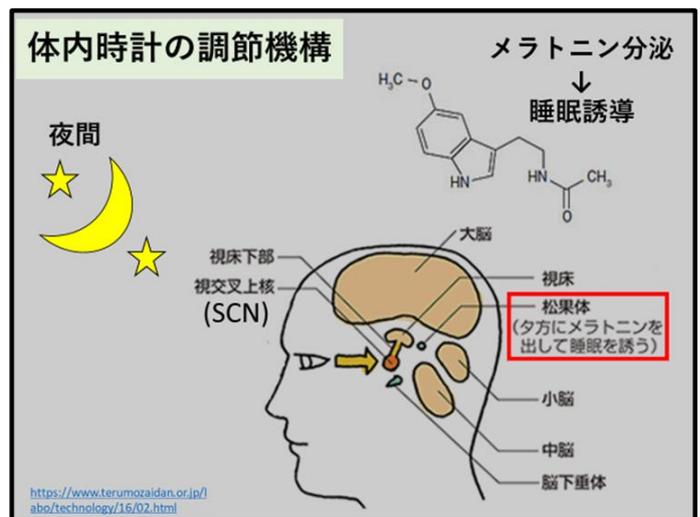
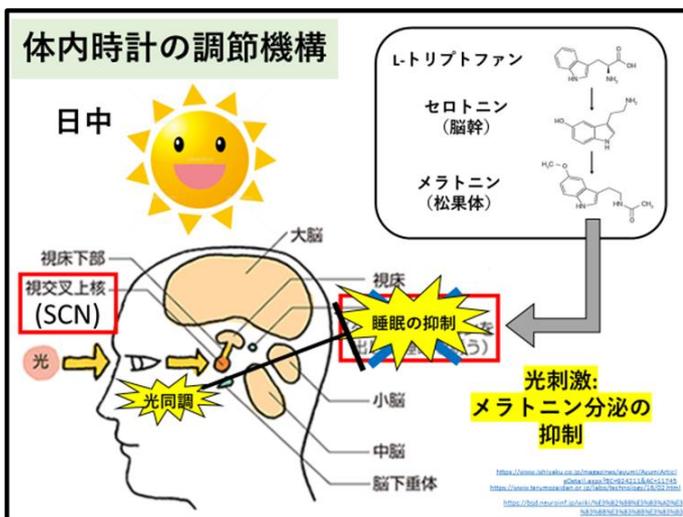
・ 因子 1) 昆虫類の栄養と睡眠・成長に関する最新・追加報告

当ラボから過去に、昆虫類の生育に関しても報告を行ったことがある (杉山 2021-2022; 以下のリンク先を参照)。この選考報告に引き続き、過去の検討結果に新たな結果を加えて、昆虫の成長制御に関わる因子として、睡眠やアミノ酸を含む代謝経路について複数の追加検証を実施したため、本項にて追加報告したいと思う。

参照 (青字のハイパーリンクから論文閲覧可能)

- ・ 昆虫の成長・生育はアミノ酸依存的に制御される … [ウーパールーパーだより vol. 1.3 \(2021-2022\)](#)

以下、昆虫類 (ショウジョウバエ・フタホシコオロギ) における睡眠制御や、Hippo 経路, Yap/TAZ シグナル経路等に代表されるアミノ酸依存的な成長制御に関わる TOR シグナルと相互作用する分子について挙げる。今回、これらの因子に注目し、昆虫の成長制御や繁殖能力 (妊性) の制御との関連性について調査を行った。

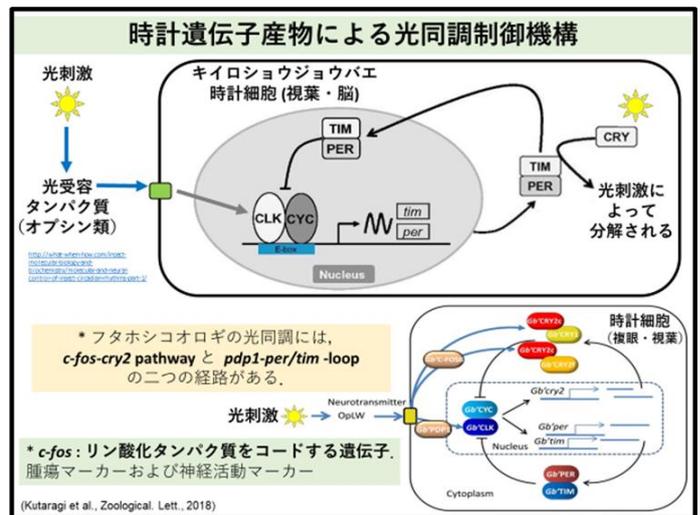


時計遺伝子:
生物のリズムなどを制御する遺伝子群

* 生物間で相同の因子が多く見つかった。
⇒ アホートルにも相同配列がある。
(実態は未解明⇒我々は実際の発現を調査)

"Ambystoma mexicanum Genome Browser - Amex_PQ.v4 assembly"
Nature (2018), Jul;559(7712):E2. doi: 10.1038/s41586-018-0141-z.

- **period, clock, timeless, cycle (BMAL; ARNTL), cryptochrome, clockwork orange (DEC1/2), Pdp1 (DBP)** etc...
⇒ **転写調節**に関わる。
- **doubletime (CSNK), Jetlag, Brwd3, Fbx1** etc...
⇒ **タンパク修飾・分解**に関わる (マウスや魚類も)。



参照: 昆虫における時計遺伝子と体内時計の制御機構



摂食・栄養摂取

脳の細胞における
インスリン産生

血流から全身へ

生殖腺 (オス)

インスリン受容体,
Slimfast

栄養シグナル分子
TOR

(?)

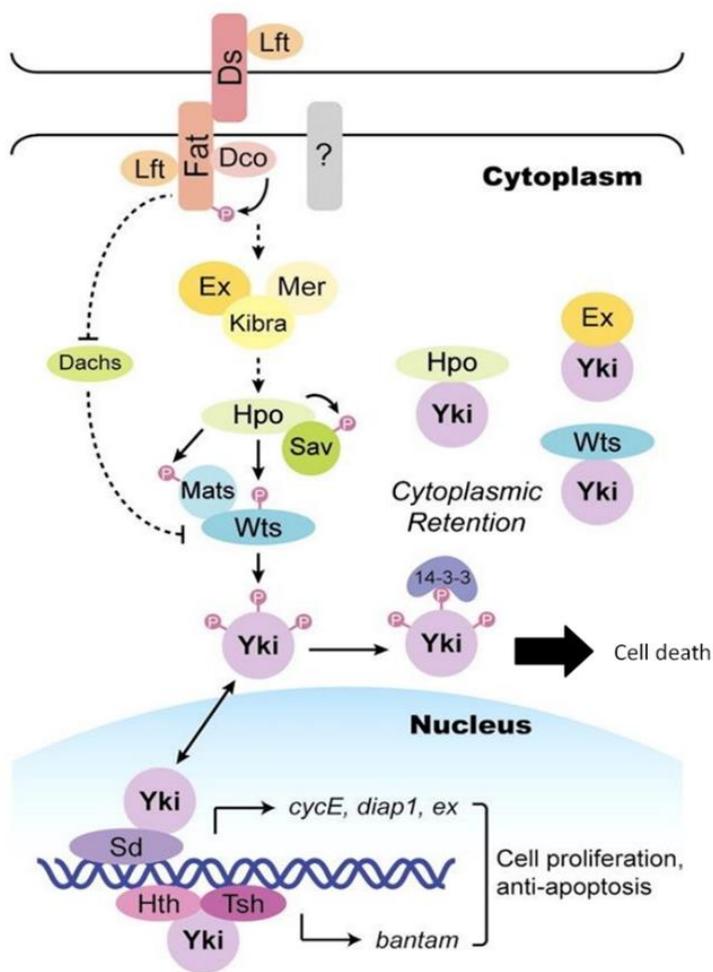
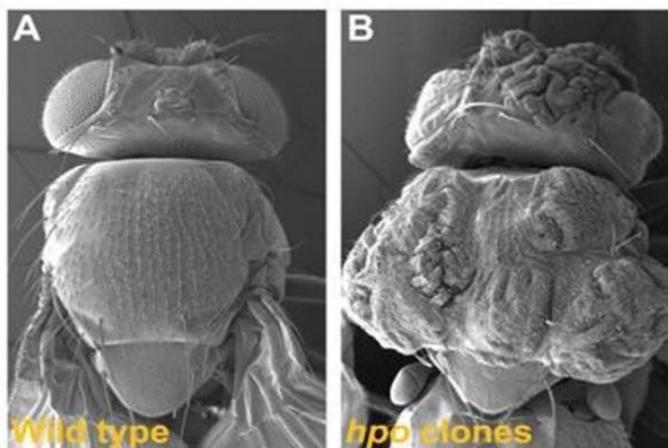
dSat

生殖腺第二細胞の
数決定

エクダイソン
(脱皮ホルモン)
シグナル受容体

第二細胞調節因子
Abd-B

第二細胞の
大きさ制御

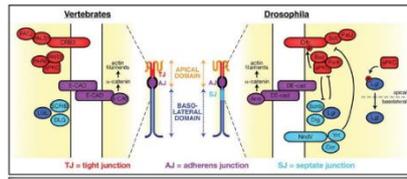
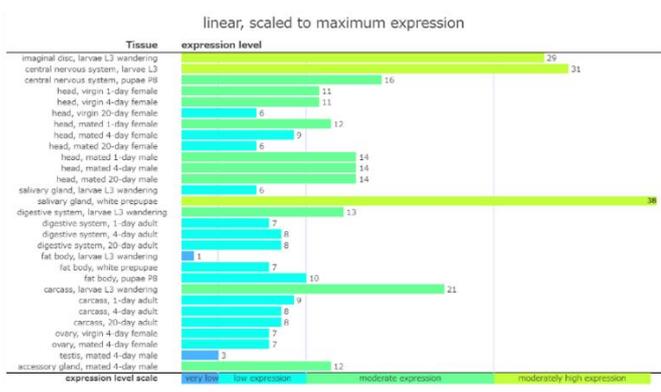
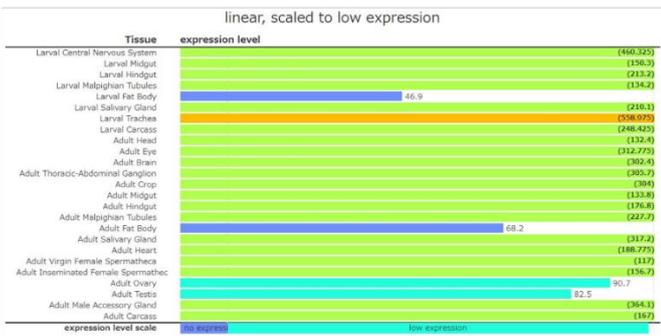


(Halder et al., Development, 2011)
(Zhao B et al., Genes. Dev., 2010)

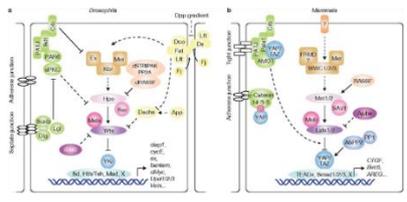
参照: 栄養シグナルによる昆虫の生殖制御には、シグナル分子 TORと dSat を仲介する分子が必要である。



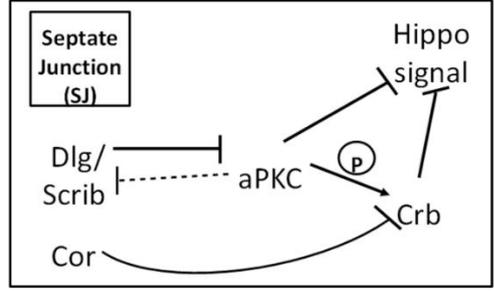
Flybase による発現確認



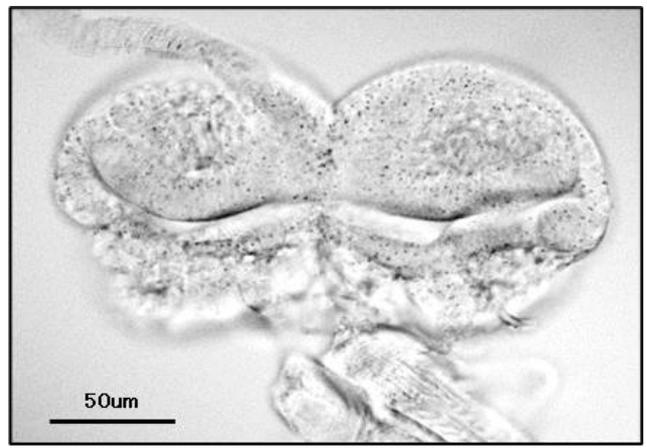
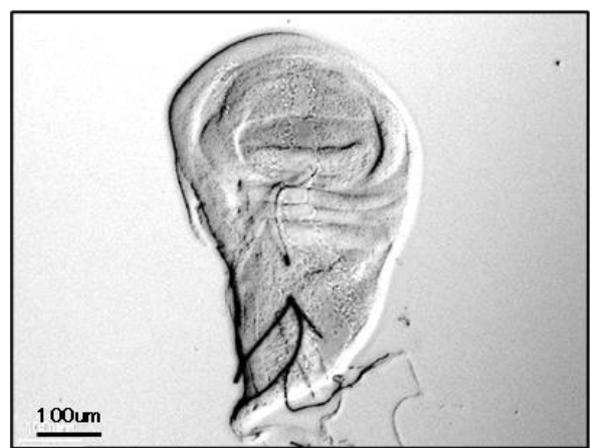
REVIEW ARTICLE
 The Hippo pathway and apico-basal cell polarity
 Alice Genevet, Nicolas Tapon
 Biochemical Journal Jun 01, 2011, 436(2):213-224; doi: 10.1042/BJ 20110217



The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell selfrenewal
 Bin Zhao, Karen A. Tumaneng, Kun-Liang Guan
 Published in Nature Cell Biology 2011
 DOI:10.1038/nmc3303



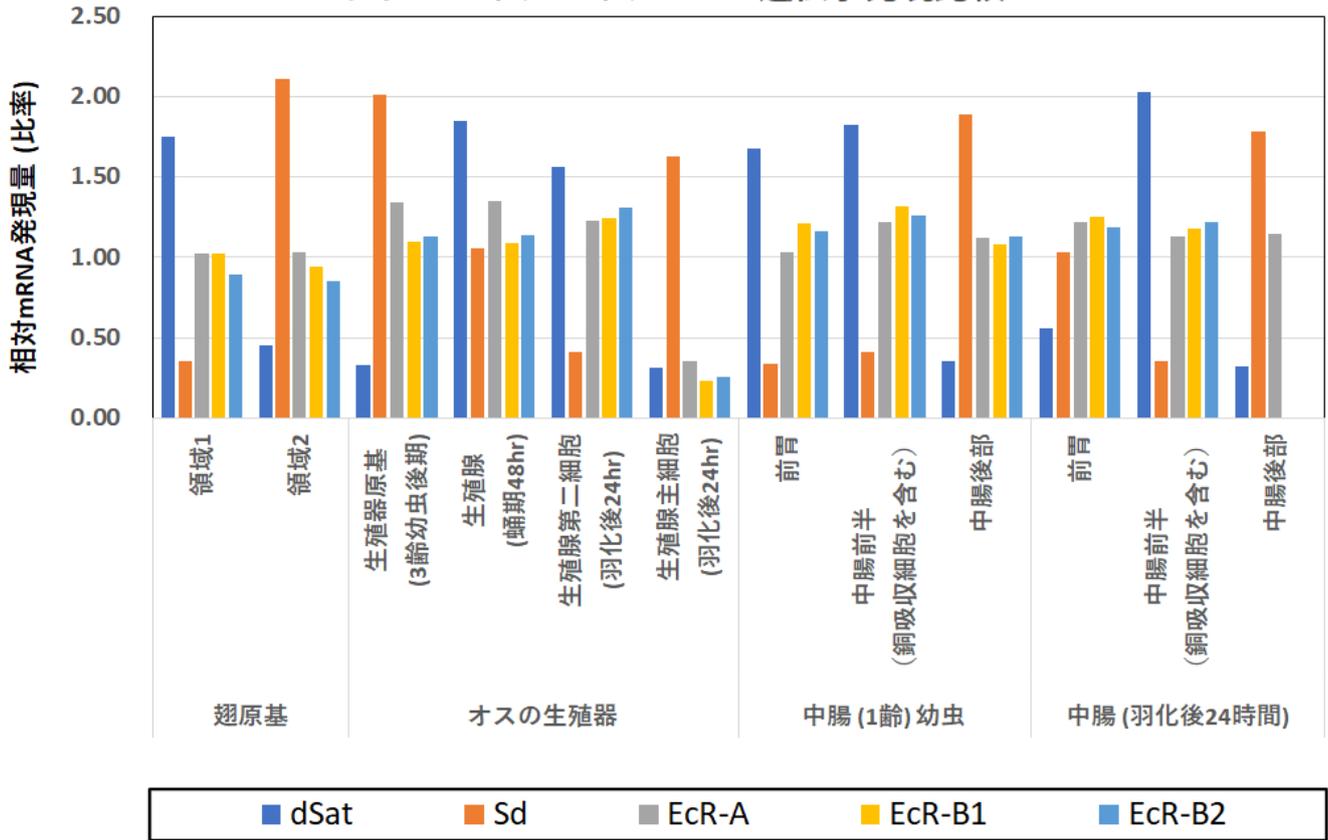
参照: ショウジョウバエデータベース “Flybase” <https://flybase.org/>



参照: 左; ショウジョウバエの羽原基, 右; ショウジョウバエの生殖器原器

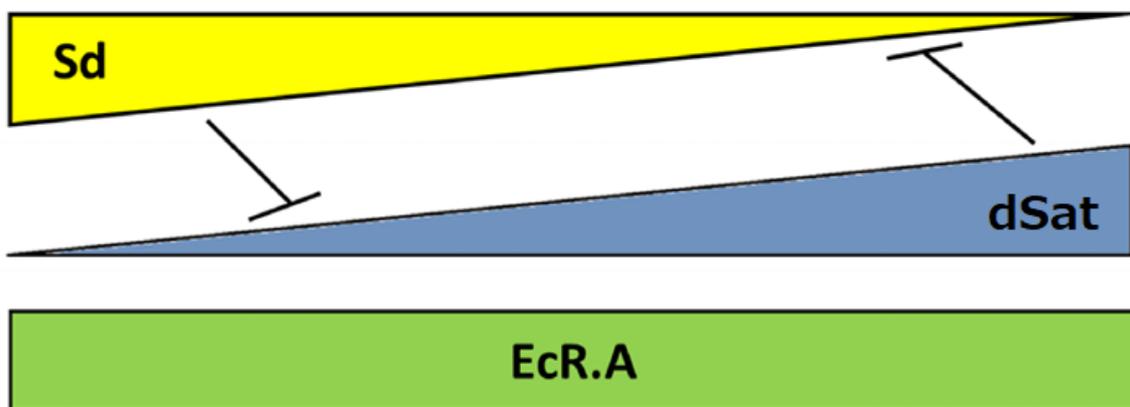


各生育時期・領域別における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン

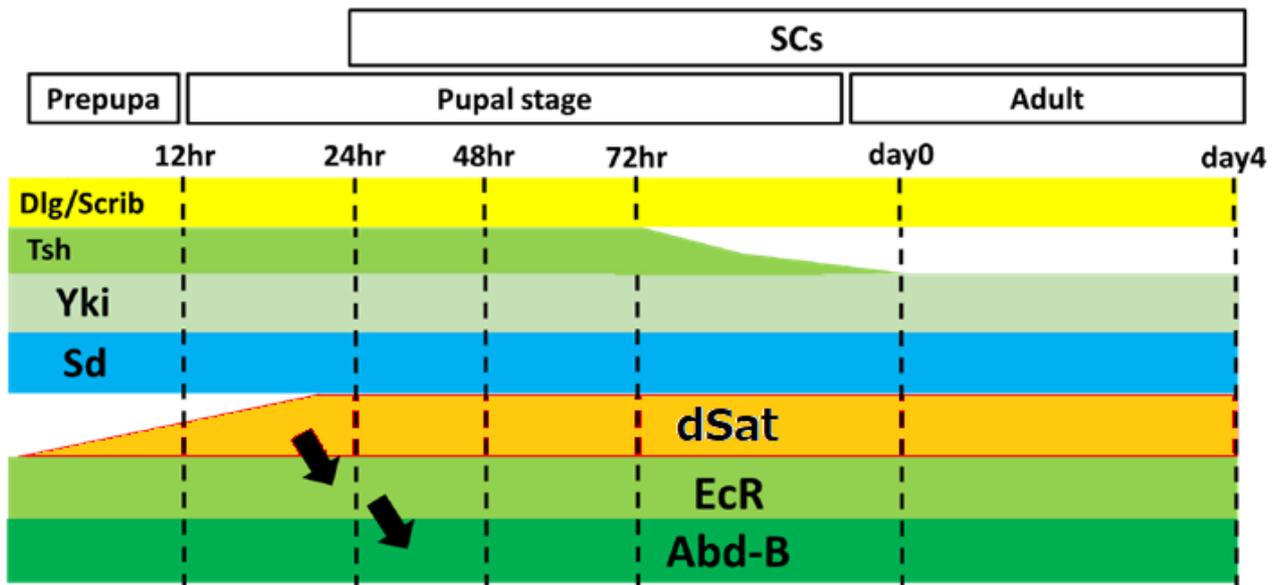
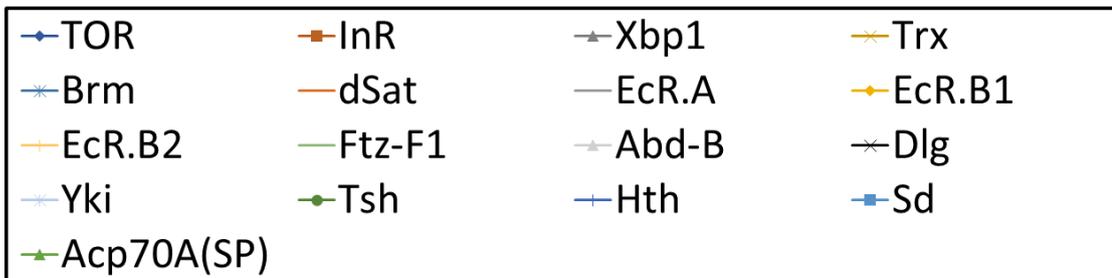
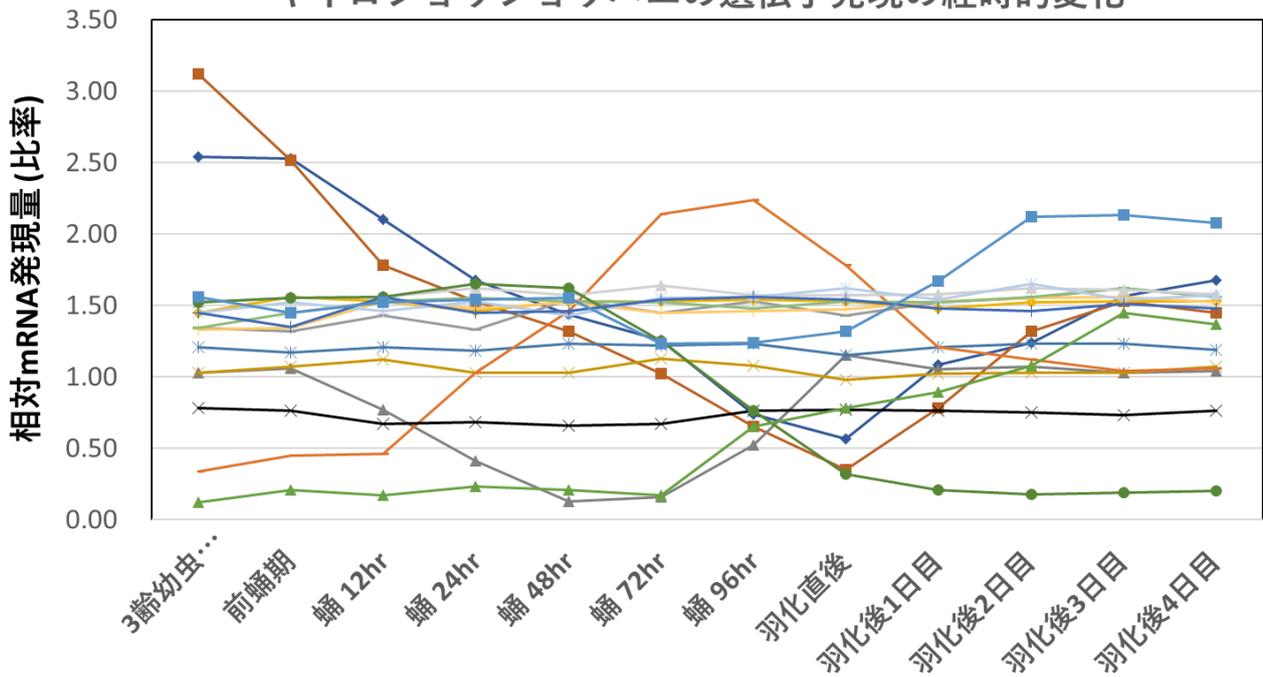
- ※ 転写制御因子である Sd と dSat は相互抑制している。
- ※ 領域 1・・・Wing pouch の周辺部分 (dSat を高発現している)
- ※ 領域 2・・・Wing pouch mの中央部分 (dSat を高発現していない)



参照: オスの各組織において作用する遺伝子の発現パターン 2

- ※ 領域によって多少変わるものの、Sd と dSat は相互的に抑制しあっている。

キイロショウジョウバエの遺伝子発現の経時的変化



参照: オスの生殖腺全体において作用する遺伝子の発現パターン (SC: 生殖腺第二細胞)

※ 参考文献 [16] によると、dSat はタンパク質レベルでは蛹期 24hr 頃からオスのショウジョウバエ生殖腺の第二においては発現が一定に維持されているが、主細胞では蛹期 96hr~羽化後 (成虫期) においては、タンパク質レベルでは大きく低下することが分かっている (本結果と相関あり)。

