

ホルマリン固定された数種の
ヒドロクラゲ（刺胞動物門, ヒドロ虫綱）の GFP 分布パターン
**DISTRIBUTION PATTERN OF GFP IN SOME HYDROMEDUSAE
(CNIDARIA, HYDROZOA) PRESERVED IN FORMALIN**

By

久保田 信¹
Shin KUBOTA¹

概要

Abstract

Distribution pattern of GFP was newly found in three species of hydromedusae that preserved in formalin-seawater for up to 10 years. The characteristic GFP pattern of a living *Eugymananthea japonica* turned out as that of preserved *E. inquilina*, and a new GFP pattern appeared in two species of preserved *Turritopsis* in contrast to none GFP pattern of a living specimen. Taxonomic utility of these patterns, that changed from the original ones, are discussed.

はじめに

Introduction

クラゲ類の GFP パターンは、よく研究されたカイヤドリヒドラ類の近縁種同士（カイヤドリヒドラクラゲ *Eugymananthea japonica* とチチュウカイカイヤドリヒドラクラゲ *E. inquilina* 間；コノハクラゲ *Eutima japonica* とタイセイヨウコノハクラゲ *E. sapinhoa* 間）では種特異的（Kubota *et al.* 2008; 2010; JMBA 2010; Kubota 2012b）で、重要な分類形質となるが、多くの種類でのこの様な比較がまだ十分になされていない（Kubota 2010; 2011a; 久保田 2017）。さらに、鉢虫類や箱虫類ではほとんど研究されていない（Kubota 2011b; 2012a）。

今回、生時に GFP パターンが全く見られないベニクラゲ類 *Turritopsis* の複数種と、種特異的なパターンを示すカイヤドリヒドラクラゲ *Eugymananthea japonica* を代表に選び、ホルマリン固定標本を用いて、最新の機種を使用し、そのパターンを調べた結果、

1. 〒649-2211 和歌山県西牟婁郡白浜町 459 京都大学フィールド科学教育研究センター瀬戸臨海実験所
Seto Marine Biological Laboratory, Field Science Education and Research Center, Kyoto University,
459 Shirahama, Nishimuro, Wakayama 649-2211, Japan
e-mail: kubota.shin.5e@kyoto-u.ac.jp

変化が認められたので報告し、分類形質として使えるか議論する。

材料と方法

Materials and methods

ホルマリンで固定された以下の3種のヒドロクラゲ類を使用し、KEYENCE社のオールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X700（励起・フィルター条件は、励起波長 470/40, 吸収波長 525/50, ダイクロイックミラー 495）で GFP の発色を 2017 年 11 月 27 日に観察し、画像を撮影した。カイヤドリヒドラクラゲ *Eugymananthea japonica* は、和歌山県白浜町産のムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* の外套腔内に付着していたポリプより 2007 年 7 月 23 日に遊離した成熟クラゲを 10 年間以上保存したもの、ニホンベニクラゲ *Turritopsis* sp. は、鹿児島湾でプランクトンネットを用いて 2014 年 9 月に採集し 3 年間以上保存したもの、ベニクラゲ *Turritopsis rubra* は、2017 年 10 月 2 日に茨城県大津港で採集したものを約 2 ヶ月間保存した標本を用いた。

結果と考察

Results and discussion

3 種とも GFP の発現が見られた。カイヤドリヒドラクラゲ *Eugymananthea japonica* では、生体時に傘全体が緑色に光るパターンが、別種のチチュウカイカイヤドリヒドラクラゲ *Eugymananthea inquilina* の生殖巣と傘縁が光るパターン（see Kubota et al. 2008; JMBA 2010）へと固定された個体では変化していた（図 1 A, B）。また、生殖巣がまだ十分に発達していないチチュウカイカイヤドリヒドラクラゲでクラゲ芽を形成したポリプでは、傘縁に発現していた。一方、2 種のベニクラゲ類（*Turritopsis rubra* と *T. sp.*）では、生体時には全く GFP の発現は見られないが（Kubota 2010; unpublished data）、固定標本では、共通して口柄、触手、触手瘤放射管などに GFP の発色が見られる同パターン（図 1 C-F）になった。この他にはニホンベニクラゲでは中膠に寄生している吸虫類に（図 1 C, D）、ベニクラゲではプラヌラ幼生に GFP が発現していた（図 1 E, F）。

これらの観察結果から、固定標本では生体時とは GFP パターンが変化することが分かった。これはタンパク質の変性によるものと推察されるが、変性は普遍的現象と推察され、ホルマリン固定されたプラヌラや吸虫にさえも同様の発現が見られた。しかし、その変化の仕方によっては、固定標本でも GFP の分布パターンが分類形質として使えるかどうかに関しては、今回のベニクラゲ類 2 種での結果からは、生体時と同様に、発現したものの種の区別はできなかったのが、難しいと言える。一方、地中海産のチチュウカイカイヤドリヒドラクラゲの固定標本でどういうパターンになるのか、今後、調べる必要がある。

