

ただいま準備中 ♪

クラゲ行動メカニズムの探求

クラゲ予防クリームの開発とクラゲにおける学習の探求

重松 夏帆

山本 美歩

みなさんこんにちは

つらいニャン！

研究の背景

私達は刺されないので、ここにいれば安心♪

カクレクマノミ

Amphiprion ocellaris

- 強い毒を持つハタゴイソギンチャクに共生
- なぜ刺されないのかについて、よく分かっていない
- どのようにして刺されないようにしているのか、体表を覆う粘液に着目

体表粘液によって守られているのか

粘液除去実験



カクレクマノミは、
粘液によりイソギンチャク
から守られている

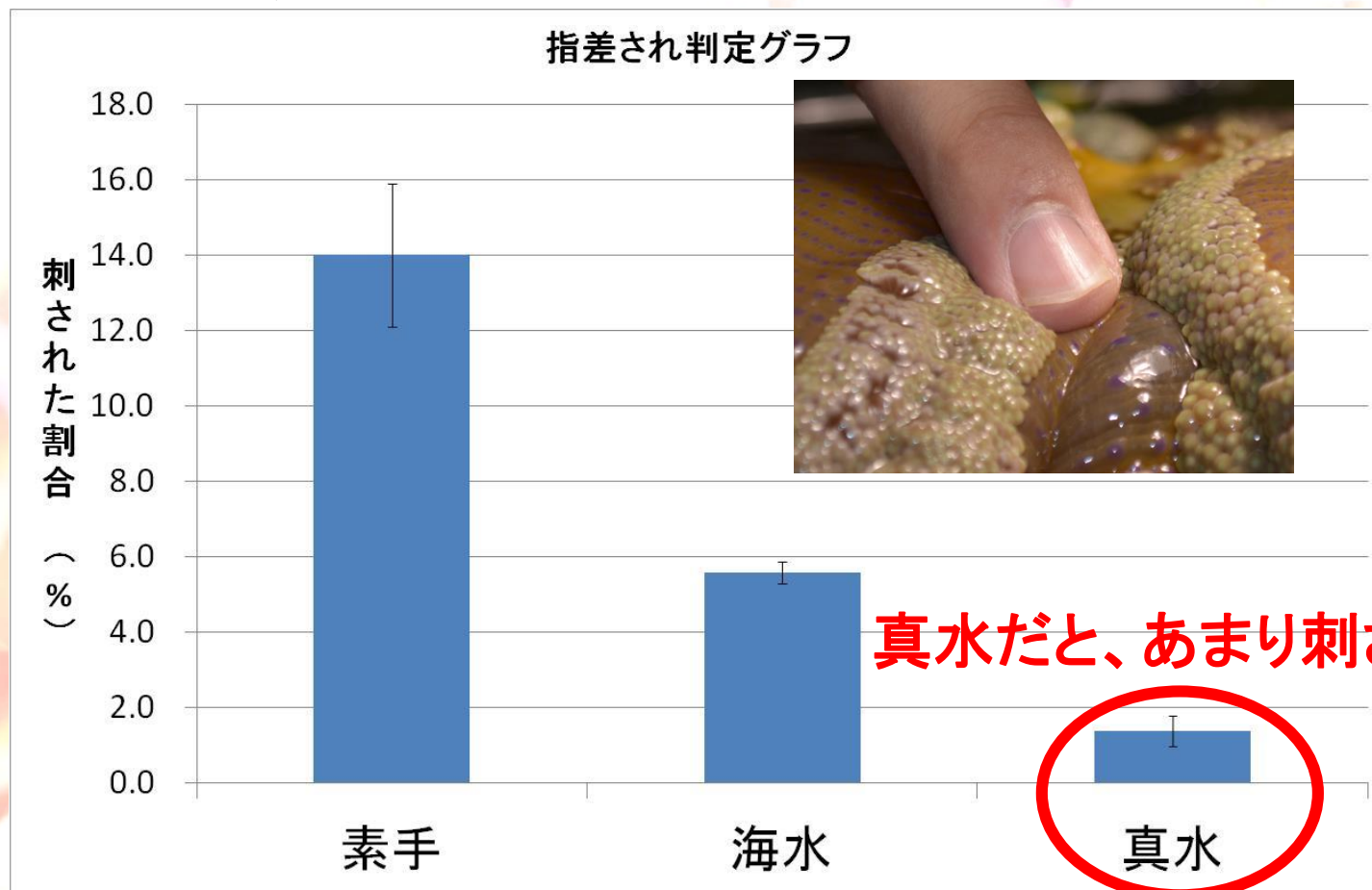
さらにこれまでの研究で…

粘液中のタンパク質でイソギンチャクから身を守ることを発見！



刺胞射出に関する物質の特定

そんな中・・・海水と真水を指に付けて触ると



海水中に、イソギンチャクの刺胞(毒針)発射に関する物質が含まれるのでは?!

刺胞射出に関する物質の特定

様々な溶液

触手

さらに拡大

拡大

ハタゴイソギンチャク

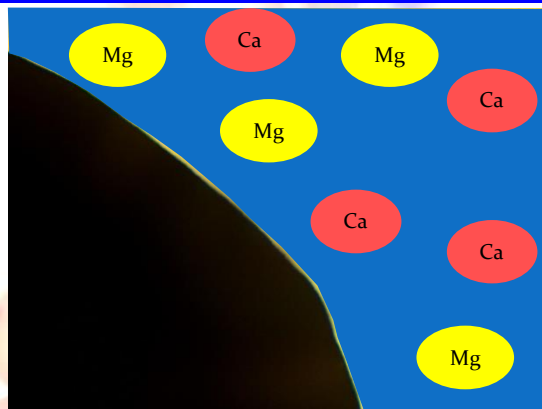
刺胞射出の様子

Mg ions-free sea water

Anemone tentacle

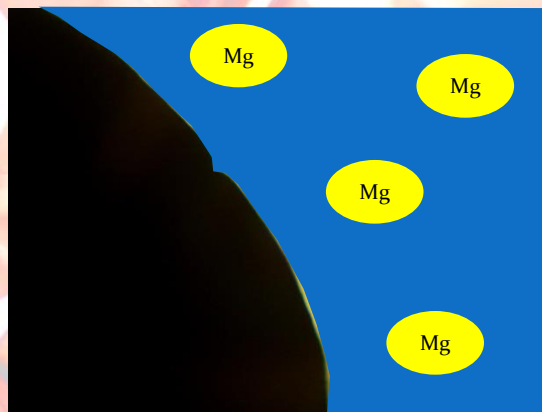
刺胞射出に関する物質の特定

天然海水



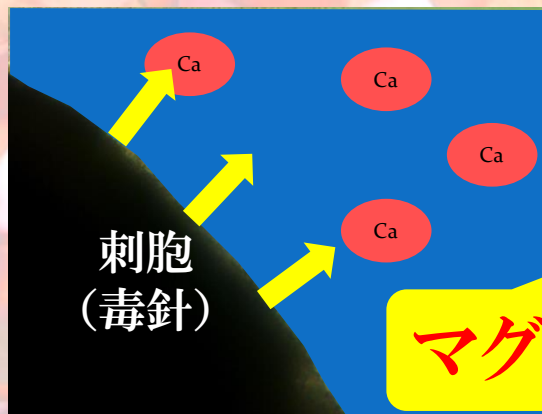
射出なし

Ca²⁺なし人工海水



射出なし

Mg²⁺なし人工海水



射出あり

マグネシウムが関係！

Mg²⁺が関係する受容体

NMDA型グルタミン酸受容体
(NMDAR)

