

# 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

刺胞動物門に属するいくつかのクラゲは緑色蛍光タンパク質(GFP)を持っており、紫外～青色の励起光により緑色の蛍光を発することが知られている。

GFPを発見し、ノーベル賞を受賞した下村脩教授はGFPに紫外線を照射すると緑色に蛍光を発することを明らかにした。下村教授の研究によるとオワンクラゲのGFPはクラゲの体内に海水が流入することにより、体内のカルシウムイオンの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青い光を出すことにより青色光をGFPが感知することによりGFPが緑色に蛍光発するという仕組みとなっていることを解明した。

エダアシクラゲは明暗刺激によって放卵する。昨年度までの研究では、エダアシクラゲに明刺激として青、緑、赤の3色の光を用いて強度を変えながら光を照射した。青・緑は強度に関係なく放卵したが、赤は強度が弱いと放卵しなかった。このことから、放卵放精の刺激となる光がGFPを介することで効率的に受容されると考えられた。本年度は種間の共通性や多様性に着目し、複数種のクラゲが持つGFPを比較した。その結果、複数種のクラゲを採取したところ、GFPを持つクラゲと持たないクラゲがいること、また、複数採取できたカラカサクラゲは、個体間でGFPの分布パターン、蛍光強度が異なることが分かった。

## 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の光を発する、分子量2.9万のタンパク質である。<sup>1)</sup>GFPの発見により遺伝子工学では生命現象の可視化を可能にするものとして、広く普及している。(図1)



図1 GFPを導入したネズミ<sup>2)</sup>

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

ていると緑色に光ることを発見した。<sup>3)</sup>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し、青白く発光する。その後GFPが青い光のエネルギーを受け取り、緑色に発光する。<sup>4)</sup>(図2)

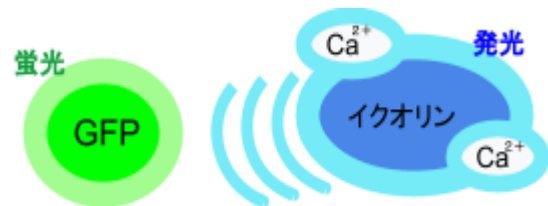


図2 GFPが光る仕組み(オワンクラゲの場合)

昨年度の先輩方の研究では、エダアシクラゲが、特定の周波数で照射された光によって放卵放精の刺激を受けることがわかり、光がGFPを介することで効率的に受容されると考えられた。このことから、エダアシクラゲのGFPは役割があると考えられ、<sup>5)</sup>他種のクラゲのGFPにも役割があるのではないかと

と興味を持ち、明らかにすることを目的として実験を行った。ここでの役割とは、至近要因のことを指す。まず私達は、GFPの分布パターン、蛍光強度に着目した。

## 2 材料と方法

### 材料1

・クラゲ(タマクラゲ、エダアシクラゲ、エダクダクラゲ、ジュズノテウミヒドラクラゲ、オベリアクラゲ、カラカサクラゲ)

(宮城県七ヶ浜菖蒲田浜漁港、宮城県仙台市 仙台港に生息)

・人工海水 ・顕微鏡 ・タッパー

・蛍光顕微鏡 ・スポット

蛍光顕微鏡の仕組みを説明します

まず、光源から対物レンズを通して対象に光を照射する。次にその照射された光によって対象のものが蛍光を発する。最後に蛍光の光のみが接眼レンズを通して見えることにより蛍光を発した光が見える。

6)

