

《研究テーマ》

「子供の頃に牛乳を飲めたのに大人になると飲めなくなるのはどうしてか」から生物の分化と進化を考える

日時 2007年8月23日・24日

実験参加者 (足羽高校2年)

石黒	杜夢
斎藤	弘崇
中林	智也
松井	美歩
山田	えり

TA (福大医学部3年) 桑原 絢也



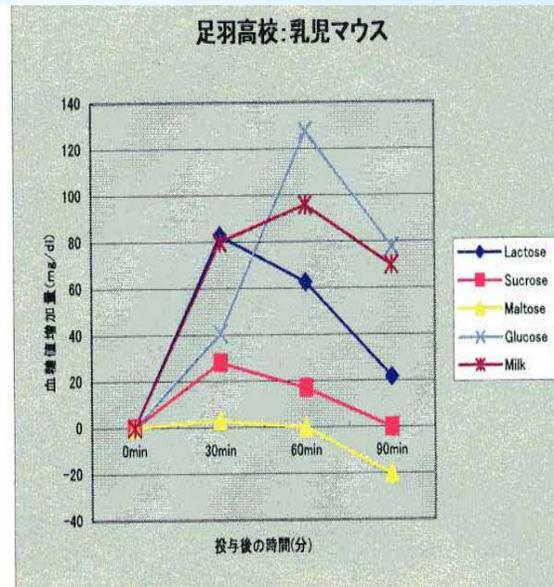
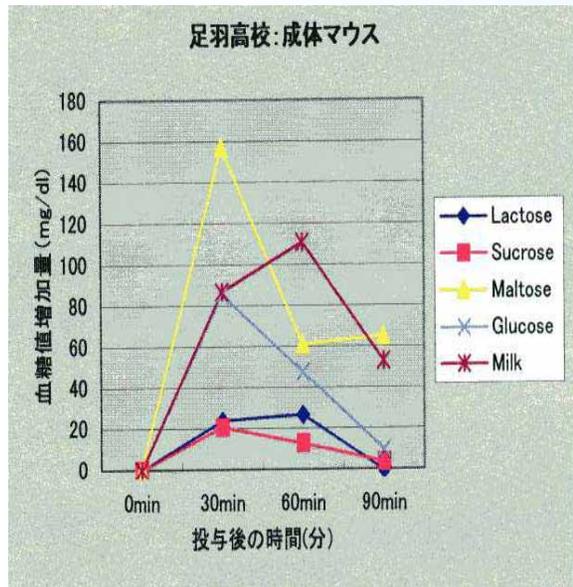
【実験1】糖負荷試験

糖を摂取した後の血糖値の推移を調べる

〔方法〕成体マウスと乳児マウスに4種類の糖とミルクを飲ませ血糖値の変化を時間ごとに測定



注射器で糖液を経口投与



〔結果〕 成体と乳児を比較するとラクトースとマルトースに差がある
(成体はラクトースを分解できない)



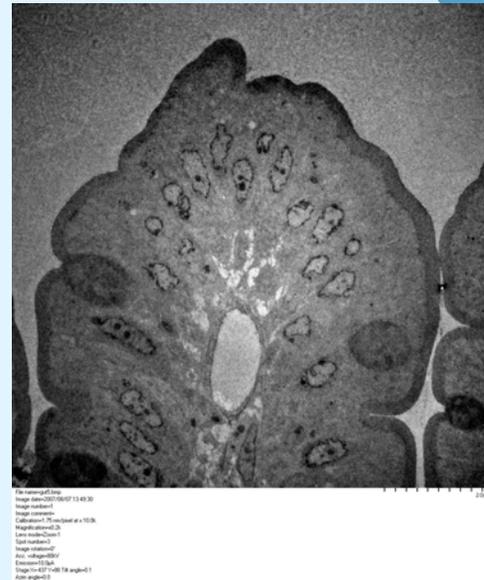
メディセーフで尾から採血し血糖値を測定

【実験2】小腸腔内粘膜を電子顕微鏡で観察する

- 小腸表面には虫めがねでも見ることのできる絨毛と呼ばれる突起状の構造物が無数に生えている。
- 小腸は栄養の吸収と消化液の分泌という二重の働きをしている。
- 吸収は絨毛の表面をおおう吸収上皮細胞により、分泌は管状のくぼみの部分にある分泌細胞によって分業化されている