グルタミン酸
(伝達物質)

Ca

グリシン

刺激

細胞膜

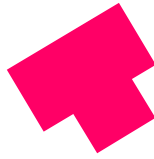
Mg

刺激が伝達

NMDARの阻害剤 D-AP5

D-AP5とは

D-AP5



グルタミン酸



細胞膜

Mg

グリシン



刺激伝達なし

Mg²⁺はどこに作用しているのか

結果

グルタミン酸
通常海水

射出あり

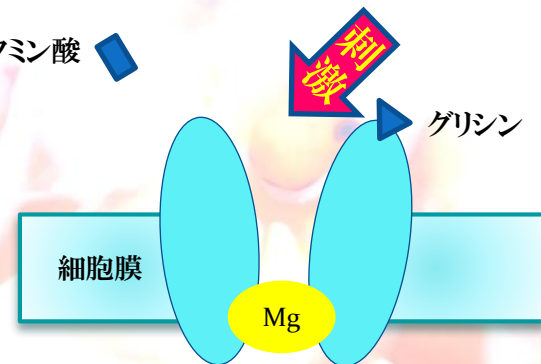
D-AP5
Mg除去海水

射出なし

NMDA型グルタミン酸受容体は、
刺胞射出に関係している！

D-AP5
グルタミン酸

グルタミン酸

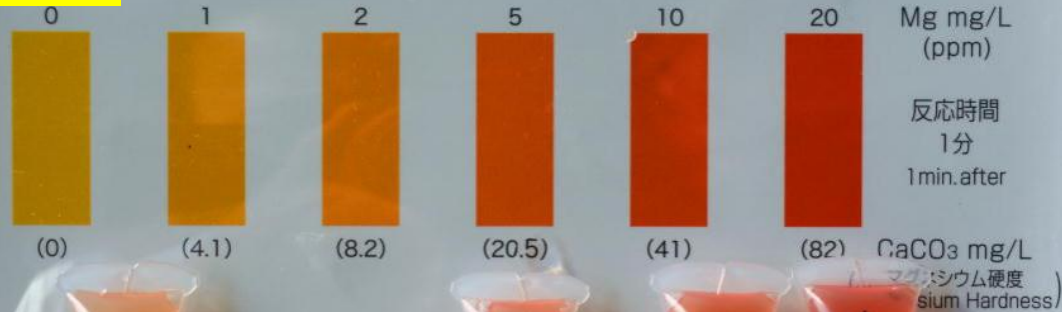


NMDA型グルタミン酸受容体

カクレクマノミの体に、Mg²⁺は多いのか

マグネシウムが少ないと
イソギンチャクに
刺される

標準色〈マグネシウム〉
Standard Color 〈Magnesium〉



イソギンチャクに
刺される



スズメダイ
1mg/L

イソギンチャクに
刺されない



クマノミ
5mg/L

イソギンチャクに
刺されない



カクレクマノミ
20mg/L

海水 10mg/L

海水より高濃度

この結果をクラゲにも応用できないか？



ひらい まみ

ここからが今回の研究です

クラゲ予防クリームはできないか？

海水浴でクラゲに
刺されたくない
ニャン…

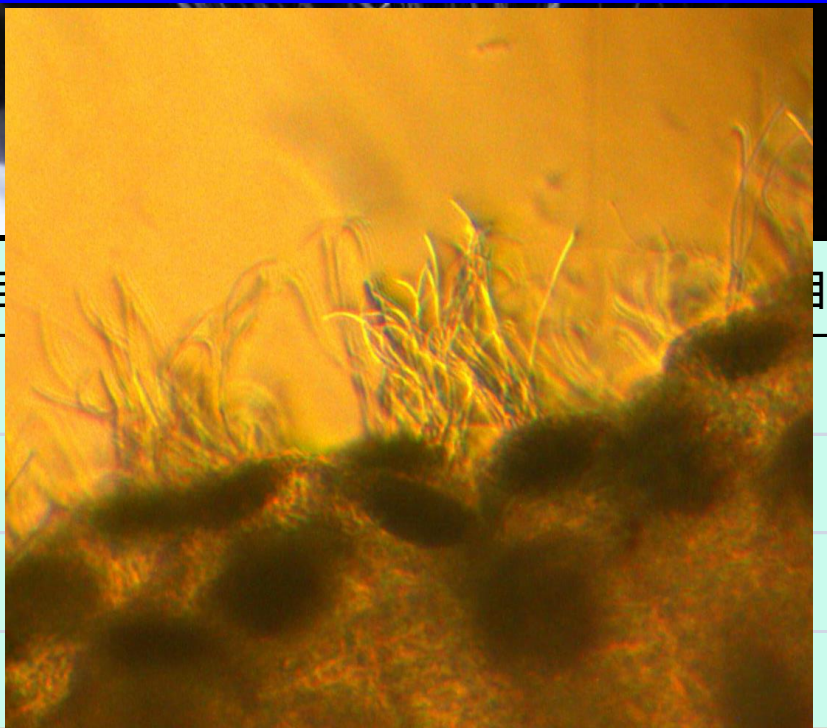
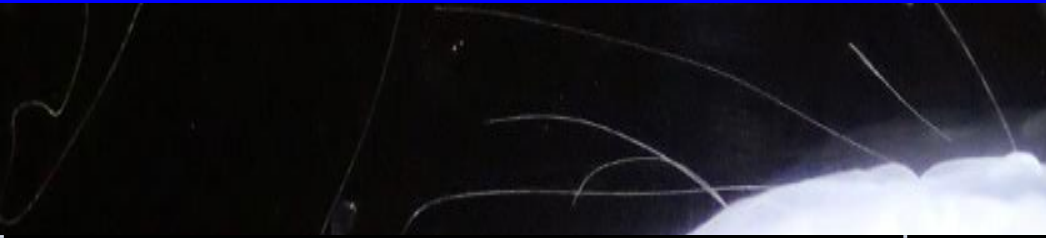


ひらい まみ

使用したユウレイクラゲ



クラゲにマグネシウムは効くか？【溶液に浸ける】



試験溶液

1回目

① 天然海水

-

② 1M グリシン 水

-

③ 0.85M グリシン

Mgが少ないと、
毒針が発射

④ Ca 除去海水

-

⑤ Mg 除去海水

++

++

+++

++

++

⑥ Mg 95% 海水

+++

++

++

++

+++

⑦ Mg 100% 海水

-

-

-

-

-

⑧ Mg 200% 海水

-

-

-

-

-



クラゲにマグネシウムは効くか？【針で刺激】

試験溶液	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
① 天然海水	+	++	+	+	++
② 1M グリシン 水溶液	+	+	+	++	+
③ 0.85M グリシン 水溶液	++	++	+	++	+
④ Ca 除去海水	++	++	++	+	+
⑤ Mg 除去海水	+	+	/	/	/
⑥ Mg 95% 海水	+	+	/	/	/
⑦ Mg 100% 海水	-	-	-	-	-
⑧ Mg 200% 海水	-	-	-	-	+

