

# ギンブナのアミノ酸鏡像異性体への反応

2年9組 榎浪葵 守屋野香 渡壁心那

## 1. 要約

グリシンを除くアミノ酸には鏡に映すと同一になる構造(鏡像異性体)を持つL体とD体が存在する。私たちは、ヒトにはL体D体の味覚や嗅覚での判別はつかないが、アミノ酸を嗅覚で嗅ぎ分けられると知られている魚類ならL体とD体さえも判別できるのではないかと考えた。そこで、嗅覚が優れているコイ目であるギンブナ(*Carassius auratus*)に着目して実験を行い、ギンブナの行動とアミノ酸のL体とD体の関係性を調べた。

## ABSTRACT

Amino acids except glycine have L-form and D-form, which have the same structure when reflected in a mirror (it is called enantiomers). We thought that while humans cannot distinguish between L- and D-forms through taste and smell, fish, which are known to be able to distinguish amino acids, may be able to distinguish between L- and D-forms. Therefore, we conducted an experiment focusing on the *Carassius auratus*, which is classified as the *Cyprinidae* family that has an excellent sense of smell, and investigated the relation between the behavior of the *Carassius auratus* and the L- and D-forms of amino acids.

キーワード：ギンブナ, アミノ酸, 鏡像異性体

Key words : *Carassius auratus*, Amino acids, Enantiomers

## 2. 緒言

魚類はアミノ酸やステロイドなど、非揮発性物質に対して嗅覚が発達しており、索餌や仲間の識別、捕食者からの逃避、繁殖フェロモンの感知などに役立っている。したがって、嗅覚は視界が明瞭でない水中での生活に欠かせない感覚の一つとなっている。数多く存在するアミノ酸の中で生物に最も多く含まれるのはグルタミン酸である。私たちは、グルタミン酸がほかのアミノ酸よりも判別が必要になると考え、L-グルタミン酸とD-グルタミン酸を用いて実験を行った。また、先行研究では、魚類はアミノ酸のなかでもメチオニンに対する反応性が低い

ことがわかっているが、メチオニンでも異なった反応を呈するのか調べるため、メチオニンでも同様の実験を行った。

## 3. 目的

ギンブナの嗅覚、味覚によるグルタミン酸およびメチオニンのL体とD体の判別を調べる

## 4. 研究内容

### 4-1. 採集

野生種のギンブナを入手するため、2023年6月19日に京都府木津川市にある木津大橋下木津川右岸のワンドにて、3~4センチ

メートル程度のギンブナの幼魚を 10 匹捕獲した。個体間で嗅覚および味覚の特性に偏りを生じさせず、無作為に選んだギンブナを研究で対象にするため、餌でおびき寄せて罟で捕獲する方法は不適だと考え、1 匹ずつ網ですくって捕獲した。採集したギンブナを 90cm 水槽で飼育し、この研究での研究対象としている。

#### 4-2.有効な実験装置の作成

ギンブナの嗅覚に関する反応を調べるため、実験装置を作成した。初めに横幅 90 cm、奥行 30 cm、高さ 36 cm の水槽を横幅 30 cm 間隔で三等分に仕切り板を設置し三つの部屋に分け、匂い物質がすぐに全体に拡散しないようにし、各部屋で匂い物質の濃度差がある程度現れる装置を作った【図 1】。



【図 1】

それぞれの仕切り板にはギンブナが分けた部屋を行き来出来るように、下から仕切り板の中央に直径約 5cm の円を開けた。この実験装置で以下の予備実験を行った。

##### <予備実験>

目的：【図 1】の実験装置が研究に有効かどうか検証する。

使用薬品：川魚用人工飼料(普段餌として与えているもの)

手順：

- ①ギンブナは集団行動をするため、他の個体を追ったのではなく 1 個体の感覚で行動したことを記録するために、1 匹

ずつ実験を行う。ギンブナを中央の部屋に入れ、水槽に向かって左の部屋に餌を入れた。

- ②餌に反応を示すか 1 時間観察を行う。

##### 結果

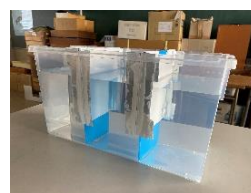
どの個体も目立った反応を示さず、中央の部屋から移動することがほとんど無かった。

##### 考察

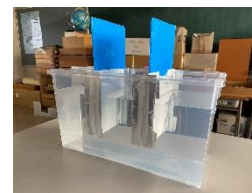
実験水槽が大きく、匂いが拡散するのに時間がかかることや、普段飼育している様子から判断して、ギンブナの生活圏が主に底付近である故に、水槽の仕切り板の穴に気づきにくいことなどがこの結果の原因であると考えた。

