#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 5 年 5 月 2 5 日現在

機関番号: 14401

研究種目: 挑戦的研究(萌芽)

研究期間: 2019~2022

課題番号: 19K22428

研究課題名(和文)イセエビ幼生が平面構造から 3 D形態へ変化する原理の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the principle of change from planar structure to 3D morphology in lobster larvae

研究代表者

近藤 滋 (Kondo, Shigeru)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号:10252503

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文):イセエビの幼生(フィロゾーマ)は、極めて薄い平面上の形態をしているが、1回の脱皮で、通常のエビの立体形状に変化する。脱皮にはわずか20分しかかからないことから、脱皮後の形状は既に、幼生の平面形状に内包されていなければならない。どのようにしてその変形が可能になるかを解明するのが目的である。研究では、まず、三重県水産研究所と共同でフィロゾーマを飼育し、変態途中のサンプルの取得、および、変態中のビデオ撮影に成功した。その後、サンプルを、走査電顕、マイクロCTなどで詳細に調べ、その表面形状から、短時間の変形の基礎になる原理が、クチクラの各部位の異方性のある拡大にあると推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義 学術的意義:変態がわずか20分で起きるということは、平面形状の中に、既に詳細な立体形状が内包されている ことになる。そのような現象が起きる原理は、全く知られていないため、解明できれば、生物の形態形成原理に おいて、新しいロジックを明らかにできるはずである。 社会的意義:平面形状は、重ねることが可能であるため、多数の対象物を保存するために有利である。立体形状 が、平面から簡単に作る方法が明らかになれば、輸送・保存にかかるコストが著しく軽減されるはずである。

研究成果の概要(英文): The lobster larva (phyllosoma) has an extremely thin, planar morphology, but after a single molt, it changes into the three-dimensional shape of a normal shrimp. Since the molt takes only 20 minutes, the shape after the molt must already be internalized into the flat shape of the larva. The purpose of this study is to elucidate how this deformation is possible. In our research, we first reared phyllosoma in collaboration with the Mie Prefectural Fisheries Laboratory and successfully obtained samples during the metamorphosis and videotaped them during the metamorphosis. The samples were then examined in detail by scanning electron microscopy and micro-CT, and the principles underlying the short deformation were inferred from the surface morphology of the samples.

研究分野: 理論生物学

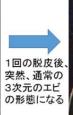
キーワード: 脱皮 形態形成 甲殻類 クチクラ 折り畳み

#### 1.研究開始当初の背景

イセエビの幼生(フィロゾーマ)は、薄くて平らな2次元の板のような形態で、親とは著しく 異なる形状をしている。(上図左)ところが、これが一回の脱皮によりわずか15分で、突如と して親エビとほぼ同じ3次元形態を持つ「プエルルス幼生」に変化する。それまでまったく存在

しなかった「エビ」の形態が、突然現れる。この形象は2つの点で他に例を見ない際立った、世界では、ひとつは、でからでは、その変形が非常には、その変形が非常に起きる。







この驚異的現象ベースとなる原理を解明することで、 生物の形態形成において、今までにない原理の発見に至る、 立体形状の物体を、2次元に変形させて保存する方法に応用できる、可能性があることから、研究を開始した。

# 2.研究の目的

研究の目的のひとつは、今までにない新しい形態形成の原理を明らかにすることである。我々は、カプトムシの角を使って、昆虫が、変態の過程で短時間に携帯を変える原理を明らかにしてきた。昆虫の場合、脱皮前のクチクラに複雑な形状の皺があり、それが展開することで、一瞬にして特徴的な立体形状が出現する。立体形状は、脱皮前のクチクラに刻まれた皺の方向性、密度によってコードされているのである。

一方イセエビの場合、同じ甲殻類であり、脱皮によって変態するが、脱皮前のクチクラに皺構造は存在しているように見えない。そのため、何か別の原理に依り、脱皮後形状のコーディングが行われているかもしれない。まずは、それが何であるかを知ることが、研究の目的である。もう一つ、これは、かなり将来における目的であるが、この原理をモノ作りに生かせるのではないかと期待している。フィロゾーマの形態は、驚くほど平面的で薄っぺらい。そのような形状の物から、簡単に、任意の立体形状を生み出せるのであれば、その技法は、製品の輸送やストックのコストを、劇的に下げることが期待される。

## 3.研究の方法

研究は 2 段階に分かれる。1 段階目はサンプルの取得。2 段階目は、得られたサンプルの電顕、 CT などによる形状解析と形態形成原理の推定である。

#### 1段階目:サンプルの取得

形状観察を行うためには、変態直前、変態中、変態直後のサンプルを取得する必要があるが、ここで問題になるのが、イセエビ幼生の飼育そのものが非常に難しく、現状、日本では三重県水産研究所以外では実現していないことと、その研究所においても、飼育は安定しておらず、毎年、成体に変態する個体数が数匹~数10匹でしかないことである。まず、その数を増やさないことには、変態途中という、非常に微妙な時期のサンプルを得ることはできない。飼育に関して、最

も問題となるのが、餌とフィロゾーマ自身の物理的な脆弱さである。フィロゾーマを確実に生育させることができる餌として現在解っているのがカラス貝の精巣のみである。その採取には、多大な人件費がかかることから、これまで、研究所では、十分な数の飼育水槽を用意することができなかった。そこで、本研究費を使い、フィロゾーマ飼育のための特殊形状の水槽を作成し、それを使って飼育を実行した。フィロゾーマが成体形状(プエルルス)に変態するのは3~5月の日没後であるため、その時期に個体を採取、固定を行う。また、脱皮途中の個体のビデオ撮影を行い、解析用の試料とする。