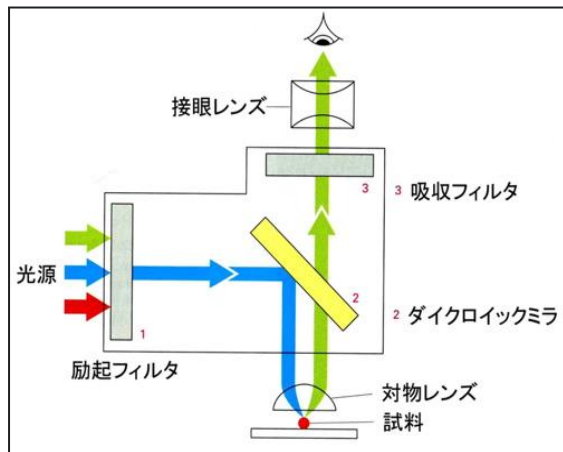


図3 蛍光顕微鏡の仕組み

採取したクラゲを分類すると、図3のようになった。

種類	門	綱	目	科	属
エダアシクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	花クラゲ	エダアシクラゲ	エダアシクラゲ
タマクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	花クラゲ	タマクラゲ	タマクラゲ
エダクダクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	花クラゲ	エダクダクラゲ	エダクダクラゲ
オベリアクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	軟水母	ウミサカヅキガヤ	オベリアクラゲ
ジュズノテウミヒドラクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	花クラゲ	ジュズノテウミヒドラ	ジュズノテウミヒドラクラゲ
カラカサクラゲ	刺胞動物	ヒドロ虫	硬クラゲ	オオカラカサクラゲ	カラカサクラゲ

図4 採取したクラゲの分類

### 方法1

まず菖蒲田浜漁港と仙台新港でクラゲを採集します。その次に顕微鏡でクラゲの確認、またクラゲの名前の特定を行う。最後に蛍光顕微鏡で青い光を当てることによりクラゲのGFPの蛍光を観察、蛍光している場所または蛍光量を特定する。

## 3 結果と考察

### 結果1

観察した6種類のクラゲに青い光を当てた実験結果を下の表にまとめた。

種類	エダアシクラゲ	タマクラゲ	エダクダクラゲ	オベリアクラゲ
写真				
蛍光を発する場所	眼点	胃	生体膜 触手	眼点

種類	ジュズノテウミヒドラクラゲ	カラカサクラゲ	カラカサクラゲ	カラカサクラゲ
写真				
蛍光を発する場所		胃の中心	胃の周り 足の付け根	生体膜

表1,2 実験1の結果

表より、6種類中5種類のクラゲにおいてGFPが確認できた。また、カラカサクラゲにおいては、個体間でGFPの分布パターンに違いが見られた。

このことから、カラカサクラゲに着目して観察を行った。

まず、カラカサクラゲの足に着目した。図2より、青い線で囲まれている短い足は蛍光が確認できたが、黄色い線で囲まれている長い足は蛍光が確認できなかった。

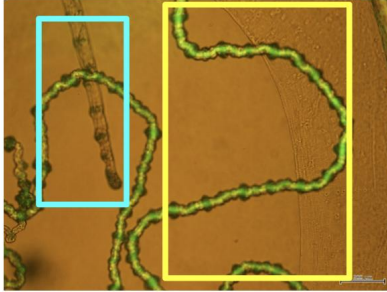


図5 カラカサクラゲの足

次にGFPの蛍光強度に着目した。

照射量を同じにし、2匹のカラカサクラゲの胃の光の強さを比較したところ、蛍光の強さに違いが見られた。右の写真のカラカサクラゲの胃は左の写真のカラカサクラゲよりもGFPの発現量が多いことが写真よりわかる。

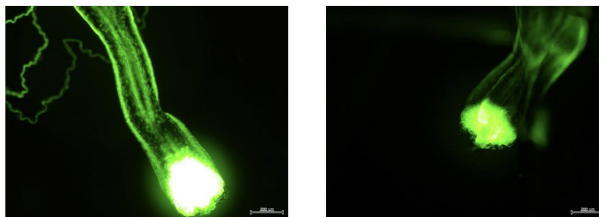


図6 カラカサクラゲの胃

考察

結果1より、同種のクラゲは同じ場所にGFPを持っていないこと、また同じ環境で採取したクラゲのGFPの場所は同じではないことが考えられる。また、同種間でもGFPの分布パターンに違いが見られたカラカサクラゲにおいては、蛍光顕微鏡での観察時にクラゲの体から離れたクラゲの触手を見つけたことからクラゲから切り取られた触手はGFPを発現しているのかまた、GFPの位置は変化するかを調べたいと思い次の実験を行った。