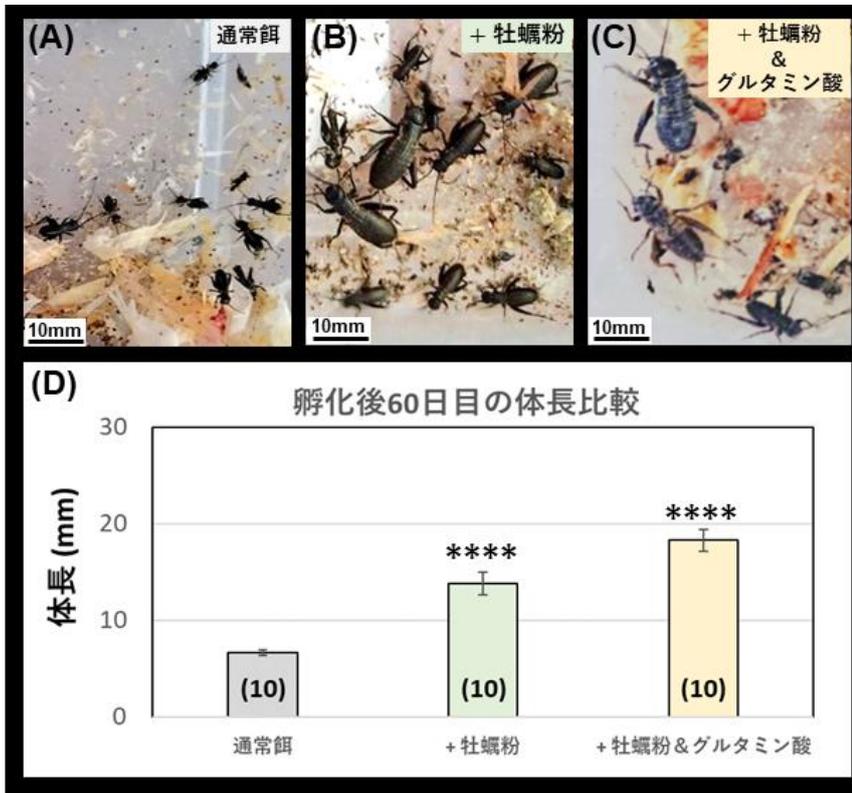


図1: 栄養依存的なフタホシコオロギの生育率

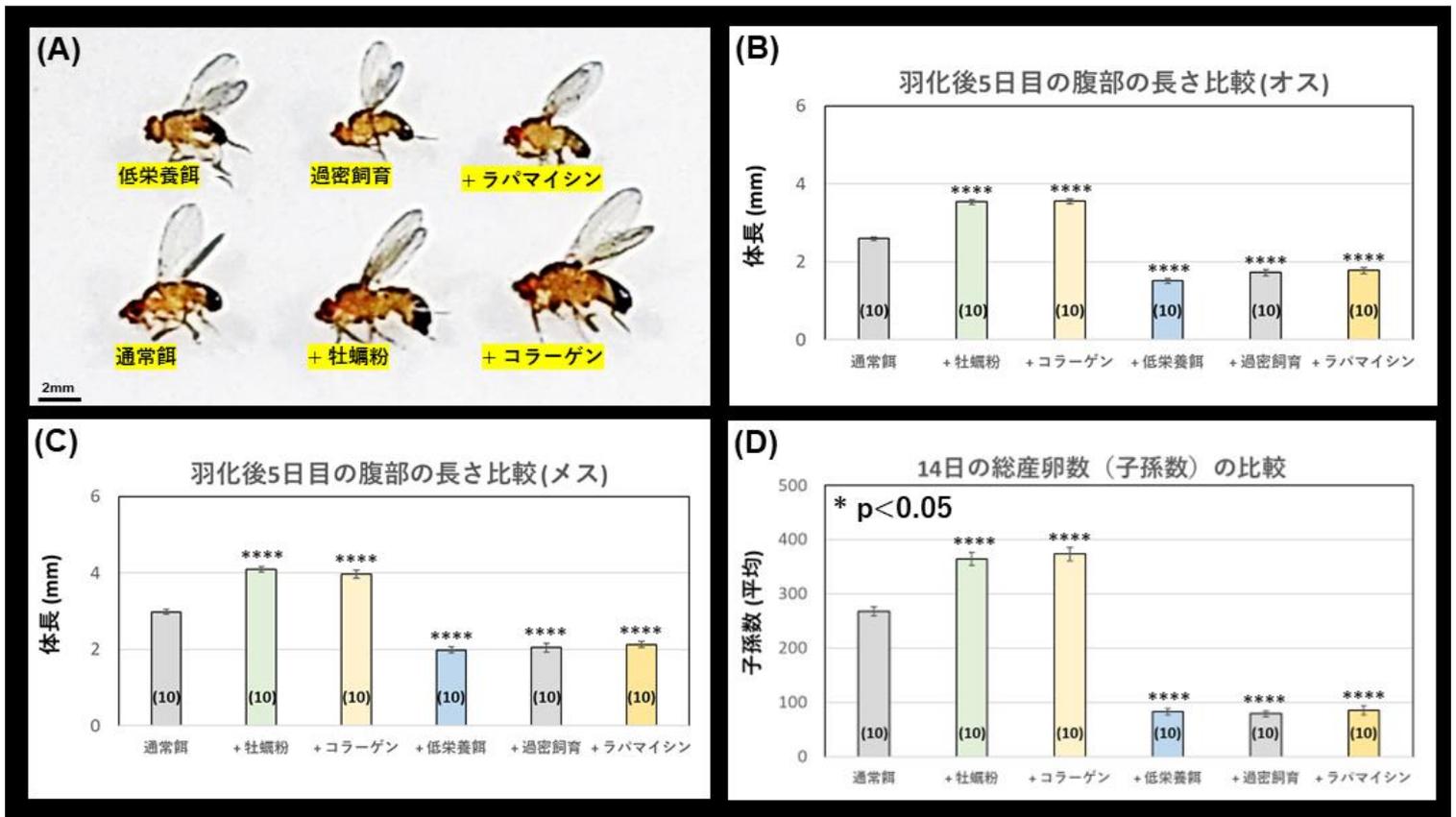
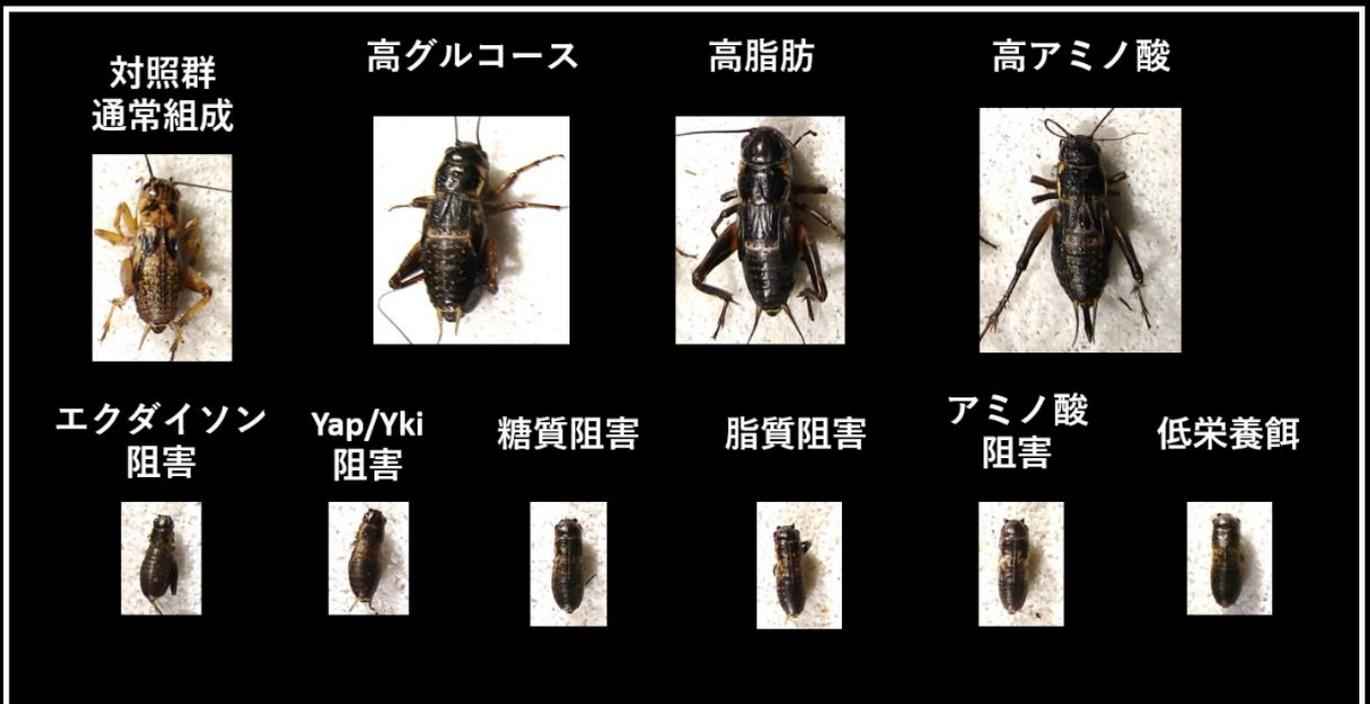
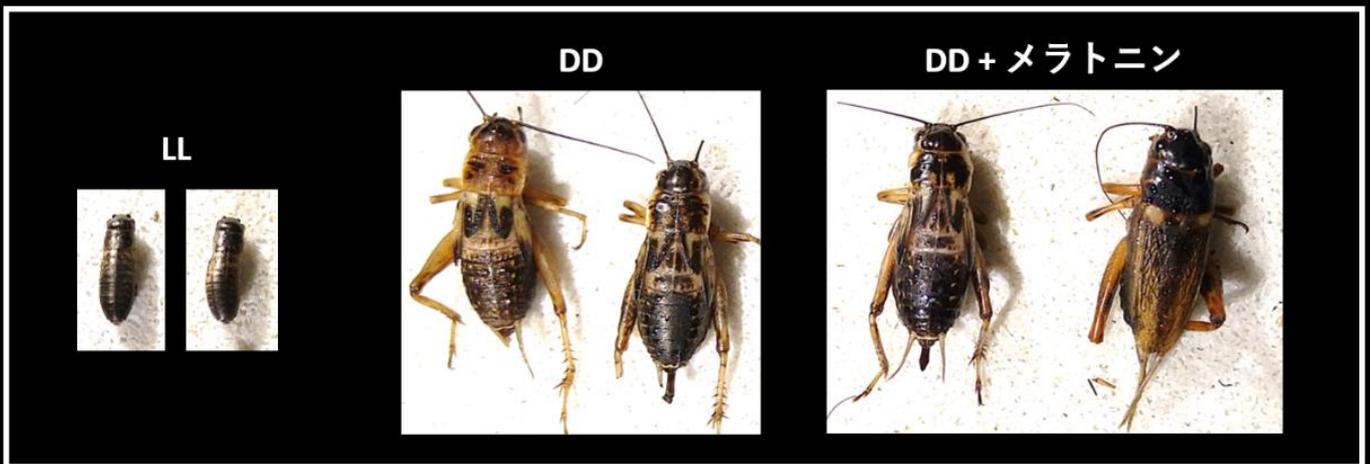


図2: ショウジョウバエにおける栄養依存的な生育率および妊性

栄養シグナル制御

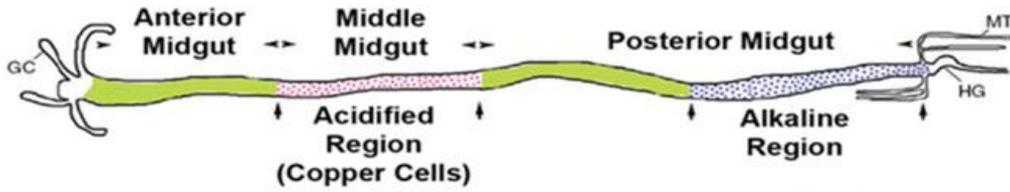


睡眠・体内時計制御



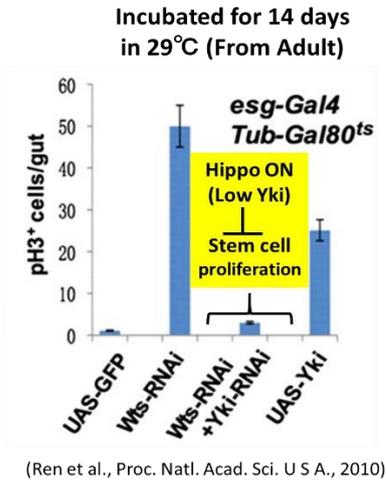
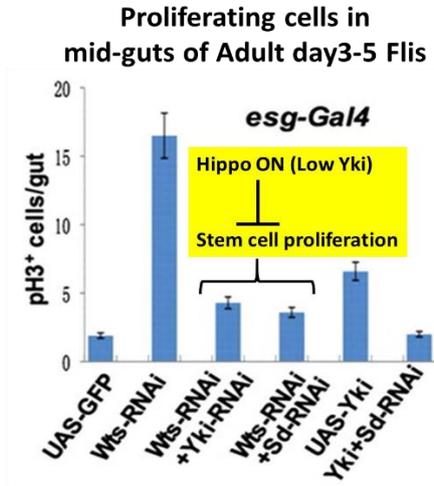
参考: フタホシコオロギ; 孵化後 25°C下で約 30 日間生育させた個体での比較
栄養や睡眠の阻害を受けることで、成長率が顕著に低下することが分かる。

※ 尚、成長の遅れ=脱皮回数の減少でもある。(通常は 8 回.)

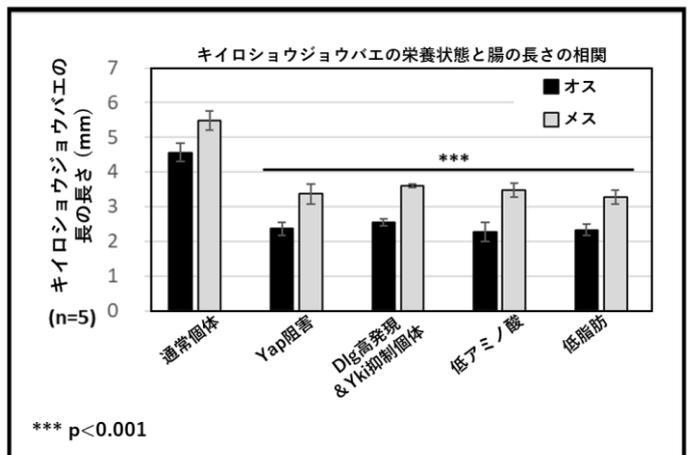
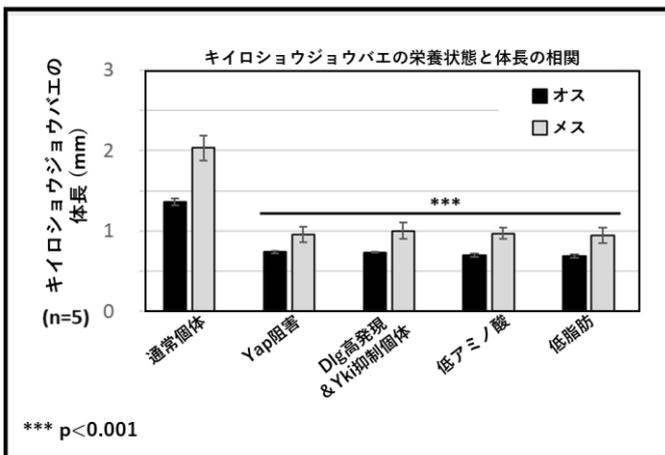
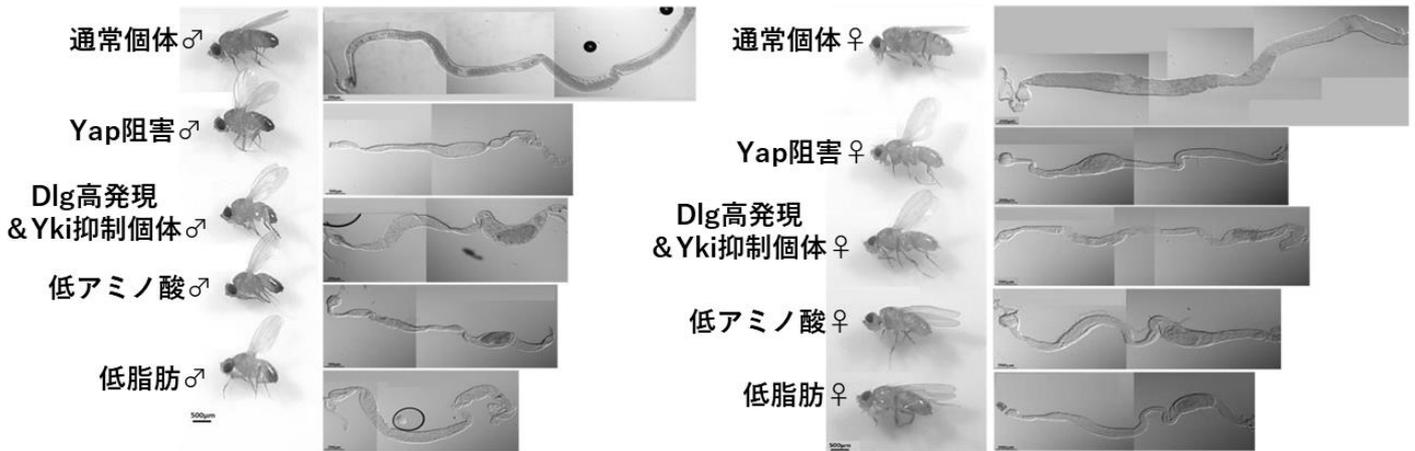


(Xiankun et al., Development, 2012) (Maynard et al., Dev. Biol., 2010)

References: Hippo regulated signals in Midguts

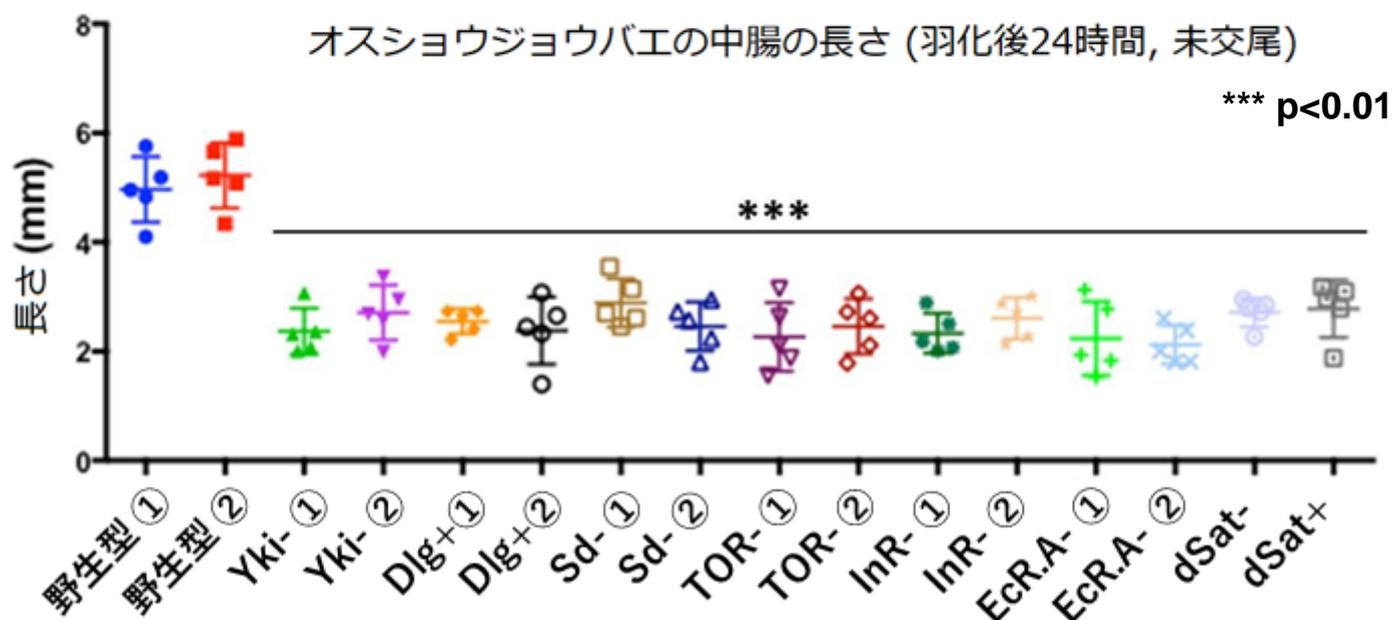
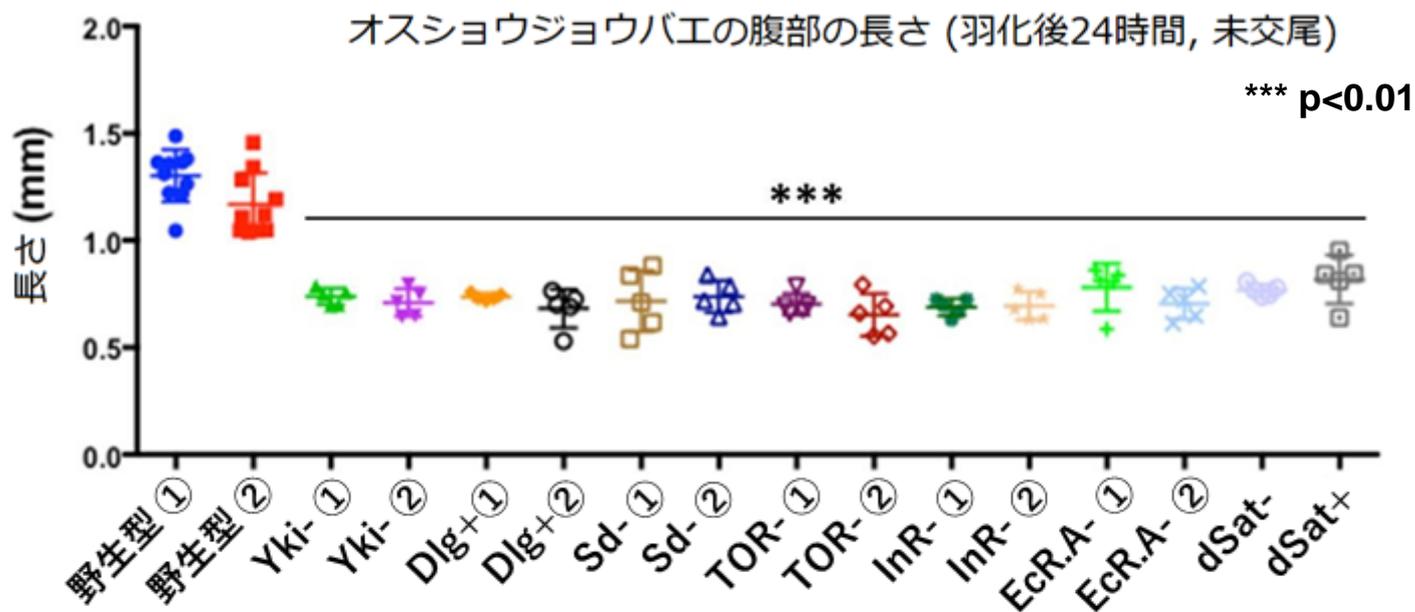


(Ren et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 2010)



参考: キイロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態
 栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。





参考: キロショウジョウバエにおける各因子阻害または各因子発現低下個体における腸の状態 ②
 栄養シグナルや細胞成長シグナル(Yap)が阻害されると腸がうまく形成されない。



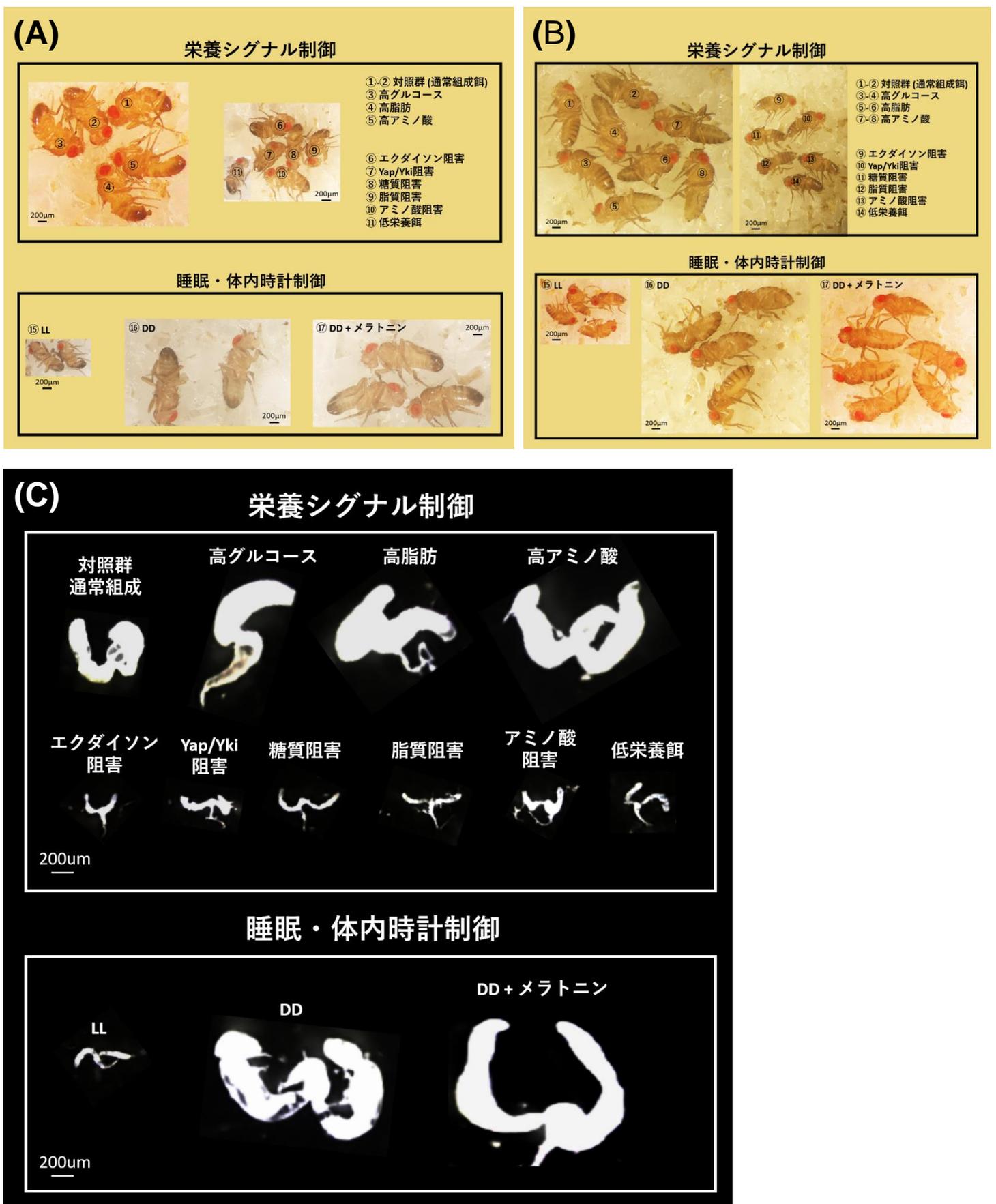
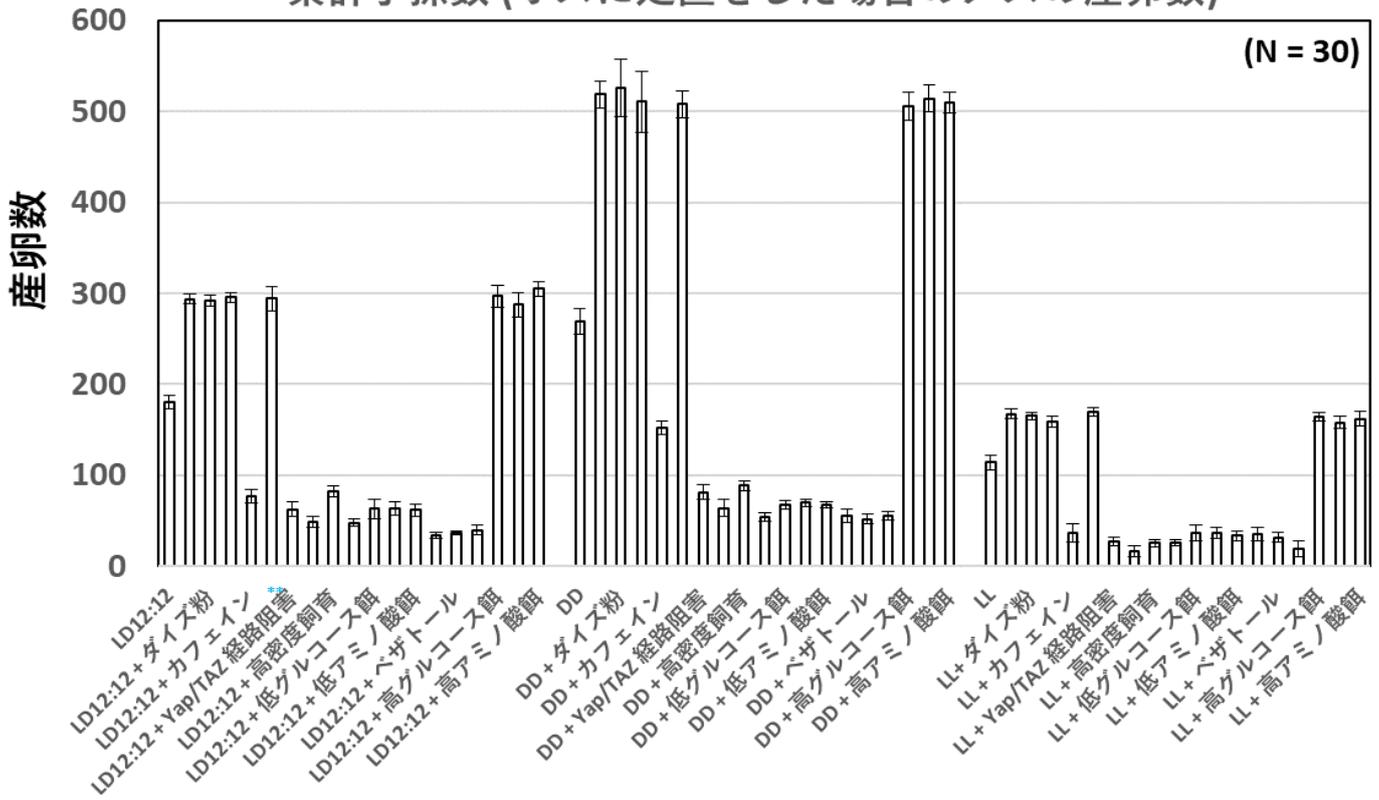


図 3. キイロショウジョウバエにおける生育環境が成長制御に及ぼす影響
 キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。
 羽化後にも生育条件を維持した。

累計子孫数 (オスに処置をした場合のメスの産卵数)



累計子孫数 (メスに処置をした場合のメスの産卵数)

