

ミズクラゲの活用

神戸市立六甲アイランド高校 総合科学系 17期 7班

要旨

私たち総合科学系「クラゲ研究班」では、2011年度より近隣海岸で採集したミズクラゲについて、飼育や観察だけでなく、凍結後に粉碎処理し、塩析と透析の操作で抽出した塩可溶成分に細胞接着阻害作用があることを生命科学実験のいざないとして、金魚鱗表皮細胞やプラナリアの再生芽細胞を活用して行ってきた。そして2013年度には、ミズクラゲ抽出画分がムラサキイガイ足系の接着を忌避させることを偶然発見した。2014年度はイガイ足系忌避成分が細胞接着阻害活性成分と同一であるものとして分析を行い、主成分が複合たんぱく質から構成されていることを明らかにした。2015年度からは、ムラサキイガイ足系の接着忌避について個体数を増やして再検証すると共に、このミズクラゲ抽出画分について、私たちの身の回りの生活への有用な活用方法について仮説を立てながら検証実験を行っている。

実験

I] たんぱく質の抽出

- 凍結したミズクラゲを金槌とメスを使って大まかに破碎した後、プロテアーゼ阻害剤を添加したリン酸バッファ溶液を添加して、氷で周囲を冷却（約3%）しながら乳鉢でさらに細かく粉碎した。



プロテアーゼ阻害剤

- 0.4mol-EDTA ● 0.1mol-PMSF
- 0.2mol-NEM

リン酸緩衝溶液 pH7.3

- 1mol/L 溶液になるようにNaClを添加（塩析）
- 遠心分離機にかけ、上清を取り出した。
- さらに5mol 溶液となるようにNaClを添加（塩析）し、1℃で冷却しながら高速で遠心分離した後、上清を採取した。
- この上清を医療用セロハンチューブをもちいて、大量の精製水で透析を繰り返して塩分を除去（最終の塩分濃度は約0.05%程度）した。
※ ⑤で得たミズクラゲ抽出画分を様々な検証実験で使用した。
- また、この抽出画分溶液を紫外可視分光光度計にて 280nm 付近に吸光度のピークがあることを確認した。

II] ミズクラゲ抽出画分が張り付いたムラサキイガイの足系を剥がすかどうかの実験 [“接着阻害なのか、忌避なのか”の検証]

〈方法〉① ムラサキイガイをプレパラートの上に張り付くまで放置（3日間）

- 足系だけを残しムラサキイガイをプレパラートからはがした。

- これをシャーレ上で、食塩水0.5%（A）とクラゲ抽出画分溶液（B）にそれぞれ浸して、三日間経過を観察した。



食塩水0.5%（A）



クラゲ抽出画分溶液（B）

〈結果〉A、Bともに変化なく、足系の剥離は認められなかった。

〈考察〉クラゲ抽出画分溶液は、ムラサキイガイの接着を忌避させるだけで、足系接着の剥離効果は無いと考えられる。このことから、ムラサキイガイは、何らかのシグナルを得て、足系接着対象物を判断していると考えられる。

III] 足系接着忌避の原因物質がタンパク質かどうかの検証実験

〈方法〉90℃で10分間加熱したクラゲ抽出画分溶液に浸潤したサンゴと、加熱していない抽出画分溶液に浸潤したサンゴを、それぞれ2つの海水入りビーカーにムラサキイガイと共にセットして、24時間後に観察を行なった。

加熱したクラゲ抽出画分溶液に浸潤したサンゴ



加熱していない抽出画分溶液に浸潤したサンゴ



〈結果〉いずれもビーカーのみに接着し、サンゴへの接着がみられなかった。

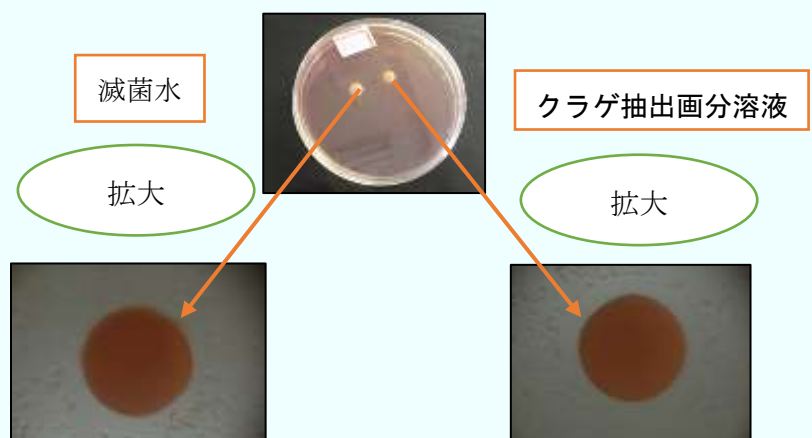
〈考察〉抽出画分を90℃に加熱した場合も足系接着の忌避がみられたことから、原因物質がタンパク質ではなく、他の何らかの物質である可能性が考えられる。

IV] ミズクラゲ抽出画分が大腸菌増殖を阻害するかを検証する実験 [抽出画分の有用な活用方法の検討]

〈方法〉① 大腸菌用の選択培地（デオキシコレート）一袋を三角フラスコ中に水400mLを加えて溶解する。これを沸騰するまで過熱する。その後、このフラスコを水で40～50℃まで冷却する。次に滅菌シャーレに分注した。次に事前に培養した大腸菌株（DH5α）をシャーレの培地に塗布する。

- 培地に大腸菌株を塗布した計20枚のシャーレには、それぞれ直径5mmの円形ろ紙片2つに、一方は滅菌水を他方にはクラゲ抽出画分溶液を染ませて、培地の上にセットした。

- 定温器にて35℃で保管し、24時間後に変化を観察した。



〈結果〉20枚のシャーレ全てについて、クラゲ抽出画分溶液に浸潤したろ紙と対照用の滅菌水に浸潤したろ紙周囲の増殖大腸菌の分布状況には差は見られなかった。

〈考察〉大腸菌は単細胞生物であり、細胞接着を阻害するクラゲ抽出画分は、私たちの想定通り、その増殖を阻害することは無かったと考えられる。今後は、私たちに身近な菌類について検証を試みたい。