

原著論文

忌避化学物質を利用した粘菌変形体のネットワーク形成

築地克弥¹・松田千夏¹・高橋和成¹

Network formation of slime mold plasmodium using citric acid as a repellent

Katsuya TUKIJI¹, Chinatsu MATSUDA¹ and Kazunari TAKAHASHI¹

Abstract: The slime mold plasmodium is known to form networks connecting food patches by its migration in search of food. We attempted in this study to simulate the formation of transportation networks between cities with plasmodia regulated by the distributions of food and repellent. In the plasmodium network formation experiment we used 2% agar as the culture medium, oatmeal as the food, and 0.2 M citric acid as the repellent. We tested agar plates shaped in the forms of the islands of Kyushu and Shikoku in Japan. We used the citric acid solution to model the mountain ranges, and oatmeal flakes to reproduce the locations of major cities. The plasmodia migrated on the plates and formed networks similar to those connecting real cities. We evaluated the ease of connection between cities with the frequency of connections formed by the plasmodia placed on the particular city locations. Correspondence analysis revealed that Fukuoka would center in Kyushu and Kochi in Shikoku. Our results demonstrated that the plasmodium, placed on an agar plate with food and repellent arranged to model the topography and locations of cities, would migrate to form networks to model the transportation networks in the real world.

Key words: コレスポネンス分析, 最短経路, 接続頻度, 地形寒天ゲル

I. はじめに

粘菌(真正粘菌)変形体は、巨大なアメーバ様の単細胞で栄養増殖し、原形質流動による運動で探餌行動をする。そのときには、光や危険な化学物質などの障害物を避ける性質をもつ。粘菌変形体が迷路を解いたり、合理的なネットワークを描いたりすることは、数理解析の研究からわかってきた(Nakagaki et al. 2000, Tero et al. 2006, 2007, 小林ほか 2007, 小林 2008, 手老ほか 2008, Tero et al. 2010)。関東地方のJRネットワークの検証実験(中垣 2010)では、海や山に相当する位置に、その深度や高度に応じた強さの光を当てている。粘菌変形体によって地点間の最短経路を求める方法は、*Physarum solver*(粘

菌解決法)と呼ばれ、「単細胞生物の粘菌を利用して最適な鉄道網を設計することを考案」したとして、イグノーベル賞(2010年)の交通計画賞に輝いている。粘菌は一般にも知られる知的生物になり、その迷路実験は、漫画「もやしもん」(石川 2005)にも紹介され、児童生徒にとっても粘菌は興味深い生物になっている。本研究では、こうした科学トピックが身近に感じられる実験として再現できないか、高校生でも容易に実験できる粘菌ネットワーク形成法を探究した。

粘菌変形体は、周りの障害物を避けながら、餌となる物質を探索する。探餌行動の際に見せる化学走性はよく知られた現象で、従来から多くの研

1. 〒700-0005 岡山市北区理大町1-1 岡山理科大学附属高校 Okayama University of Science High School, 1-1 Ridai-cho, Kita-ku, Okayama City, Okayama 700-0005, Japan. E-mail:kumakusu03@yahoo.co.jp

究報告がある(Carlile 1970, Kincaid and Mansour 1978, Knowles and Carlile 1978, Ueda and Kobatake 1982, McClory and Coote 1985など). 本研究では, 変形体が強酸性物質のクエン酸を忌避すること(高橋 2012)に着目して, 地域の交通路に類似した粘菌ネットワークの形成実験に取り組んだ.

II. 方法

1. 粘菌変形体の培養

真正粘菌モジホコリ (*Physarum polycephalum*) の変形体は, 湿したペーパータオルや寒天ゲル(2%)上で, クエーカーオートミールを餌として培養する(図1). 培養温度は20℃~25℃の範囲が適しているのので, 盛夏や冬季を避ければ室温でも培養できる. 明るい場所では, 変形体から子実体が形成されるため暗所で培養する必要がある. 変形体は新しい培地に2日ごとに植継ぎ, 餌に集まり増殖している変形体の塊を実験に使用する.