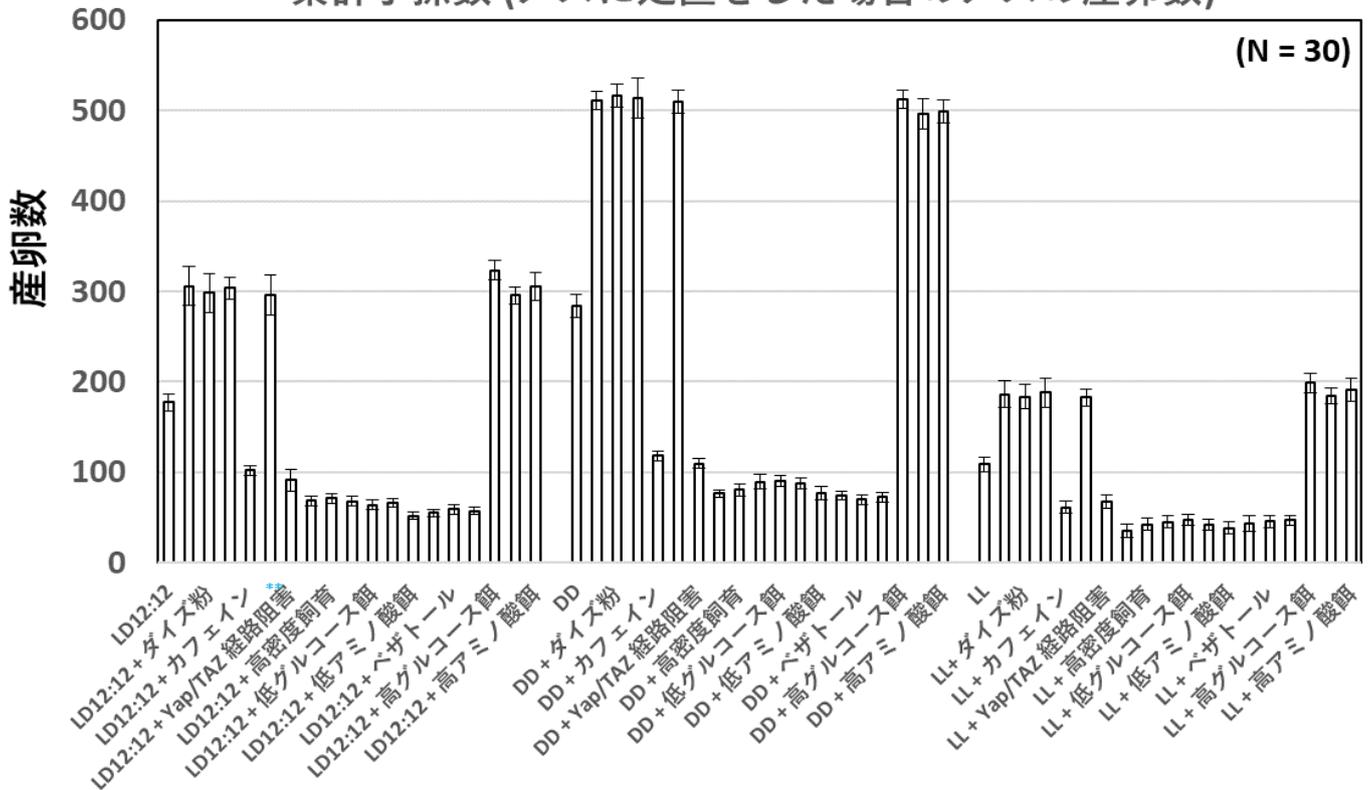


図 4 キロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-1

キロショウジョウバエ (wg 変異体) を羽化後にて、前述の条件で交尾させ、14 日間 産卵数を定量した。

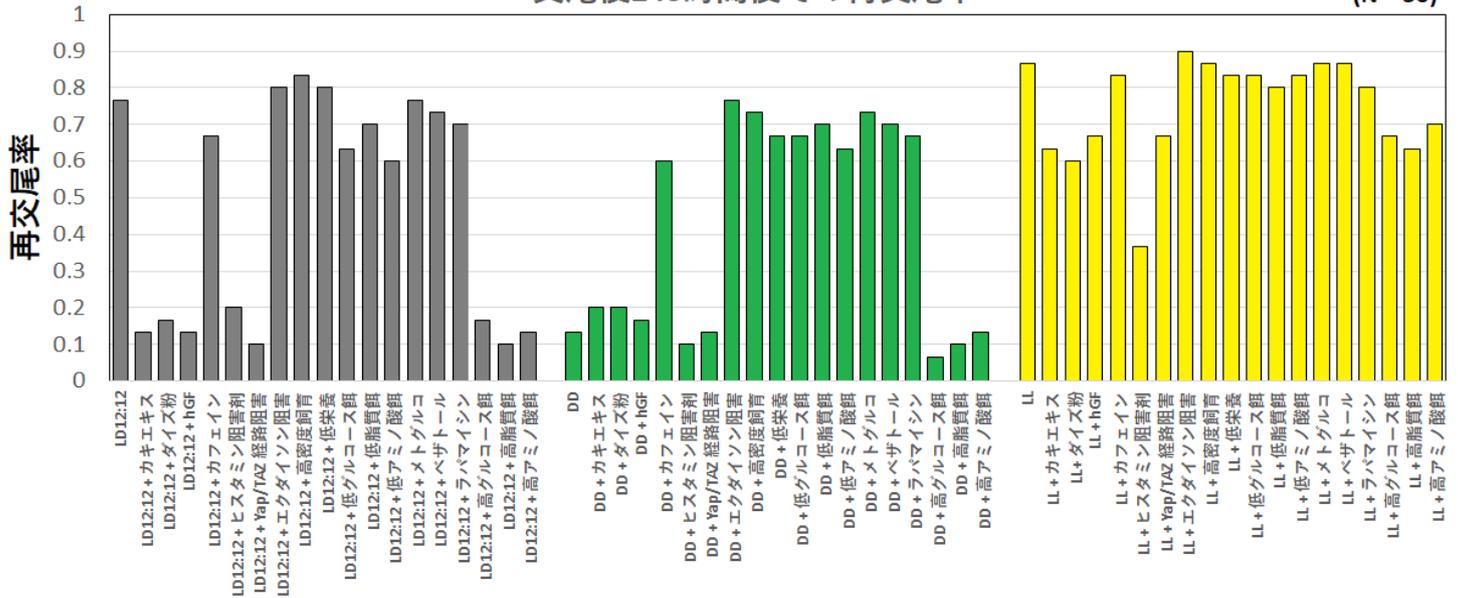


(A) オス側を処置した場合

(オスの精液成分の効果が変わる)

交尾後240時間後での再交尾率

(N = 30)



(B) メス側を処置した場合

(メス側がストレスを感じてしまう)

交尾後240時間後での再交尾率

(N = 30)

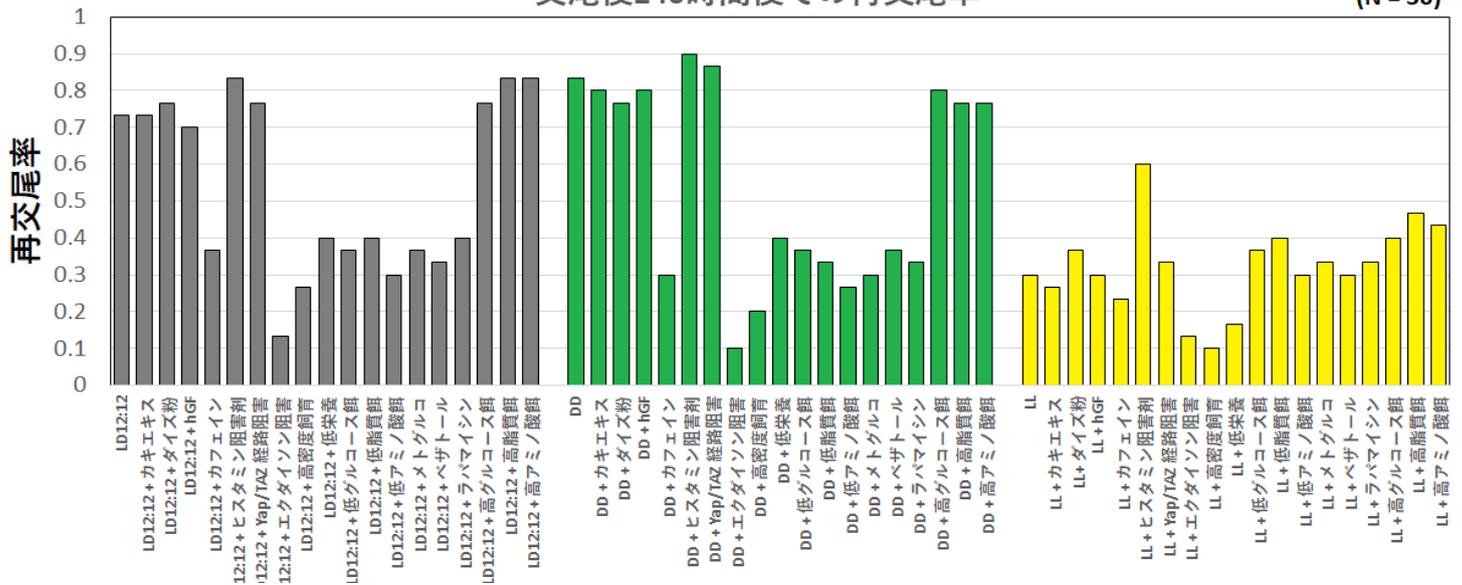


図 5 キイロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-2

キイロショウジョウバエ (wg 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。

羽化後にも生育条件を維持した。



各栄養/ストレス条件下における キイロショウジョウバエの遺伝子発現比較

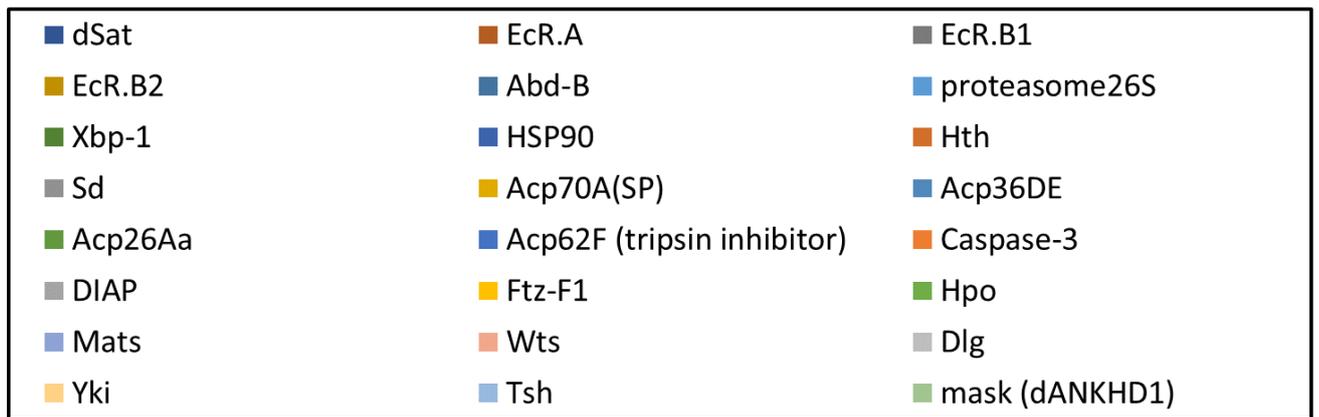
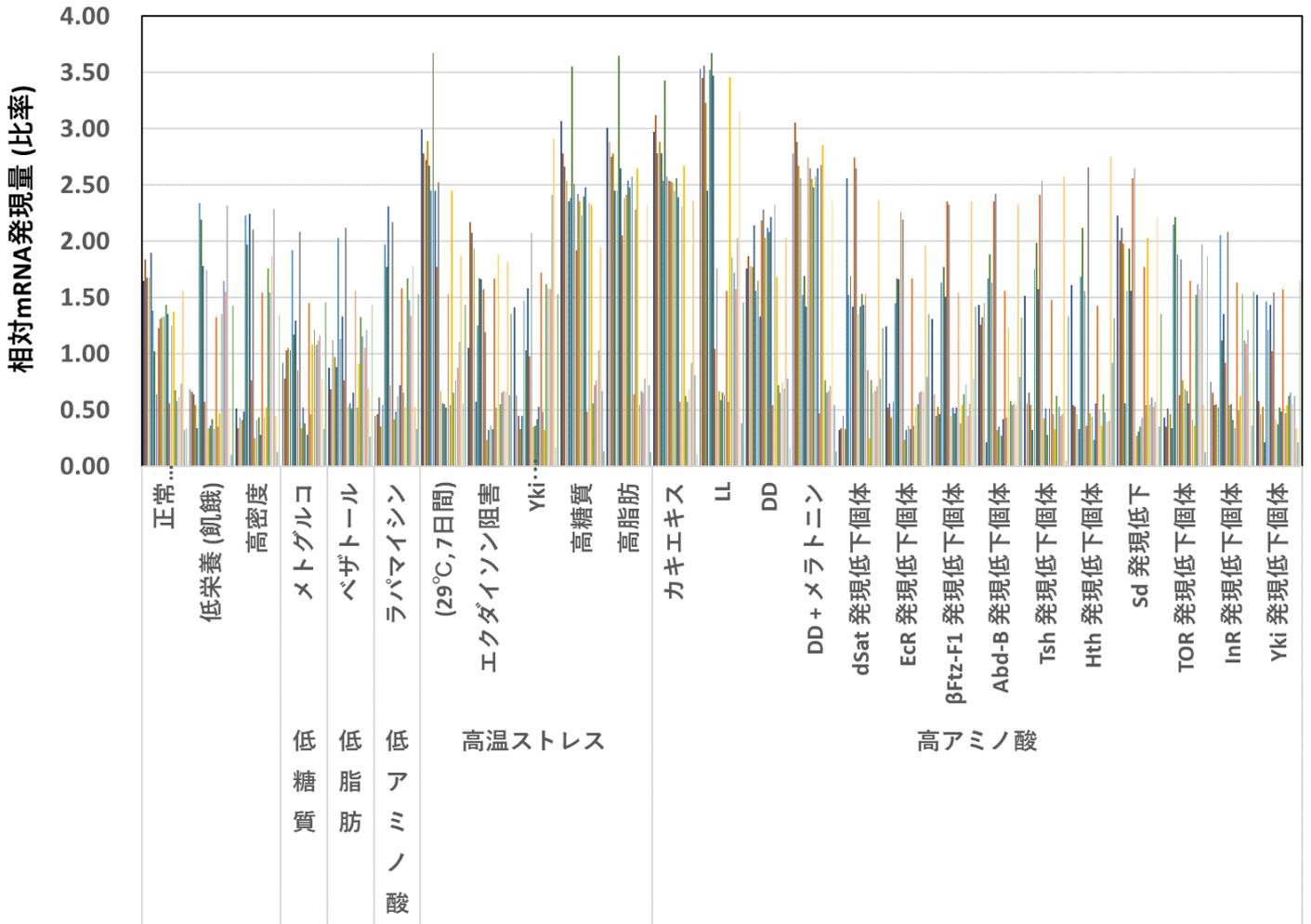


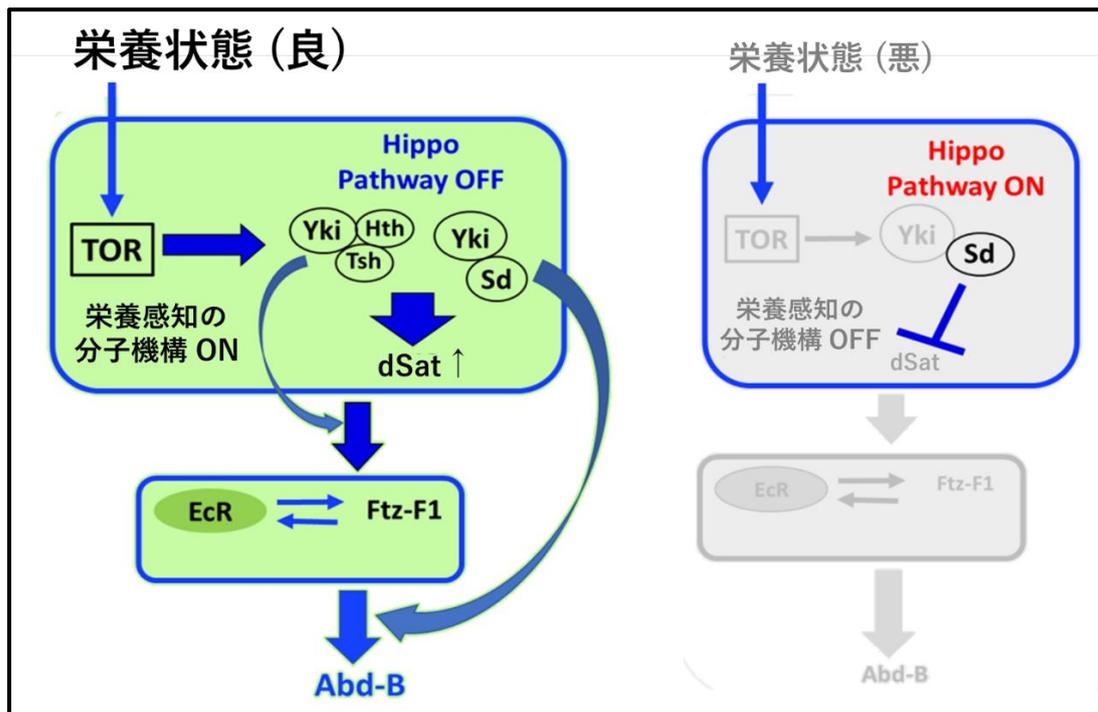
図 6 キイロショウジョウバエにおける生育環境が妊性制御に及ぼす影響-3

キイロショウジョウバエ (*wg* 変異体) 羽化後 7 日目にて撮影・解剖。羽化後にも生育条件を維持した。

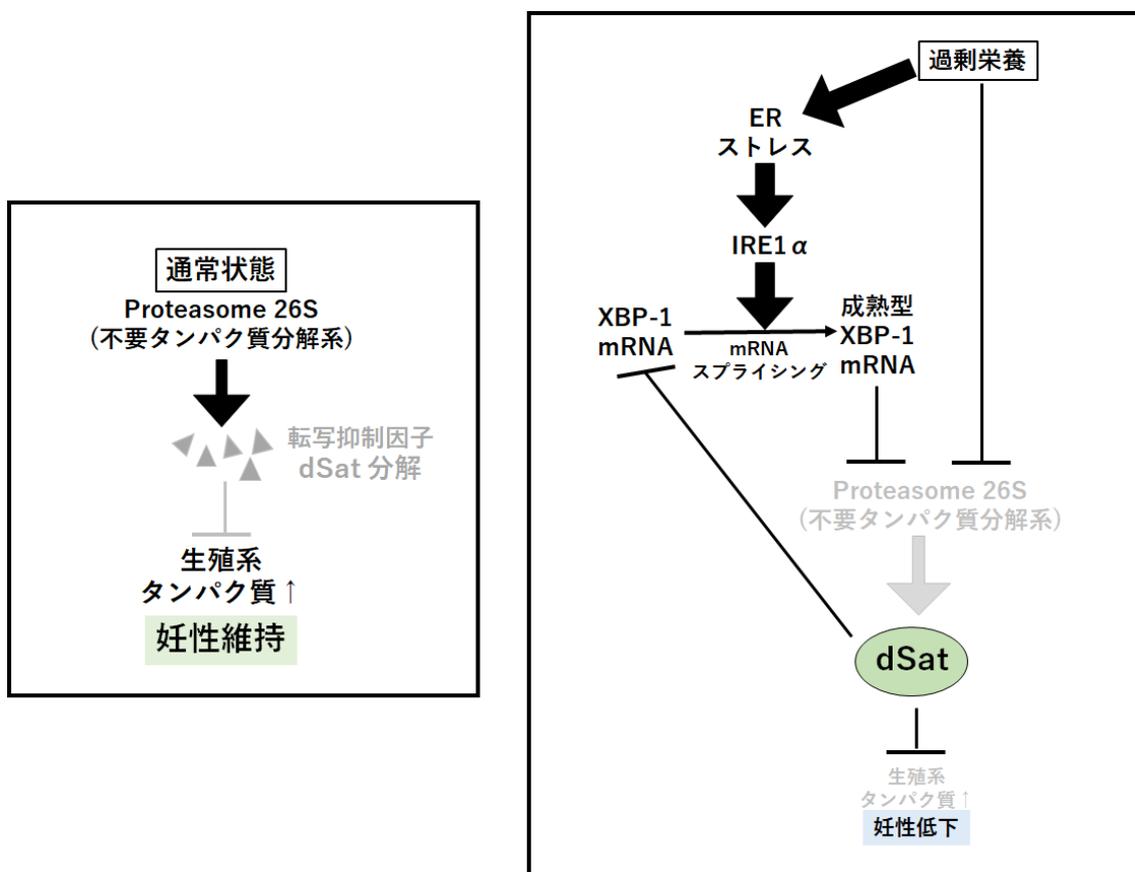
※ここでの **dSat** は **Type-A** を指す。

※ **XBP-1** は ER ストレス応答等に関与する成熟型の方を指す。

(A) ショウジョウバエ生殖腺第二細胞における栄養応答に関する分子機構



(B) ショウジョウバエ生殖腺主細胞における栄養応答に関する分子機構



参考 キロショウジョウバエにおける栄養状態と細胞生理・生殖腺細胞の制御機構モデル図

参考文献

- ・ 1) 第 41 回分子生物学会年会>[3P-0425] 栄養依存的な附属腺第二細胞の分化制御シグナル
- ・ 2) 第 42 回分子生物学会年会>[1P-0355] ショウジョウバエ附属腺の栄養依存的な分化制御シグナル
- ・ 3) 第 43 回分子生物学会年会>[3P-0223]
オスのショウジョウバエにおける栄養依存的な妊性の調節はエクダイソンシグナルによって微調整される
○ 松家 未来 1、上田 均 1、中越 英樹 1 (1.岡山大・院・自然科学)
- ・ 4) 第 43 回分子生物学会年会>[1P-0324] ショウジョウバエ附属腺におけるオスの妊性を制御するストレス応答
○ 鈴江 陽一郎 1、松家 未来 1、中越 英樹 1 (1.岡大・院・自然・生物科学)
- ・ 5) Halder et al., Development, 2011
- ・ 6) Zhao B et al., Genes. Dev., 2010
- ・ 7) Dev Cell > 2015 Jul 27;34(2):168-80. doi: 10.1016/j.devcel.2015.05.010. Epub 2015 Jul 2.
- ・ 8) Received 4 Jul 2016 | Accepted 11 Oct 2016 | Published 22 Nov 2016. DOI: 10.1038/ncomms13505
- ・ 9) Hippo pathway and Bonus control developmental cell fate decisions in the Drosophila eye
doi: <https://doi.org/10.1101/2021.09.05.458934>
- ・ 10) Nature Communications volume 12, Article number: 6684 (2021)>Published: 18 November 2021>
Ecdysone regulates Drosophila wing disc size via a TORC1 dependent mechanism
doi: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-26780-0>
- ・ 11) 水野 壮. 2016. 現代の昆虫食の価値—ヨーロッパおよび日本を事例に—The Value of Modern
- ・ 12) Entomophagy in the Case of Europe and Japan. 国際交流研究 : 国際交流学部紀要 18 巻. 159 – 178.
- ・ 13) 三戸 太郎. 渡邊 崇人. 岡部 慎司. 2020. 持続可能な次世代タンパク質源としての食用コオロギ. 生物工学. 第 98 巻. 第 1 号. P44-45.
- ・ 14) Taiki Miki, Tsugumichi Shinohara, Silvia Chafino, Sumihare Noji, and Kenji Tomioka. 2020. Photoperiod and temperature separately regulate nymphal development through JH and insulin/TOR signaling pathways in an insect. Proc Natl Acad Sci USA. Mar 10; 117(10): 5525–5531.
- ・ 15) 篠原 従道. 富岡 憲治. 2021. タンポコオロギにおける光周期と温度による幼虫発育の制御機構. 比較.生理生化学総説. Vol. 38, No. 1. P38-44
- ・ 16) Ayuko Kubo; Mirai Matsuka, Ryunosuke Minami, Fumika Kimura, Rumi Sakata-Niitsu, Akihiko Kokuryo, Kiichiro Taniguchi, Takashi Adachi-Yamada, Hideki Nakagoshi. 2018. Nutrient conditions sensed by the reproductive organ during development optimize male fecundity in Drosophila. Genes to Cells. Jul;23(7):557-567.
- ・ 17) Xu, J., Anciro, A. L., & Palli, S. R. 2015. Nutrition regulation of male accessory gland growth and maturation in Tribolium castaneum. Scientific Reports, 5, 10567. P1-11
- ・ 18) Eisuke Imura, Yuko Shimada-Niwa, Takashi Nishimura, Sebastian Hu-ckesfeld, Philipp Schlege, Yuya Ohhara, Shu Kondo, Hiromu Tanimoto, Albert Cardona, Michael J. Pankratz, and Ryusuke Niw. 2020.
- ・ 19) The Corazonin-PTTH Neuronal Axis Controls SystemicBody Growth by Regulating Basal Ecdysteroid Biosynthesis in Drosophila melanogaster. Current Biology30, 2156–2165. June 8.
- ・ 20) The FBXL family of F-box proteins: variations on a theme Bethany Mason and Heike Laman Department of Pathology, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QP BM, 0000-0002-1157-0469; HL, 0000-0002-6089-171X.
<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200319>
- ・ 21) フタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) のケアシート <[2002.10.27 \(クリックでリンク先へ\)](#)>
- ・ 22) ショウジョウバエ *mask* 遺伝子 <https://www.sdbonline.org/sites/fly/genebrief/mask.htm>



・ 因子 2) アホロートルにおける異種混泳・密度条件依存的な成長制御

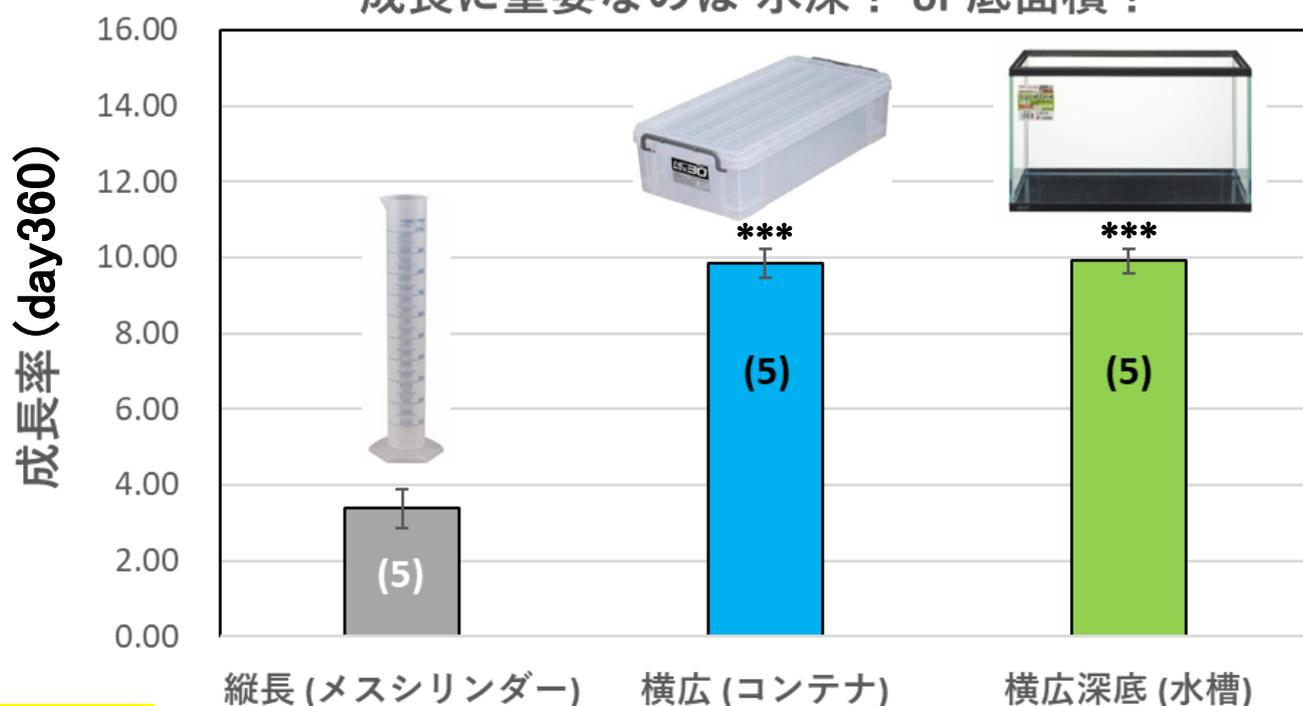
キロシヨウジヨウバエやカブトムシなどの昆虫類やメダカなどの魚類において、生育密度と生育面積の広さは、個体の適切な成長や生育速度と密接な関係があると言われており、広い所で飼育すればそれだけ大きくなりやすいとされている。

そこで、以下の2つの疑問 (1.底面積と水深、どちらを生体は検知しているか。 2.密度依存的な体長の決定はどのタイミングで確定して変更できなくなるか。) について、様々な飼育条件を設定することで、成長・生育への影響や成長制御の可塑性が失われるタイミングについて順次調査を行った。

表：飼育条件と生育率の相関を調査するための実験条件

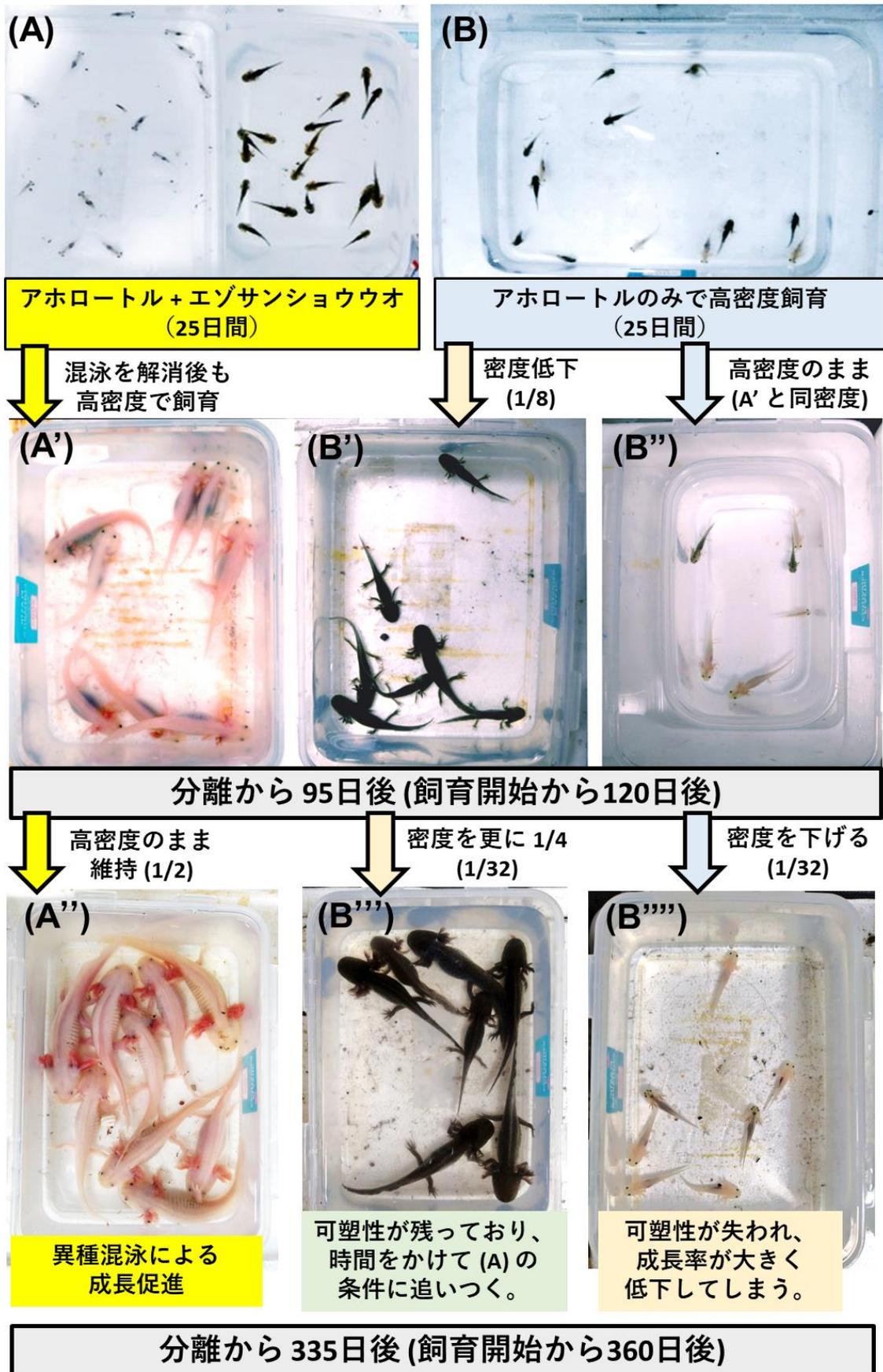
		縦長 (メスシリンダー)	横広 (コンテナ)	横広深底 (水槽)
		【3023-5441】 トラスコ中山 メスシリンダー 1000ml MS1000	JEJアステージ 収納ボックス 日本製 NC ボックス #30 積み重ね	GEX マリーナ 幅 60cm 水槽スリム ブラック MR600BK
容器サイズ		φ 61x3.14xH400 (mm)	619×277×H155 (mm)	600×275×H360 (mm)
アホロートル (0.3%ミネ水)	開始日 (mm); n=5	2.47	2.55	2.51
	day360 (mm); n=5	8.35	25.15	24.90
	成長率 (5匹の平均値の比較)	3.39	9.86	9.92
容器外見				