そこで、【図 1】の実験装置を改良することにした。匂いの拡散時間が短くなるように実験用水槽として横幅 45cm、奥行 19.5cm、高さ 24cm のコミックケースを水槽として使用し、三等分する仕切り板を取り付けた。ギンブナが部屋を移動しやすいよう、仕切り板は下から約 6.5cm の部分が隙間になっていて、別の板で隙間を通れないように塞ぐことができるようになっている

【図 2】、【図 3】。



【図 2】



【図 3】

また、視覚的刺激を極力無いものとするため、実験を行うときは実験装置の周りを段ボールで囲い、部屋の照明を消し、カーテンで光を遮る。ここで、この装置の有効性を確認するため、以下の<実験 1>、<実験 2>を行った。

### <実験1>

目的：作成した実験装置でギンブナの反応が見られるか検証する

使用薬品：光クレストフェスティバル(市販されている魚の人工飼料)

手順：

- ①実験をする上で分かりやすくするため、作成した実験装置で、撮影しているカメラから見て右側の部屋を「右」、中央の部屋を「中央」、左側の部屋を「左」とする(以降の実験でも同じ)。ギンブナは集団行動をするため、他の個体を追ったのではなく1個体の感覚で行動したことを記録するために、ギンブナを1匹のみ「中央」に入れる。
- ②実験開始前は各部屋の仕切り板と水槽底面との隙間が別の板で塞がれ、ギンブナは部屋を移動することができない。
- ③コーヒーフィルターをホッチキスで留め、これに紐をつけて割りばしで吊り下げたもの(以下※1とする【図4】)の中身にすり潰した光クレストフェスティバルを入れて「右」に入れ、水につけて左右に10往復揺らす。
- ④割りばしを静かに水槽の端に渡して置く。仕切りの板をゆっくりと持ち上げてギンブナが部屋を自由に行き来できるようにし、時間のカウントを開始する。
- ⑤5分間(300秒)行動を観察し、各部屋にいた秒数を記録する。



【図4】

### 結果

[表1] 実験1で各部屋にいた秒数〔秒〕

	左	中央	右
1匹目	129	78	93
2匹目	62	103	135
3匹目	15	4	279
4匹目	82	150	78
合計	288	375	585

個体によって動きの活発さに違いはあったが、何かを探しているかのように動き回った。また、仕切りを外した直後は匂いのある「右」に移動する傾向が強かった

### <実験2>

目的：実験1の有効性を確かめることで作成した実験装置が有効であることを確認する

使用薬品：なし

手順：実験1と同様の手順で、※1に匂いのする物質は入れず、※1が水に浮かず、安定するようにステンレス球のみを入れた。

### 結果

[表2] 実験2で各部屋にいた秒数〔秒〕

	左	中央	右
1匹目	151	65	84
2匹目	63	220	17
3匹目	112	188	0
4匹目	48	153	99
5匹目	0	0	300
6匹目	166	38	96
7匹目	4	228	68
合計	514	892	664

## 考察(実験1, 2)

実験1から、※1に匂いのする物質が入っているときは匂いのする部屋に移動する傾向が強い。実験2から、※1に匂いのする物質が入っていないときは初めにギンブナがいた「中央」にいる時間が多い。また個体差はあるが、あまり頻繁に移動せず移動した先の部屋に長くとどまることが多く、実験1で見られた何かを探すような動きは見られなかった。よって作成した実験装置は有効であると考えられる。

匂い物質のない実験2の結果から、フナがどの部屋を好むのかを考えた。フナは30秒あれば十分に部屋移動できると考え、30秒いる度に1ポイントとして、実測値と3部屋が等しくなると考えた推測値をカイ二乗検定したところ、以下の結果となった。

表2より	左	中央	右
実測値	16	28	16
推測値	20	20	20

カイ二乗検定  $P = 0.091$

これより、フナは中央にやや居残りやすい傾向があるとも考えられる。また、左：中央：右が、4：7：4の比となることを期待値として以下の検定を行うこととした。

つぎに、表1の結果を飼料の部屋に集まらないと仮定して、同様の検定を行ったところ、その確率は0.6%と低く、飼料のある部屋に移動する傾向を示し、実験装置の有効性が確かめられた。

表1より	左	中央	右(飼料)
実測値	8	10	18
期待値	9.6	16.8	9.6

カイ二乗検定  $P = 0.006$

## 4-3.本実験

作成した実験装置の有効性が確かめられたので、この装置を使って実験を行った。

### <実験3>

使用薬品：L-グルタミン酸 0.10g,  
D-グルタミン酸 0.10g

手順：

①約20度に調節した水を実験装置に入れ、仕切り板と水槽底面との隙間を別の板で塞いでからギンブナを1匹「中央」に入れる。

②「左」にL-グルタミン酸を入れた※1を、「右」にD-グルタミン酸を入れた※1を入れてそれぞれ左右に10往復揺らし、①で隙間を塞いでいた板を外してフナの行動を観察する。