#### 4 材料と方法2

材料2

・カラカサクラゲの足(実験1で用いたカラカサクラゲの足を切り離したもの)

・蛍光顕微鏡

方法2

カラカサクラゲから切り離された触手と胃に蛍光顕微鏡で青い光を一時間当てる当てたあとGFPの蛍光の強さ、場所に変化あるかを調べる。

#### 5 結果と考察2

結果2

図より、触手のGFPは場所、蛍光強度ともに変化しなかった。しかし、胃のGFPは蛍光強度は変化しなかったものの、GFPの場所は胃の先端部分から胃の中心部分に移動していた。

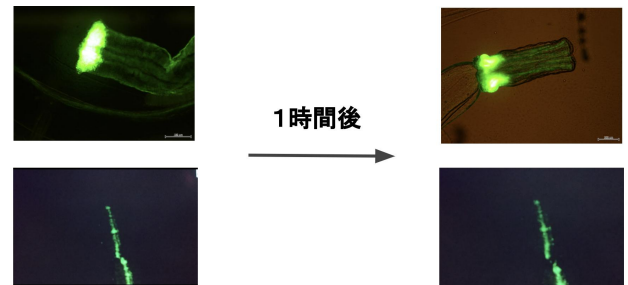


図7 実験2の結果

考察2

結果2より、GFPが移動したり見えない原因の可能性として、

・GFPの元となる遺伝子は持っているが転写や翻訳が行われていない

・GFPが蛍光を発しているが、蛍光量が少なく観察出来なかった

・長時間光を当てたことにより、タンパク質の立体構造が壊れたことで蛍光を発することが出来なくなった

などが考えられる。

#### 6 展望

結果1、2より、GFPをもつクラゲの共通点を見つけることができなかった。多くのクラゲを採取してGFPの分布パターン、蛍光強度に着目して共通点を見つけたいと思う。

また、6月から11月の間にのみ生体のクラゲが取れるので取れない期間は同じ刺胞動物のヒドラについて調べようと思う。同じ刺胞動物であるヒドラで同じ実験をすることにより、GFPを持っていた場合クラゲとどのような違いがあるかを比較する。

## 6 参考文献

### 1) 東邦大学生物分子化

[https://www.toho-u.ac.jp/sci/biomol/glossary/bio/green\\_fluorescent\\_protein.html](https://www.toho-u.ac.jp/sci/biomol/glossary/bio/green_fluorescent_protein.html)

### 2) 国立科学博物館

蛍光タンパク質が教えてくれるもの

<https://www.kahaku.go.jp/userguide/hotnews/theme.php?id=0001286268353983&p=4>

### 3) 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>

### 4) 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>

### 5) エダアシクラゲが光る理由 宮城県仙台第三高等学校

齋藤創馬、二階堂智明、渡辺光琉、二上麻央、若松玲奈

[https://docs.google.com/document/d/1IRtRd85dFCjHp1dQFvkVq0y\\_gfV8LXqOQGBe9SwuwjK/edit](https://docs.google.com/document/d/1IRtRd85dFCjHp1dQFvkVq0y_gfV8LXqOQGBe9SwuwjK/edit)

### 6) 蛍光顕微鏡

<https://khatori.yz.yamagata-u.ac.jp/fluorescence.html>

### 7) タマクラゲのGFP様物質：発現の時期・部位の調査と教材化に向けた取り組み 宮城教育大学

### 8) 加茂水族館

加茂水族館 クラゲドリーム管

<https://kamo-kurage.jp/>

### 9) 京都大学学術情報リポジトリ 紅

ホルマリン固定された数種のヒドラクラゲ (刺胞動物門、ヒドロ虫綱) のGFPパターン

<http://hdl.handle.net/2433/230300>

Kuroshio.Bio\_14\_18