

クラゲのGFPの光の強さの違い

宮城県仙台第三高等学校

刺胞動物門に属するいくつかのクラゲの中にはGFP(緑色蛍光タンパク質)を持ち、紫外線およびブルーライト等を当てることにより緑色に蛍光する。本校の先輩が行った先行研究では、エダアシクラゲは放卵・放精を誘発するためにGFPを持つ可能性があることが示されている。¹⁾ また、GFPの生理的役割と分布パターンの研究にて同種類のクラゲでもGFPの光強度が異なるということが示されていた。²⁾

そこで、私たちは個体間でのGFPの蛍光強度の違いについて研究しようと考えた。体長・餌の量・水温に着目して実験を行った。行うことができた体長と餌についての実験の結果、GFPの光強度の大きさが強くなるのは傘高1.5mm前後のクラゲが餌を食べ、消化が十分に終わった状態のときであった。

1 背景

緑色蛍光タンパク質(GFP)とは、青色の光を吸収して緑色に蛍光する、分子量2.9万のタンパク質である。⁴⁾ 下村脩教授がオワンクラゲの生殖腺からGFPを単離することに成功し、GFPに紫外線を当てると緑色に光ることを発見した。⁵⁾ この研究から、オワンクラゲの場合のGFPが光る仕組みとして、クラゲの体内に海水が流入し、体内のカルシウムイオン濃度が上昇することにより発光タンパク質であるイクオリンがカルシウムイオンに反応することで青白く発光する。⁶⁾ (図2)

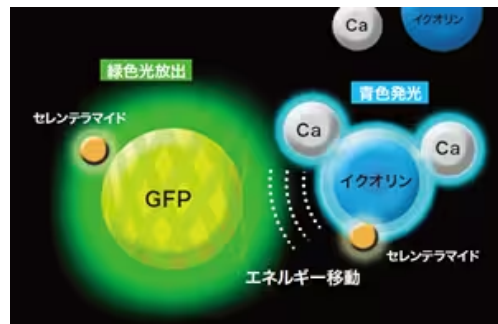


図2 GFPが光る仕組み⁶⁾

その後GFPが青い光のエネルギーを受け取り、緑色に蛍光する。

GFPの発見により遺伝子工学ではがんの転移や医療用マーカーとして生命現象を可視化を可能にするものとして、広く普及している。⁷⁾

(図3、4)

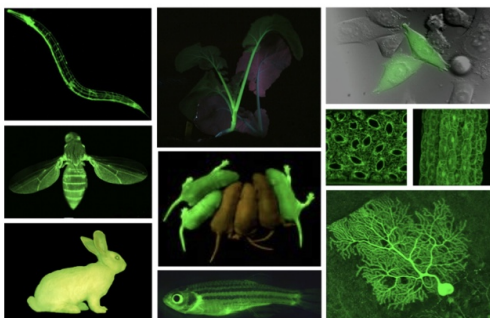


図1 GFPが光る様子³⁾

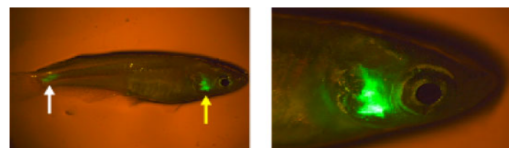


図3 メダカのがん細胞をGFPでマーク⁷⁾

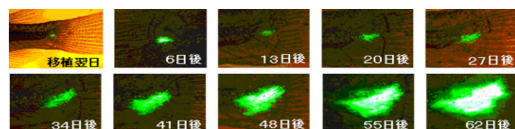


図4 メダカのがん細胞の転移の様子⁷⁾

先輩方の研究にて同種類のクラゲでもGFPの蛍光強度に明確な差があることが示されていた。我々はそのことに注目し、同種類のクラゲを用い、条件を変えて実験・観察を行った。クラゲのGFPの光の強さの違いを研究するにあたり、以下の3つの仮説を立てた。

【仮説I】

個体差によって変化する。

クラゲが大きければ大きいほど放つ光の強さも強くなり、クラゲが小さければ小さいほど放つ光の強さも弱くなるのではないか。環境(ここでは水温や餌)を変化させたときのデータに比例や一貫性が見られないのではないか。

【仮説II】

餌の有無で変化する

クラゲは眼点や触手だけでなく胃も光っているため、食べ物による変化が光の変化と関係しているのではないか。

【仮説III】

水温によって変化する

クラゲは変温動物である。クラゲの細胞内で代謝活動に介在している酸素が温度により反応変化をしているため、水質の変化に敏感であると言われておりGFPの光の強さにも影響しているのではないか。