#### 2段階目:サンプルの形状の解析

取得するサンプルは、脱皮直前、脱皮途中、脱皮直後の3種類である。それぞれを、凍結乾燥後に、X線マイクロCT,走査電顕で観察する。特に、クチクラ表面の構造に注目して、伸展できる皺があるかどうか。異方性の有る伸展が起きているかどうかを調べる。

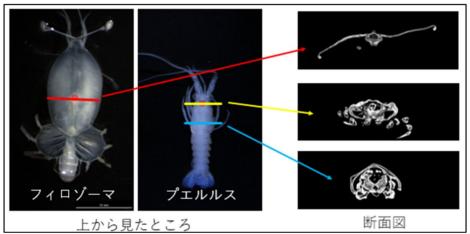
#### 4.研究成果

#### サンプルの取得

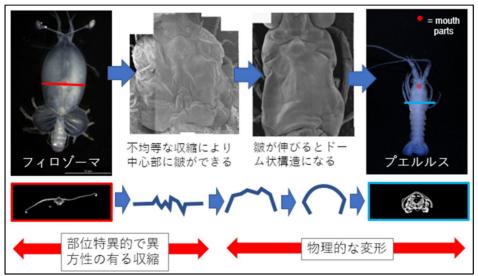
イセエビの幼体(フィロゾーマ)は、20 数回の脱皮を繰り返して大きさが成長するが、形態は 平面形状を保つ。極端な変形をするのは、最終齢のフィロゾーマのみである。脱皮直前には、食 餌構造を止めて、動かなくなるので、そのタイミングで、5 個体をエタノール固定した。プエル ルスへの変態直後の個体も5 個体固定している。変態途中のサンプルの固定のタイミングは、個 体によって異なる。変態は、非常に複雑かつ危険な工程で、どこかが引っかかると、途中で動け なくなり、個体は死に至る。そのため、変態に失敗したものを約10個体集めて、変態途中のサ ンプルとした。

本来は、もっと多数のサンプルが得られる予定であったが、研究機関の3年間は、イセエビの幼体が不漁で、研究協力先全体でも、プエルルスまで成長するものが、わずか2個体という年もあり、サンプル数に関しては、これが限界であった。また、3年目の終わりごろに、三重県知事より、すぐに成果を生まないイセエビ変態の研究の中止命令が出たために、今後、この研究を継続して行うことは不可能になっている。そのため、取得したサンプルは非常に貴重であり、解析後も、再データ取得が可能なように保存している。

### クチクラの解析



上図は、脱皮直前と直後の個体を上から見た図と、CTで得た断面図である。フィロゾーマでは、表裏のクチクラの隙間がほとんどなく、非常に薄い状態であるのに、プエルルスでは、甲羅部分のクチクラでも、表と裏の間に隙間があり、全体に厚みがあることが解る。予想はされていたが、クチクラ面は、かなりの率で縮み、その分、厚くなっていることが解る。

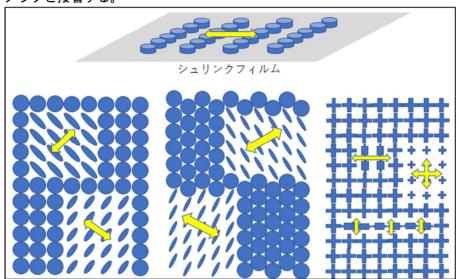


脱皮途中の個体のクチクラ形状を、走査電顕で観察したものである。フィロゾーマは非常にフラットな形状であるが、収縮が始まると、その不均等(異方性)のために、全体に皺が寄ることが解る。その後の変形は、より皺が集中している部分がドーム状になる(中央下部)。つまり、変形は2段階で起きるようである。カブトムシの場合も変形は(皺形成)>(皺の展開)の2段階で起きるため、その点では共通している。しかし、前半の皺形成の仕組みが異なる。カブトムシ

は、細胞シートの部分的な成長が皺を形成したが、イセエビの場合、皺を作るのは、部分的な縮小である。このような皺構造を作るためには、どの部分がどのように縮小したらよいかは、今のところ不明である。数理的な方法で推測できる可能性があるので、現在も試みている。

#### 縮小による立体形状形成

イセエビからインスピレーションを得て、平面を 3 D 形状に変える簡単なデバイスを思いついたので、以下に記しておく。熱をかけると縮小する「シュリンクフィルム」が様様なラッピングに使用されている。安価で入手できるので、これをフィロゾーマのクチクラに見立てる。次に、任意の位置で、部分的に縮小が起きない状況を作るために、シュリンクフィルムに熱に強いプラスチックを接着する。



この作業は、3Dプリンターを使うと、容易に行うことができるはずである。接着する耐熱プラスチックの大きさ、分布、形状により、任意の位置のフィルムの縮小する度合い、方向をコントロールできるので、この方法で、フィロゾーマの変態を再現することができるはずである。現時点では、フィルムの種類、熱のかけ方、3Dプリンターインクの物理的性質、などで改良の余地が大きく、自在にコントロールできるところまではできていないが、今後も開発を進めて、産業応用できるようになった時点で、再び、挑戦的研究領域に応募したい。

5		主な発表論文等
J	•	上る元化冊入寸

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

\_

6 . 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	備考
---------------------------	----

# 7.科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------