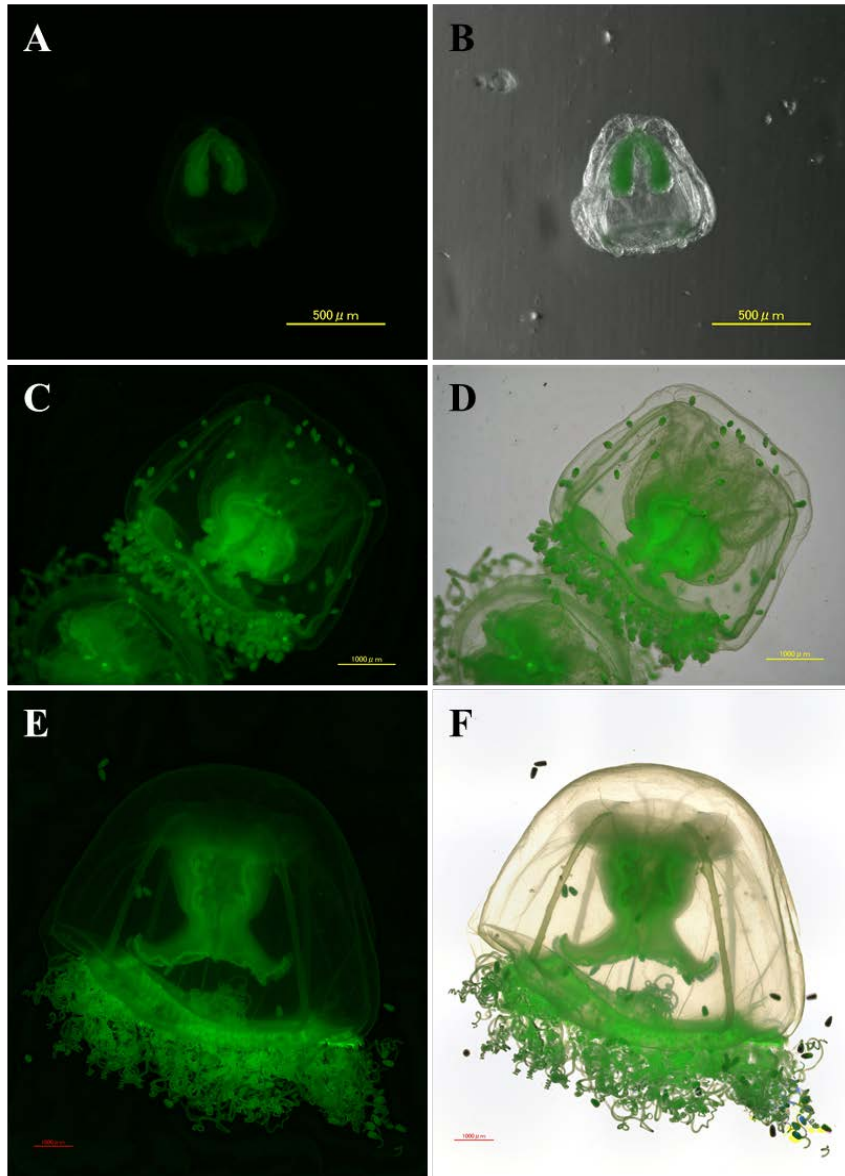


図 1. 3 種のヒドロクラゲ類のホルマリン固定標本での GFP 分布パターン. B, D, F: 蛍光顕微鏡像 (A, C, E) を透過光像と重ね合わせた図. A, B: 和歌山県白浜町産カイヤドリヒドラクラゲ, C, D: 鹿児島湾ニホンベニクラゲ (中膠に寄生している吸虫類にも発現), E, F: 茨城県大津港産ベニクラゲ (プラヌラ幼生にも発現).

Figure 1. GFP distribution pattern of three species of hydromedusae preserved in formalin-seawater. B, D, F: Fluorescence images (A, C, E) are superimposed on transmission images of the same individuals. A, B: *Eugymananthea japonica* from Shirahama Town, Wakayama Prefecture, Japan, C, D: *Turritopsis* sp. from Kagoshima Bay, Japan (GFP is also found in a parasitic trematoda in the mesogloea), E, F: *Turritopsis rubra* from Otsu harbor, Ibaragi Prefecture, Japan (GFP is also found in planulae).

謝辞

Acknowledgements

3 種のクラゲの GFP 分布パターンの画像を All-in-One Fluorescence Microscope BZ-X700 で撮影して下さった KEYENCE 社の松本知也氏に深謝致します。

引用文献

References

- JMBA. 2010. Green fluorescence protein in a bivalve-inhabiting hydrozoan. JMBA Global Marine Environment, 11: 15.
- Kubota, S., P. Pagliara and C. Gravilli. 2008. Fluorescence distribution pattern allows to distinguish two species of *Eugymnanthea* (Leptomedusae: Eirenidae). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 88(8): 1743-1746.
- Kubota, S. 2010. Various distribution patterns of green fluorescence in small hydromedusae. Kuroshio Biosphere, 6: 11-14+ 3 pls.
- Kubota, S., E. Nomaru, H. Uchida. and A. Murakami. 2010. Distribution pattern of GFP (green fluorescence protein) in a bivalve-inhabiting hydrozoan, *Eutima japonica* (Leptomedusae: Eirenidae). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 90(7): 1371-1374.
- Kubota, S. 2011a. New distribution patterns of green fluorescence in small hydromedusa. Kuroshio Biosphere, 7: 41-43 + 1 pl.
- Kubota, S. 2011b. Green fluorescence in young individual(s) of Cubomedusa, Scyphomedusa and Ctenophora. Kuroshio Biosphere, 7: 45-46 + 1 pl.
- Kubota, S. 2012a. Green fluorescence protein (GFP) firstly detected in an immature medusa of *Nausithoe* sp. from Japan. Kuroshio Biosphere, 8: 17-18 + 1 pl.
- Kubota, S. 2012b. The life cycle of a bivalve-inhabiting hydrozoan, *Eutima sapinhua* (Cnidaria, Hydrozoa), from Florida, USA. Biogeography, 14: 87-91.
- 久保田信. 2017. エボシクラゲの一種 (ヒドロ虫綱, 花クラゲ目) の和歌山県田辺湾への出現. 日本生物地理学会会報, 71: 179-182.