成長に重要なのは 水深？ or 底面積？



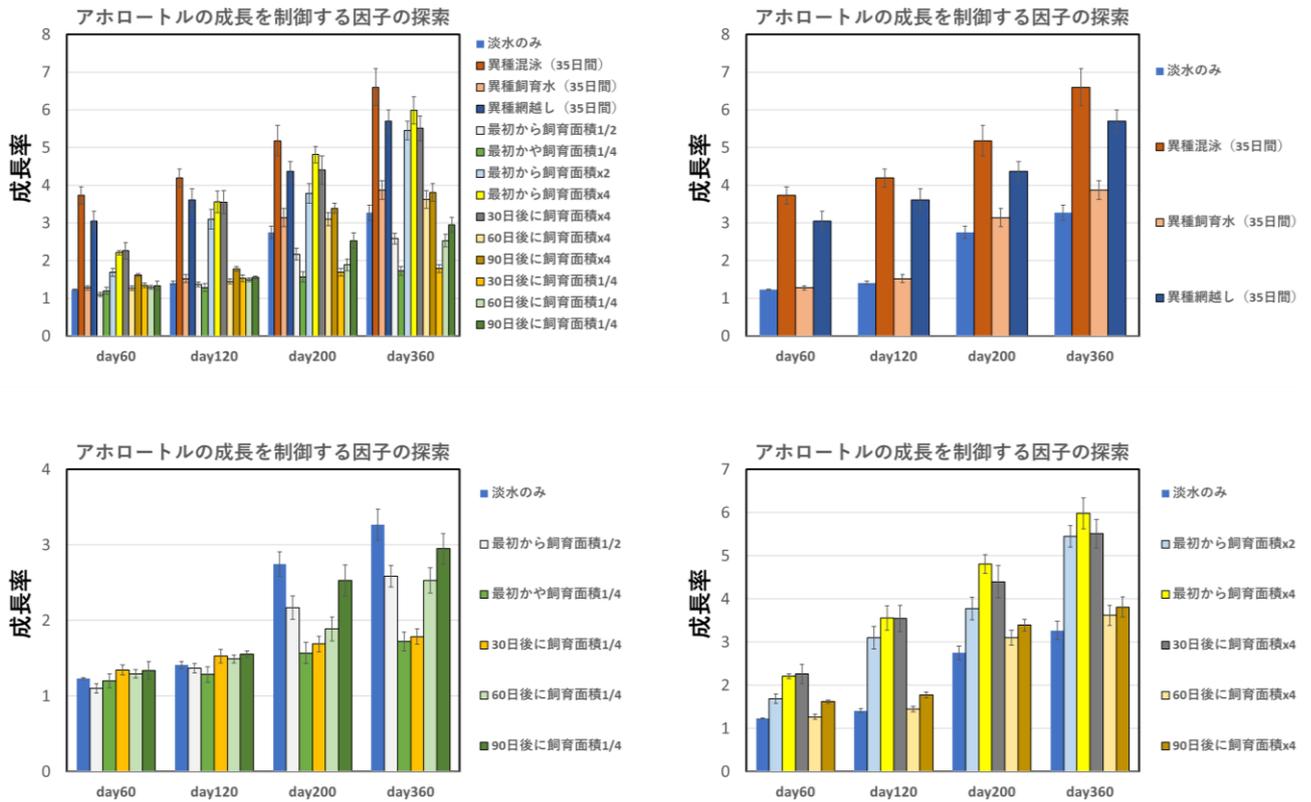
*** p<0.001

参考: 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



参考: 異種混泳および生育密度が成長に与える影響

※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。



参考：異種混泳・生育密度はアホロートルの成長・生育に影響を及ぼす

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？

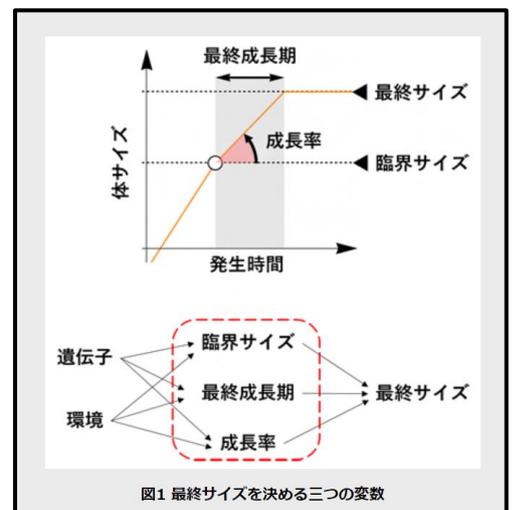
疑問・・・決定因子は何？水圧？どのように感知している？

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。

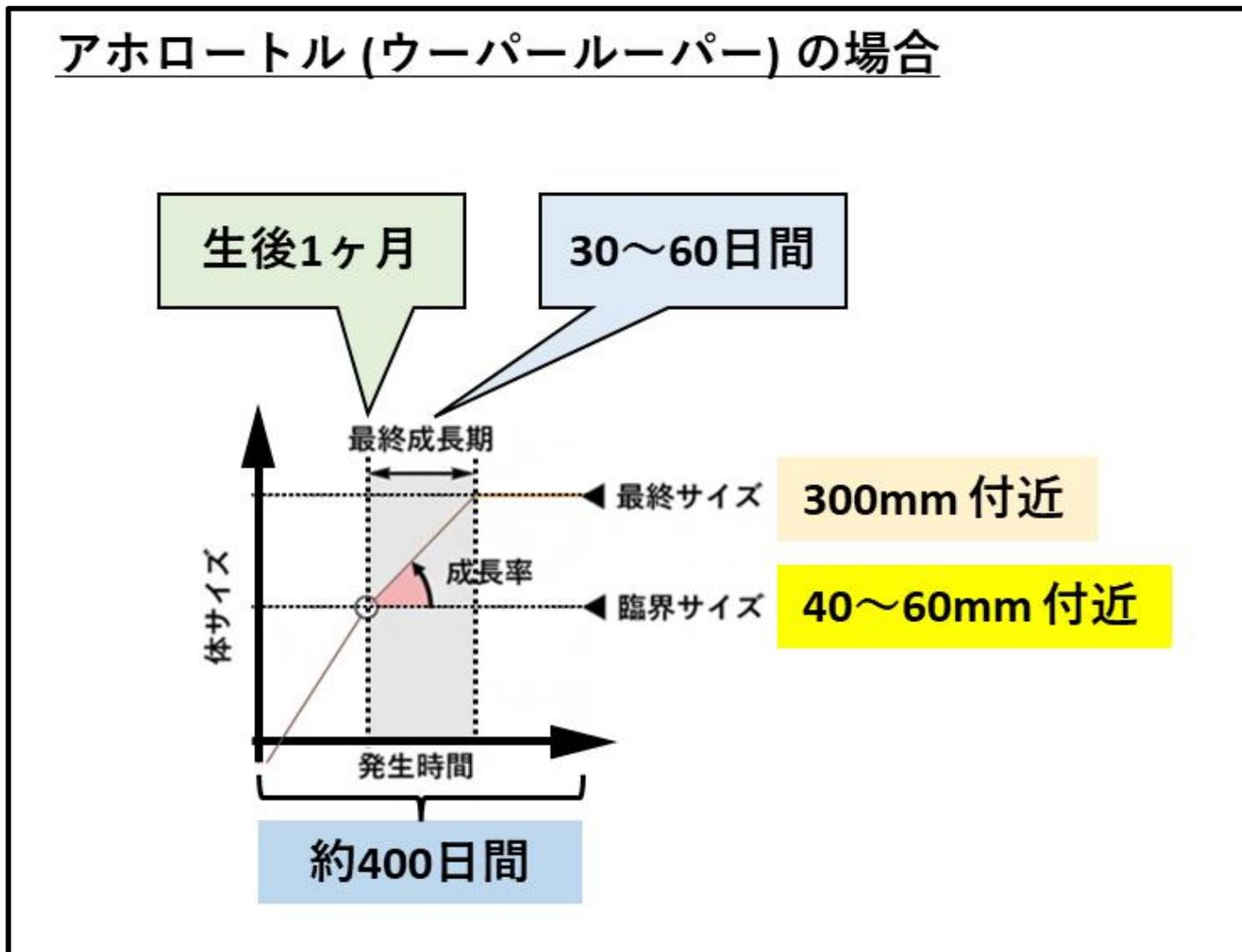
- ・ 性成熟の開始に必要な最低サイズである「臨界サイズ」
- ・ 臨界サイズに到達してから実際に成長が停止するまでの「最終成長期間」
- ・ 最終成長期における「成長率」



まとめ: アホロートルの成長の可塑性について

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。

以下、今回の結論に基づくモデル図を示す。



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

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)



＜ウーパールーパー研究報告＞

底砂・ソイルの主成分と土壤微生物・腸内細菌と生育について (22/9/1, 10/31, 23/3/26 改定)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*}; 高橋 慶 (フルボ酸・フミン酸に関する調査報告)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

以前、当ラボでは“アホロートル (ウパ) の成長に必要な因子の探索”という研究内容を報告した (参照: はるらぼ会報雑誌・ウーパールーパーだより Vol 1.3 (<https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCRTLxzfjvpl4FKe46mI/view>))。

今回はこれに付随して、土壤由来の成分の重要性について触れている。

1. ソイルや底砂に含まれる無機成分の重要性

当ラボ会報誌 **ウーパールーパーだより Vol 1.3**

(<https://drive.google.com/file/d/1DuwEjMVBZiCRTLxzfjvpl4FKe46mI/view>) の本文中でも、ウパの成長における底砂やソイルの重要性について触れているが、これまでの分析・解析の中で 濾過バクテリア と 無機イオンを含む無機栄養素 (炭素 C、ケイ素 Si、アルミニウム Al、鉄 Fe、カルシウム Ca、カリウム K、ナトリウム Na、マグネシウム Mg、マンガン Mn、リン P、硫黄 S、少量のヨウ素 I など) を含んでいることが明らかになってきた。

ソイルの主成分には、黒土【弱酸性; 組成: 火山灰 (ケイ素 Si, アルミニウム Al など) + 枯れた植物 (タンパク質, 炭水化物, 脂質, 葉緑素に含まれる ヨウ素 I)】や 赤土【弱酸性~弱アルカリ性; 組成: 火山灰 (塩素イオン Cl⁻, 硝酸イオン, 亜硝酸イオン, 硫酸イオン SO₄²⁻, 重炭酸イオン HCO₃⁻, アンモニウムイオン NH₄⁺, 鉄 Fe, カルシウム Ca, カリウム K, ナトリウム Na, マグネシウム Mg) が挙げられる。一方で、砂や砂利の主成分としては、ゼオライト (アルカリ性; 組成: ケイ素 Si, アルミニウム Al, 鉄 Fe, カルシウム Ca, カリウム K, ナトリウム Na, マグネシウム Mg, マンガン Mn) 等が挙げられる。このように、上記のような無機成分が水槽中の床材には多く含まれる。これは、天然の土壤成分とも一致しており、自然環境に近い状態を再現できているといえる。[5]

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	$K_{1.1}Al_{2.3}Si_{5.7}Al_{0.3}Fe_{0.7}Mg_{4.5}O_{20}(OH)_4$	1.0~1.5
モンモリロナイト	$K_{0.8}Al_{0.3}Si_{7.7}Al_{2.4}Fe_{0.9}Mg_{0.3}O_{20}(OH)_4$	0.7~1.2
緑泥石	$Fe_2Mg_4(OH)_{10}Si_4Al_2O_{20}(OH)_4$	0.1~0.4
アタパルジャイト	$Mg_3Si_8O_{20}(OH)_2(H_2O)_4$	0.2
ハロイサイト	$Si_4Al_2O_{10}(OH)_2(H_2O)_4$	0.05~0.5
カオリナイト	$Si_4Al_2O_{10}(OH)_2$	0.03~0.15

表 2: 植物体および土壌中の元素 (Bower 等)

元素	植物中 %	土壌中 %	元素	植物中 mg/kg	土壌中 mg/kg
C	45.4	2.0	Mn	630	850
O	41.0	49.0	Al	550	71000
H	5.5	—	Si	220	330000
N	3.0	0.10	Zn	160	50
Ca	1.8	1.37	Fe	140	38000
K	1.4	1.40	B	50	10
S	0.34	0.007	Sr	26	300
Mg	0.32	0.50	Pb	20	100
P	0.23	0.065	Cu	14	20
Ns	0.12	0.63	Ni	2.7	40
			Pb	2.7	10
			V	1.6	100
			Ti	1.0	5000
			Mo	0.9	2

表 3 土壌の組成* (乾燥土壌中の ppm)

元素	平均	範囲	元素	平均	範囲
Ag	0.1	0.01~5	Mg	5,000	900~6,000
Al	71,000	10,000~90,000	Mn	800	100~4,000
As	6	0.1~40	Mo	2	0.2~5
B	10	2~100	N	1,900	300~2,500
Ba	500	100~1,000	Na	6,300	700~7,500
Be	6	0.1~40	Ni	40	10~1,000
Br	5	1~10	Os	490,000	
C	20,000	7,000~50,000	P	650	2~200
Ca	13,700	7,000~50,000	Pb	10	10~25
Cl	0.06	0.01~0.7	Ra	8×10 ⁻⁷	3~30×10 ⁻⁷
Co	50		Rb	300	20~600
Ce	100		S	700	30~900
Cr	8	1~40	Sb	5	2~10 ²
Cu	190	9~3,000	Se	7	
Ca	6	0.3~25	Sn	0.2	0.01~2
Ca	20	2~100	Si	350,000	250,000~350,000
F	200	36~300	Sm	10	2~200
Fe	38,000	7,000~50,000	Sr	300	50~1,000
Ga	30	0.4~300	Th	5	0.1~15
Ge	1	1~50	Tl	5,000	1,000~10,000
Hf	6		Tl	0.1	
Hg	0.03	0.01~0.3	U	1	0.9~9
I	5		V	100	20~500
K	14,000	400~20,000	V	50	25~250
La	30	1~5,000	Zn	50	10~500
Li	30	7~200	Zr	300	60~2,000

* 最近の日本土壌肥料学会から発表された。Ag, Be, Cl, Ce, Ca, Ge, Hf, Hg, La, Sb, Sn, Tl および U は、データが十分少ないので省略する。

表 9 生物体中の元素の存在量 (乾燥試料中の ppm)

元素	細菌	藻類植物	魚類	哺乳動物*
Ag	0.28	0.06	11?	0.005
Al	62	550	10	<3
As	30	0.2	1.1	0.2
Au	0.012	<0.00045	0.0003	<0.009
B	120	50	20	<2
Ba	31	14		2.3
Be	(試液中 0.1)	<0.1		
Br	740	15	400	4
C	345,000	454,000	475,000	484,000
Ca	11,500	18,000	20,000	85,000
Cd	0.4	0.64	3	
Ce		<34		0.47
Cl	4,700	2,000	6,000	3,200
Co	0.7	0.48	0.5	0.3
Cr	1.3	0.23	0.2	<0.3
Cs	0.067	0.2	0.06	0.06
Cu	11	14	8	2.4
Eu		0.021		
F	4.5	0.5	1,400	500
Fe	690	140	50	160
Ga	0.5	0.05	0.15?	
Ge		0.3?		
H	41,000	55,000	68,000	66,000
Hg	0.03	0.015	0.3?	0.05
I	1,500	0.4	1	0.43
K	52,000	14,000	12,000	7,500
La	10	0.085	0.016	0.09
Li	5.4	0.1		<0.02
Mg	5,200	3,200	1,200	1,000
Mn	53	630	0.8	0.2
Mo	0.45	0.9	1	<1
N	15,000	30,000	114,000	87,000
Na	33,000	1,200	8,000	7,300
Nb		0.3		
Nd		<24		
Ni	3	2.7	1	<1
O	470,000	410,000	290,000	186,000

表 8 生物体の主な構成元素の含有率順序

水中動物 (みじんこ類)
O>H>C>N>Cl>Na>K>S,P>Ca>Mg

陸上植物 (牧草)
O>C>H>N>P>Ca>K>S>Mg>Cl

哺乳動物 (ヒト)
O>C>H>N>Ca>S>P>Na>K>Cl>Mg

表 11 海洋生物による海水からの元素の濃縮率*

元素	プランクトン	海藻	元素	プランクトン	海藻
Ag	210	240	La		8,300
Al	25,000	1,550	Li		8?
As		2,500	Mg	0.59	0.96
Au		270	Mn	9,400	6,500
B		6.6	Mo	25	11
Ba	120	260	N	19,000	7,500
Be		2.8	Na	0.14	0.78
Ca	5	7.2	Ni	1,700	140
Cd	910	890	P	15,000	10,000
Cl	1	0.062	Pb	41,000	70,000
Co	4,600	650	Ra	4,500	370
Cr	17,000	6,500	Rb		15
Cs		33	S	1.7	3.4
Cu	17,000	920	Si	17,000	120
F		0.86	Sn	2,900	92
Fe	87,000	17,000	Sr	8	44
Ga	12,000	4,200	Ti	20,000	3,000
Hg		250	V	620	250
I	1,200	6,200	W		87
K		34	Zn	65,000	3,400

* 濃縮率 = 新鮮な生物中の濃度 / 海水中の濃度

参照: 土壌中に含まれる無機成分の濃度・存在比について [5]



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)



らば独自の飼育法として、ゼオライト + ソイル + 砂利 (または セラミック製のリング濾材) を 1:1:1 の比率で混合し、層状にした構造にする ことで非常にクリアな透明な水の状態を維持することが可能であることが明らかになっている。

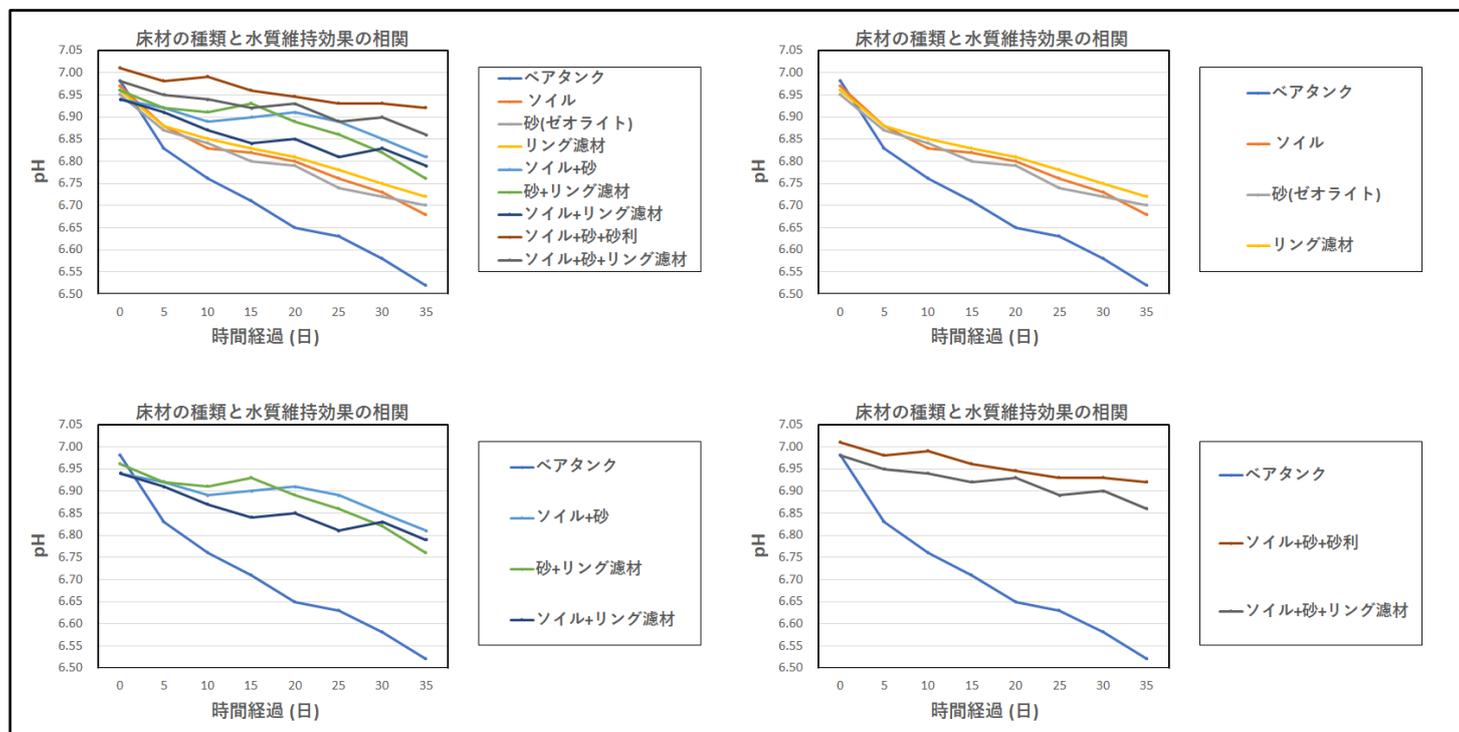
現在は、この条件が最も水が濁らず水質も安定していることから、飼育者の皆様にもオススメである。

下表およびグラフにて、前述の手法の有効性や水質管理における床材の重要性に関する過去の調査結果を示す。

表: 床材(底材・濾材) 毎の示す水質維持効果の比較

day	底材依存的な pH の経時変化							
	直後	5日後	10日後	15日後	20日後	25日後	30日後	35日後
ベアタンク	6.98	6.83	6.76	6.71	6.65	6.63	6.58	6.52
ソイル	6.97	6.88	6.83	6.82	6.80	6.76	6.73	6.68
砂(ゼオライト)	6.95	6.87	6.84	6.80	6.79	6.74	6.72	6.70
砂利	7.02	6.98	6.95	6.94	6.92	6.92	6.87	6.83
リング濾材	6.96	6.88	6.85	6.83	6.81	6.78	6.75	6.72
ソイル+砂	6.94	6.92	6.89	6.90	6.91	6.89	6.85	6.81
砂+リング濾材	6.96	6.92	6.91	6.93	6.89	6.86	6.82	6.76
ソイル+リング濾材	6.94	6.91	6.87	6.84	6.85	6.81	6.83	6.79
ソイル+砂+リング濾材	6.98	6.95	6.94	6.92	6.93	6.89	6.90	6.86
ソイル+砂+砂利	7.01	6.98	6.99	6.96	6.95	6.93	6.93	6.92

(20±2°C 条件下), 60cm 水槽 (GEX マリーナ SLIM MR600BKS),
 汽水0.15%条件下, 水替え無し, 生体 (約10~12cm x 5体),
 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)



参考: 床材の組成に依存的な水質保持効果の経時変化



これに関連して、自然界の水質では“フミン酸 [2]※”“フルボ酸 [3] ※※”という植物や土壌由来の有機酸が動植物の生育にとっても重要であることが知られており、ウパ所属の 高橋研究員 もフルボ酸の重要性について報告をして下さっています。

同氏は、ウパの生息地におけるフルボ酸の供給源は、古代メキシコのアステカ文明で行われていた農法である“チナンパ農法 [1] ※※※”であることを指摘しています。（以下、**Note 記事** https://note.com/lab_new2/n/n8456ea0a67a3 または、後述の同氏による**調査報告書** を参照のこと）。

※ **フミン酸**: 有機物質、特に植物の分解で作られられる。アルカリ(塩基性)水溶液に可溶性アルカリ性の物質を含む。天然のフミン酸は以下の3つのような生成のされ方をする。一時的なキレート効果(遊離したイオンと結合して沈殿・抑制する作用)や pH 干渉作用(水溶液中で遊離したイオンと化学的に平衡して緩衝する作用)はあるものの、後述するフルボ酸には劣る。

フミン酸の生成課程

- ① 動植物の遺体が地表の土壌中において土壌微生物によって分解・変成から更に合成等を経て生成される。
- ② 古代の動植物が地中に埋もれ石炭化の初期で、炭化があまり進まない段階で生成される。
- ③ 古代の動植物が一度石炭化された後、風化が進む段階で生成される。

※※ **フルボ酸**: 森林や土壌の中に存在する有機酸の一つで、植物にミネラルを補給する役目を担っている。フミン酸と異なり、酸性溶液に可溶性酸性物質である。土壌界では非常に希少価値が高い。キレート効果 や pH 干渉作用 はフミン酸よりも非常に高いとされる。フルボ酸は、前述のフミン酸を含む“天然の腐敗物質(フューミン)”の極々一部である希少成分という位置づけの存在である。

※※※ **チナンパ農法**: 沼地の表面の厚い水草層を切り取り、敷物のように積み重ねてつくった浮島の上に湖底の泥を盛り上げて作った湖上の畑のようなものを利用する農法のこと。このチナンパは、フローティングガーデンとも呼ばれ、かつてのアステカ文明の首都であるテノチティラトンの周辺(ウパの生息地としても知られる現在のソチミルコに位置する)で行われていた。

チナンパの跡地からは豆、カボチャ、サンザシ、ウチワサボテンなど、多くの種類の作物を栽培した痕跡が見つかっています。現在でもメキシコで行われている農法です。チナンパにおいて、作物の根は水に浸かるものの、植物でできた浮島は、水草と泥でできている為、現代のような水耕栽培の基準とは異なっていることが分かる。

2. 腸内細菌の重要性

これに付随して、はらばでは腸内細菌 [4] が成長に及ぼす影響や、pH の重要性、生育環境の影響などについても調査を続けております。

ヒトやマウスは勿論のこと、爬虫類や魚類においても腸内細菌の重要性については注目が集まっており、いくつかの報告も見られていることに加え、腸内細菌を強化するという効果を銘打った商品も販売されています。

現在の研究の中で、このように底砂やソイルに含まれるバクテリアの一部が腸内細菌として機能している可能性があることが分かってきております。また、後述の高橋研究員の報告書の中でも触れられていますが、植物成分の溶け出した飼育水である“ブラックウォーター”の中での飼育による生育促進効果について、その一因に腸内細菌の存在があることが示唆されています。

これまでの調査の中で、底砂を食べる食砂行動をする個体の方が成長が早い傾向があることや、底砂・ソイルのバクテリアを滅菌することで生育が大きく抑制されたことなどの結果が明らかになりました。これらの知見から、フミン酸・フルボ酸に加えて腸内細菌がウパの生育にとって非常に重要なことが分かります。今後とも、続報にご期待下さい。

注意喚起！：床材の選別と食砂による腸閉塞のリスク (22/10/31 追記)

ここまで、底材に含まれる無機成分やそこに生息する微生物のメリット、食砂行動によってそれらを摂取する重要性について多くの知見を挙げてきた。

しかしながら、時には底材の排泄が巧く行かずに腸閉塞を起こしてしまう個体も出現することも懸念される。

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)



基本的に、健康な個体であれば、適度な床材の摂取と排泄を巧く行い、摂取した床材は排泄に至るまでの間消化を色々な面で補助できる潜在能力を持っている。その一方で、何等かのストレスを抱えた個体（例：発情期のオス、空腹の個体、水質管理や騒音などで気が立っている個体 等）は本来の許容量以上の床材を飲み込んでしまい、腸閉塞を発症してしまうようである。

以下の写真提供者の飼育個体の場合、ペアタンクから砂利を敷いた環境への移動後、大量の砂利を食べ続けた後に後腸-肛門の間で詰まってしまい、数日間に渡り毎日排泄を余儀なくされてしまったとのことであった。

本個体における今回のトラブル発生因子の可能性は、1) これまでに床材の無い環境で育った、2) 砂利を食べつつけていることへの発見が遅れた という2点が挙げられる。



参考: 食べ過ぎた砂利で腸閉塞が起こってしまった例

写真提供: みかんかん DX 様 (Twitter @DX85577140)

ウーパールーパーを飼育している際に重要な点として、ひとえに〇〇が効く、△△はダメ！と断じるのはやや早計である場合があることである。

汽水(ミネ水)環境下での飼育も合わない個体も居る可能性があるし、今回のように本来の習性が悪く作用した結果として床材を過剰摂取してしまう個体も今回取り上げた個体のように当然存在し得えます。