Mgが多いと、針で
つついても毒針が
出ない

クラゲ予防クリームを試作

ハンドクリームベース

日焼け止めクリームベース



それぞれ、左がそのまま、右がMgを加えたもの

クラゲ予防クリームを試作

触手が寒天にくっつくかどうかで判定！

クリームを塗った寒天

ユウレイクラゲの触手

クラゲ予防クリームを試作

試作に成功！

寒天	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
① 人工海水寒天	+	+	+	+	+
② ハンドクリーム寒天	+	+	+	-	+
③ 日焼け止めクリーム寒天	+	+	+	+	+
④ Mgハンドクリーム寒天	-	-	-	+	-
⑤ Mg日焼け止めクリーム寒天	-	-	-	-	-

Mgを加えたクリーム
は、毒針が出ない

さらに・・・

ユウレイクラゲもミズクラゲポリプもNMDARが関係

ユウレイクラゲ



試験溶液	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
① 0.5μM D-AP5 in Mg 除去海水	++	++	++	++	++
② 5μM D-AP5 in Mg 除去海水	-	-	-	-	-
③ 5μM L-グルタミン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-
④ 50μM L-グルタミン酸 in 通常海水	++	++	++	++	++
⑤ 0.05μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-
⑥ 0.5μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	++	++	++	++
⑦ 5μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	++			
⑧ 6mM HCl in Mg 除去海水	++	+			
⑨ 50μM NaOH in 通常海水	-	-			

**NMDARの阻害剤
が効果を発揮！**



ミズクラゲポリプ

試験溶液	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目
① 0.005μM D-AP5 in Mg 除去海水	++	++	+	++	++	+	+
② 0.05μM D-AP5 in Mg 除去海水	-	+	-	-	-	-	-
③ 0.5μM D-AP5 in Mg 除去海水	-	-	-	-	-	-	-
④ 0.5μM L-グルタミン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑤ 5μM L-グルタミン酸 in 通常海水	+	+	+	+	+	+	+
⑥ 0.05μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑦ 0.5μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	+	++	-	-	-	+
⑧ 5μM L-アスパラギン酸 in 通常海水	+	-	++	-	+	+	++
⑨ 0.6mM HCl in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑩ 0.6mM HCl Mg 除去海水	++	+	++	++	++	++	+
⑪ 50μM NaOH in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-



毒針発射に関係している受容体

NMDA型グルタミン酸受容体：NMDAR

グルタミン酸

グリシン

細胞膜

Mg

ヒトの脳内で
記憶・学習に重要な
役割を持つ！

ということとは・・・

クラゲも記憶や学習をしているのか

クラゲも学習しているのかニャ？

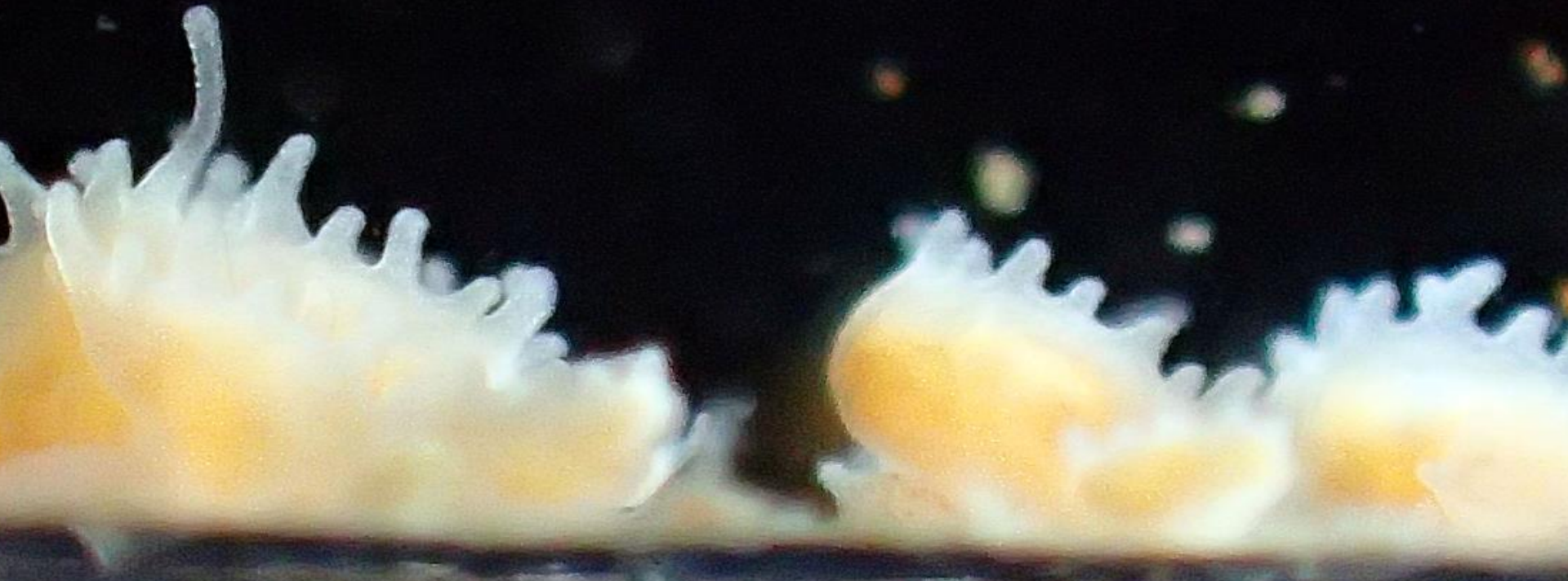


ひらい まみ

学習の定義

学習とは、動物の行動が繰り返しによる経験で改変され、新しい型の統制的行動ができるようになることと定義づけられている。例えば、動物に刺激を繰り返し与えることにより、行動の応答が徐々に小さくなる。これは、最も単純な学習行動の一つで、慣れ habituation と呼ばれる。