2. 地形寒天ゲル上での粘菌ネットワーク形成実験

九州や四国などの閉鎖的地形培地では, 餌をつなぐネットワークが明瞭に形成されると考え, 角形プラスチックケース(L14 cm×W10 cm×H2.5 cm)の2%寒天ゲルの下に, 九州もしくは四国の地図を敷き, 海洋部分を除去した地形寒天ゲルをつくった(図2A, 図3A). 都市の位置に1粒のオートミールフレークを置き, 地形的な障害物(山地)には忌避物質(0.2 mol/Lクエン酸)を含ませたろ紙を置いた. ろ紙は, 穴あけ機で直径5 mmの円形に打ち抜いたもの(パンチろ紙)を2枚重ねにして使用した. クエン酸の拡散は, 寒天ゲル液にBTB液を1/5容量で加えて確認した.

変形体を特定の都市位置に配置し, そこから餌間をつなぐネットワークを形成させた. 設置する変形体の量は, 10粒ほどのオートミールフレークに集まっている塊である. 九州地形では標高1200 m以上の山地の位置に忌避物質を置き, 四国地形では標高600 m以上の山地の位置に忌避物質を置いた. 九州地形

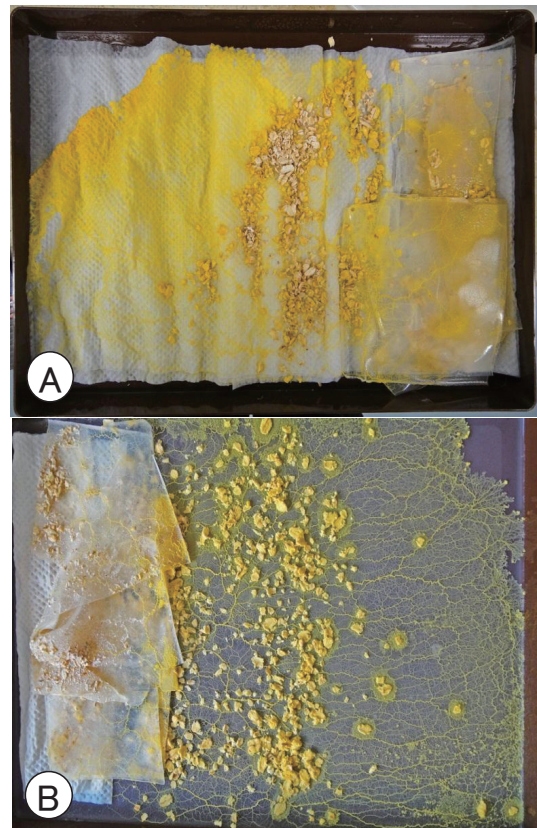


図1. モジホコリ (*Physarum polycephalum*) 変形体の培養. A: スチロールケース(L36 cm×W26 cm×H4 cm)に湿したペーパータオルを敷き, そのうえで培養した変形体. B: 2%寒天ゲル上に植え継いで培養した変形体.

では, 餌を置く地点として12都市(福岡, 北九州, 佐賀, 長崎, 別府, 熊本, 延岡, 人吉, 出水, 宮崎, 都城, 鹿児島)を選び, その中の福岡, 長崎, 熊本, 鹿児島の位置の一つに変形体を置いて, 他の11都市に置いた餌へのつながりを調べた. 四国地形では, 餌を置く地点として7都市(高松, 徳島, 高知, 室戸, 中村, 宇和島, 松山)を選び, その中の高松, 高知, 松山の位置の一つに変形体を置き, 他の6都市に置いた餌へのつながりを調べた.

