21144

学校にもニートアリは存在するのか

要旨

アリは、働きアリとニートアリがいることを知った。ニートアリとは一生労働と見なせる行動をしないアリのことである。そのようなニートアリと呼べるアリは巣(コロニー)全体の約２割にあたると本に書いてあった。しかし、それは遺伝子による先天的なものなのか、それとも後天的にニートになるのか疑問を持ち調べることにした。私たちの班では環境などの後天的要因ではなく、すでに遺伝子レベルで働きアリかニートアリが決まると予想し実験を行うことにした。

１．目的

アリを観察し、働かないアリが捕まえた全体の何割いるかを調べる。

また、遺伝子レベルで働きアリとニートアリに違いがあるか確認する。

２．使用した器具・装置など

・サンプル（アリ）　・チューブ　・小型卓上遠心機　・ホモジュナイザーペッスル

・マイクロピペット　・チップ　・20%SDS 溶液　・１M Tris-HCl　・0.5M EDTA-NaOH(pH8.0)

・TE buffer　・2N NaOH　・１％アガロース　・1×TAE　・EtOH　・エタノール

・mupid-2plus　・Loading-Dye　・SYBRsafe　・UVP　・MiniShaker

３．研究・実験の手順

（１）試薬調整

・１M Tris-HCl

Trizma base 60.5g を蒸留水 400ml に溶かし、濃塩酸で pH を所定値(pH 7.4～7.6)に合わせ、更に蒸留水を加え、300ml にし、オートクレイブをかけた。(常温保存)

・0.5M EDTA-NaOH(pH8.0)

EDTA 186g を蒸留水約 600ml に加える。2N NaOH を大量に加えて溶かしながら pH7.5 に合わせていった。また、蒸留水を加え 200ml としオートクレイブをかけた。(常温保存)。2N NaOH を大量に加え pH8.0 付近にしないと EDTA は溶けないので、最初に蒸留水を入れすぎないように注意する。時間をかけて EDTA をよく溶かした。EDTA は二価カチオンのキレート剤である。Mg イオンをキレートすることで DNase 活性を阻害し、DNA を分解から保護する目的でよく用いられる。

・TE buffer

10mM Tris-HCl, 1mM EDTA(Ph8.0)。

1M Tris-HCl(pH8.0)2ml と 0.5M EDTA(pH8.0)0.4ml に蒸留水を加えて 200ml にする。オートクレイブをかけた(常温保存)。エタノール沈殿後に DNA を溶解する溶液としてよく用いる。

・2N NaOH

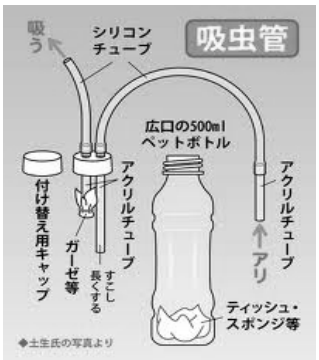
Sodium hydroxid16g を蒸留水約 160ml に溶かし、更に蒸留水を加えて計 200ml とする(発熱反応なのでゆっくりと溶解させる)。オートクレイブはせず、ポリ容器中(ガラス容器は腐食される危険あり)で 4℃保存しした。空気中の炭酸によって中和されないように蓋はきつく締め、パラフィルム等で覆った。

・20%SDS

Sodium dodecyl surfate 50g を蒸留水約 450ml に溶かし、更に蒸留水を加えて 500ml にした。オートクレイブはしない。(室温保存)冬場にはSDSの沈殿が析出することがあるが、暖めれば溶ける。タンパク質・資質など脂容性の物質を溶解するための界面活性剤である。

・１％アガロース

1.5ｇのアガロースに 50×TAE を 3ml 加えた。蒸留水を加えて、150ml にした。



・1×TAE

50×TAE10ml に蒸留水を 490ml 加えた。

（2） アリの捕獲

1）吸虫管を作成した。

・使用した材料・道具

プラスチックのボトル(大きい)，シリコンチューブ，ストロー，ティッシュ

・作成方法

① ボトルのふたに２つ穴をあけた。

② シリコンチューブを穴に差し込んだ。

③ シリコンチューブとふたをボンドで固定しアリが死なないよう綿をしいた。

④ ボトルとふたをくっつけた。

2）アリマップの作成(校内)