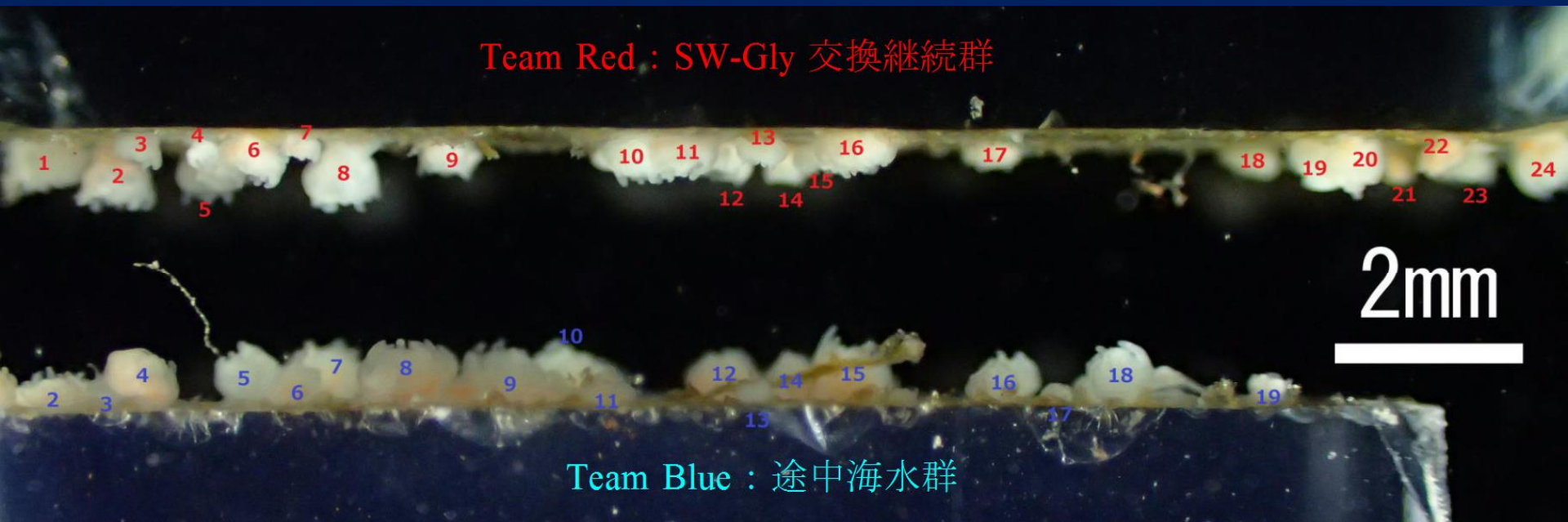
ミズクラゲのポリプ



ポリプ(クラゲの幼生)は、クラゲの成体に
比べ、飼育も容易で個体数も多く使えるので
学習の実験に最適！

ポリプにエサのにおい刺激を繰り返し与える

海水ーグルタミン酸(エサのにおい)を継続



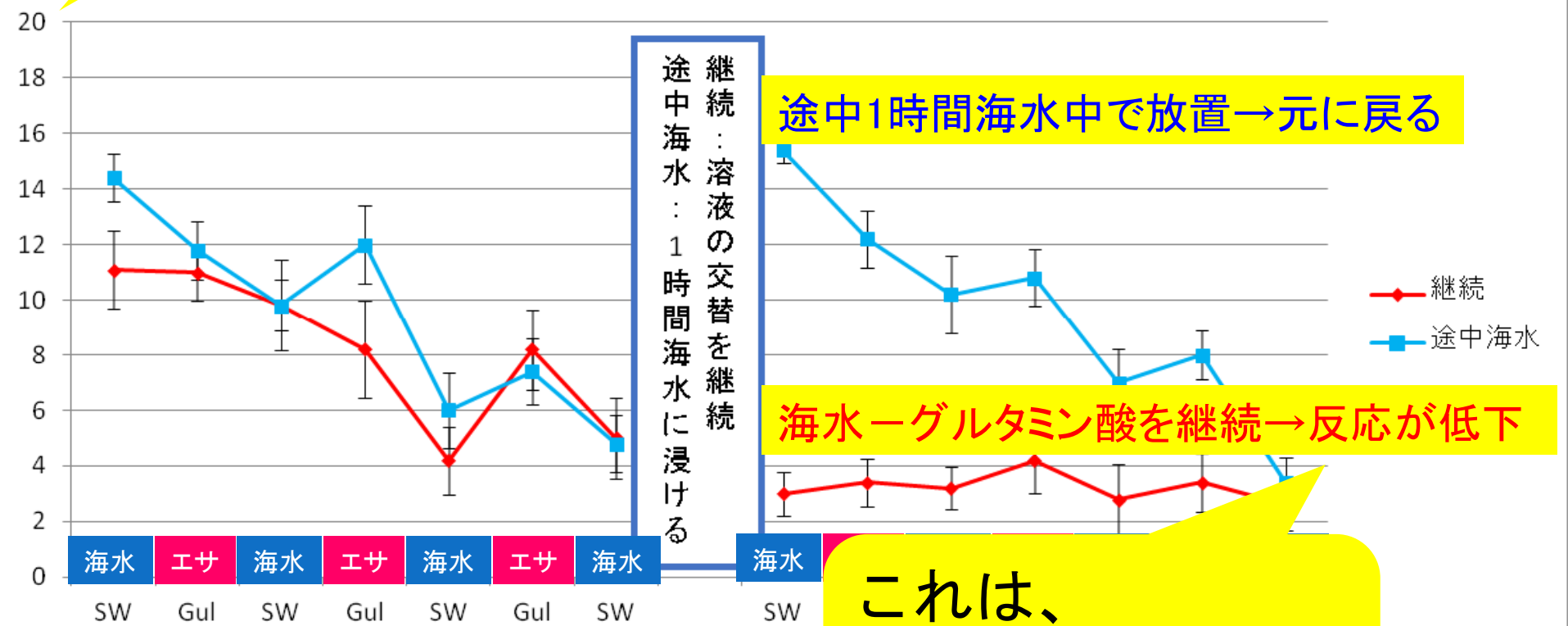
途中1時間海水中で放置

ポリプにエサのにおい刺激を繰り返し与える

縦軸：
ポリプの収縮回数

「慣れ」：動物に刺激を繰り返し与えることにより、行動の応答が徐々に小さくなる