微絨毛（走査型電子顕微鏡）



絨毛断面（透過型電子顕微鏡）

【実験3】小腸粘膜の酵素活性測定（1）

ラクターゼのマウス小腸における分布を調べる

〔方法〕十二指腸から注射器でX-gal液を注入し、十二指腸、回腸末端を糸で縛り、染色液が腸管内に留まるようにする。腸管は生理食塩水を入れたシャーレに入れ37℃でインキュベートし、染色性を観察する。



マウスを解剖し腸を取り出す



腸の洗浄



〔結果〕乳児マウスでは腸全体が緑色になるが、成体マウスは染まらないところがある

ラクターゼがはたらいている場所は「緑色」に染まる

腸の「緑色の場所」に合成され運ばれたラクターゼが分布する

【実験4】小腸粘膜の酵素活性の測定（2）

小腸各部位の組織抽出液に含まれる総タンパク質量の定量

ホモジナイザーで小腸の3部位
（十二指腸、空腸、回腸）を細かく鋏で切断



検量線から求めた蛋白量

		20倍希釈液の 蛋白濃度 mg/ml	原液の 蛋白濃度 mg/ml
仔	十二指腸	0.0616	1.233
	空腸	0.6370	12.740
	回腸	0.5342	10.685
成体	十二指腸	0.3219	6.438
	空腸	0.4384	8.767
	回腸	0.3356	6.712



マイクロピペットで試薬の注入

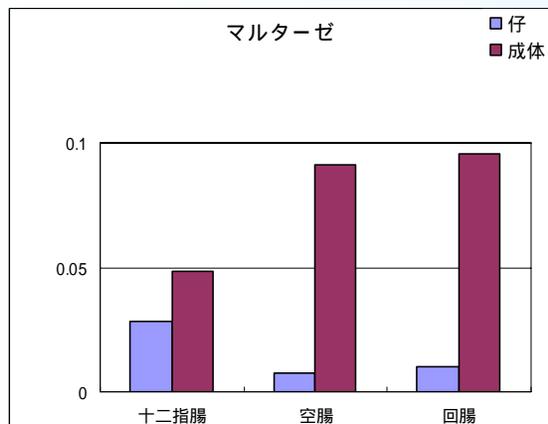
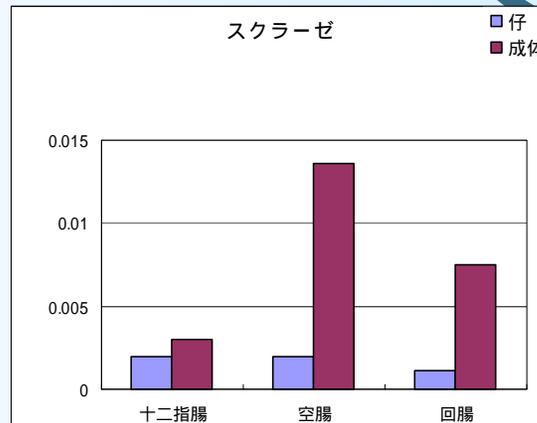
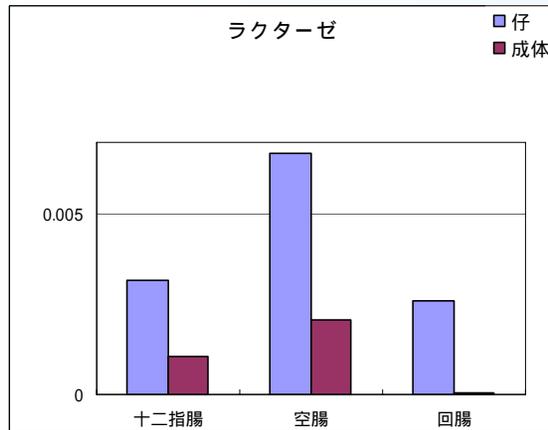
このデータは???

〔結果〕蛋白量は小腸各部で大きな差は見られないが、仔と成体では差がある。ホモジネート作製時の液量違いによる可能性がある。蛋白量酵素の分布を比活性で比べる時に要になる重要なデータである。

【実験5】乳児マウスと成体マウスの小腸における2糖類分解酵素の活性測定

ラクターゼ・スクラーゼ・マルターゼの活性

比活性 (μg 生成単糖 / μg 蛋白 \cdot 分)