～アリマップ～

① １棟前ケヤキの根元

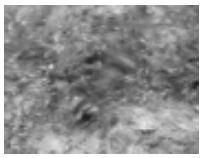
サイズ：大き目のアリ、小さいアリ

② 仮設校舎向かいのイチョウの木の下

サイズ：小さいアリ

③ テニスコート横

サイズ：小さいアリ

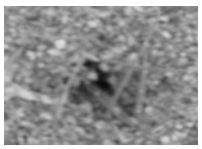


④ 渡り廊下横の木の根

サイズ：小さいアリ、　体：赤、　腹：黒

⑤ 校門横の石の上

サイズ：大きいアリ

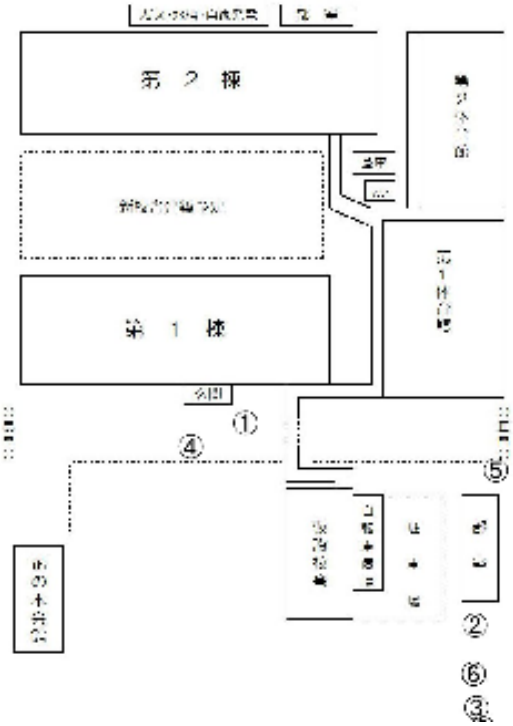


⑥ グラウンド水道周辺

サイズ：最小サイズ、　体：黒

小さいほうはムネボソアリ、

大きいほうはクロオオアリと思われる

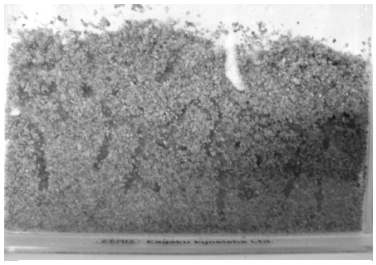


3）アリを捕獲する。オオクロアリの卵と幼虫を捕まえた。

～使用した道具～

スコップ・ピンセット・シャーレ・吸虫管

4）アクリルケースに土を入れて、その中で飼育した。エサはスクロース溶液を霧吹きで与えた。



↑アリの巣(コロニー)

（3）サンプル溶解液を作る

1）空のチューブに、アリ１匹の足をピンセットで入れた。

2）アリの入ったチューブに 0.2%SDS 溶液を 30μℓ加えた。

3）ホモジュナザーペッスルを用いてアリをしっかりとつぶした。

4）小型卓上遠心機で 2 分間遠心分離を行った。

5）アリの破片がチューブの底に沈んでいるのを確認できたら、上清をマイクロピペットを使って新しいチューブに移した。

6）DNA にエタノール(99.5%)を 100μml 加え、遠心分離機に 10krp

7）不純物を取り除き、EtOH(70.0%)を 150μml 加え、遠心分離機で 1

8）不純物を取り除き乾燥させ、TE-buffer を 15μml 加えた。

9）出来たサンプルを冷凍保存した。

（4）DNA の抽出

1）1%アガロースが透明な液状になるまで電子レンジで加熱した。１%アガロースを型に流し込み、固まるまで冷ました。

2）Mupid-2plus に冷えたアガロースゲルをセットし 1×TAE をアガロースが浸るまで加えた。

3）パラフィルムを机の上に置いて、Loading-Dye を２μl と DNA サンプル２μl をパラフィルムの上で混ぜた。

4）アガロースのウェル(溝)に上記のＤＮＡ溶液を入れ、さらに、100bp DNA Ladder（Dye 入りタイプ）を 3μl もウェルに加えた。

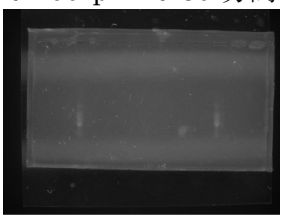
↑Mupid 2plus

5）100V で 30 分 Mupid-2plus にかけた。(電気泳動)

～アガロースゲル電気泳動～

DNA はマイナスの電気を帯電している。だから、電気を加えるとマイナスからプラスに DNA が引き寄せられる。分子量の大きいものほど流れにくく、小さいものほど流れやすい。

6）SYBRsafe をアガロースゲルが浸るくらいまで入れて遮光した状態で 200rpm で 30 分間ミニシェーカーにかけ、UVP (320nm)で観察をした。



↑UVP で見たアガロースゲル

4．結果

・飼育したアリ２４匹に対し、ニートアリと思われるアリは見受けられなかった。

また､捕獲直後にアルコール保存してしまったため､ニートアリが存在しているのか不明である。

雨天翌日はアリの出現率が高く、とくに木の根元やその周辺、また木片の裏側などに多く出現することもわかった。

5．結果に対する考察・わかったこと

飼育したアリの観察を行ったが、特に違いがあるものは見受けられなかったので、ニートアリはその中に存在しないと思われる。また、今回捕獲したアリは巣の中の一部であり、ニートアリを発見するためには巣全体のアリを傷つけることなく、生きた状態で捕獲する必要がある。来年度に向けて、アリの捕獲器具作製も試みている。

また、アルコール保存したアリに関しても地表、あるいは地表近くの土の中から捕獲したためニートアリは含まれないと思われる。

巣を完全に形成し、長期観察をするために女王アリの存在が必要これを飼育するためには『アントクアリウム』という飼育キットを用いて観察を行っていくつもりである。

↑アントクアリウム

6．参考文献、引用文献

加茂高校　アルゼンチアリ解析プロジェクト　実験プロトコル

『働かないアリに意義がある』　著書：長谷川英祐