都市間のつながり易さは, 5回の反復実験から都市間が最短区間(経由都市数最少)でつながった頻度で評価した. 18℃~20℃暗所で培養開始約40時間後に, 変形体のつながりを写真撮影し, 太い管でつながった都市を記録した. 実験で得られた都市間の接続頻度(最大値5)と接続開始都市との関係を, コレスポンデンス分析によって解析した. この分析法は, 多変量データからデータ間の関係性を2次元で視覚的にとらえることができる特性がある. 解

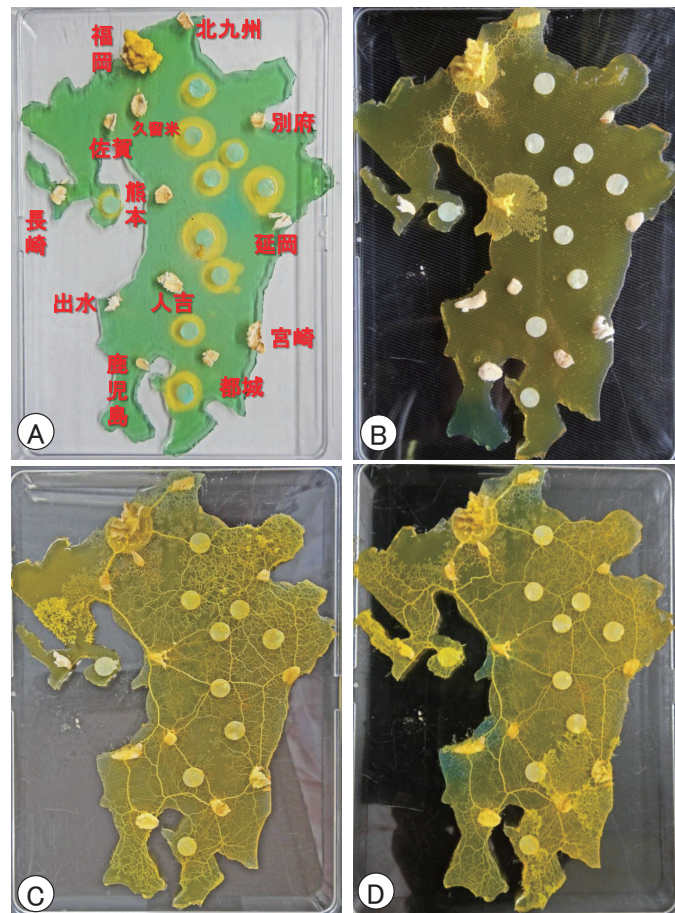


図2. モジホコリによる九州の都市間ネットワークの形成. A: 餌を配置した12都市と忌避物質の配置図. B: 福岡に変形体を設置して培養12時間後の変形体. C: 40時間後. D: 60時間後(18℃暗所で培養).