何より大事なことは、我が子の性格や健康状態、普段のちょっとした挙動や習性・異変にとつて、如何にちゃんと気がつけるかにかかっているように思います。

床材の誤食・暴食が心配な場合は、**より粒の小さく細かいもの、棘の少ない丸い形状をした物** を選定することをオススメします。または、**袋入りのリング濾材など、直接的に個体が口にするできないような床材** を敷くようにするとより安全です。



袋入りリング濾材の例: GEX メガリング
楽天市場 (↑ 画像クリックでリンク先へ)



杉山がオススメのソイル: GEX ピュアソイル ブラック
楽天市場 (↑ 画像クリックでリンク先へ)

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)





図1: ウーパールーパーの様々な飼育環境

(A) ソイル (土) (B) 底砂 (砂利) (C) ソイルと底砂の混合 (D) ペアタンク
(E)-(E') ビオトープ → ブラックウォーターになるまで継続

水質が成長率に与える影響 (day200)

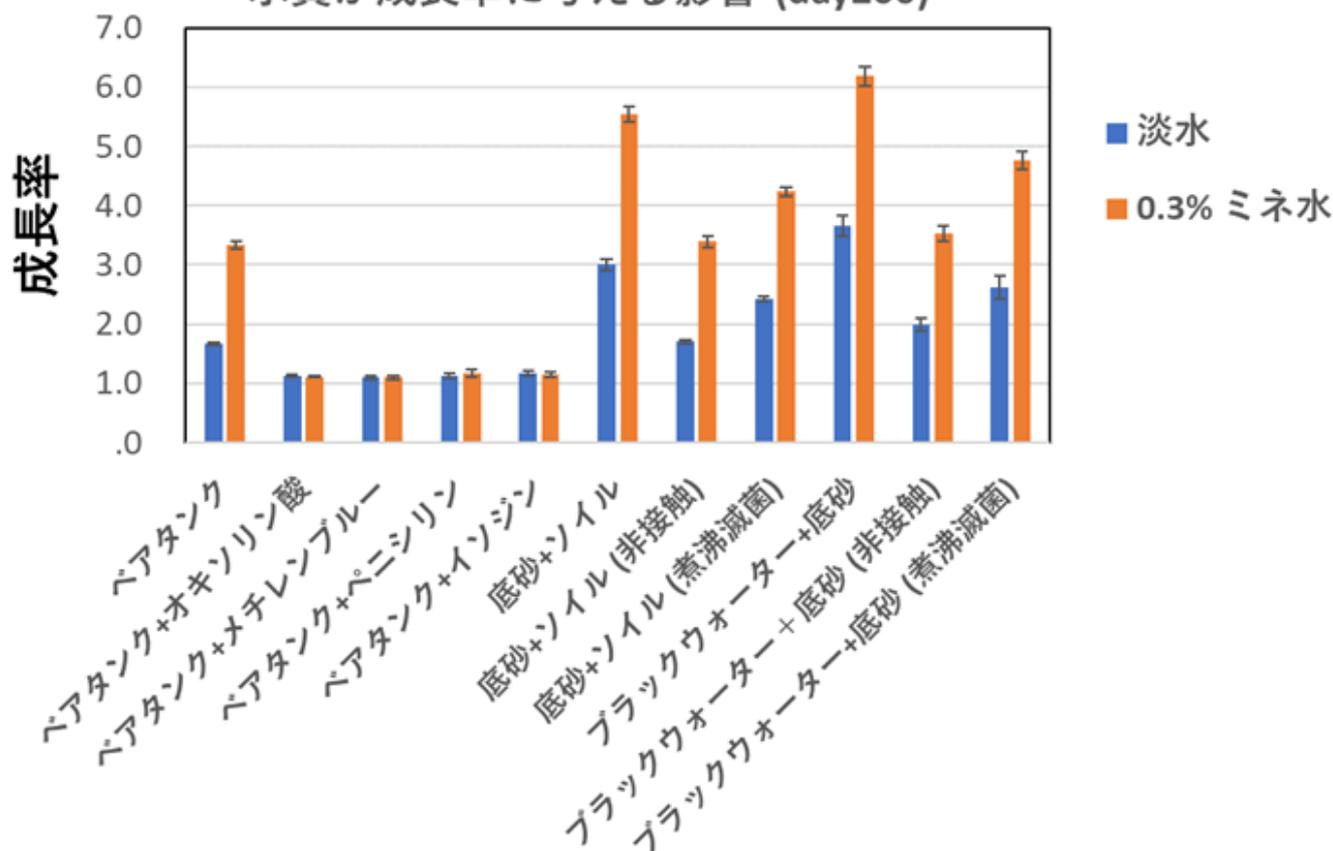


図2: 飼育水槽の水質が成長率に与える影響

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。

飼育下のアホロートルにおける食砂行動の観察 (24hr)

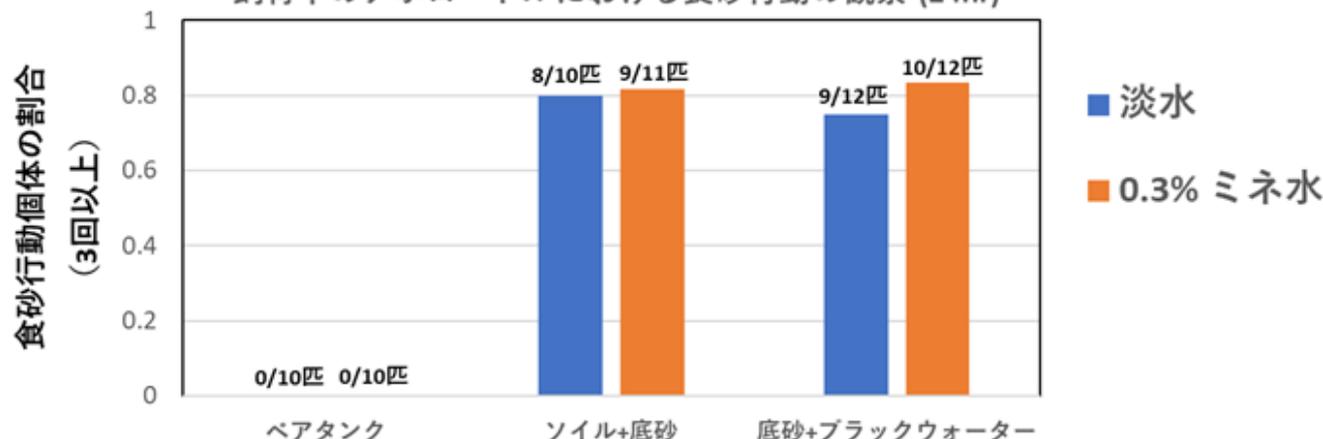


図3: 底砂と触れているアホロートルは食砂行動を示す

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。



図4:アホロートルの成長は 腸内環境依存的に調節されている

腸内細菌を強化することで、顕著な成長促進が確認できた。

一方で、腸内細菌が死滅するような餌・飼育水の条件下では殆ど生育できないことが分かる。

関連 はるらぼ note 記事

- ・ ウーパー水槽の床材の工夫 https://note.com/lab_new2/n/n7684060a95c2
- ・ ウーパーラーパーは、汽水と底砂ですくすく育つ！ https://note.com/lab_new2/n/nb89bb1877096
- ・ ウパの生育における土壌成分の重要性 https://note.com/lab_new2/n/n8456ea0a67a3

出典

チナンパ (ティナンパ) 農法 [1]

- <https://ulabo.com/a11.php>
- http://www.y-history.net/appendix/wh0204-007_2.html
- <https://www.kankyo-ryokka.com/blog/hydroponic-history01/>
- <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%81%E3%83%8A%E3%83%B3%E3%83%91>

フミン酸 (腐植酸) [2]

- 株式会社 日本フルボ酸総合研究所 <https://furubo.net/fulvic/>
- <http://www.telnite.co.jp/recruit/img/huminreview.pdf>

フルボ酸 [3]

- 株式会社 日本フルボ酸総合研究所 <https://furubo.net/fulvic/>
- <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%95%E3%83%AB%E3%83%9C%E9%85%B8>

腸内細菌 [4]

- 厚生労働省 e-ヘルスネット <https://www.e-healthnet.mhlw.go.jp/information/food/e-05-003.html>
- 大塚製薬株式会社 <https://www.otsuka.co.jp/health-and-illness/fiber/for-body/intestinal-flora/>
- J-stage 魚類の腸内細菌叢 (日本水産学会) https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan/78/4/78_WA1783-4/_article/-char/ja/
- <第 36 回 山崎賞> 魚類の腸内細菌叢の探索 <https://gakusyu.shizuoka-c.ed.jp/science/sonota/ronnbunshu/R1/193156.pdf>
- 爬虫類腸内細菌強化を狙った製品例: <爬虫類倶楽部> 腸内細菌用添加剤 <https://hachikura.cart.fc2.com/ca0/12527/p-r-s/>

土壌成分の組成 [5]

- ソイル および 黒土, 赤土 について
 - <https://horti.jp/13228>
 - <https://agripick.com/1721>
 - <https://mizukusasuisou.com/qa2-9/>
 - <https://www.pref.kagoshima.jp/ah14/kurashi-kankyo/sumai/reform/documents/kokuhai1-4.pdf>
 - <https://www.10-40.jp/column.jp/detail.php?co=156>
 - <http://www.nda.ac.jp/~yamaguch/5.pdf>
 - <https://kotobank.jp/word/%E8%B5%A4%E5%9C%9F-422717>
- ゼオライト (沸石; 化学式 $M_{n+1}m(AIO_2)_x(SiO_2)_y \cdot yH_2O$) について
 - <https://metoree.com/categories/2610/>
 - <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%BC%E3%82%AA%E3%83%A9%E3%82%A4%E3%83%88>
 - http://www.landbell.jp/images/pdf/bell-lite_kiso.pdf
 - <http://www.zeolite-ia.com/zeolite.html>
- 畜産技術情報 > 土壌の構成元素 <https://livestock.snowseed.co.jp/public/571f58cc/571f58cc60278cea/571f58cc306e69cb621051437d20>
- J-stage > 科学教育 > https://www.jstage.jst.go.jp/article/kagakukyouiku/20/3/20_KJ00003480090/_pdf
- 土壌分析結果の見方 ~知っているのと圃場状態のイメージが湧くポイントとは~ 技術研究所 篠田 英史
<https://www.snowseed.co.jp/wp/wp-content/uploads/seednews/386-03.pdf>

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)



<ウーパールーパー飼育案内>

アホロートル・魚類の”睡眠”と体色制御 (22/9/25~23/11/12)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主筆執筆) ^{1*}, 萩原 和晃 (実験系の設計・データ取得) ¹, あすみ 悠 ¹; 枝豆やみん ¹ (魚類における再現性確認)

所属: ¹ウーパールーパー研究室はらば

詳細: *主任研究者 **責任著者

トピック 1: ウーパールーパーは“睡眠”を摂るのか？

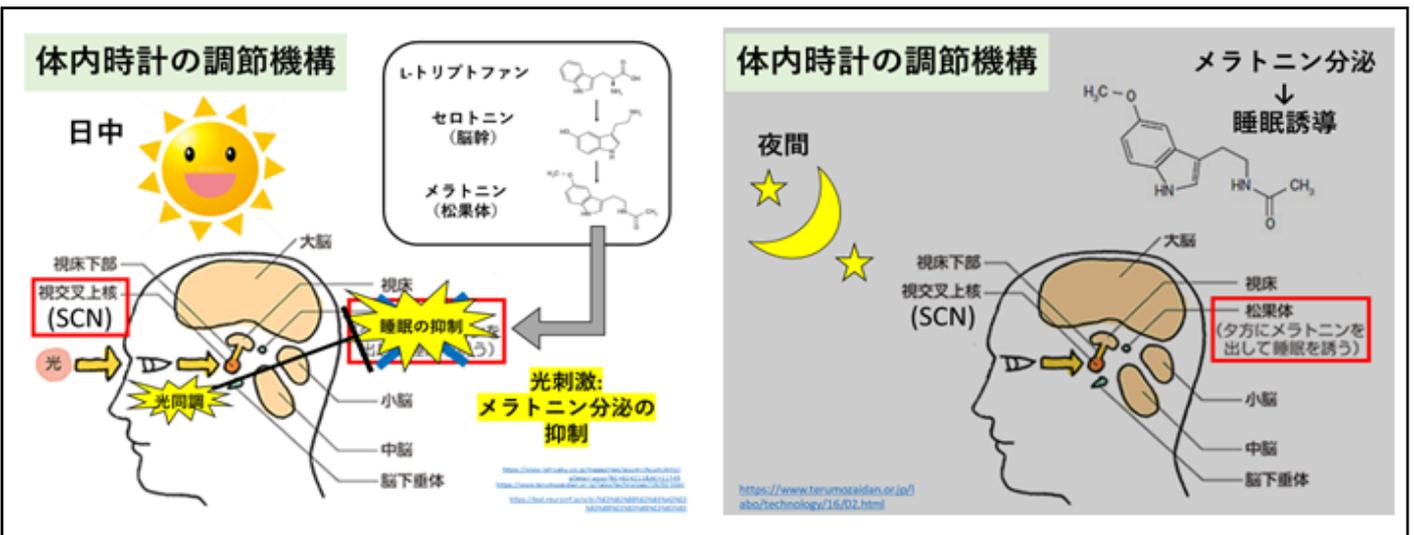
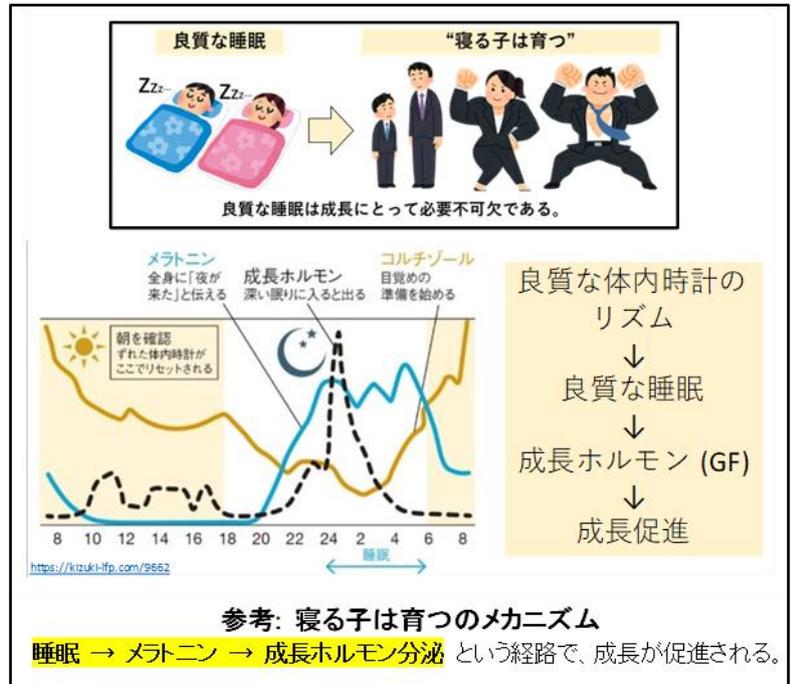
“睡眠”は、生物の適切な成長・生育にとって必要不可欠な生命活動の一つである。ヒトの場合は、良質な睡眠を摂取することが

心身の健康と成長に非常に重要なことが知られており、夜間の睡眠導入因子であるメラトニンの分泌と成長ホルモンの分泌が必要不可欠であることが分かっている。これが所謂、“寝る子は育つ”のメカニズムである [1-7] (右図参照)。

何気なくふと疑問に思う時がある。両生類や魚類は、所謂人間のようなスタイルで“睡眠”を摂取しているのだろうか？
そもそも寝ているのか？

尚、光受容と概日リズムの制御については、**ウーパールーパーだより Vol 2** および **ウーパールーパーの飼育係過去記事 vol 2.4_トピック 3** にて触れている。我々の調査の中で、**眼で発**

現している光受容タンパク質 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 ことを明らかにしてきた [A-B] が、メラトニンの分泌・応答性の一つの指標でもある 体色変化に関して、本記事で再度詳細を解説したいと思う。



参考: 視交叉上核における光受容 および 松果体における L-トリプトファンからのメラトニンの生合成・分泌のメカニズム

哺乳類の光応答と体内時計の制御はこちらの模式図に示すように、朝に日光由来の強い光（10,000ルクス以上）を眼から受容し、その刺激（光刺激）が脳の視交叉上核へと伝達される。この光刺激が、松果体からの睡眠導入因子メラトニンの合成・分泌を抑制することで日中の覚醒状態を維持させている。また、この光刺激により、食料によって摂取されたL-トリプトファンを用いて、日中に脳幹にて快感物質の一つとされるセロトニンを生合成する。一方で、夜間に松果体にてメラトニンを生合成・分泌するためにこのセロトニンは必要不可欠であり、朝の光刺激は夜間の快適な睡眠にとっても必須の因子であることが分かっている [1-15]。

尚、光の強さ（照度）の目安については、以下の表をご参考のこと。

表 1: 場所（状況）と照度（ルクス）の目安一覧表（文献 [14-15] 参照）

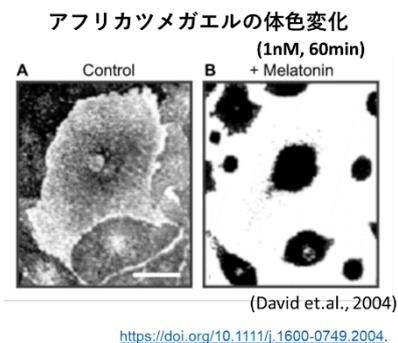
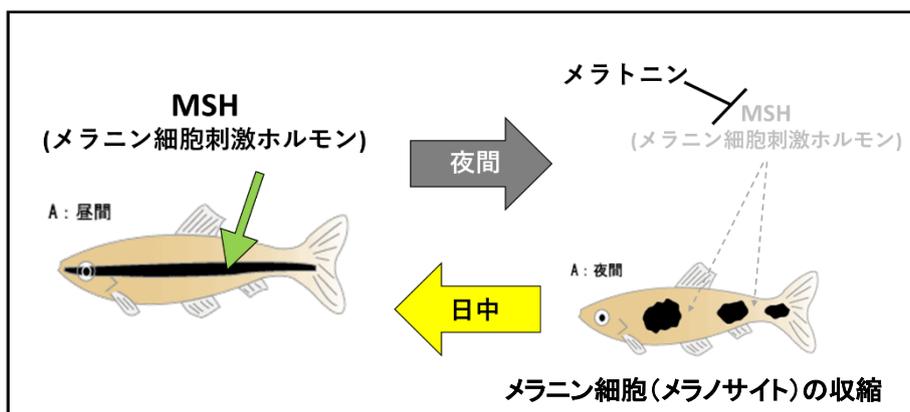
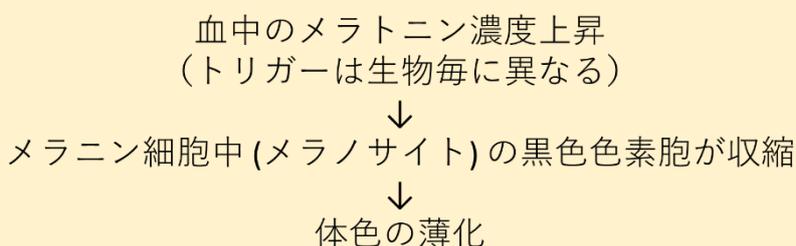
場所	照度 (ルクス)
雪山・真夏の海岸	> 100,000
晴天昼太陽光	100,000
晴天午前10時太陽光	65,000
晴天午後3時太陽光	35,000
曇天昼太陽光	32,000
曇天午前10時太陽光	25,000
視交叉上核で体内時計がリセットされる明るさ	2,500~10,000
高照度光治療に用いられる光強度	5,000~10,000
曇天日出1時間後太陽光	2,000
晴天日入1時間前太陽光	1,000
パチンコ店内	1,000
百貨店売場	500~700
蛍光灯照明事務所	400~500
日出入時	300
30W蛍光灯2灯使用八畳間	300
夜のアーケード	150~200
街灯下	50~100
ライター (30cm)	15
ロウソク (20cm)	10~15
市民薄明(太陽天頂距離96度)	5
月明り	0.5~1.0
航海薄明(太陽天頂距離102度)	0.01
天文薄明(太陽天頂距離108度)	0.001

トピック 2: メラトニンによる魚類・両生類の体色変化制御

ここまで取り上げたメラトニンは、魚類や両生類の体色変化の制御にも関わっていることが知られている。日中は、MSH (メラニン細胞刺激ホルモン) の作用により、メラニン細胞中の黒色素は広く拡散しており、魚類や両生類のまだら模様の形成等にも関わっている。一方で夜間や暗闇になると、メラトニンがMSHと拮抗することでメラニン細胞が収縮し、体色が白化することが報告されている。このメラトニンによる体色変化は、夜間の活動量低下と連動していることが既存の研究からも明らかになっている [A, B, 16-25]。

これらの先行文献・報告に基づき、当ラボでは所謂“睡眠”時に体色変化が起こる、すなわち魚類や両生類も睡眠にはメラトニンが関与しており、メラトニン分泌に伴って体色も白化することで環境に適応しているという仮説を立てた。一方で、魚類や両生類が体色を変化させること、そこにメラトニンが関わることは報告が見られる一方で、実際にメラトニンが魚類や両生類においても“睡眠”を制御しているかどうかについては、現在も十分な知見や報告は殆ど見られていない。それだけ、生物における“睡眠”を示すことは非常に難しい課題であり、本来は臨床的な側面も考慮し、脳波や血流等・活動量などの情報を併せて総合的な評価を行う必要がある。

<睡眠導入因子メラトニンと体色変化>

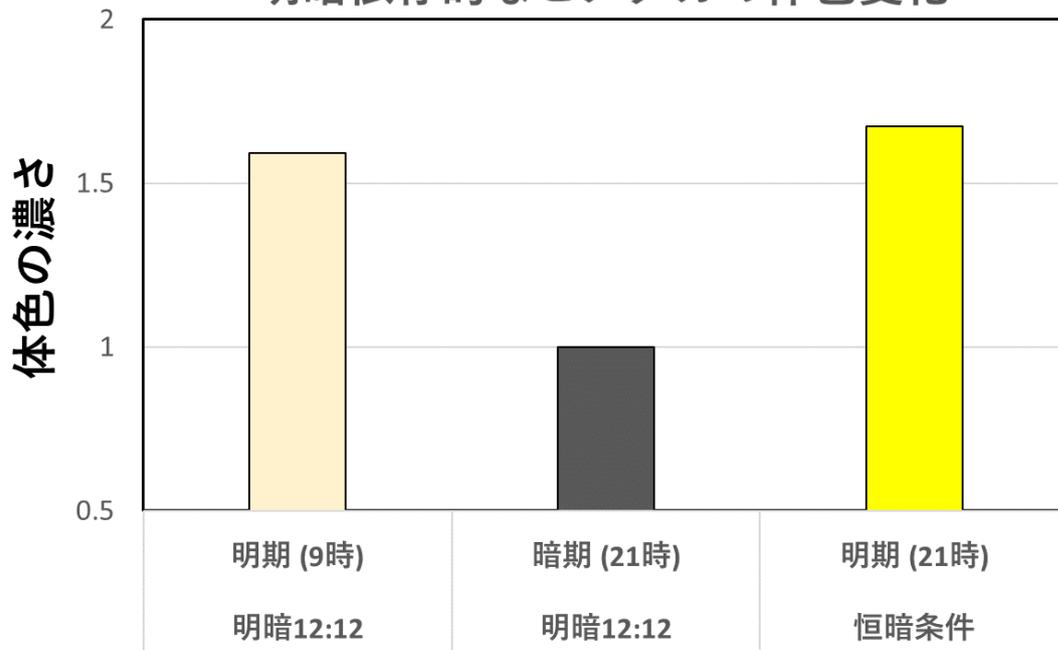


<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>
<https://ameblo.jp/kozoshoku/entry-12543597455.html>

参考: 魚類・両生類におけるメラトニン依存的な体色変化の制御

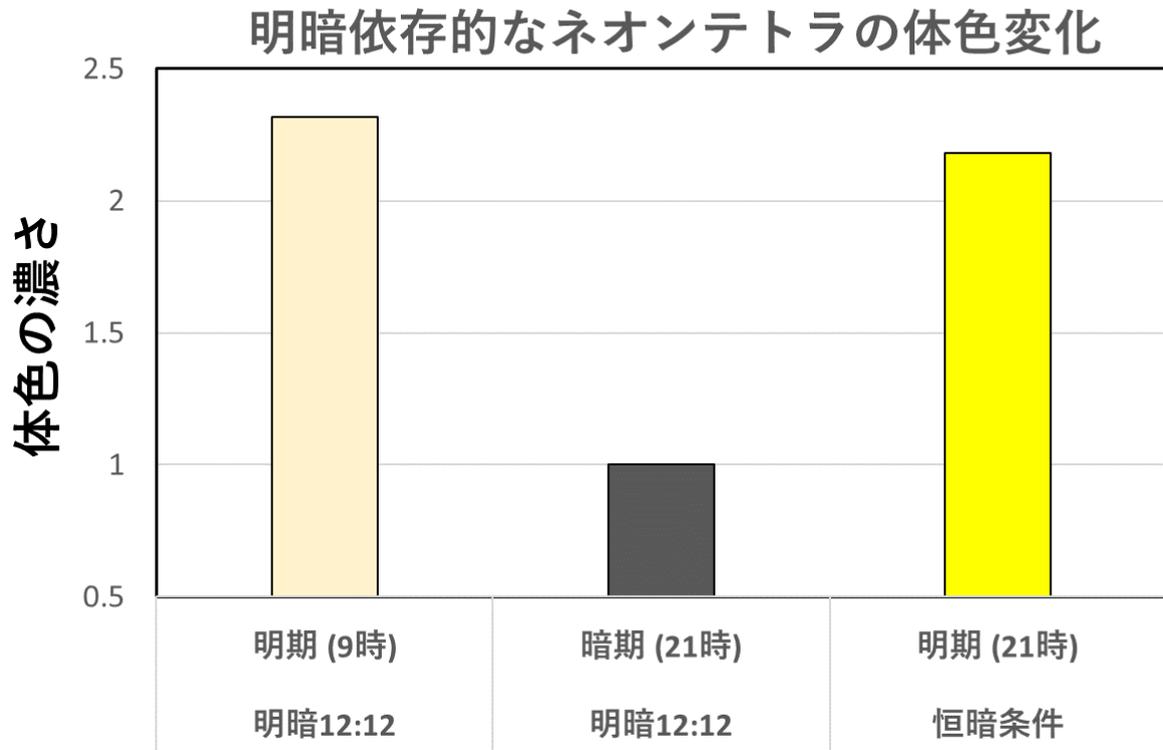


明暗依存的なヒメダカの体色変化



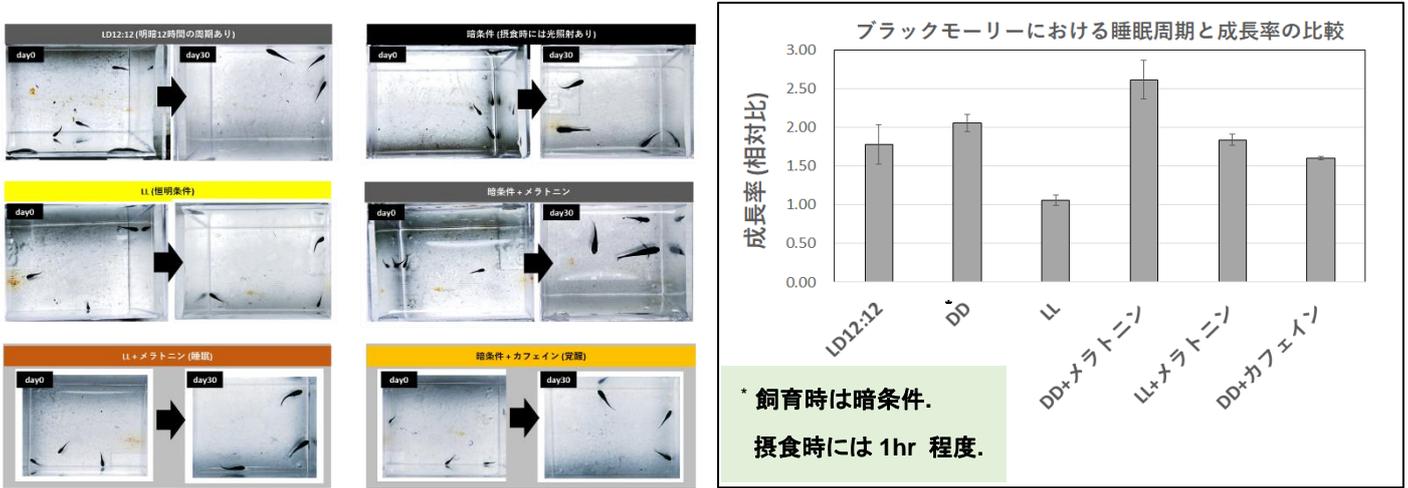
参考: ヒメダカを用いた淡水魚の体色変化に関する検証結果

杉山がヒメダカを用いて、体色変化について観察・定量を行ったところ、上記のような結果が得られたことから、明暗周期と体色変化の間にはある程度の相関があることが示唆された。



参考: ネオンテトラを用いた淡水魚の体色変化に関する検証結果

更に、杉山がネオンテトラを用いて、体色変化について観察・定量を行ったところ、上記のような結果が得られたことから、ヒメダカの結果と併せて、明暗周期と体色変化の間にはある程度の相関があることが示唆された。



参考: ブラックモーリーを用いた淡水魚の成長制御に関する検証結果

更に、杉山がブラックモーリーを用いて、明暗周期と生育率の相関について確認・検証を行った結果、アホロートルの場合と同様、疑似的な睡眠状態で生育した個体が相対的により高い成長率を示すという結果が得られた。