※これ以降全ての実験結果はフナが動き出した時刻を0分0秒としてカウントし、5分間(300秒)の動きを記録した。

結果

[表3]

それぞれの部屋にいた合計秒数〔秒〕

	左(L型)	中央	右(D型)
1匹目	17	95	188
2匹目	32	181	87
3匹目	4	131	165
4匹目	54	76	170
5匹目	15	200	85
6匹目	135	88	77
7匹目	20	73	207
8匹目	78	82	140
9匹目	299	1	0
10匹目	196	104	0
11匹目	283	17	0
12匹目	73	87	140
合計	1206	1135	1259

#### <実験4>

使用薬品：L-メチオニン 0.10g,

D-メチオニン 0.10g

手順:「左」にL-メチオニンを入れた※1を、  
「右」にD-メチオニンを入れた※1を  
入れて<実験3>と同様に行う。

#### 結果

##### [表4]

それぞれの部屋にいた合計秒数〔秒〕

	左(L型)	中央	右(D型)
1 匹目	136	58	106
2 匹目	0	300	0
3 匹目	76	139	85
4 匹目	71	80	149
5 匹目	42	167	91
6 匹目	0	92	208
7 匹目	108	111	81
8 匹目	117	124	59
9 匹目	91	142	65
合計	643	1213	844

#### 4-4.考察

実験3では、各部屋にいた滞在時間(秒)の全ての実験の合計は「右」と「左」とで顕著な差は見られなかったため、ギンブナがアミノ酸の鏡像異性体を判別したかどうかは確定できなかった。ギンブナは自然界で泥の中にある、底生藻や生物の死骸、バクテリア等を採食する。このうち、底生藻や生物の死骸等にはL-グルタミン酸が多く含まれており、バクテリアにはD-グルタミン酸が多く含まれていることが明らかになっている。今回の実験で歴然とした差が見られなかったのはこのようなことが原因であると考えられる。

実験3の結果を、やはり30秒ごとに1ポ

イントを数えて、期待値に比較してカイ二乗検定したところ、次の結果となった。

表3より	左(L型)	中央	右(D型)
実測値	34	32	36
期待値	27.2	47.6	27.2

カイ二乗検定 P=0.008

検定の結果から、「中央」から「左」「右」どちらかに移動している傾向が窺える。このことから、フナはグルタミン酸のL体だけでなくD体も認識し、迷っているのではないかと考えられる。

実験4でも、各部屋にいた滞在時間(秒)の全ての実験の合計は「右」と「左」とで顕著な差は見られなかった。ただし、実験4の2匹目の結果に現れているように、「右」や「左」にはあまり移動せず、グルタミン酸の実験3よりも「中」の滞在時間が比較的長かった。さらに、実験3では行ったり来たりするような行動が多く見られたのに対し、実験4ではぐるぐる回るような行動が多く見られた。実験4の結果を、同様に検定したところ、次の結果となった。

表4より	左	中央	右
実測値	18	36	23
期待値	20.5	35.9	20.5

カイ二乗検定 P=0.74

このことから、メチオニンのL体とD体は、ギンブナの移動反応を引き起こしにくいと考えられる。

#### 5.今後の展望

まず、フナの個体数を増やして、実験回数を増やす必要がある。さらに、今後は「右」か「左」のどちらかの部屋に1種類だけアミノ

酸を入れて、それぞれのアミノ酸に対してギンブナが近寄るのか遠ざかるのか、または興味を示さないのかということも観察することで、今回の実験 3.4 の行動の理由を明らかにしていきたい。なお、部屋「右」、「左」ともに同じアミノ酸を入れたときの反応と、部屋を移動した回数などを調べることによって、今回の実験 3, 4 で迷うような行動をしたのは L-グルタミン酸と D-グルタミン酸を判別したからであるかどうかということも明らかにしていきたいと考える。また、グルタミン酸だけでなくほかのアミノ酸でも同様の実験をして反応を調べていきたい。

これらに加え、フナの嗅覚の鋭さを使って嗅覚及び味覚による条件付けにも着手していきたいと考える。

## 6. 参考文献

国立環境研究所侵入生物データベース

<https://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/DB/detail/50520.html>

魚類におけるにおい受容のメカニズム

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jao/36/3/36\\_3\\_150/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jao/36/3/36_3_150/pdf)

恒星社厚生閣『魚類生態学の基礎』

『魚類化学感覚器のアミノ酸に対する応答』

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/tasteadsmell/6/2/6\\_KJ00002397294/article/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/tasteadsmell/6/2/6_KJ00002397294/article/-char/ja)