SW-グルタミン酸0.2 μ M SW 収縮回数（平均値 n=10、バーは標準誤差）



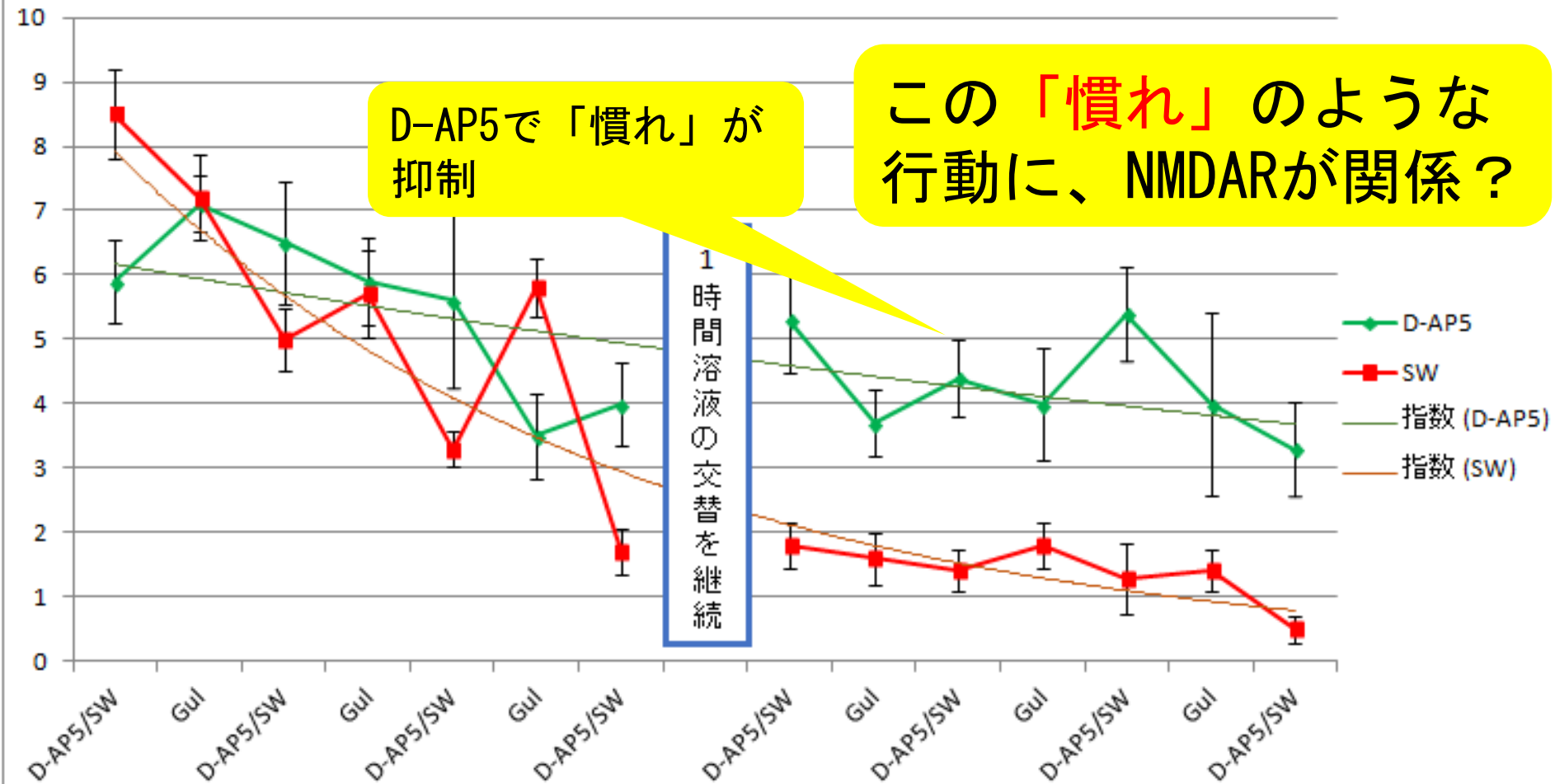
途中1時間海水中で放置→元に戻る

海水-グルタミン酸を継続→反応が低下

これは、「慣れ」のような行動では？

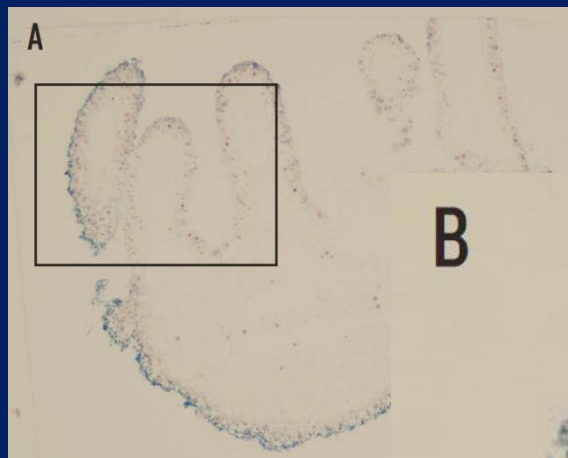
ポリプにエサのにおい刺激を繰り返し与える

D-AP5/SW - グルタミン酸 0.2 μ M SW 収縮回数 (平均値 n=10, バーは標準誤差)

