

クラゲたんぱくの研究

[総合科学系8班]

[要旨] 私たちは、採集したクラゲを破碎し、塩析してタンパク質を抽出した。この成分には細胞同士が接着する仕組みを阻害する物質が含まれることを検証した。そして、この物質の利用について、ムラサキガイが放つ接着タンパク質の働きを妨害するとの仮説を立てて、検証を行った。

We caught the jelly fish and break into pieces. After that, we extract the protein of jelly fish. We verify this protein that has matter of hinder the cells put together. And we hypothesize this matter hinder the adhesive protein of blue mussel and verify a hypothesis.

- 目的**
- ミズクラゲ由来タンパク質が細胞接着を阻害する作用があること(仮説1)を検証する
 - ムラサキガイが放つ接着タンパク質の機能についても阻害すること(仮説2)の可能性を探る

方法(1) タンパク質を抽出する

- ◇ プロテアーゼ阻害剤を添加したリン酸バッファ溶液中で冷却(約3℃)しながらミズクラゲを破碎した。

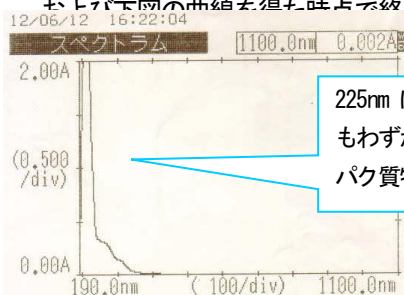


プロテアーゼ阻害剤
0.4M-EDTA
0.1M-PMSF
0.2M-NEM

- ◇ 1M溶液になるようにNaClを添加(塩析)
- ◇ 遠心分離機にかけ、上澄みを取り出した。
- ◇ 5M溶液になるようにNaClを添加
- ◇ 1℃で冷却しながら
- ◇ 高速遠心分離機にかける

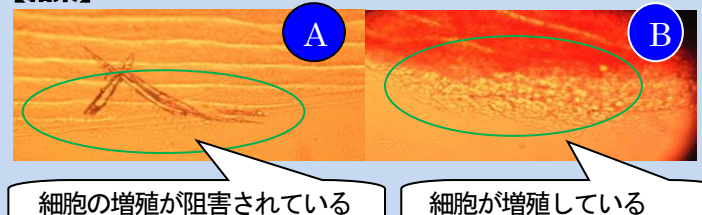


- ◇ 上澄みを取り出す(NaCl可溶タンパク質を含む)
 - ◇ この上澄みを透析する(塩分除去を目的とする)
- [透析にはセロハンチューブと大量の精製水を用いた。透析操作は、塩分計と紫外可視分光光度計で190nm～1100nm範囲の吸光度をモニターしながら、塩分濃度0.6%以下になった時点で終了した。]



225nmに最大ピーク。272nmにもわずかにピークがある。タンパク質特有の傾向がみられる。

【結果】



細胞の増殖が阻害されている

細胞が増殖している

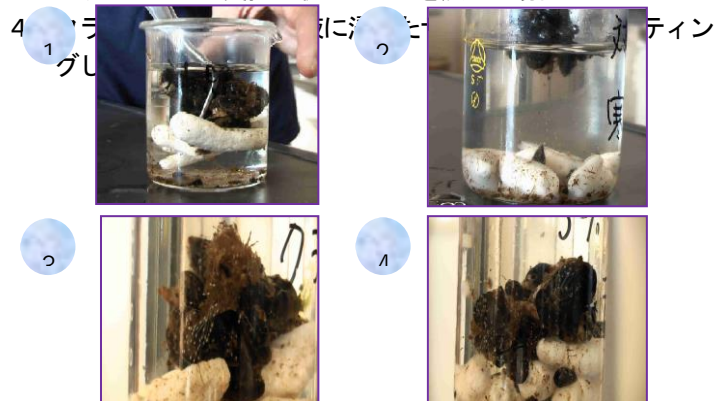
仮説[ムラサキガイが出す接着タンパクの付着を阻害する]

検証の方法(3)

- ◇ 18℃の水槽にイガイとサンゴを入れた100mlビーカーを発泡スチロール板にはめこんでエアレーションを施し、浮かせた
- ◇ 10日後に結果を観察した

【結果】

- 1 全く何の処理もしていない場合
- 2 サンゴに寒天をコーティングした場合
- 3 クラゲたんぱく質抽出液にサンゴを浸した場合
- 4 クラゲたんぱく質抽出液にサンゴを浸し、寒天をコーティングした場合



仮説【金魚の鱗の表皮細胞が増殖することを阻害できる】

検証の方法(2)

- ◇ 金魚の鱗を数枚とり、滅菌する
 - ・0.4%次亜塩素酸ナトリウム水溶液 15秒
 - ・70%エタノール 3秒
 - ・生理食塩水 3秒ずつ3回の順に鱗をすすぐ
- ◇ 培養スライドガラスの底に付着させ、乾かす
- ◇ 培養液(L-15培養液、牛胎児血清、抗生物質)を入れる

A: クラゲ由来のタンパク質抽出液を加える

【考察】

方法(1)に関して→クラゲ由来の細胞接着阻害物質はある種の

タンパク質であることが認められた。

検証(2)に関して→クラゲ由来の細胞接着阻害物質は、

金魚ウロコ表皮細胞の増殖を阻害する。

検証(3)に関して→ムラサキガイが個体間や岩場に付着するために放つ

接着タンパク質の糸について、クラゲ由来の細胞接着阻害物質を忌避し、接着対象物を選択していることが