ブラックモーリーは黒体色が強く、体色変化との連動は巧く確認できなかったが、少なくとも睡眠と成長の相関が魚類にも存在している可能性を肯定した一つの根拠となり得る結果であると考えられた。

更に追加の結果が得られ次第、順次、更新・共有していく予定。

尚、魚類の体色変化による睡眠（と連動した成長制御）のモニタリングについては、当ラボ所属の研究者である あすみ 悠 氏 および 枝豆 やみん 氏 に追加調査を依頼しており、あすみ氏は複数の色柄を持つ改良メダカについて やみん氏は複数の熱帯魚について各々調査中である。

以下、ここでは無事に立ち上げが完了した やみん氏 および あすみ氏 の研究計画・報告書を公開し、調査の途中経過について併せて報告したい。

【予備実験報告書 1】

観賞用熱帯魚の遮光による発色と活動量への影響 20220827

著: 枝豆 やみん 監修: 杉山 遥

1.目的

観賞用熱帯魚の遮光による影響を観察する。
その多様な色彩の鑑賞性から古くより親しまれている熱帯魚において、水質(※1)や使用する照明、床材を含む環境の色により色彩(発色)を変化させることが知られている。特に輸送時における遮光の影響は顕著であり、1時間程度でも極端に体色を薄く変化させる。この時、大抵の場合は新しい環境への警戒の為その場から動かなかったり隠れていることが多いが、それが単純な警戒故か、睡眠等による活動量の低下かは不明である。
今回の観察では短時間の遮光により発色、活動量が変化するかを確認しより長期的な影響を予測するための事前検討を行う。



Fig.1 観察対象の育成環境

2.内容

発色の個体差を鑑みて複数匹を1グループとして時間差による観察を実施する。
記録者の飼育環境は木造2階建てのリビングであり、生体への睡眠サイクルには水槽用照明の点灯の他に通常の室内用照明が影響している。(Fig.1)
照明の点灯サイクルは人間の生活及びアプリケーションにより制御されている(Fig.2)ためこれに応じて生体の睡眠サイクルも決定していると考えられる。
日頃の観察より06:00時点では活動していない生体も多く、08:00時点では生体が活動を開始していることを把握している。
遮光による活動量への影響を確認するため、意図的に睡眠サイクルを乱すことで短期的な遮光が睡眠サイクルに与える影響を確認し、同時に発色の度合を観察することで遮光による活動と発色の関連性を検証する。

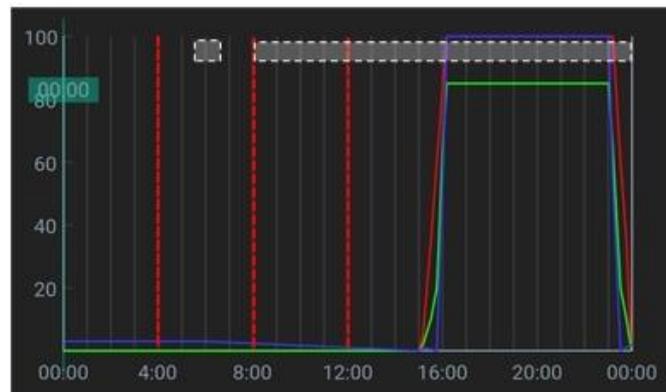


Fig.2 飼育水槽への照射サイクル
赤/緑/青の実線:水槽用照明のRGB出力
白色の塗りつぶし:室内用LED照明のたまかな点灯時間
赤点線:観察時間
(Chihiros WRGB II 用のアプリケーションから抜粋、加筆)

3.対象

観察は睡眠サイクルへの影響を確認したいため、活動開始の08:00を基準に±4時間(※2)の04:00、12:00を設定し計3グループで行う。
前述の通り観察結果から個体差を除外するため複数匹を用意する必要があり、飼育している生体の中から発色の識別が容易かつ十分な数を用意できるブラックネオンテトラ(Fig.3)を選定した。
この生体は光沢のある青白いライン(A)、黒色の太いライン(B)が特徴である。発色が不十分の場合はラインBが薄まり途切れる(Fig.4)ため照明点灯後の発色度合を観察する指標となる。
飼育水槽から可能な限り体格、発色が揃った個体を9匹選定し、各3匹の3グループに分けて観察を行う。

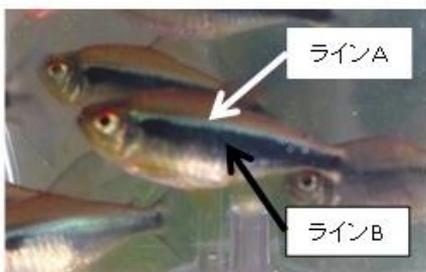


Fig.3 十分に発色しているブラックネオンテトラ



Fig.4 発色が不十分なブラックネオンテトラ

4.手順

対象に限らず、観賞用熱帯魚はpH、栄養塩、硬度、溶存酸素量等多くの水質のパラメータから発色、活動量のみならず生存においても多大な影響を受けていると考えられる。観察結果から遮光以外の要因を排除する為、下記の環境を用意した。

4-1: 飼育水槽と水質、水温を変化させない為に水合わせ用の簡易的なオーバーフロー形式のケース2つ(Fig.5)

4-2: 飼育水槽に直接設置するスドー社製 外掛式産卵飼育ボックス サテライト1つ(Fig.6)

これら3つのケースにダンボール及び黒色不透過のビニールで簡易的に遮光を行う。

4-1ケースを04:00時観察のグループα、12:00時観察のグループθ、4-2ケースを08:00時観察のグループβとして割り当てる。

サテライトをβとしたのは飼育水槽と同様の照明点灯サイクルの為、他の2グループと比較し飼育水槽と環境が近くても問題ないと考えたためである。(※3)

観察の流れは以下の通り。

①観察時間において対象ケースを環境より切り離し、観察地点(飼育環境より水平距離で約2mの室内用照明直下)に移動させる
ケース4-2は観察しやすい様にケース4-1へ移す。移動の際は揺れを最小限に抑えるよう細心の注意を払う

②室内用照明を通常の照度で点灯させ、直後の写真を撮影する

③直後に浮遊性/沈降性の人工餌料を与え反応を観察する

④ホバリング(その場に留まり遊泳しない)を睡眠状態、1秒間に5cm以上の素早い遊泳を覚醒状態として活動を観察する

⑤5分の間隔で最大30分写真を撮影し、発色の度合を比較する。カメラの設定は固定とする。

(撮影機材はPanasonic社製 HC-W870M、設定はオートフォーカス、ホワイトバランスは蛍光灯モード、シャッタースピードは1/500、IRISはOPEN 15dB)



Fig.5 飼育水槽と同一の濾過槽から給排水を行う



Fig.6 飼育水槽に直接設置したサテライト

5.結果

各グループにおいて活動量、発色共に差異が観察された。

	活動量	発色
α	5分:ホバリングでその場から動かない 6分:群れを形成する 6分30秒:10cm/5sec程度で遊泳を始める 12分:1匹が水面のエサに気づくが食べない 18分:群れで10cm/3Sec程度で遊泳する 25分:1匹が排水ホース下でホバリング 30分:遊泳するものエサは食べず 時折眠そうにホバリングする	他のグループと比較して点灯時のラインAが濃い 発色の戻りがβと比較すると悪い 飼育環境下と比較すると薄い
β	2分:ホバリングでその場から動かない 3分:群れを形成する 4分:10cm/5sec程度で遊泳を始める 7分:時折上層を10cm/1sec程度で遊泳する 9分:水面の餌に気づき食べる 14分:遊泳性高く、上～中層を泳ぐ	αと比べてラインAが薄い、発色の戻りが早い 飼育環境下と比較すると薄い
θ	1分:ホバリング、群れを形成せずに遊泳する 1分30秒:10cm/1Sec程度で中層を遊泳する 2分:水面のエサに気づき食べる 4分:底面のエサに気づき食べる	ラインAの薄さはβとほぼ変わらない 発色の戻りは悪い

Table1 各グループの観察記録

5-1.活動量の観察結果

平時の様子と大きな差はなく、短時間の遮光では大きな影響を受けなかった様であった。

α: 普段であれば睡眠中である為か30分経過後も素早い遊泳は見られず常に眠たそうな印象であった。

β: 素早く群れを形成し、警戒している様子であった。観察のために4-1ケースから4-2ケースへ移した影響と考えられる。

θ: 観察開始時には既に遊泳を開始しており、餌への食いつきも良好だった。

5-2.発色の観察結果

睡眠サイクルよりも遮光時間の影響を大きく受けたように見受けられた。

α: 遮光時間が短いためか観察開始時の発色が各グループの中で一番濃かったが、発色は戻らなかった。

β: 開始時の色は薄いものの発色の戻りが早かった。

θ: 総じて発色が落ちており、発色の戻りもβほど良好ではなかった。

	グループα (04:00 - マイナス4h)	グループβ (08:00 - 標準)	グループθ (12:00 - プラス4h)
点灯直後			
5分経過			
10分経過			
15分経過			
20分経過			
25分経過			
30分経過			

Table2 各グループの時間経過による発色の比較 (同じグループ内でも若干の個体差があることに留意されたし)

6.考察

活動量は照明の点灯サイクル、つまり体内時計との関係が見られ、最大8時間程度の遮光では変化しなかった。

ラインA観察による観察開始時の発色は単純な遮光時間に比例して薄くなるものと考えられる結果となった。しかし発色の戻りは遮光時間や体内時計との関連性を個別に分けて見出すことができない結果であった。

私の推測としては“睡眠状態からの覚醒による発色の戻り”の可能性を考えた。各パターンにおいて検討する。

α：観察開始時点での発色は濃い、活動量の増加が少なく発色の変化量も同様に少なかった。

β：観察開始時点での発色は薄い、観察中に覚醒した為発色の戻りが一程度発生した。

θ：観察開始時点での発色は薄く、観察前に既に覚醒していた為発色の戻りも発生しなかった。

上記の検討から、観賞用熱帯魚の発色には睡眠のサイクル、特に覚醒が影響していることが推測される。

推測を確定させるためには更に多くの対象による繰り返し観察と、下記パターンの追加が望まれる。

- ・遮光を行わない通常の照明点灯サイクルで覚醒前後の発色の变化
- ・常時点灯での睡眠阻害による発色(退色、発色戻りの双方)の変化
- ・長期的な常時点灯で正常な睡眠サイクルを失わせた場合の発色の变化

また今回の観察では短期的な遮光と睡眠阻害による体内時計への特別な影響は見られなかったことから、サイクルのより長期的な変化による生体への影響は予想できない結果であった。今回の観察環境と手法を引継ぎ、引き続き観察を続けたい。

尚、本考察には人間における一般的な睡眠ホルモンの浅い理解と事前に呼んだウーパールーパーだよりVol2によるバイアスがあることを申し添えてまとめとする。

※1 水質による発色の变化について、特に低pHによる発色の向上が知られている。

体表面保護のために粘液を多く分泌し発色が上がり、これによる発色は退色しづらいと言われているが、確実さは不明。水温や硬度など、その生体に適している水質であれば体調がよく、代謝が上がり発色も良くなるケースが散見される。またベタ等の一部の種においては光を遮るブラックウォーターの方が光沢系の発色が良くなるという話もある。

※2 在宅勤務中での観察であり昼休みとなる12:00時観察開始が適していた為、基準から前後4時間とした。

よって04:00時の設定には大きな意味はない。

※3 4-1ケースが2つしかない為このような構成となった。本来であれば全ての要因を揃えて観察すべきであるがご容赦頂きたい。

【研究計画・経過報告書 1】

照明サイクルと生育_ブラックモーリー 20220917

著: 枝豆 やみん 監修: 杉山 遥

1. 背景

鑑賞用熱帯魚の飼育において、周期的な照明の点灯と水温管理機材による恒温が理想とされることが多い。しかしながら現実の飼育環境では室内灯と水槽専用灯それぞれの明かりが混在し、不規則な人間の活動による点灯サイクルの乱れが生じる。水温についても同様、季節による室温の変化や空調機器の利用等で恒温になるとは限らない。既に魚類においても松果体及び視覚による日周リズムの形成¹と、それにより摂餌行動へ影響があること²が論じられている。これらの成果から魚類においても光による日周リズムが生育に大きな影響を与えることが明らかにされているが、それらのデータは研究、商業的なもので規則的であり不規則な人間の生活による影響を考慮されていないものであった。

2. 目的

鑑賞用熱帯魚の生育における明暗周期の関連性を調査する。室内飼育が基本となる観賞用熱帯魚は照明によって日周リズムが形成・制御されていると仮定する。この場合、摂餌行動が正しく関連づいているのであれば明暗周期によって魚類の生育に影響が出ると考えられる。本調査では観賞用熱帯魚を対象に、複数の明暗パターンを用いて体長等の生育状況を比較し、一般的な飼育下における影響を確認する。

3. 計画・期間

明暗周期以外の条件を揃えるため、下記の飼育環境を用意した。

A.室内灯+専用照明の一般的な飼育環境

B.室内灯の影響を受けない遮光+専用照明

C.遮光(照明なし)

これらの環境はそれぞれ配管で同一の濾過槽へ繋がっており、水質・水温ともに同様である。

(Fig.1 右上の水槽が環境 A、Fig.2 が環境 B、C)



Fig.1 飼育環境 右上の水槽が環境 A

¹ [飯郷雅之 (聖マリアンナ医科大学解剖学), 1999]

² [田畑満生 (帝京科学大学理工学部), 2002]



Fig.2 ダンボールにより遮光された環境 B、C

生体は卵胎生の観賞用熱帯魚であるブラックモーリーの'22/09/05 生まれの生後 1 週間の稚魚(Fig.3)を選定した。理由は自家繁殖の為生まれた日時が特定できサイズが揃っている点と、成体に比べ環境による成長の差が出やすいといった考えによる。環境 A、B、C にそれぞれ生体を 5 匹ずつ投入し、1 か月後の成長度合いを比較する。また補足として給餌の短時間で主観的な様子を観察し、活動量として扱う。



Fig.3 体長 8mm でピックアップした対象生体

4. 実験詳細

環境 A、B、C でそれぞれ生体を 1 か月間飼育する。給餌については朝、夜の 1 日 2 回とするが、飼育者の本業の影響で時間が前後する。また給餌により環境 C においても 1 回あたり 10 秒程度明かりが入ることになるが、サイクル化させない為給餌時間は定時でなくランダムとする。これにより摂餌のサイクルは固定化させず、照明による日周サイクルへの影響のみを確認することを狙う。水槽用照明は 16 時点灯、24 時消灯の 8 時間点灯である。環境 A に作用する人間の活動による室内灯の点灯は日によって大幅に異なり、特に飼育者が出勤するか、在宅勤務かに左右される。また配偶者の外出による点灯、消灯の繰り返しも発生する。これらは一般的な人間の生活様式による変数と考えるため特に記録しない。結果として得るデータはグループ毎の生体の体長、体格、体色の比較と給餌時の数秒程度で主観的に観察する活動量とする。

5. 抱負

所謂アクアリウムガチ勢のお方のレイアウト水槽は往々にして遮光用のブラインドを設置して室内灯や日光を遮り、主にコケ対策として無用の明かりを避けることがある。低い照度でも活動する憎きコケ共にはなるほど効果はあるだろう。ただし生体にはどうだろうか？人間を含め本来の自然界では太陽の位置の変化により曲線的に変化し、全く明かりがないという時間は実際 10 時間あるかどうかではないだろうか。最近は高機能の専用照明の登場により日の出日の入りの再現を含めて光量を調整できるものも多くなっているが、未だ大半は ON、OFF のみの照明が大半を占めておりこれまでの数十年はもとよりこれからしばらくも同様であろう。観賞用熱帯魚にとっては環境 A のようなサイクルが長年当たり前となっているわけである。

今回の調査で明確な差が出るようであれば、「レイアウト水槽のための点灯サイクル」でなく、「生体のための点灯サイクル」を知る為の足掛かりとなるかもしれない。私も一人のアクアリストとして飼育生体の命を預かる身である。より魚たちが綺麗に成長し、狭い水槽ながらに良い魚生を送ってもらうためにも今回の調査結果に期待している。

6. 参考文献

- 1) 田畑満生 (帝京科学大学理工学部). (2002). 魚類の日周リズムと自発摂餌への展開研究. 日本水産学会誌 2002 年 68 巻 3 号 p.305-308.
- 2) 飯郷雅之 (聖マリアンナ医科大学解剖学). (1999). 魚類の日周リズムの形成機構に関する研究. 日本水産学会誌 1999 年 65 巻 4 号 p.617-620.

【主任研究者 (杉山) コメント】

最初の簡易的な報告書(ブラックネオン) および 後の研究計画書(モーリー)、いずれも良く計画や実験設定が寝られており、結果の解釈も過不足のない素晴らしい内容です。

ブラックネオンの方ですが、概日リズムよりは擬態の効果が強く検出されているのが明確に分かりますね。

メラトニンの分泌による体色の制御が、睡眠という活動にとっては必要十分条件では無いことを示している点で非常に評価できる報告書となっています。

見かけ上では、夜 ⇄ 暗い → メラトニン → 薄化 であるが、

夜 ≠ 暗い (周辺環境) → (メラトニン) → 薄化による擬態 という流れのメカニズムが元々備わっており、睡眠時に薄化するのは、単に睡眠を必要とする状況が、基本的に周囲が暗い夜や洞穴などの中である場合が多いという、あくまでシステマ的なものであると考えられますね。

周囲が暗くなるのが引き金となって脳の一部からメラトニンが分泌され、活動量を低下させると共に体色を薄化することで、外敵(捕食者)に見つからないように体の状態を変化させることのできた個体は、巧く活動量の抑制(人間でいう所の息を殺して待機する)が出来ており、その結果現在まで生き延びてこられたのかもしれないですね。

あくまでも戦略的ではなく、適者生存でバイアスがかかっており、体色変化があまり起こらない または 変化しないような個体群は、実際の自然環境下では捕食者に狙われやすいため生き残ることは困難であることが推察されます。

ブラックネオンもモーリーも、複数の機会で行って、日周性や睡眠サイクルと本当に連動するかどうか、追調査が必要という印象です。

【研究計画・経過報告書 1】

概日リズムの変化による改良メダカの体色に関する調査 20220924

著: あすみ 悠 監修: 杉山 遥

(1) 背景

日本におけるメダカは大きく分けると2つに分けられる。1つは、在来メダカ(ニホンメダカ「ミナミメダカ」「キタノメダカ」)である。2つは改良メダカ(ヒメダカ・クロメダカ等)である。在来のメダカは近年の調査により、現在では、1999年に環境庁(現環境省)¹によって絶滅危惧Ⅱ類に指定されており、日本における分布の調査と保護が喫緊の課題となっている。

昨今の改良メダカブームにより、メダカを飼育する飼育者が増え、それに伴い、生産者も増加している。また、近年では改良メダカの品種改良が盛んに行われており、体色やヒレの長さなどを変化させた様々なメダカが毎年新たに生み出されている。改良メダカの品種認定は、日本メダカ協同組合と日本メダカ協会が行っていた。日本メダカ協同組合が2022年5月をもって解散したため、2022年現在は日本メダカ協会のみである。

2022年現在日本メダカ協会によると、700種以上のメダカが作出されているとされている。2020年日本メダカ協会公式ガイドライン「改良メダカ品種分類マニュアル」²(以下日本メダカ協会公式ガイドライン)によると、改良メダカの品種改良の歴史は江戸時代にまでさかのぼる。改良メダカのはじまりは「ヒメダカ(緋目高)」である。ヒメダカとは在来メダカから黒色素胞がなくなり、黄色色素胞が強く表れた突然変異である。岩松(2002)によると魚類の研究材料として外国では「グッピー」や「ゼブラフィッシュ」が主に活用されているが、ニホンメダカも優れた研究材料として1920年頃から盛んに用いられるようになったとされている。その理由として、「行動、発生、性分化、色素胞の生理、心臓の搏動、再生、組織培養など、実験動物として多くの特長があると述べられている。

(2) 目的

改良メダカの歴史は前述の通り、江戸時代の「ヒメダカ」までさかのぼることができるが、この「ヒメダカ」から、さらに盛んに改良され始めたのは日本メダカ協会公式ガイドラインによると、2000年頃からであり、体色やヒレの形などで品種分類はされているものの、体色変化などのメカニズムに関しては、遺伝や突然変異だけでなく、水温(ダルマ体型)によるものも確認されている。このことや過去の研究から後天的要因によってメダカの品種を改良することが可能であることがわかる。

改良メダカの品種分類は、色素胞でもされていることは、前述の日本メダカ協会公式ガイドラインに示されている。ブリタニカ国際大百科事典³では、下等脊椎動物において、松果体から分泌されるメラトニンには、メラニン細胞(色素細胞)内の黒色素胞を収縮させ、皮膚の色を薄くする働きがあると記載されており、萩原ら(2016)⁵は、メダカの血中メラトニン濃度は、昼間は50~100 pg/ml、夜間は約150~500 pg/mlであると報告している。また酒井(2020)によると「メラトニンはメダカの産卵リズムに影響を与える」⁴ことが明らかとされており、メラトニンがメダカに対して影響を与えることが示されている。これらを踏まえて、本調査では、飼育時の照明条件(明暗周期)を変化させることで生体の概日リズムに変化を与えることによって、改良メダカの体色にどのような変化が起こるのかを確認することが目的とした。

(3) 計画・期間

本調査をするにあたって、24時間明環境とする水槽Aと24時間暗環境とする水槽Bを使用した。水槽サイズは幅158×奥行130×高さ170(mm) (ガラス厚: 3mm) 水容量約3Lである。(図1)



図1「飼育環境の様子(調査前水質安定期)」

飼育水は水道水を1~2日程度日光に当てたものを使用し、ソイルにはGEXメダカ水景「メダカの天然ソイル」、エアレーションと濾過システムとして、寿工芸の「バイオミニフィルター」を使用した。メダカを水槽内に入れる前に、ミナミヌマエビを3匹ずつパイロットフィッシュとして入れて、1週間様子を観察し、午前8時に点灯、午後22時に消灯(明14時間、暗10時間)で水質とバクテリアの安定を計った。



図2「飼育環境の様子(恒明条件と暗条件)の作成」

飼育環境は(図2)の通り作成した。左が恒明条件水槽、右が暗条件水槽である。24時間テープLEDと蛍光灯を点灯させ、恒暗条件を作成し、暗条件は(図3)の通り水槽前面に段ボール蓋をすることで、24時間暗環境を作成した。

環境の照度測定は「iphone12 mini」アプリ「QUAPIX Lite」⁶を使用して測定した。

一方で、恒明条件については350lx、暗環境は10lx以下であった。



図3「暗条件の段ボール蓋をした状態」

(4) 実験詳細

本調査で飼育したメダカは体色が三色の改良メダカである。(図4)



図4「飼育した三色メダカ」

頭頂部が朱色で、胴体は白、黒の斑のあるものを計6匹選び、明暗環境に3匹ずつ入れた。

実験の期間は2022年9月12日～2022年9月21日の計10日間である。開始日の9月12日に黒背景の観察容器で横見と上見で画像撮影と動画撮影を行なった。(図5)

撮影機材は、iphone12miniで画像撮影は初期設定、動画撮影はHD画質60fpsで撮影した。



図5「明暗周期変化前の横見と上見撮影」

撮影後からの10日間、24時間明るい環境と24時間暗い環境での飼育を行なった。給餌は午前8時と午後18時にキョーリンの「メダカプロス」を与えた。暗環境に関しては、できるだけ短時間で与えた。9月21日に水槽から取り出して、前述の黒背景容器で上見と横見で撮影を行なった。

(5) 結果と考察

今回、メダカの体色変化については、撮影した個体を目視で比較した。特に顕著に表れたのが暗環境飼育個体における黒斑の現象であった。特に顕著な個体の画像を以下(図 6)に示す。

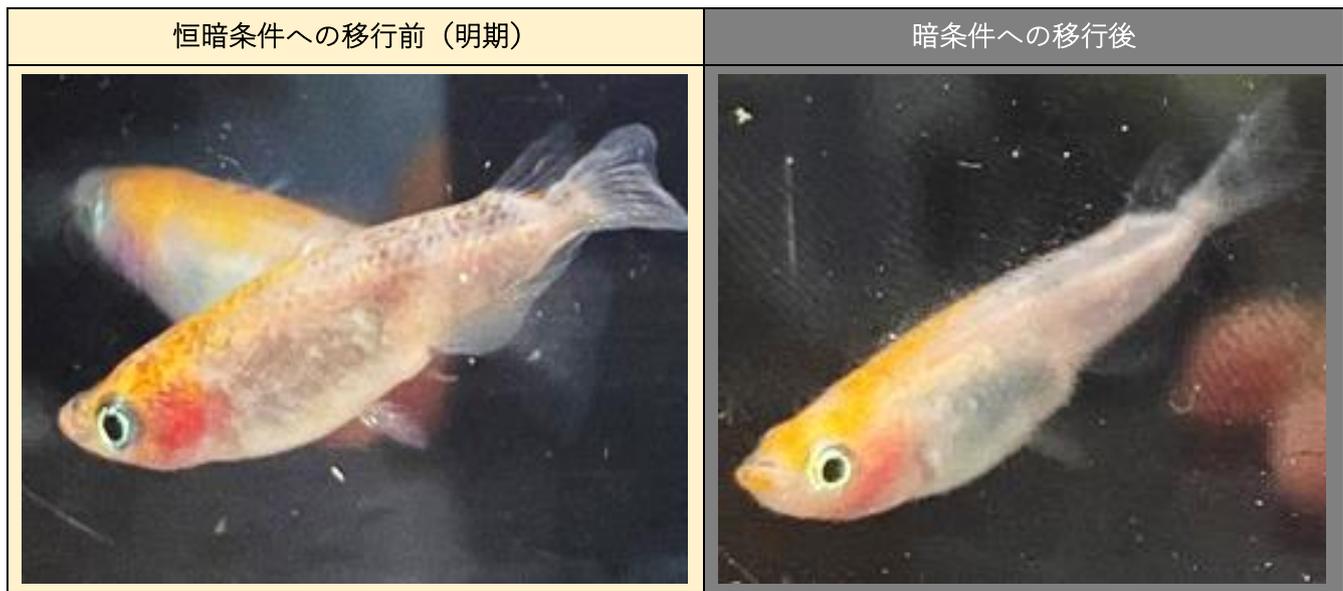


図 6 「黒の班が減少した暗条件の個体」

図 6 の個体は、尾ひれに曲がりが発生していたが、体色は今回の三色メダカ選定要件を満たしていたため、敢えて恒暗条件で飼育した。その結果、概日リズム変化前には、身体に黒斑があったが、10 日間の概日リズム変化後には、身体の黒斑が減少していることが画像からわかる。その他 2 匹も同様に黒斑が減っていた。



図 7 「恒明条件 10 日目の個体」

今回は生体のことを考えて、目視による調査結果とした。そのため改良メダカにおける黒斑とメラトニンの関係性は明らかとなっていない。今後は魚類の睡眠に関する知見探求及び、メラトニンと黒斑の関係性を深く追求するためのより詳細な調査が必要であると考え。

明環境での概日リズム変化個体に関しては黒の班の減少は見られなかった。

魚類の睡眠に関しては未だ明らかとなっていないことが多く、メダカが「いつ」「どのように」睡眠をとっているのかは明らかとなっていない。この黒の班が減少した結果は、概日リズムに変化を与えたことによるメラトニン生成促進との関連が想定される。暗環境下による概日リズムの変化は、不動時間の増加による、原始睡眠時間の増加が考えられる。メダカ睡眠時間の増加によりメラトニンの生成が促進され、メダカの黒斑のメラニン色素が収縮し、目視で確認できるレベルで黒斑の減少が確認できたと考える。

参考文献

1:環境省「絶滅のおそれのある野生動植物種の生息域外保全取り組み事例メダカ」(最終閲覧 2022/09/22)

<https://www.env.go.jp/nature/yasei/ex-situ/instance10.html>

2: 日本メダカ協会(2020)「日本メダカ協会公式ガイドライン 改良メダカ品種分類マニュアル」(最終閲覧 2022/09/22)

<http://jma-medaka.jp/pdf/2020saisinnhinnsyubunnrui.pdf>

3:ブリタニカ国際大百科事典 小項目事典「メラトニン」

4:酒井琴和(2020) メダカにおける受容体を介したメラトニンの機能に関する研究, p73

<https://irdb.nii.ac.jp/01172/0005370305> (最終閲覧 2022/09/22)

5: Ogiwara K, Takahashi T (2016) Biol Reprod. 94: 64 「A Dual Role for Melatonin in Medaka Ovulation: Ensuring Prostaglandin Synthesis and Actin Cytoskeleton Rearrangement in Follicular Cells」

<https://academic.oup.com/biolreprod/article/94/3/64/201-15/2434439> (最終閲覧 2022/09/22)

6:岩崎電気「QUAPIX Lite」(最終閲覧 2022/09/22)

<https://apps.apple.com/jp/app/quapix-lite/id905894715>

【主任研究者(杉山) コメント】

メダカについても無事に実験系を確立して下さり、大変ありがとうございます。改良メダカの黒反転が暗条件への移行後に消失しているという結果を見て大変感動しております。

擬態自体は一般的な現象ではあることは既に言われており、擬態=寝る という可能性が考えられるため、その辺りで体内時計の指標として体色変化を用いる実験系としては今後十分に期待有いですね。基本的に昼夜があるはずの環境下で、概日リズムの中で制御されていることを踏まえると、擬態≒明暗への適応であり **"明暗 → 概日リズム → 擬態"** なのかなと考えています。なので、この体色変化は睡眠自体にとっては、必要十分条件では無いといえますね。つまり結論としては、適切な明暗周期の中では、体色変化は夜間のメラトニン分泌の指標になり得る、が正しいと考えてます。夜の暗がりではメラトニンが、ちゃんと分泌されて休止モードに移行し、暗闇に適応できる擬態を示すと捉えることができるでしょう。単純に結果を受け止めて、擬態だから意味ないじゃん?と捉えると色々見落としてしまう危険性があるので、この点は今後も皆で注意していきましょう。ひょっとすると、魚の場合、いつでも暗闇なら眠れる、ということなのかもしれませんね。おそらく色が薄くなるのは、本来は副産物だったのでしょうか。色が変わった個体が巧く生き残って種を維持してきた、と考えることができます。