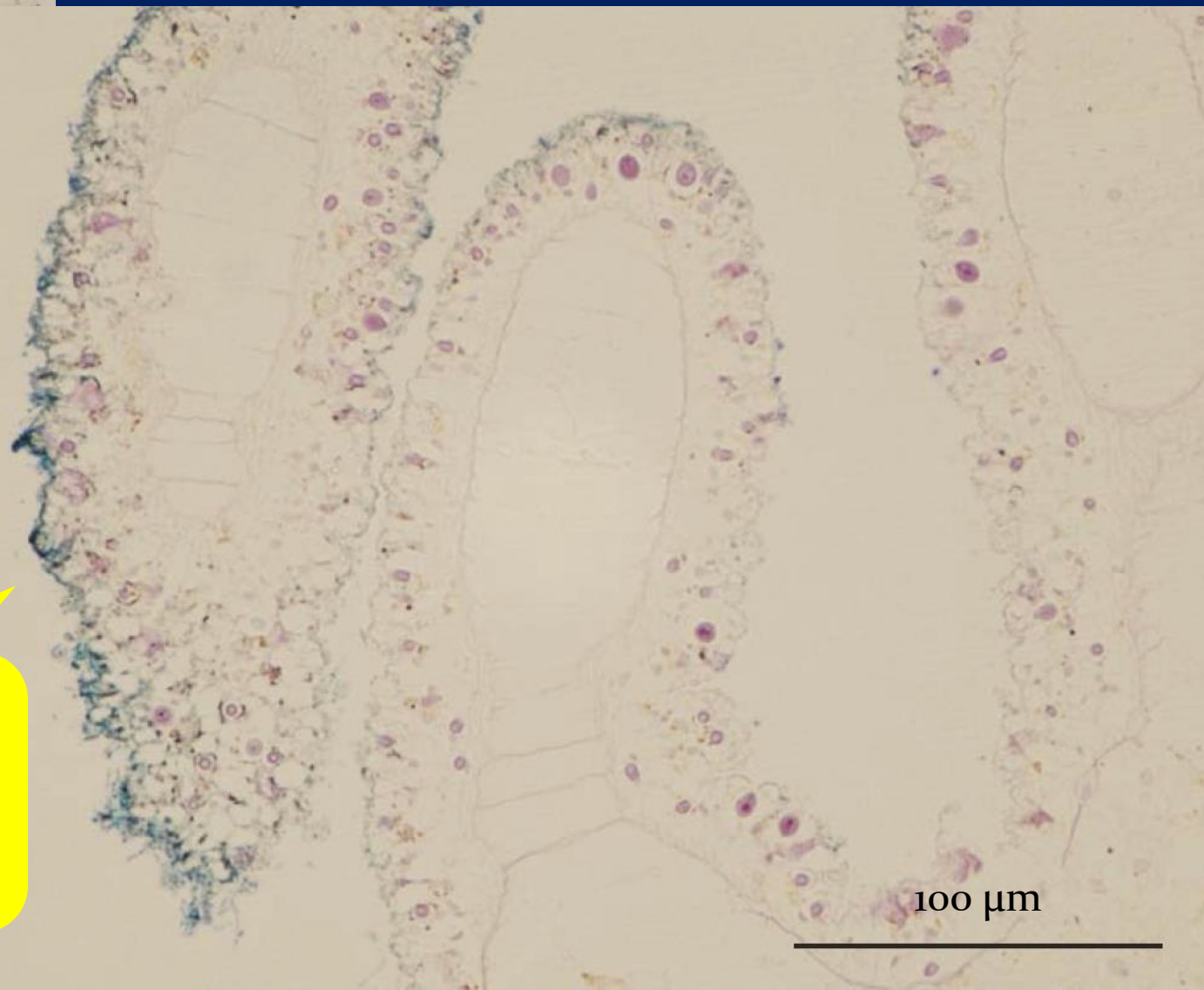


神経終末を抗体染色(青色)したポリプの樹脂切片

神経終末のシナプトタグミンを抗体染色



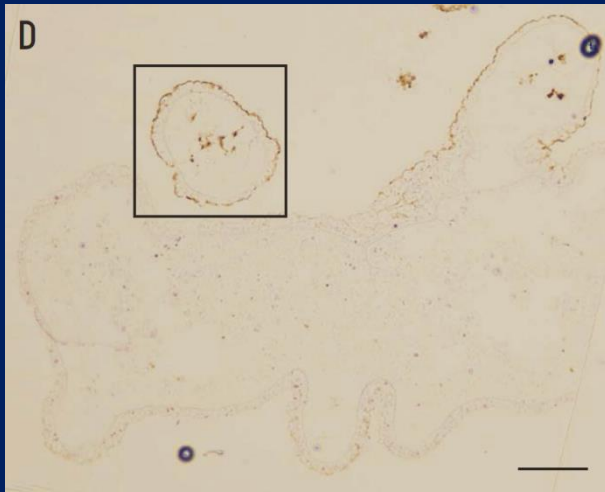
B



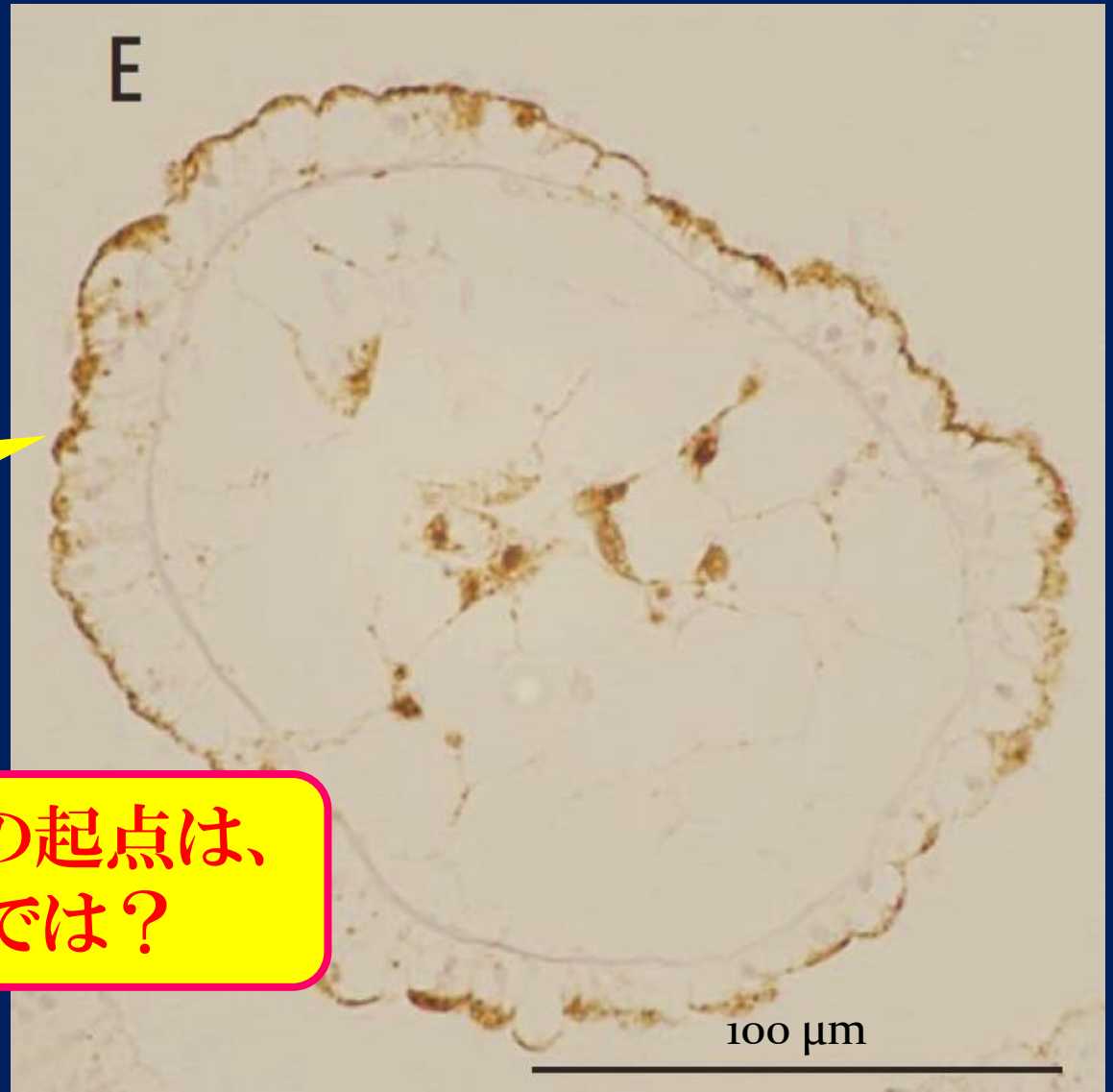
表面付近に
神経終末が
分布

平滑筋を抗体染色(褐色)したポリプの樹脂切片

平滑筋ミオシンを抗体染色



表面付近に
平滑筋が分布



慣れのような行動の起点は、
ポリプの表面付近では？

研究成果のまとめ



ひらい まみ

謝辞

最後に、研究を支えてくださった愛媛大学の高田 裕美 先生、研究を支援して下さった、サイエンスメンター制度を主催する公益財団法人 日本科学協会 様、クラゲの水槽をご提供いただいた、中村 時広 県知事 様、株式会社 愛媛小林製薬 様、ミズクラゲポリプを提供いただき、ご指導いただいた株式会社プラックスの吉村 洋 様、私たちに目標を与えてくださった、本校理科の上田 敏博 先生、重松 洋 先生、門田 将和 先生、上野 毅 先生、水族館部研究班の先輩方、応援いただいたすべての皆様方、本当にありがとうございました。



何か質問は
ありませんか？

第3土曜日にお待ちしております！

以下は資料です

Mg²⁺はどこに作用しているのか

受容体 = 細胞表面にあるタンパク質でできたスイッチ



Mg²⁺はどこに作用しているのか

グルタミン酸は、どのように効くのか(仮説)

グルタミン酸
通常海水

刺胞
射出

刺胞
(毒針)