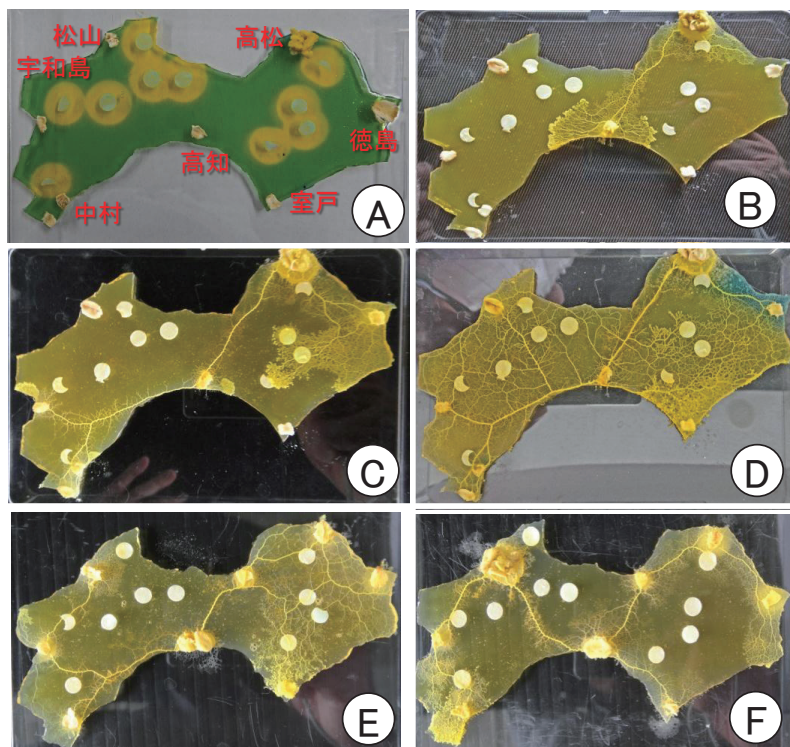


図3. モジホコリによる四国の都市間ネットワークの形成. A: 餌を配置した7都市と忌避物質の配置図. B: 高松に変形体を設置して12時間後の変形体. C: 24時間後. D: 40時間後. E: 高知に変形体を設置して40時間後の変形体ネットワーク. F: 松山に変形体を設置して40時間後の変形体ネットワーク(18℃暗所で培養)

析には、フリーソフトのPAST(Hammer et al. 2001: <http://folk.uio.no/ohammer/past/>)を利用した。

III. 結果

1. 粘菌ネットワーク形成

変形体は、忌避物質を避けながら地形内の各都市をつなぐネットワークを形成した。変形体を設置した都市からの接続頻度を表1(九州地形)と表2(四国地形)に示す。変形体を九州地形の福岡に置いた場合には、先ず北九州や佐賀、熊本につながった(図2B)。さらに、鹿児島に続いて別府、延岡につながった。長崎につながったのは最後であった(図2C, D)。熊本を出発点にした場合には、近隣都市につながりやすく、人吉や宮崎に高頻度でつながった。鹿児島からは、隣接する出水、さらには佐賀、福岡、北九州につながりやすく、都城、宮崎にもつながりやすかった。長崎を出発点とすると、佐賀、福岡にはつながりやすいが、熊本や南九州の諸都市とはつながりにくかった。

四国地形(表2)では、高松を出発点とした場合、先ず徳島と高知につながり(図3B)、その後さらに中村、宇和島、松山へとつながった(図3C, D)。高知を出発点とすると、高松や松山によくつながった(図3E)。松山からは、宇和島や中村、高知につながりやすかった(図3F)。高松と高知はつながりやすく、高松と松山はつながりにくかった。

2. 都市間の分析

本実験では、同じ操作で反復実験を行ったが、形成されたネットワークが同じ形になるとは限らなかった。そこで、餌(都市)と餌(都市)の接続頻度でそのつながり易さを解析することにした。変形体の太い管が餌間(都市間)をつなぐ頻度を記録し、そのデータをコレスポネンス分析で解析した。都市間のつながり易さを視覚的にとらえるために第1軸と第2軸の値から分布図を描いた(図4, 図5)。粘菌ネットワークによる都市間のつながり易さは、コレスポネンス分析によると、地理的な距離をそのまま反映したものではなかった。

表1. 九州地形におけるモジホコリ(*Physarum polycephalum*)変形体ネットワークの12都市間接続頻度(反復実験数=5)。

都市名	変形体を設置した都市			
	1 福岡	2 長崎	3 熊本	4 鹿児島
1 北九州	5	5	3	5
2 福岡	-	5	4	5
3 佐賀	5	5	4	5
4 長崎	3	-	1	2
5 別府	3	5	3	3
6 熊本	5	2	-	5
7 出水	5	2	3	5
8 人吉	5	2	5	2
9 鹿児島	5	4	3	-
10 都城	5	5	5	5
11 宮崎	5	5	5	4
12 延岡	3	5	3	1
合計	49	45	39	42

表2. 四国地形におけるモジホコリ(*Physarum polycephalum*)変形体ネットワークの7都市間接続頻度(反復実験数=5)。

都市名	変形体を設置した都市		
	1 高松	2 高知	3 松山
1 高松	-	4	1
2 高知	3	-	4
3 中村	3	3	5
4 宇和島	2	3	5
5 松山	0	1	-
6 徳島	5	1	0
7 室戸	4	1	4
合計	17	13	19