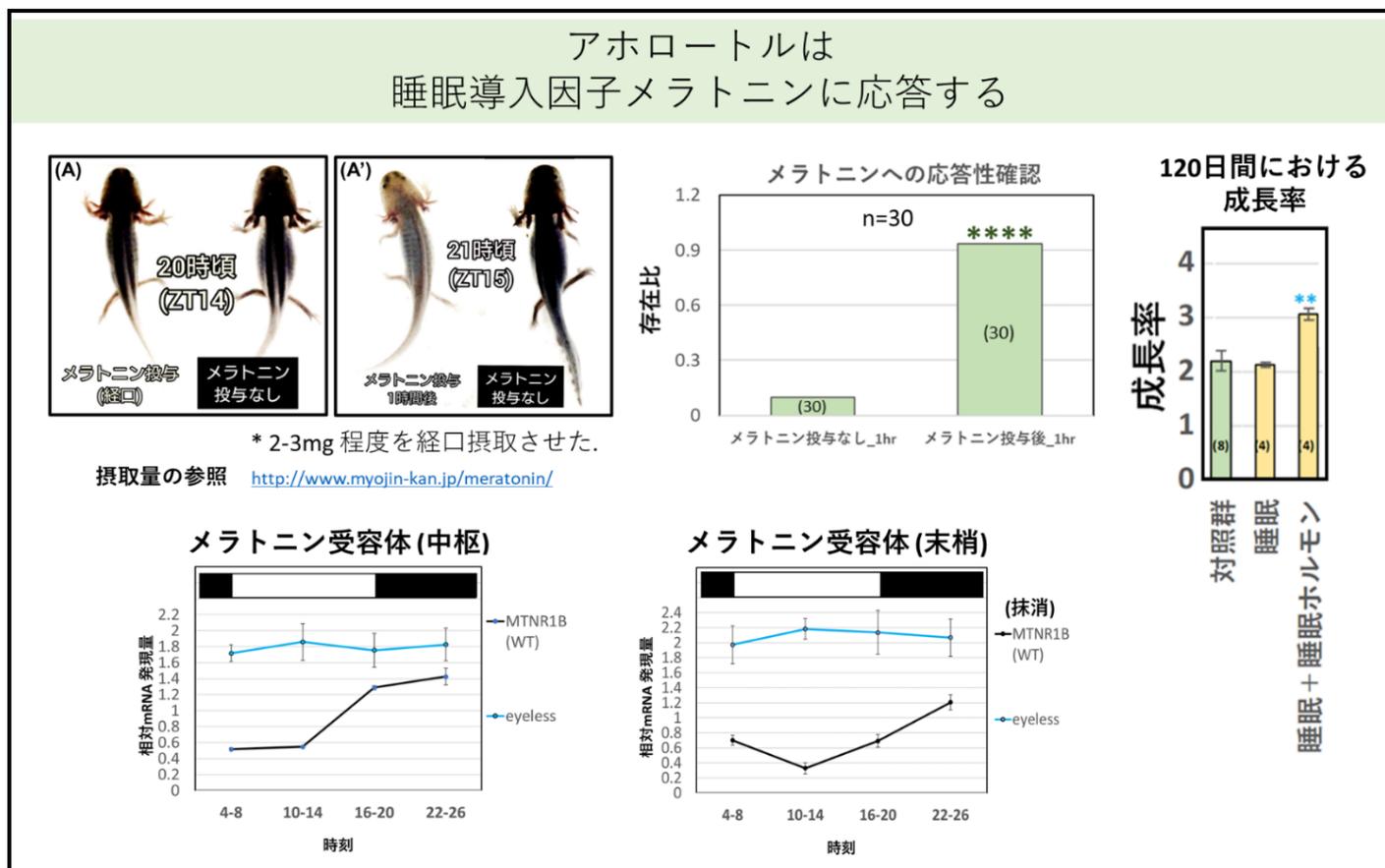
尚、後述していますが、アホートルは日中の明期において、巣穴でじっと動かなくなっていることが多いですが、体色はあまり変化していない場合もあるので、活発かどうかは必ずしも体色変化やメラトニン分泌と連動していない時相もあるのかもしれません。ただし、アホートルは昼行性の魚類とはまた異なる活動リズムを示すので、全てを一緒にたにして考えてはいけないとも言えますね。

余談ですが、リズムがない、または乱れて育った個体はどうなるんでしょうね? 今後、我々のチームで着実に調査していきましょう。

アホロートルにおけるメラトニン応答性とメラトニン依存的な体色変化制御について

当ラボにおいては、アホロートルのメラトニン応答性等について体色変化や成長制御、各種遺伝子発現等において詳細な調査を実施し、**概日リズムと睡眠・覚醒について、会報誌ウーパールーパーだより Vol2** にて報告を行った。

尚、我々の調査の中で、メラトニン特異的な受容体は、アホロートルにもいては脳神経等の中枢にも、内臓である末梢にも一定のレベルで発現があり、発現量にそれぞれ固有の概日リズムを示していたことから、メラトニン分泌および受容性を日周リズムに合わせて周期的に調整している可能性があることが分かった [A, B, 16-19]。



参考: はるらぼによるアホロートルのメラトニンへの応答性と睡眠→成長制御に関する報告(一部抜粋)

過去の当ラボの研究により、タイムラプス動画によって経時的な行動記録を撮影(萩原メソッド)することで、アホロートルの活動リズムを



参考: メラトニン依存的な体色変化は概日リズムと相関がある

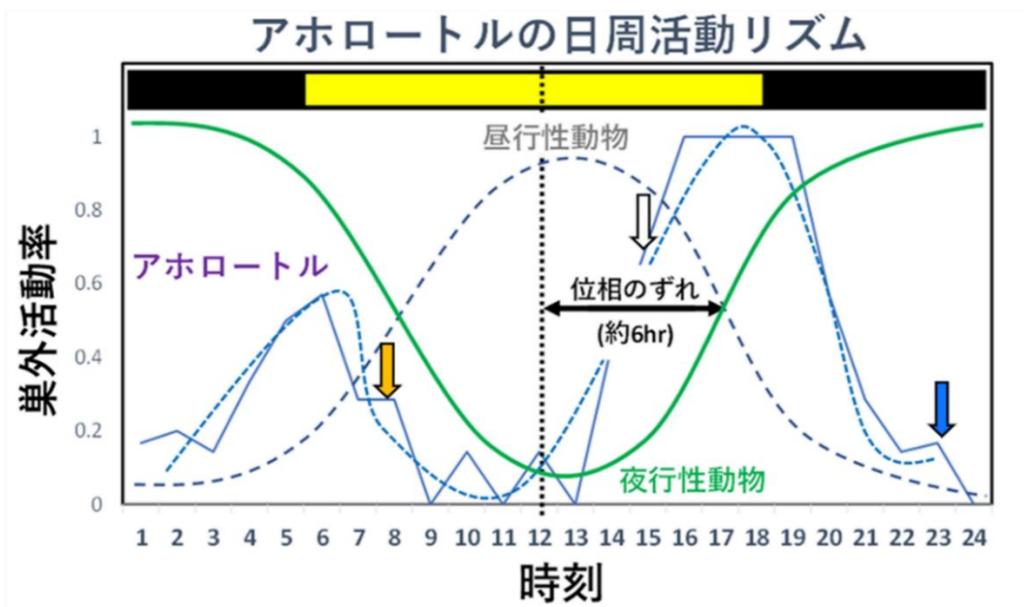
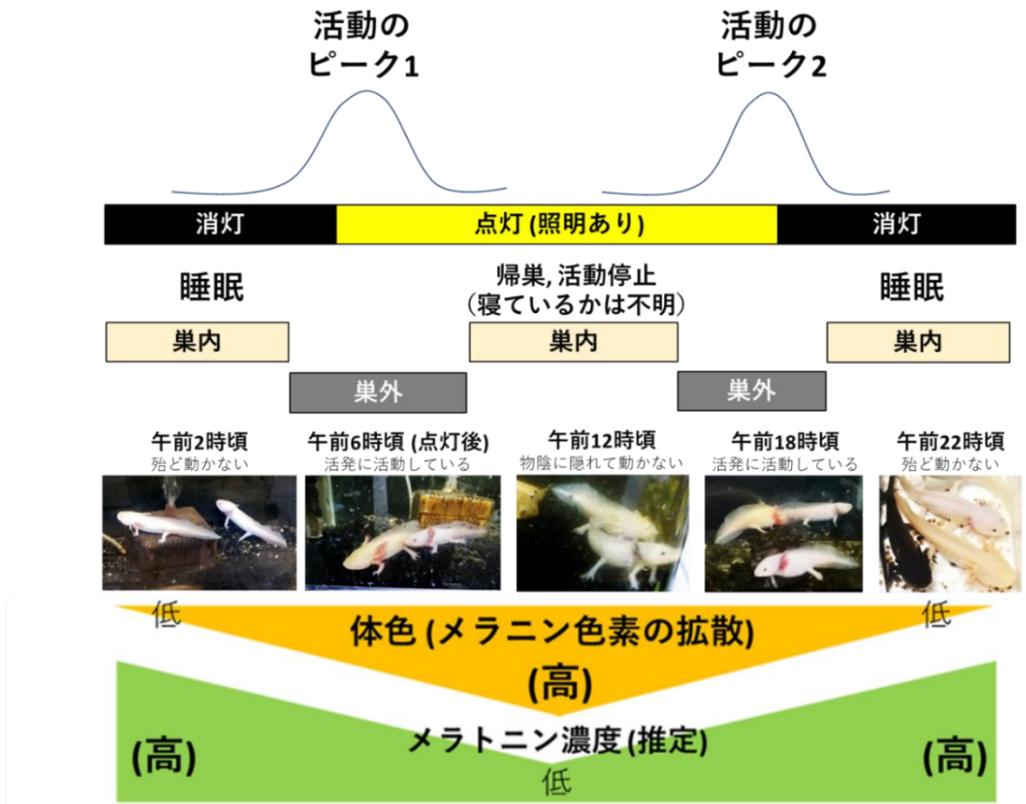
測定し報告しているが、夜間と日中の境目(日の出と日の入り)の明るさのタイミングで積極的に巢外へ出て活動する可能性があることが明らかになった。一方で、体色変化については調査が十分では無い部分があったため(左下図)、今回改めて体色変化について、他のリュースティック個体やメラニン色素を部分的~大半を欠損していると思われるアルビノ系統の個体において再度観察を改めて実施した(次頁の相関図を参照)。

アルビノ系統については、殆ど黒い色素が見られないことから、主に鰓周辺の血流に注目している。尚、アルビノ系統に関する詳細は、**ウーパールーパーの飼育係 Vol.2** の中でヒトのアルビノ症と併せて触れているため、興味のある方はそちらをご参照いただければ幸いです。

余談だが、ウーパールーパーのアルビノ系統は、眼からの光入力に対して光応答を示す（野生型と同程度に見えている）ことから、単純に野生型と視力の程度に差が見られない可能性と、系統的に完全欠損ではない可能性がある[20-25]。

結果の詳細は以下の図を参照のこと。補足だが、アルビノ個体の体色変化は、リュージツティックと比較するとやや見づらいものであった。

また、メラニン色素を中心とした体色変化がそこまで顕著でなくとも、鰓の赤さ(血流量)は活動量との相関がある程度見られている。



参考: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)と体色変化の相関まとめ

アホロートルにおける“あくび”と活動リズムの相関について (22/11/12 追記)



アホロートルのあくびについては、SNS 等にその瞬間の写真や動画を投稿されている飼い主の皆様が沢山おられます。

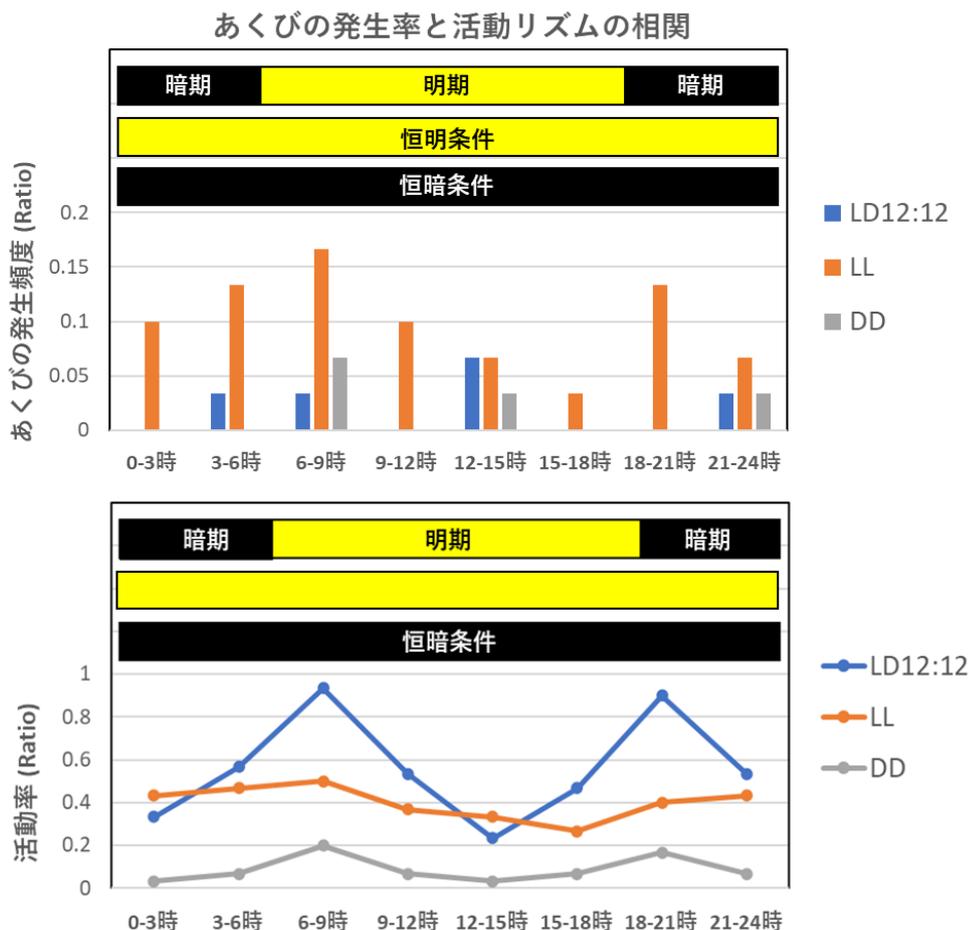
しかしながら、そのシャッターチャンスをつかむのは非常に難しい所がありますね。そこで、我々は、睡眠の研究の知見に基づき、彼らの睡眠周期とあくびの間にみられる相関関係について追加調査しました。

図 1: あくびをするアホロートル
(写真提供: うにやぎ様 on Twitter @CUNEflash)

調査の結果、アホロートルは明暗周期下において、ある活動リズムの低下する真夜中の 0-3 時頃や、12-15 時頃にあくびを一定の頻度で示すことが示唆されました。一方で、恒明条件においては、頻繁にあくびを示し、特に本来活動が低下すべき真夜中に、通常の明暗周期下よりやや高い頻度であくびを示す事も分かりました。

これらの結果から、あくびは活動が低下する夜間において、活動を低下させようとする個体が示す行動である可能性が示唆されました。すなわち、哺乳類のあくびと良く類似した行動である可能性があると考えられます。

詳細は更に追って調査する必要がありそうですが、シャッターチャンスのタイミングについては、示唆的ではあるものの一定の知見を得ることが出来たのではないのでしょうか。



参考: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)とあくびの相関まとめ

参照（アホロートル、魚類・両生類の睡眠に関する調査報告）

- ・ A) ウーパールーパーだより vol 2 <https://drive.google.com/file/d/1CU7Afs67mGaX1DC9v1kachExWjIiqUFZ/view>
- ・ B) ウーパールーパーの飼育係 vol 2.4__トピック 3

参考文献（睡眠制御・概日リズム・メラトニン）

- ・ 1) <https://kizuki-lfp.com/9662>
- ・ 2) <https://serai.jp/>
- ・ 3) <https://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/AyumiArticleDetail.aspx?BC=924211&AC=11745>
- ・ 4) <https://www.terumozaidan.or.jp/labo/technology/16/02.html>
- ・ 5) <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%82%BB%E3%83%AD%E3%83%88%E3%83%8B%E3%83%B3>
- ・ 6) <https://www.keds-dental.jp/news/%E9%A1%8E%E9%96%A2%E7%AF%80%E7%97%87%E3%B1%AB%E3%B1%A4%E3%B1%84%E3%B1%A6%E8%80%83%E3%B1%88%E3%82%88%E3%B1%86/>
- ・ 7) <https://newscast.jp/news/384191>
- ・ 8) 視交叉上核＞脳科学辞典
<https://bsd.neuroinf.jp/index.php?title=%E8%A6%96%E4%BA%A4%E5%8F%89%E4%B8%8A%E6%A0%B8&oldid=21150.%202013#---:text=4%20%E9%96%A2%E9%80%A3%E9%A0%85%E7%9B%AE-.%E8%A6%96%E4%BA%A4%E5%8F%89%E4%B8%8A%E6%A0%B8%E3%B1%A8%E3%B1%AF.%E3%83%AA%E3%82%BA%E3%83%A0%E5%BD%A2%E6%88%90%E8%83%BD%E5%8A%9B%E3%82%92%E6%8C%81%E3%B1%A4%E3%80%82>
- ・ 9) L-トリプトファンとは＞コトバンク
<https://kotobank.jp/word/%E3%83%88%E3%83%AA%E3%83%97%E3%83%88%E3%83%95%E3%82%A1%E3%83%B3-106524>
- ・ 10) J-GLOBAL＞L-トリプトファン生合成の高収率と生産性のための GaIP/GIk 依存性 Escherichia coli の統合実験室進化と合理的エンジニアリング https://jglobal.jst.go.jp/detail?JGLOBAL_ID=202102255062140282
- ・ 11) 「トリプトファン」を摂って、しあわせホルモン「セロトニン」を増やそう！ <https://www.y-koseiren.jp/column/season/3224>
- ・ 12) セロトニンとは <https://www.kango-roo.com/word/12729>
- ・ 13) 上手に昼間を過ごして、良質の睡眠を手に入れる！ https://www.konan-u.ac.jp/special/vol_5.html
- ・ 14) 照度と明るさの目安 <http://photon.sci-museum.kita.osaka.jp/publish/text/koyomi/66.html>
- ・ 15) 高照度光治療法について https://portal.lighttherapy.jp/lighttherapy/post_104.html

参考文献（メラトニンによる魚類・両生類の体色変化制御について）

- ・ 16) 東邦大学メディアネットセンター＞青い魚はなぜ青い？ <https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>
- ・ 17) カエルの体色変化とメラトニン <https://ameblo.jp/kozoshoku/entry-12543597455.html>
- ・ 18) メラトニン摂取・投与量の指標 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>
- ・ 19) PIGMENT CELL RESEARCH > Melatonin, Melatonin Receptors and Melanophores: A Moving Story David et. Al (2004), <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2004.>
- ・ 20) 光と生物 —発色団と光受容タンパク質の機能—＞岡野 俊行 https://www.istage.jst.go.jp/article/kakyoshi/65/6/65_286/_pdf
- ・ 21) 網膜の構造 https://inami.co.jp/inamaga/detail/?contents_type=478&id=1732
- ・ 22) メダカと遺伝と色素胞 <https://www.medakanoyakata.jp/?mode=f136>
- ・ 23) メラノプシンを含む網膜神経節細胞への一日を通じた光刺激制御が夜間のメラトニン分泌挙動および睡眠感に及ぼす影響．田中 他 (2019)＞日本生理人類学会誌 Vol.24, No.4. 141 – 148 https://www.istage.jst.go.jp/article/jscvco/19/0/19_43/_pdf
- ・ 24) メダカの生殖腺における光周性とメラトニンの作用の比較(内分泌)
https://dl.ndl.go.jp/view/download/digidepo_10845689_po_ART0003795730.pdf?contentNo=1&alternativeNo=
- ・ 25) 改良メダカについて <https://www.medakaya.com/medaka>



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)



<ウーパールーパー研究報告>

ネオテニーの上陸化を誘導する因子 Part.1 (22/11/1 → 23/4/5 更新)

著: 杉山 遥 (Ph.D; 詳細調査・本記事の主な執筆者)^{1*,**}; 久木崎 玲美 (上陸化に関する調査)¹

所属: ¹ウーパールーパー研究室はらば

詳細: *主任研究者 **責任著者

ウーパールーパーは幼形成熟をする、所謂“ネオテニー”と呼ばれる形態を取る両生類として知られている。一方で、時折、ウーパールーパーの上陸化個体も見られることがあり、その両生類としての潜在能力が未だ残っていることが分かる。当ラボでも、このネオテニーの変態について調査を行ってきた。尚今回、当ラボが変態個体に関して取り上げるきっかけとなったのは、久木崎 研究員 からの写真情報の提供から始まっており、同氏にはこの場で改めて心からの感謝の意を表したいと思う。尚、本記事の執筆に際し、**参考文献 [1-49]** を参照しつつ幾つかの調査・研究を進めた。

1. 有尾両生類の変態と上陸化

通常の有尾両生類の様子について、以下の参考資料を紹介したい (図 1 (A)~(C))。通常の両生類では、成長に伴って、体内の甲状腺ホルモン T4 の急激な放出が甲状腺刺激ホルモン TSH によって誘導されることで変態が促進され (図 1 (B))、上陸化が進むことで成体へと変態を果たすのである (図 1 (C))。この過程で、平坦な構造の眼から瞼を持った球体の眼へと変化が起こり、鰓が委縮して鰓呼吸から肺呼吸への移行することで、陸上での生育に適した身体の構造へと変化していく。非常によく出来た機構であるといえる。



図 1: 有尾両生類 (アカハライモリ) の変態・上陸化の過程

2. ネオテニー (幼形成熟種) の特徴と変態する可能性

通常のネオテニー、すなわち幼形成熟個体は、幼体の特徴を持ったまま性成熟が行えるような分子機構を持ち、図 2 (A) の状態を保持している。しかし、メキシコサラマンダー、アンダーソンサラマンダー等のネオテニーの仲間も、現在も変態可能な潜在能力を持っており、ある特定の条件下では図 1 のアカハライモリの示すような変態過程を辿る場合もあることが分かっている (図 2 (B)~(D))。

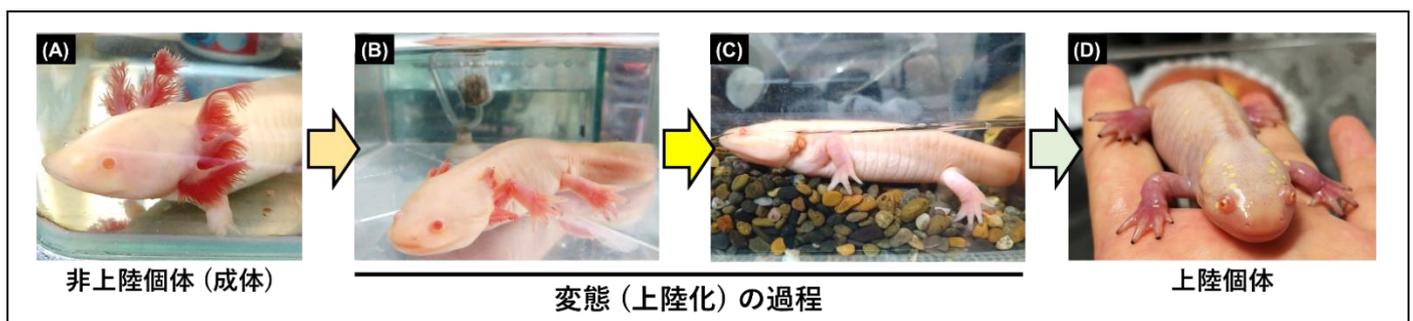


図 2: アホロートルの変態・上陸化の過程 (画像提供: 久木崎 研究員)

3. ネオテニーの変態と原因因子の特定

ネオテニーが通常変態できない理由は諸説あるが、メキシコサラマンダーの場合は、甲状腺ホルモンの放出に関する異常であるとされており、甲状腺ホルモンの制御に関する経路や機構について理解し、遺伝学的・生理学的な制御機構の調査を実施することが急務であった。

当ラボでの調査・研究に差し当たって、変態と甲状腺ホルモンに関する幾つかの文献から制御モデル図を選定した物を例に挙げる。

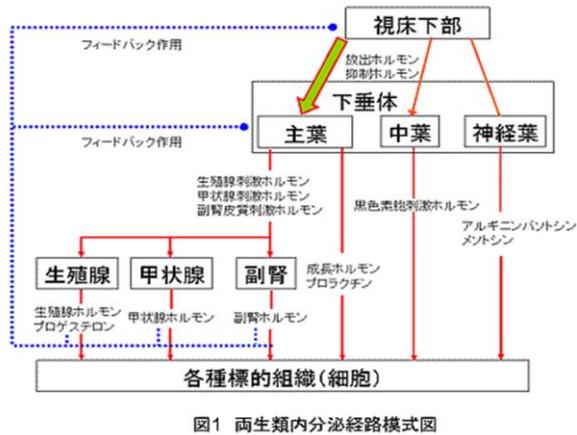


図1 両生類内分泌経路模式図

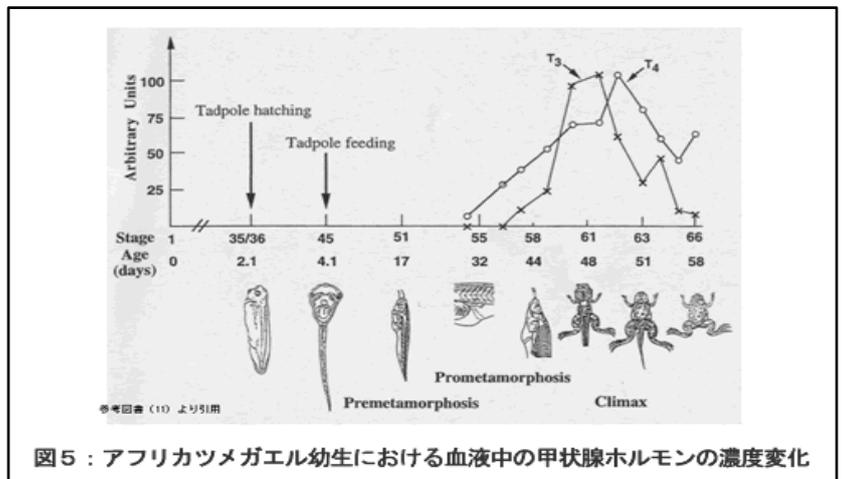
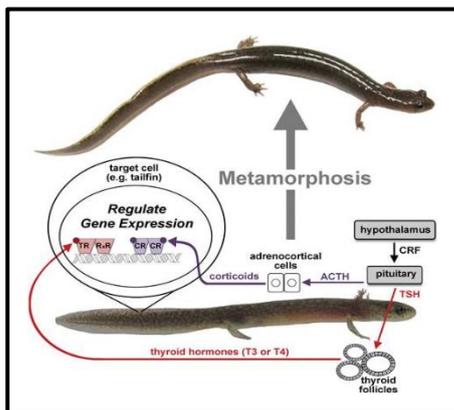


図5：アフリカツメガエル幼生における血液中の甲状腺ホルモンの濃度変化

Official Endocrine Disruption Website

化学物質の内分泌かく乱作用に関する情報提供サイト

https://www.env.go.jp/chemi/end/endocrine/1guide/detail_a1-3.html

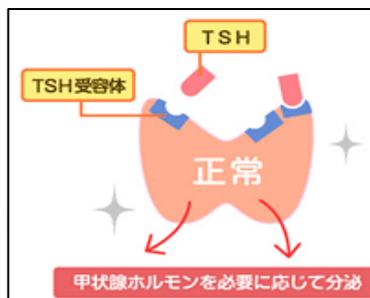


※ PRL: プロラクチン (哺乳類催乳ホルモン)

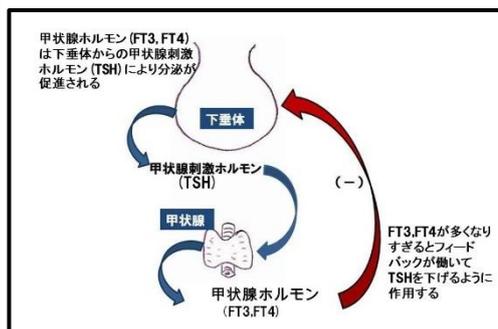
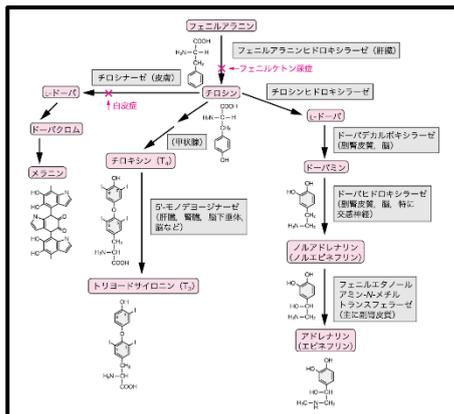
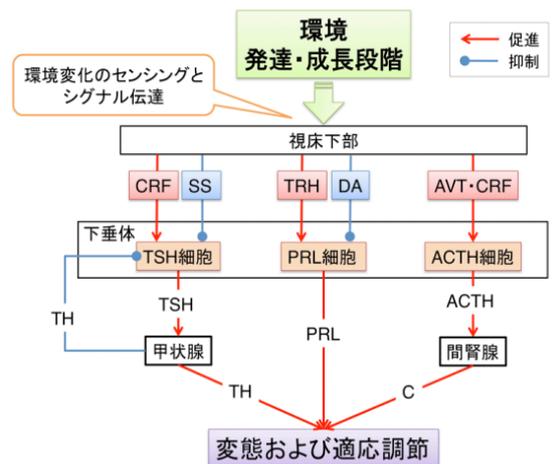
→ 両生類では変態・上陸を抑制する