NMDAR

グルタミン酸

伝達

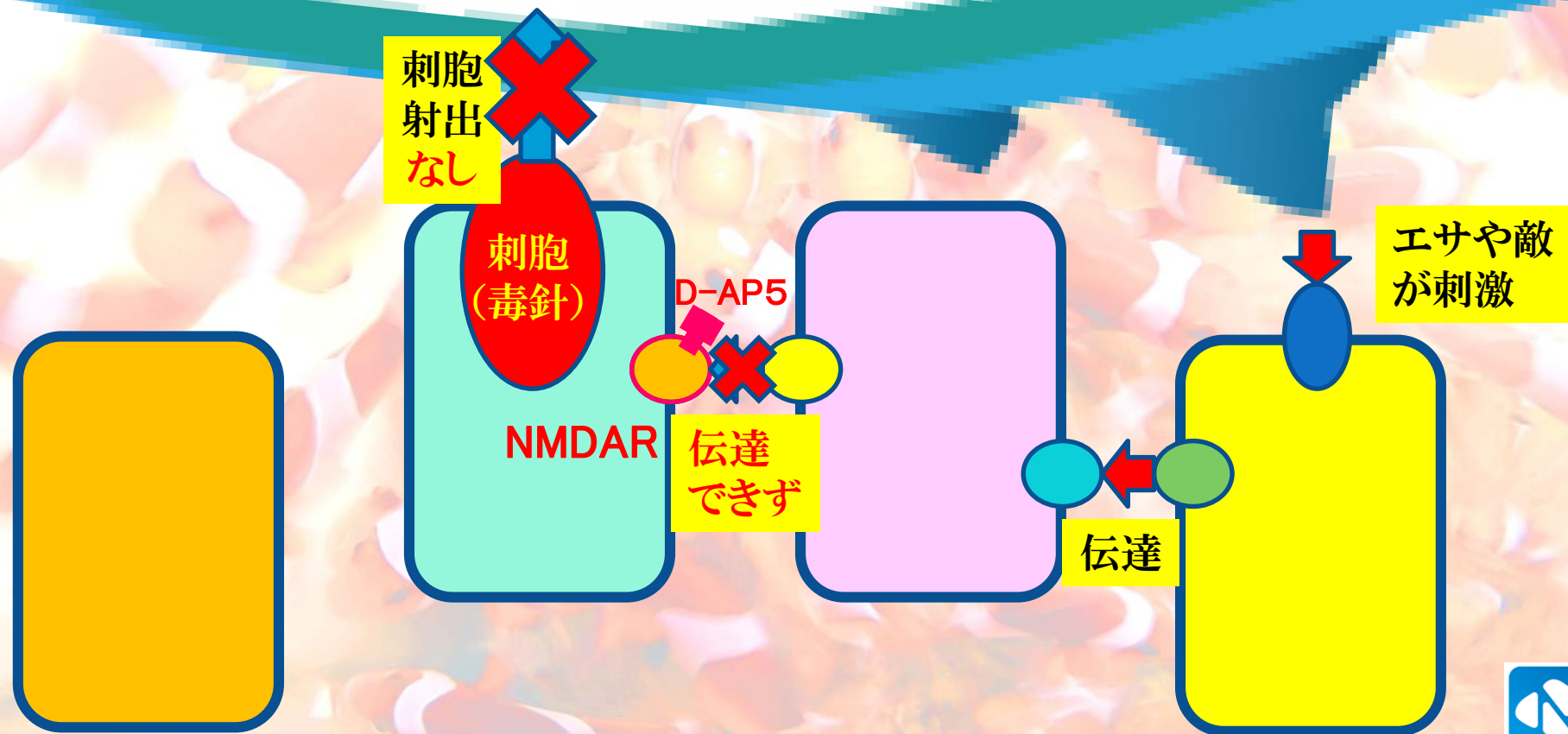
エサや敵
が刺激

伝達

Mg²⁺はどこに作用しているのか

D-AP5は、どのように効くのか(仮説)

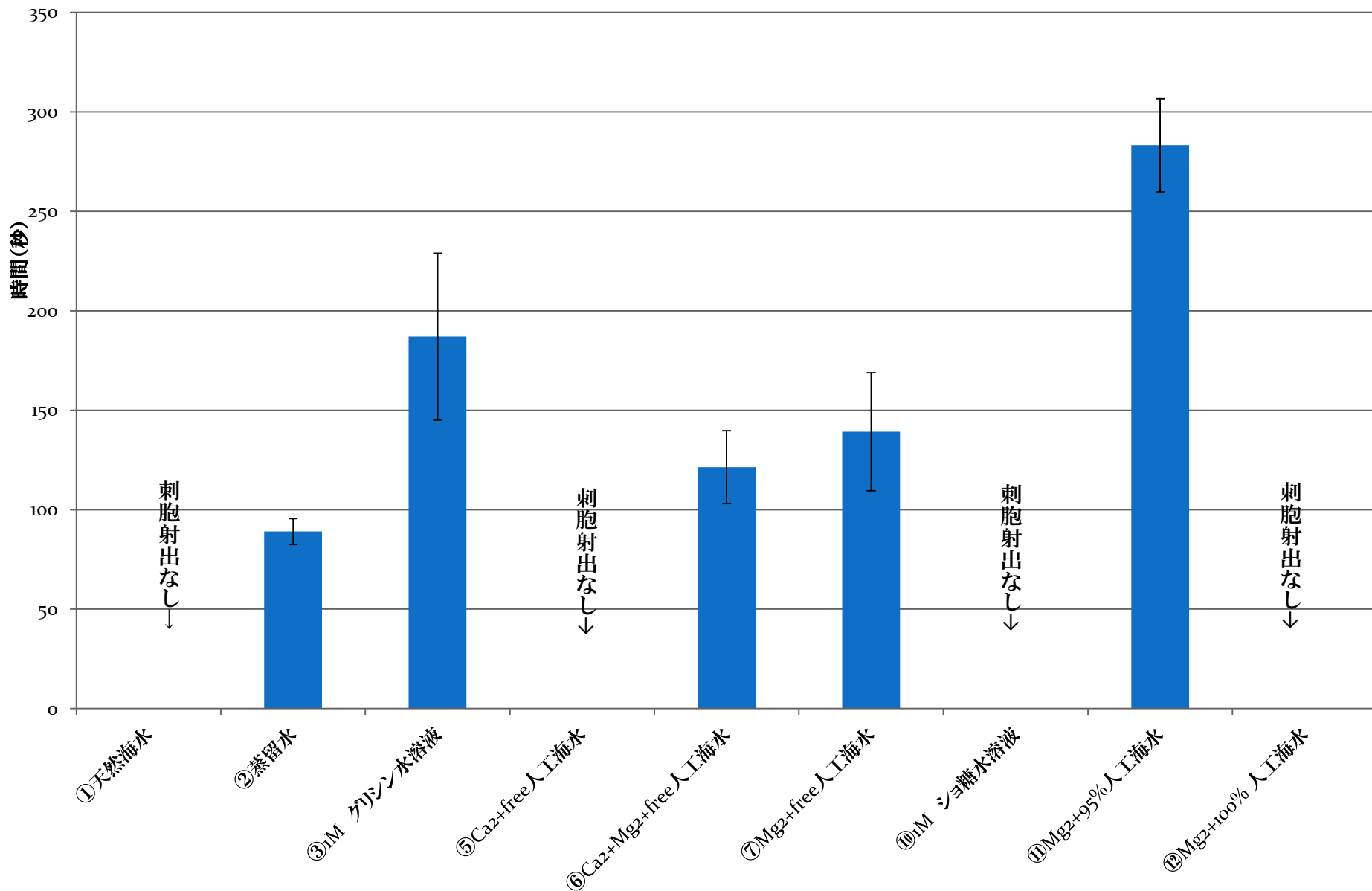
D-AP5
Mg除去海水



ハタゴイソギンチャク 水溶液の違いによる刺胞射出時間

刺胞が射出するまでの平均時間(秒)