九州では、福岡が各都市につながりやすい傾向を示した。特に、福岡、佐賀、北九州、鹿児島、都城、宮崎が近くに配置された(図4)。鹿児島に近いのは、出水、佐賀、福岡、北九州であった。長崎には、別府が隣接するのみであった。熊本には、出水、人吉が近接したが、特に強い関係性をもつ都市はなかった。この分析における第1軸の寄与率は64.5%、第2軸の寄与率は30.3%であった。

四国のコレスポネンス分析では、高松は徳島と、高知は高松と、松山は中村、宇和島と近接した(図5)。地理的な距離との関連は薄く、高知と高松は近いが、高松と松山は遠かった。第1軸の寄与率は80.3%、第2軸の寄与率は19.7%であった。

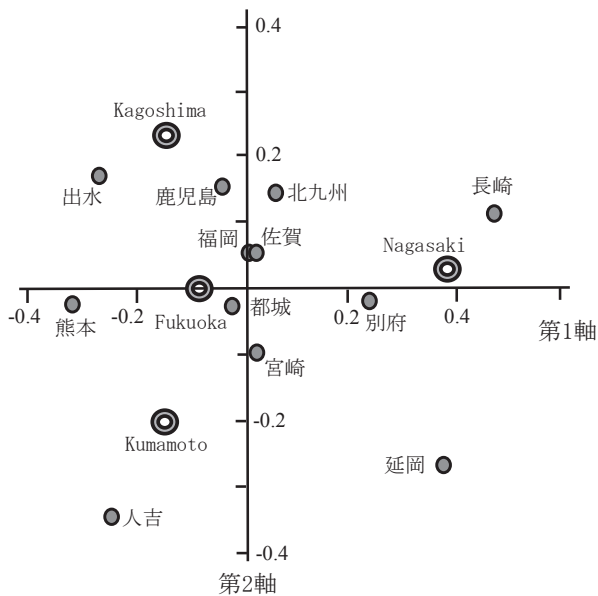


図4. コレスポネンス分析による九州の都市配置. 初めに変形体を設置した都市(◎, Fukuoka, Kumamoto, Kagoshima, Nagasaki)と各都市(●)とのつながりの強さを配置によって示す.

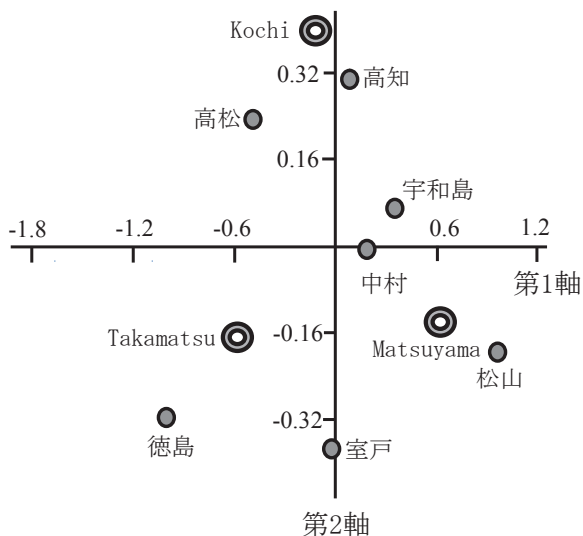


図5. コレスポネンス分析による四国の都市配置. 初めに変形体を設置した都市(◎, Takamatsu, Kochi, Matsuyama)と各都市(●)とのつながりの強さを配置によって示す.

IV. 考察

1. 実験条件の検討

本実験では、地形寒天ゲル上で変形体の太い管が餌間を連結するネットワークを形成した。ただし、ネットワークの末梢部では、分岐の多い不明瞭な経路が見られることがあった。変形体の設置都市と遠方の都市との連絡は必ずしも明瞭ではなく、実験方法に課題が残った。培養開始後40時間以上経過

すると、変形体の末端部では変形体がろ紙をまたぐこともあり、忌避効果が消失していることがうかがえた。忌避物質の効果は、20時間程度までと推定される(高橋 2012)ため、さらに長時間の培養ではろ紙の重層によって忌避物質を追加することが必要だと考えられる。忌避物質を培養20時間後くらいに追加することで、より明瞭なネットワークの形成が期待できる。