ACTH: 副腎皮質刺激ホルモン

GnRH: 性腺刺激ホルモン放出ホルモン



甲状腺ホルモンを必要に応じて分泌



甲状腺ホルモン (FT3, FT4) は下垂体からの甲状腺刺激ホルモン (TSH) により分泌が促進される

FT3, FT4が多くなるとフィードバックが働いてTSHを下げるように作用する

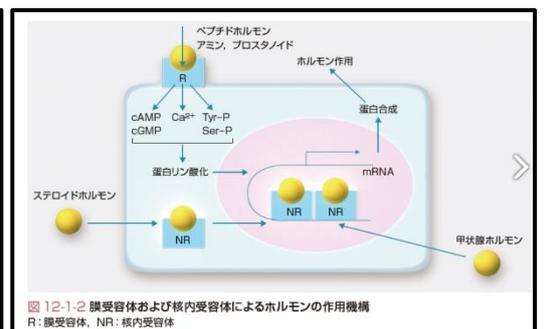


図 12-1-2 膜受容体および核内受容体によるホルモンの作用機構 R: 膜受容体, NR: 核内受容体

図 3: 参考資料; 両生類の甲状腺ホルモン制御と代謝制御に関する情報



これらの知見に基づき、メキシコサラマンダーにおける変態制御機構の予想モデル図（次頁 図 4）を作製し、メキシコサラマンダーやアカハライモリを含む有尻両生類を用いて、変態過程における甲状腺ホルモン制御や成熟化に関わる遺伝子発現に関して、qRT-PCR による遺伝子発現の解析を実施することで、上陸化の原因やネオテニーとしての特徴を制御している因子の特定を試みた。

調査の結果、変態できるメキシコサラマンダーの個体では、通常変態する両生類と同程度に TSH の発現上昇が不安定ながら見られている一方、やはりネオテニーの特徴を示す個体では、変態可能な亜成体（10cm 程度の大きさの個体）では非常に発現が低いことが分かった。また、やや変態しやすとも言われるアンダーソンサラマンダーでは、TSH の発現量がメキシコサラマンダーよりも若干高い傾向があることが明らかとなった。

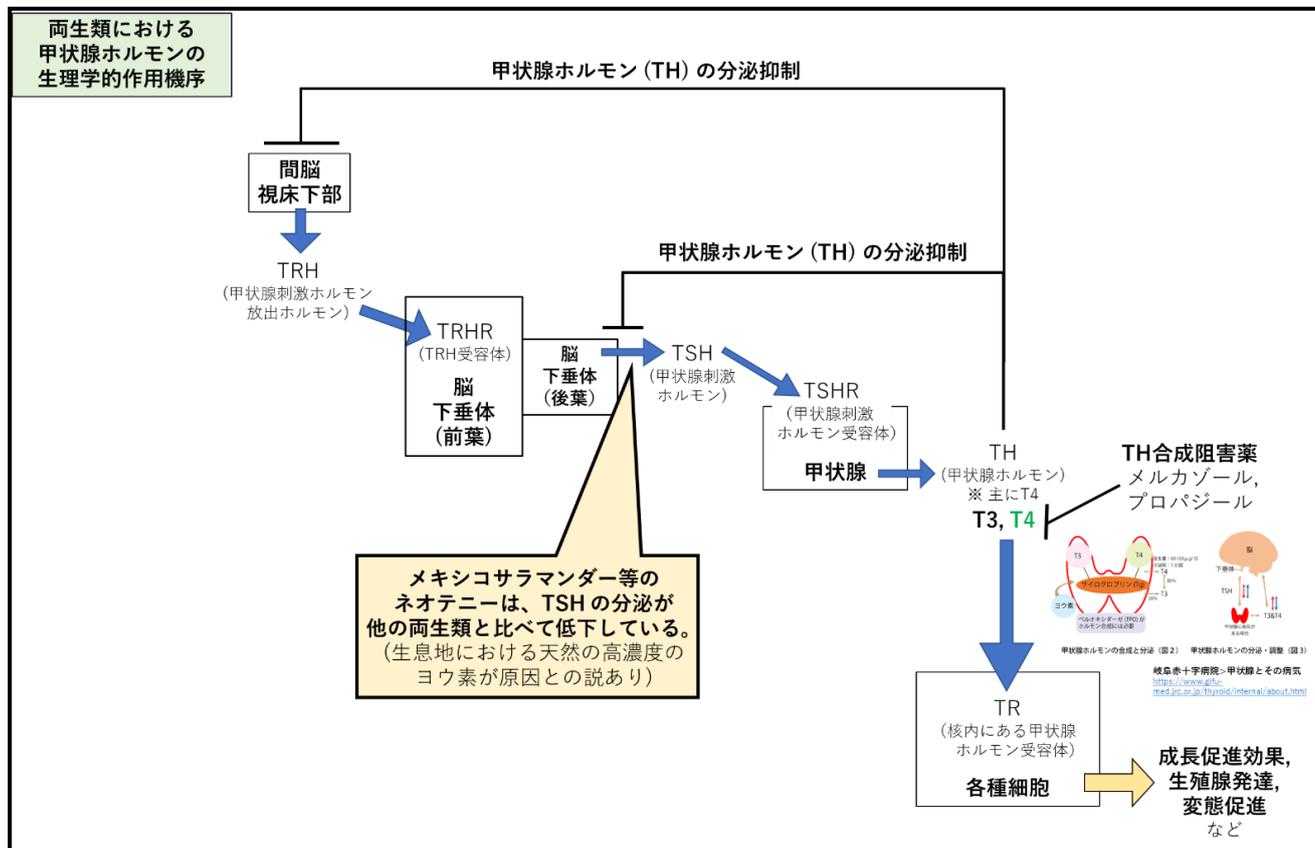


図 4: ネオテニー（幼形成熟）個体と甲状腺ホルモンの制御機構の推定モデル図

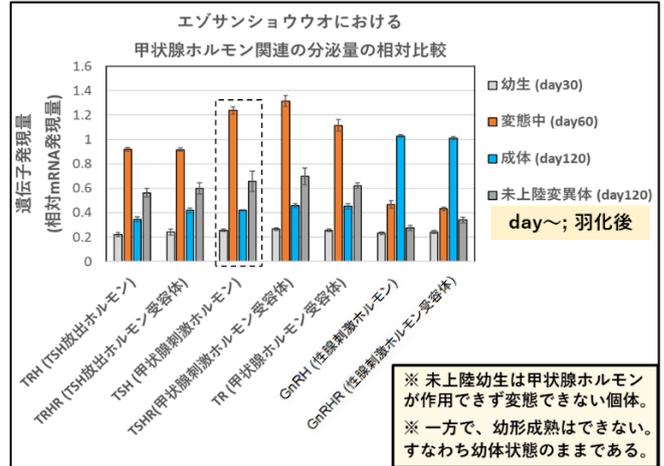
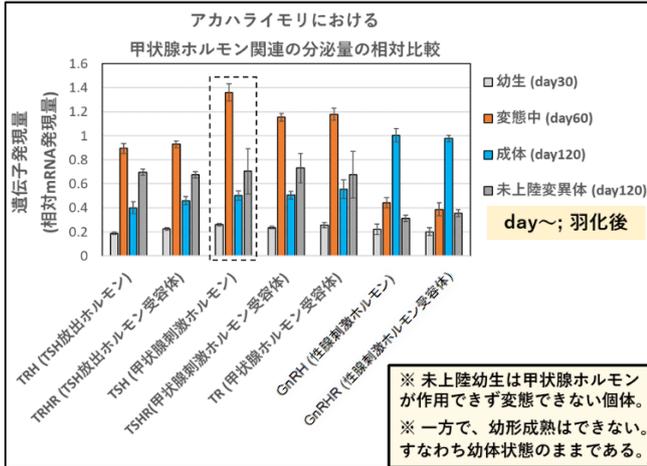
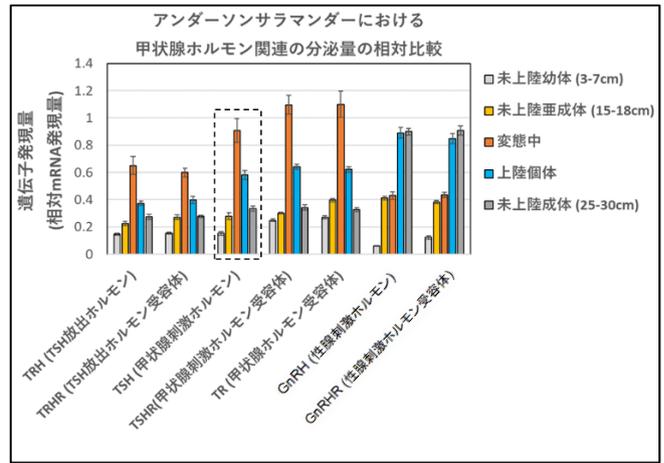
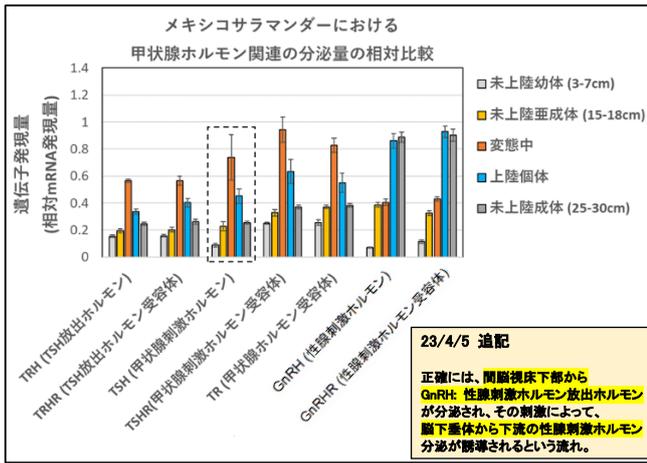


図 5: 上陸個体と幼形成熟する個体における 甲状腺刺激ホルモン (TSH) および 甲状腺ホルモン (主に T4) 分泌量の (推定) 比較

4. 甲状腺ホルモン阻害はネオテニーの成熟化を抑制する

当ラボの研究では、前述の 図 4 において、甲状腺ホルモン阻害剤であるプロパジールを投与する検討を実施した実績がある。

【はらば会報誌・ウーパールーパーだより vol 2.1_2022/6/5 <https://drive.google.com/file/d/1CU7Afs67mGaX1DC9v1kachExWjliqUFZ/view>

> 杉山; 萩原 著> 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 Relationship between sleeping, growth, and circadian rhythm in the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*】において、明暗条件における成長率の比較と併せて、成熟化の抑制(すなわち下流の成長ホルモン (GF) 経路の阻害) 効果を確認する検討時にこのプロパジールを用いた (図 6)。

プロパジールを投与した個体は、恒暗条件 (DD) および DD+メラトニンによる睡眠促進条件 がもたらす成長促進効果を大きく抑制し、本来成体または亜成体まで成長可能な 120 日経過後にも、5cm 程度までしか成長していないという表現型を示した。



図 6: プロパジールによる甲状腺ホルモン阻害はアホロートルの成長・成熟化を大きく抑制する

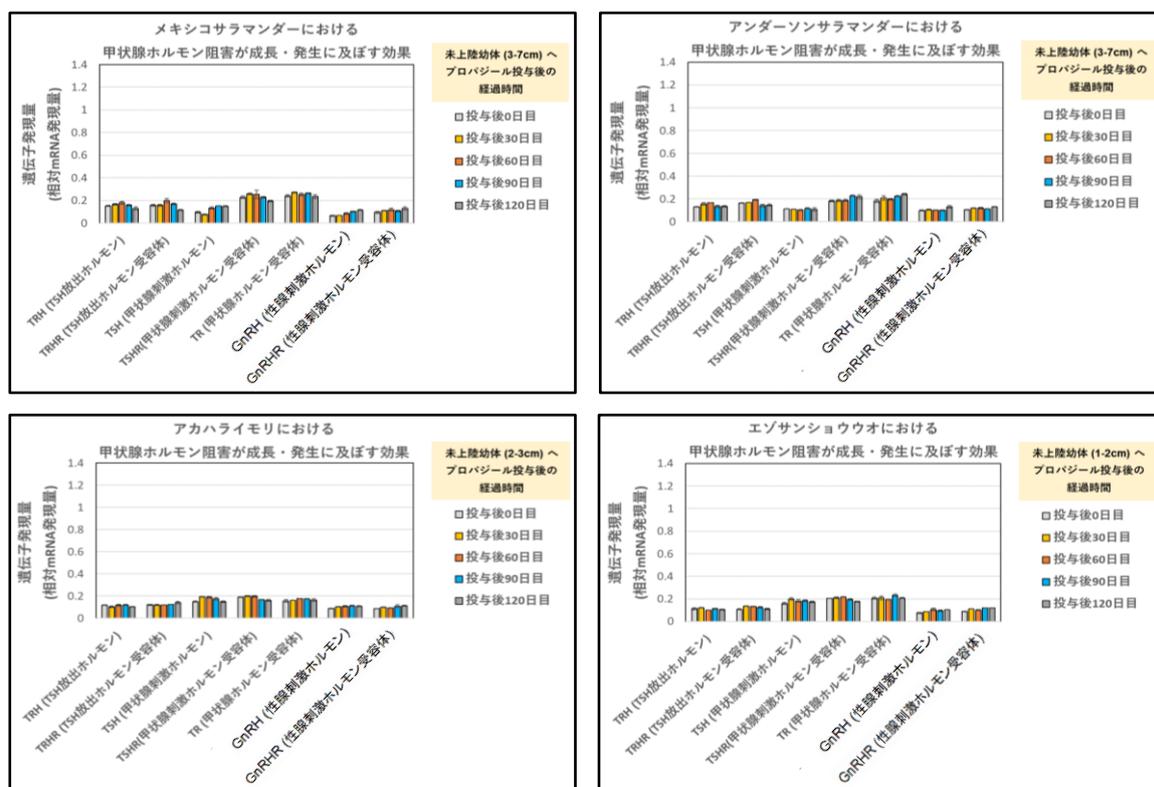


図 7: プロパジールによる甲状腺ホルモン阻害は

ネオテニー以外の有尻両生類の成長・成熟化であっても大きく抑制する

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)



5. 水槽に含まれるヨウ素がネオテニー飼育個体に与える影響 & 意図的に変態させる方法（非推奨）

複数の文献や情報に基づいて考えると、メキシコ原種がネオテニーとなった経緯として、水中のヨウ素の濃度が元は高くTSH非依存的な甲状腺ホルモン分泌が起こっていたが、環境の変化によって水中のヨウ素濃度が低下したことで、TSHの濃度上昇によって促進される甲状腺ホルモン分泌促進（甲状腺ホルモンシャワー）が起こりにくくなったことに起因する可能性がある。[A, E, F, G]

水槽の中のヨウ素がどの程度変態へ影響を与えるかについては、現在当ラボでも詳細を調査中であるが、先行文献[A]や当ラボで得られた知見から、**TSHによる甲状腺ホルモンシャワーが巧く起こらない事で変態が進行せず、ネオテニーとしての性質が発揮される可能性が高い**ことから、**通常の飼育の中でヨウ素の濃度や変態への影響をあまり考慮する必要はない**と思われる。

※ 尚、一部の餌や汽水飼育に用いる粗塩中に、海藻が含まれており、ヨウ素を摂取する可能性があるものの、それだけでは変態が誘導された例を当ラボでは確認できていない。現状の汽水飼育（ミネ水）給餌の状況で変態が促進された個体が見られていないため、今後、要検証の課題である。

これらの観点から、**体内で一過的な甲状腺ホルモンの放出が適切に達成されない限り、変態へと移行する可能性は低い**と言える。尚、変態を意図的に誘導する場合は、直接甲状腺ホルモンを何等かの方法で生体へと投与する必要があり、以下に示すような手順で変態されることが可能であるとされている。[B-D]

変態の誘導 [C, D]

- ・ 前提として、10cm程度の亜成体～成体で行うこと（一部、3年経過後の成体で自然変態したとの報告もある）。
- ・ 0.02%の甲状腺ホルモン（サイロキシン T4 = チロキシン）溶液を数ml程、飼育水中へ投入して飼育する。
- ・ 0.005%のT4を0.5ml程、シリンジ（注射器）にて注射し、皮下投与する。

※ **甲状腺ホルモン投与の際、一度に多くの量を与えずにと変態が早まるが一方、生体に負荷が大きくなる**点に注意！

※ これとは別に、**近縁種のタイガーサラマンダー*の甲状腺移植による変態誘導（甲状腺分泌量を増やす）という手法も存在する。**

**Ambystoma tigrinum*

- トウブタイガーサラマンダー <https://www2.hkr.ne.jp/~rieokun/saramand/imori/ambytiger.htm>

- オビタイガーサラマンダー <https://www2.hkr.ne.jp/~rieokun/saramand/imori/ambyobitiger.htm>

変態後の様子 [C, D]

- ・ 鰓と鰭が1ヶ月程度で、次第に小さくなってなくなる。
- ・ 骨格全体が小さくなり、頭が卵型になる。
- ・ まぶたが形成され、眼が球体の構造となることで視力が向上する。
- ・ 皮膚の粘性が無くなり角質化し、体の表面に模様ができる（リューススティックやアルビノ個体では分かりにくい）。

とはいえ、**変態はネオテニーであるメキシコサラマンダーには非常に大きな負荷を与える可能性がある**ため、もし実践される場合は**自己責任のもと、投与量に最大限の注意を払うこと、シリンジ投与の方は針の消毒や自身のケガが無いよう細心の注意を払って作業すること**を推奨する。

メキシコサラマンダーの変態に関する参照記事

- ・ A) Hasumi Virtual Lab for Salamanders 様 HP
http://www5d.biglobe.ne.jp/~hasumi/faq/s_a8.html
- ・ B) ウーパールーパーラボ様 HP__ウーパールーパーの体>ウーパールーパーの変態__date :2009.12.28
(writer :syogunpv :44097) <https://ulabo.com/b12.php>
- ・ C) 阿部泰宜様 HP>「ウーパールーパーの生態について」
<http://oo.spokon.net/yasu/u-pa/u-pa-3.htm>
- ・ D) ウーパールーパーの説明書様 HP
<https://xn--gck9da7hrdbbb.xyz/archives/723>
- ・ E) 百科事典マイペディア > 「アホロートル」
<https://kotobank.jp/word/%E3%82%A2%E3%83%9B%E3%83%AD%E3%83%BC%E3%83%88%E3%83%AB-27078>
- ・ F) ウーパールーパー情報室 | 専門獣医師による飼育と病気の解説
<https://kotobank.jp/word/%E3%82%A2%E3%83%9B%E3%83%AD%E3%83%BC%E3%83%88%E3%83%AB-27078>
- ・ G) 爬虫類両生類データベース
<https://reptiles-amphibian.info/ambystoma-mexicanum-evolution/>



参考文献: 甲状腺ホルモン, 両生類の変態, ネオテニー 関連

- 1) <http://tmuanimalecology.blog.fc2.com/blog-entry-697.html>
- 2) <http://hynobius.sakura.ne.jp/index.html>
- 3) <https://wwp.shizuoka.ac.jp/bio-okada/theme/metamorphosis/>
- 4) <file:///C:/Users/saida/Downloads/Honbun-3763.pdf>
- 5) <https://wwp.shizuoka.ac.jp/bio-okada/theme/metamorphosis/>
- 6) https://www.env.go.jp/chemi/end/endocrine/1guide/detail_a1-3.html
- 7) <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123859792000083>
- 8) <https://bioone.org/journals/copeia/volume-104/issue-1/OT-15-269/An-Integrative-Endocrine-Model-for-the-Evolution-of-Developmental-Timing/10.1643/OT-15-269.short>
- 9) <https://kanri.nkdesk.com/hifuka/ste2.php>
- 10) <https://medlineplus.gov/genetics/gene/mc2r/>
- 11) <https://www.nutri.co.jp/nutrition/keywords/ch2-3/keyword7/>
- 12) https://www.jstage.jst.go.jp/article/nl2008jsce/42/158/42_60/_pdf/-char/ja
- 13) <http://harecoco.net/thyroid/01.html>
- 14) <https://www.suehiro-iin.com/arekore/sp/2017/11/post-172.html>
- 15) <https://kotobank.jp/word/%E3%83%9B%E3%83%AB%E3%83%A2%E3%83%B3%E3%81%AE%E4%BD%9C%E7%94%A8%E6%A9%9F%E5%BA%8F-2098854>
- 16) https://patients.eisai.jp/kojosengan-hhc/about/about01_03.html
- 17) <https://i.kawasaki-m.ac.jp/jsce/191212-28-01/JJCE28-1-22-44.pdf>
- 18) https://www.jstage.jst.go.jp/article/nl2001jsce1975/25/95/25_95_30/_pdf/-char/ja
- 19) https://www2.lib.hokudai.ac.jp/gakui/2001/5777_kanki.pdf
- 20) https://www.gifu-med.jrc.or.jp/thyroid/internal/hyperthyroidism_cure.html
- 21) <https://ikimall.ikimonopal.jp/blog/post-1504/>
- 22) <https://seseragi-store.jp/blogs/%E3%83%8B%E3%83%A5%E3%83%BC%E3%82%B9/%E3%82%A6%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%83%AB%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%81%AE%E9%A3%BC%E8%82%B2%E3%81%AB%E3%81%A4%E3%81%84%E3%81%A6>
- 23) <https://ulabo.com/b12.php>
- 24) <https://reptiles-amphibian.info/ambystoma-mexicanum-evolution/>
- 25) <https://avaportrail.wordpress.com/2013/06/25/%E3%82%A6%E3%83%BC%E3%83%91%E3%83%BC%E3%81%AE%E5%90%8D%E7%A7%B0/>
- 26) <https://www.gifu-med.jrc.or.jp/thyroid/internal/about.html>
- 27) https://www.jstage.jst.go.jp/article/jirm/64/5/64_864/_pdf
- 28) https://www.jstage.jst.go.jp/article/ymj/57/5/57_5_145/_pdf
- 29) <https://webview.isho.jp/journal/detail/abs/10.11477/mf.1431100322>
- 30) <https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-11671080>
- 31) Kikuyama S et al. International Review of Cytology, 145 (1993).
- 32) Denver RJ. Current Topics in Developmental Biology, 103, pp. 195-227 (2013).
- 33) Okada R et al. Gen Comp Endocrinol, 135, 42-50 (2004).
- 34) Ito Y et al. Gen Comp Endocrinol, 138, 218-227 (2004).
- 35) Okada R et al. Ann N Y Acad Sci, 1163, 262-270 (2009).
- 36) Okada R et al. Gen Comp Endocrinol, 150, 437-444 (2007).
- 37) Matsuda K et al. Gen Comp Endocrinol, 168, 280-286 (2010).
- 38) Nakajima K et al. Gen Comp Endocrinol, 89, 11-16 (1993).
- 39) Yazawa T et al. Gen Comp Endocrinol, 113, 302-311 (1999).



- 40) Mosconi G et al. Gen Comp Endocrinol, 126, 261-268 (2002).
- 41) Melmed S, Polonsky KS, et al: Hormones and hormone action. In: Williams Textbook of Endocrinology, 12th ed, pp3-99, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2011.
- Jameson JL, DeGroot LJ: Principles of endocrinology and hormone signaling. In: Endocrinology, 6th ed, pp3-14, Elsevier, Amsterdam, 2010.
- 42) Kikuyama, S., Kawamura, K., Tanaka, S., Yamamoto, K., 1993. Aspects of amphibian metamorphosis: hormonal control, in: Jeon, W.J., Jarvik, J. (Eds.), International Review of Cytology. Academic Press, New York.
- 43) Denver, R.J., 2013. Chapter Seven – Neuroendocrinology of Amphibian Metamorphosis, in: Shi, Y.-B. (Ed.), Current Topics in Developmental Biology, Animal Metamorphosis. Academic Press, pp. 195–227.
- 44) Okada, R., Yamamoto, K., Koda, A., Ito, Y., Hayashi, H., Tanaka, S., Hanaoka, Y., Kikuyama, S., 2004. Development of radioimmunoassay for bullfrog thyroid-stimulating hormone (TSH): effects of hypothalamic releasing hormones on the release of TSH from the pituitary in vitro. Gen. Comp. Endocrinol. 135, 42–50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2003.09.001>
- 45) Okada, R., Ito, Y., Kaneko, M., Yamamoto, K., Chartrel, N., Conlon, J. M., Vaudry, H., Kikuyama, S., 2005. Frog corticotropin-releasing hormone (CRH): isolation, molecular cloning, and biological activity. Ann. N. Y. Acad. 1040, 150–155. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1327.019>
- 46) Okada, R., Yamamoto, K., Hasunuma, I., Asahina, J., Kikuyama, S., 2016. Arginine vasotocin is the major adrenocorticotrophic hormone-releasing factor in the bullfrog *Rana catesbeiana*. Gen. Comp. Endocrinol. 237, 121–130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.08.014>
- 47) <http://gecko0912.web.fc2.com/HP3/index9c.htm>
- 48) <https://nazology.net/archives/101212/2>
- 49) http://www5d.biglobe.ne.jp/~hasumi/faq/s_a8.html



奥付

増刊号: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 vol.X

発行日・・・ 2023/5/5

編集・著者 杉山 遥 (PN; Ph.D)

表紙写真撮影者 杉山 遥

※ 杉山 遥 研究者ポータルサイト Researchmap: https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl

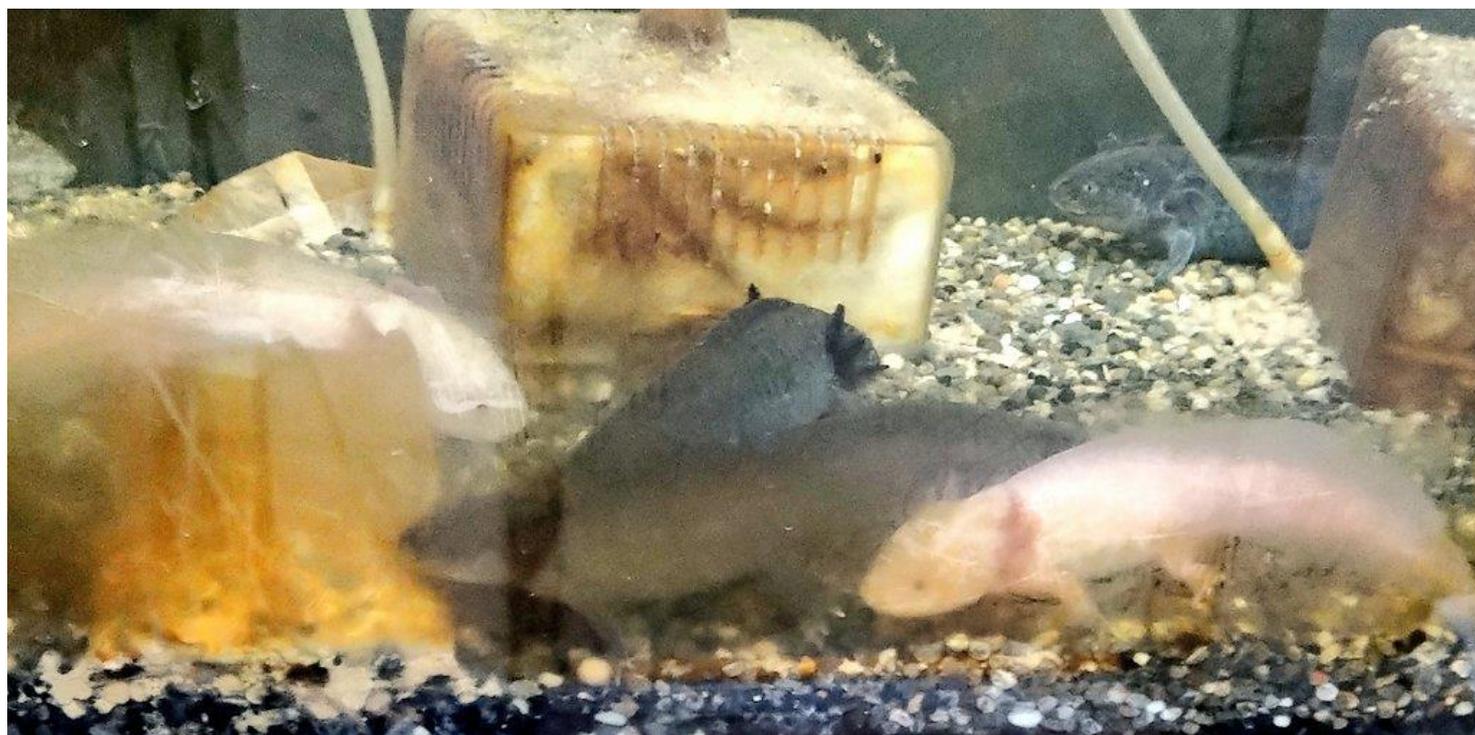
発行元 ウーパールーパー研究室_はるらぼ, HAL_Lab_Axolotl

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



ウーパールーパー研究室・はるらぼ

sugiyama.haruka.axo1t@gmail.com

since 2020~ (@lab_new2)

Twitter: 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。

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)