2 材料と方法

材料

- ・クラゲキャッチャー
- ・タッパー
- ・人工海水
- ・スポイト
- ・蛍光顕微鏡
- ・餌(ブラインシュリンプ)
- ・プレパラート

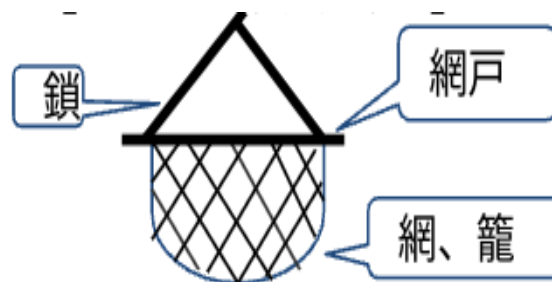


図5 クラゲキャッチャー

実験の手順

①クラゲを捕獲する

宮城県七ヶ浜菖蒲田漁港で採集、ネットにて購入、加茂水族館から提供(エダアシクラゲ、カギノテクラゲ、タマクラゲを採集したうち、多く採集できたエダアシクラゲを採用)

②予備実験&ラベリング

蛍光顕微鏡でGFPの光(蛍光場所)を測定、傘高でラベリング(図6)

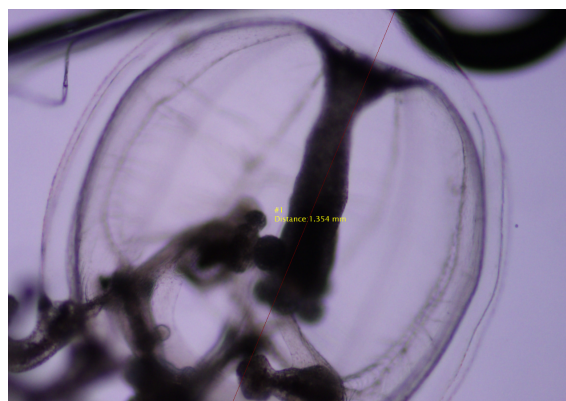


図6 蛍光顕微鏡で観察し、傘高を計測した様子

③条件を変えて実験

〈方法1〉 個体差(体長)

クラゲの傘高を測定し、蛍光顕微鏡で観察

〈方法2〉 餌

7匹のクラゲをA~Eとする。

実験1 餌を与えた直後

実験2 えさを与えた数日後

タを作り、調べる。

この実験から出た仮説は以下の通りである。

【仮説】 餌を与えてから1日後からGFPの発現率が増えて光強度が強くなり、2日後にピークに達し、それ以降はGFPの発現率が減少し光強度は弱まっていく。

<方法2 考察> (実験2は観察における考察)
餌を与えた直後は消化中によりGFPの発現量が少なく、光強度が減少した。

餌を十分に消化した1~3日後においては、GFPの発現率が増えて、光強度が上昇した。

<方法1と方法2の結論>

クラゲの生殖に最も適している傘高1.5mm前後の個体が餌を食べ、その上で消化が終わった状態のときにGFPの光強度が大きくなる可能性がある。

4 展望

- ・方法2の実験2の観察において、クラゲに餌を与えた直後と数日後で結果が変化したため、次回の実験では、一定の期間ずらして(1、2、3日後)観察することで、いつGFPの光強度の強さが大きくなり始めるのかを調べる。
- ・方法3の水温についても同様に進めていく。
- ・エダアシクラゲ以外のクラゲでも実験を行い比較する。

【参考文献】

- 1)クラゲ班論文「エダアシクラゲが光る理由」
宮城県仙台第三高等学校
斎藤創馬、二階堂智明、渡辺光琉、二上麻央、

若松玲奈

https://sensan.myswan.ed.jp/cabinets/cabinet_files/download/15714/28e63e3fb9ff3a3e7b3f2c50b3325dbf?frame_id=504

2)緑色に蛍光するクラゲ

宮城県仙台第三高等学校 理数科9班

3)九州大学附属図書館

「マーカーとしてのGFP(緑色蛍光タンパク質)の応用」

https://guides.lib.kyushu-u.ac.jp/ModelOrg_Celegans/gfp

4)緑色蛍光タンパク質

(GFP;GreenFluorescent Protein)

東邦大学生物分子化

https://www.toho-u.ac.jp/sci/biomol/glossary/bio/green_fluorescent_protein.html

5) 名古屋大学大学院理学部研究科物質理学専攻

(化学系)名古屋大学理学部 化学科

<https://www.chem.nagoya-u.ac.jp/greats/nobel2008.html>

6)オワンクラゲと緑色蛍光タンパク質

SHIMADZU excellence in science

<https://www.shimadzu.co.jp/boomerang/20/09.html>

7)【がん細胞の“振る舞い”が見えるメダカーがん研究の新しい実験モデルの開発に成功-】

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

<https://www.qst.go.jp/site/qms/1667.html>