今回は、障害物としての忌避物質(0.2 mol/Lクエン酸溶液)を、九州では標高1200 m以上、四国では標高600 m以上の山地の位置に置いたが、実際の地形をより現実的に反映させるためには、地形条件に合わせたクエン酸濃度の調節や他の忌避物質の利用、設置方法の工夫などが必要である。また、培養温度によっても変形体の移動速度が変化するため、忌避物質の拡散速度と変形体の移動速度との関係から、最適実験条件を探す必要がある。

2. 粘菌ネットワークの解析方法

粘菌の変形体は、細胞の周りにおける情報を利用しながら、最終的に餌と餌とを最短経路で接続する。当初複数の経路を形成しても、最後は一番短いルートを選択する。餌間のネットワークは、肉眼で判断できるが、そのつながり易さの評価方法は定まっていない。小林ほか(2007)やTero et al.(2008)は、つながりを変形体の管の太さや長さ、あるいは往復原形質流動のリズムなどから数理解析している。餌をつなぐ変形体のそれぞれの管の太さを計測すれば、原形質流動の輸送効率から、各経路のリスクを推定したり、迂回経路を設計したりすることもできる。しかし、それらの測定は見た目だけの観察ではできなく、解析も容易ではない。本実験ではつながり易さの評価に接続頻度をもとにしたコレスポネンス分析を行った。実際に、九州の粘菌ネットワークでは、肉眼から現実の九州新幹線や高速道路ネットワークとの類似性が観察できたが、都市間のつながり易さは評価できなかったのである。コレスポネンス分析から、九州では福岡と鹿児島に近いつながりが示され、四国の7都市間では、高知と高松の

近いつながりと、高松と松山の遠いつながりが示された。粘菌ネットワークにおいて、配置餌間(都市間)のつながりを合理的に評価する手法として、ネットワークの接続頻度をコレスポネンス分析するという手法が有効であった。

3. 粘菌解決法

地形寒天ゲルと忌避物質の配置によっても、地域の交通路に類似したネットワークが形成されることが分かった。現実の九州新幹線は、熊本から人吉への経路を通らず沿岸部の出水を經由している。一方、高速道路は人吉を經由する。粘菌解決法では、これら2つの経路が現れたが、九州新幹線への類似経路の方がつながり易かった。このネットワーク実験および本州や大陸との位置関係を考えると、福岡は他都市との連絡に最適だと考えられる。

四国は、今日3本の本四連絡橋でつながり、JR網や高速道路網が発達しているが、粘菌ネットワークは現実の交通網とは異なるつながり易さを示した。この違いは、本州との連絡の有無にある。四国が本土から孤立した島となったとき、四国の交通路ネットワークにおける高知の重要性が増すことが推定される。

生物がもつ機能をものづくりに生かす技術開発は、バイオミメティクス(生物模倣)といわれる。最近粘菌の変形体を原始的なインテリジェンスを持つ生物素子として捉える動きが生まれ、変形体による計算過程の研究や、変形体を利用した計算機の構築などの研究が盛んに行われるようになってきた。近年の惑星科学でも、柔軟で自律的な生物システムの性質を応用しようとするバイオミメティクスが幅広い注目を集めている(白川ほか 2007)。粘菌は通常と異なる環境条件下に置かれても、頓着せず自律的に適応する、このような性質を、例えば惑星探査システムに実装できたとすれば、未知の惑星においてデッドロック(行き詰まり)に陥ることなく探査を継続できるシステムの構築が期待されているのである。

V. 謝辞

本研究の発表やまとめに当たり、広島大学大学院理学研究科平成23年度数理分子生命理学セミナー高校生発表会で、泉俊輔教授、小林亮教授、伊藤賢太郎助教、および多数の大学院生の方々からアドバイスをいただきました。また、岡山理科大学附属高校科学部の鈴木貴博君、松野哲朗君、坂東潤一郎君は実験に積極的に協力してくれました。ここに、紙上をお借りして感謝申し上げます。なお、本研究は、第9回高校生科学技術チャレンジ(JSEC2011, 朝日新聞社主催)のファイナリストとして全国大会に選抜されました。