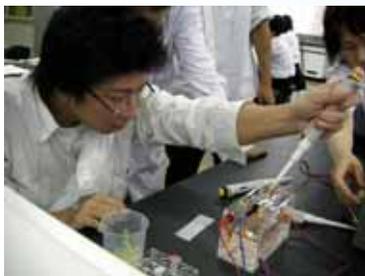


ラクターゼ
 ラクトース (乳糖) 分解
 マルターゼ
 マルトース (麦芽糖) 分解
 スクラーゼ
 スクロース (蔗糖) 分解

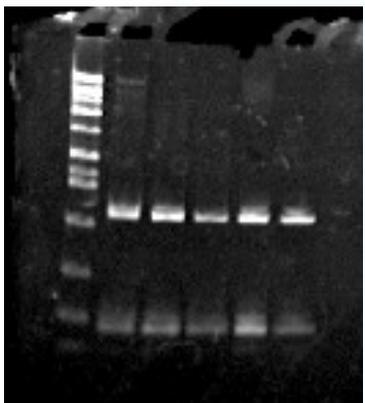
- 乳児 (仔) マウスは、ラクターゼを働かせ単糖 (グルコース) を作り、生きている。
- 成体マウスでは、マルターゼ・スクラーゼが活性するようになり、ラクターゼは作られなくなる。
- 「甘いお菓子」 (スクロース入り) は、乳児には無用、離乳食は甘くない理由がわかった

【実験6】ラクターゼ遺伝子転写調節部のSNP解析

PCR法による遺伝子の増幅とシーケンス分析



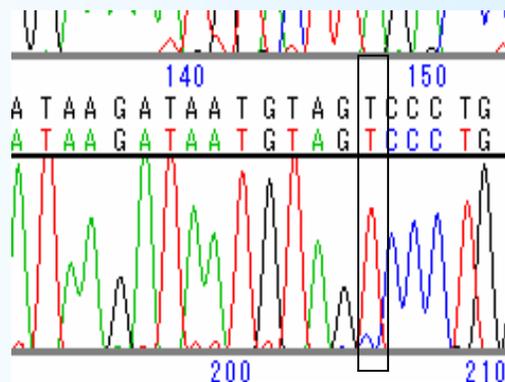
ゲルのウェルに注入



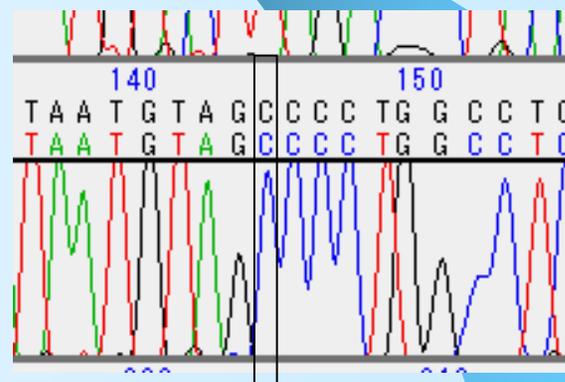
泳動結果（全員抽出成功）

〔方法〕・採血 白血球の核（約25,000個の遺伝子）
第2染色体 ラクターゼ遺伝子

- ・PCR法（95 55 72 30回転）
- ・寒天ゲル電気泳動でDNA（232bp）の確認
- ・シーケンス反応で塩基（A・G・C・T）配列分析



欧米人（TGATCC）



日本人（TGACCC）

- 〔結果〕・ラクターゼ遺伝子は全員が「日本人」タイプだった
- ・たった1個の塩基の違いで大きな形質の違いが起こる
 - ・同じヒト同士でも遺伝子に変化が生じている（これが進化か）

今回の研究を通して



修了証の授与

- 実験や講義を通して、これまで知らなかった知識を得ることができた。糖の分解実験から、人間の体はどんな酵素で分解して体内へ取り入れていくかを知ることができた。また、遺伝子の分析から人間がどのような過程から現在の体のつくりになったかを知ることができた。今回の講座を通して、改めて人間の体はともすごいと思った。(石黒)
- この講座を通して、今まで知らなかった知識を多く得ることができた。糖の分解実験や遺伝子分析により、人間の体のつくりや働きにいろいろ驚くものがあった。実験は、目で結果が確かめれわかりやすく理解できた。今回の講座を進路や今後の人生に生かしていければいいと思う。(斎藤)
- 2日間の実験は予想以上にインパクトのあるものでした。マウスを使った実験では、ゆるく麻酔をかけているのに尾を切断するときに、マウスが痛がるので手が震えました。ピペットを使っての実験は、微量の液体を扱うので最初は操作に集中できませんでした。でも、何回かやっていくうちに楽しくなり、自分からやってみたいと思うように後ではなりました。これからもこのような機会があればまた参加したいです。(中林)



短い命を捧げてくれた赤ちゃんマウス