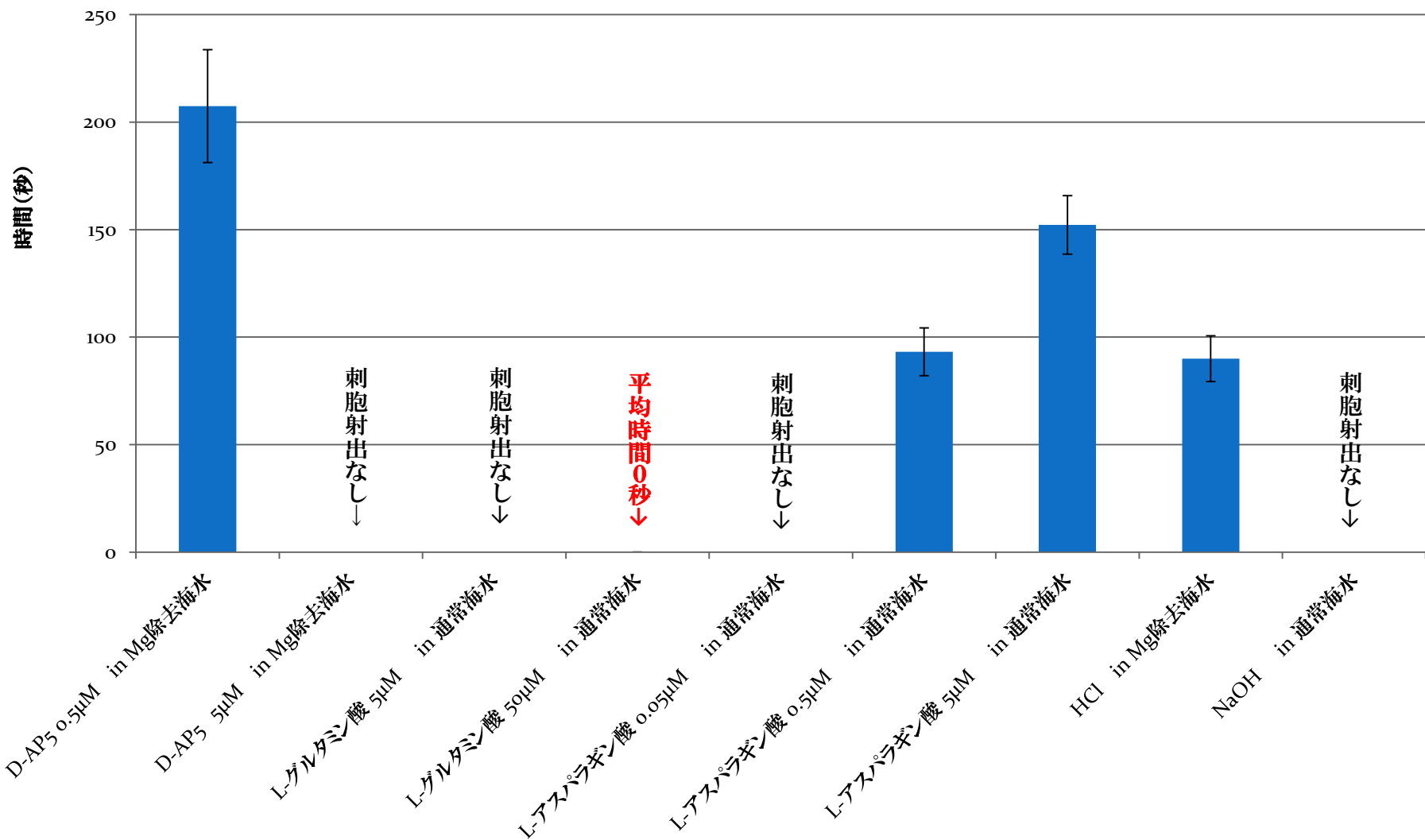
n=5、エラーバーは標準誤差



ハタゴイソギンチャク D-AP5ほかの効果 射出時間

刺胞が射出するまでの平均時間(秒)

n=5、エラーバーは標準誤差



ユウレイクラゲ D-AP5ほかの効果



試験溶液	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
① 0.5 μ M D-AP5 in Mg 除去海水	++	++	++	++	++
② 5 μ M D-AP5 in Mg 除去海水	-	-	-	-	-
③ 5 μ M L-グルタミン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-
④ 50 μ M L-グルタミン酸 in 通常海水	++	++	++	++	++
⑤ 0.05 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-
⑥ 0.5 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	++	++	++	++
⑦ 5 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	++	+++	++	+++
⑧ 6mM HCl in Mg 除去海水	++	+	++	+	-
⑨ 50 μ M NaOH in 通常海水	-	-	-	-	-

ミズクラゲポリプ D-AP5ほかの効果



試験溶液	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	7回目
① 0.005 μ M D-AP5 in Mg 除去海水	++	++	+	++	++	+	+
② 0.05 μ M D-AP5 in Mg 除去海水	-	+	-	-	-	-	-
③ 0.5 μ M D-AP5 in Mg 除去海水	-	-	-	-	-	-	-
④ 0.5 μ M L-グルタミン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑤ 5 μ M L-グルタミン酸 in 通常海水	+	+	+	+	+	+	+
⑥ 0.05 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑦ 0.5 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	++	+	++	-	-	-	+
⑧ 5 μ M L-アスパラギン酸 in 通常海水	+	-	++	-	+	+	++
⑨ Mg 除去海水	+	++	+	++	+	++	++
⑩ Mg 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑪ 0.6mM HCl in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-
⑫ 0.6mM HCl Mg 除去海水	++	+	++	++	++	++	+
⑬ 50 μ M NaOH in 通常海水	-	-	-	-	-	-	-

クマノミがイソギンチャクから身を守るしくみ

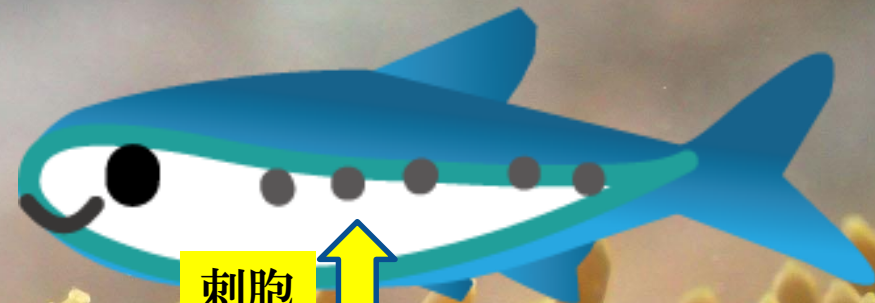
私は Mg^{2+} がたくさんあるから、大丈夫



刺胞
射出
なし

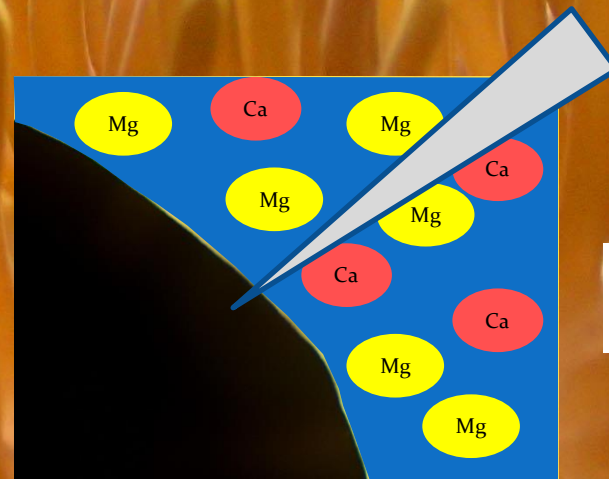


追加実験
高濃度 Mg^{2+} 海水



刺胞
射出

僕は Mg^{2+} が少ないから刺されちゃうよ



←針

射出なし

刺胞射出