要旨

粘菌変形体による交通路ネットワーク形成実験を、閉鎖的地形である九州と四国を模った地形寒天ゲルで行った。都市に餌(オートミールフレーク)、山地に忌避化学物質(0.2 mol/Lクエン酸溶液)を設置することで、都市間のつながり易さを検証した。特定の都市に設置した変形体が他の諸都市を最短経路でつなぐ頻度を求め、都市間のつながり易さを評価した。都市間の連絡をコレスポネンス分析したところ、交通路網の中心としての最適地は、九州では福岡、四国では高知であった。

引用文献

- Carlile, M. J. (1970). Nutrition and chemotaxis in the myxomycete *Physarum polycephalum*. J. Gen. Microbiol., 63: 221-226.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T. and Ryan P. D. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol Electr 4: (1) 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.html
- 石川 雅之(2005). もやしもん(2). 講談社.
- Kincaid, R. L. and Mansour, T. E. (1978). Chemotaxis toward carbohydrates and amino acid in *Physarum polycephalum*. Exp. Cell. Res., 116: 377-385.

- Knowles, D. J. C., Carlile, M. J. (1978). Growth and migration of plasmodia of the myxomycete *Physarum polycephalum*: the effect of carbohydrates, including agar. *J. Gen. Microbiol.*, 108: 9-15.
- 小林 亮・手老篤史・中垣俊之(2007). 粘菌による迷路の解法. *細胞工学* 26(7): 769-773.
- 小林 亮 (2008). アメーバに学ぶ最短経路探索法. *数学セミナー* 47(5): 20-21. 日本評論社.
- McClory, A. and Coote, J. G. (1985). The chemotactic response of the myxomycete *Physarum polycephalum* to amino acids, cyclic nucleotides and folic acid. *FEMS Microbiology Letters*, 26 (2): 195-200.
- 中垣俊之(2010). 粘菌その驚くべき知性. PHP研究所.
- Nakagaki, T., Yamada, H. and Tóth, A. (2000). Maze solving by an amoeboid organism. *Nature*, 407: 470.
- 白川智弘・郡司幸夫・小松崎民樹(2007). 惑星科学と非線形科学の接点：化学反応から生物計算まで. *日本惑星科学会誌* 16(4): 322-329.
- 高橋和成(2012). 粘菌変形体の化学走性を利用した
- 高校生物実験の開発. *Naturalistae* 16: 29-38.
- Tero, A., Kobayashi, R. and Nakagaki, T. (2006). *Physarum* solver: A biologically inspired method of road-network navigation, *Physica A*, 363: 115-119.
- Tero, A., Kobayashi, R. and Nakagaki, T. (2007). A mathematical model for adaptive transport network in path finding by the true slime mold. *J. Theor. Biol.*, 244: 553-564.
- 手老篤史・小林 亮・中垣俊之(2008). アメーバの迷路解きに学ぼう. *数理科学* 535: 7-11.
- Tero, A., Takagi, S., Saigusa, T., Ito, K., Bebbber, D. P., Fricker, M. D., Yumiki, K., Kobayashi, R. and Nakagaki, T. (2010). Rules for biologically inspired adaptive network design. *Science*, 327 (5964): 439-42.
- Tero, A., Yumiki, K. Kobayashi, R., Saigusa, T. and Nakagaki, T. (2008). Flow-network adaptation in *Physarum* amoebae. *Theory in Biosciences*, 127 : 89-94.
- Ueda, T. and Kobatake, Y. (1982). Chemotaxis in plasmodia of *Physarum polycephalum*. In Henry C. A. and John W. D. (eds) *Cell biology of Physarum and Didymium I*. Academic Press, New York, pp.111-143.

(2012年1月5日受理)