

SPP2007

「子ども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



福井県立三国高等学校

3年 笹木康陽

3年 柿本朋恵

3年 信田理衣

3年 山崎美里

2年 井上翔太

実験内容

糖負荷試験（採血と血糖値測定）

マウス小腸におけるラクターゼ分布（組織化学染色）

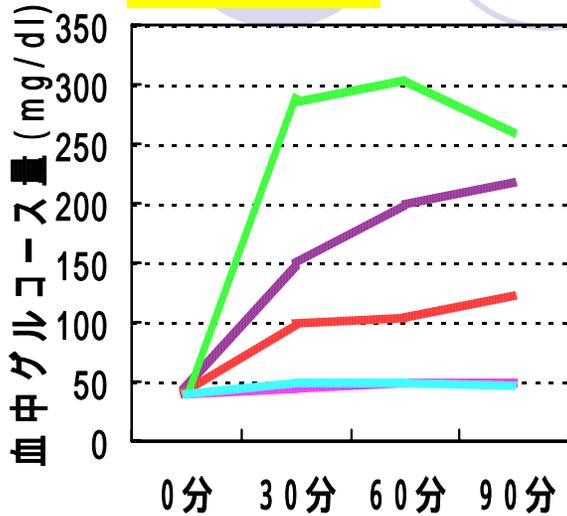
小腸各部からの組織抽出液中に含まれる総蛋白量の定量

マウス小腸の2糖類分解酵素の活性測定

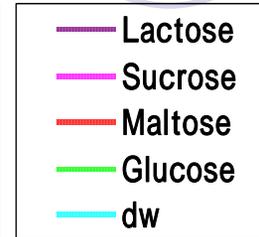
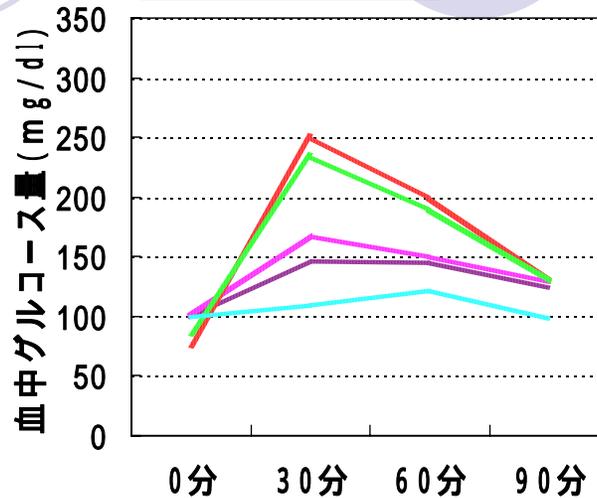
ラクターゼ遺伝子転写調節部のSNP解析

糖負荷試験（採血と血糖値定）

仔マウスの血糖値



成体マウスの血糖値



結果

仔マウスでは、Glucoseに次いでLactose投与による血糖値変化が著しい。
成体マウスでは、Glucose同様に、Maltose投与による血糖値変化が著しい。

考察

仔マウスでは、ラクターゼ活性が高い(マルターゼ活性は低い)が、逆に成体になるとラクターゼ活性は失われ、マルターゼ活性が高くなる。これがヒトにもあてはまるなら、「牛乳(乳糖)が飲めなくなる」原因となろう。

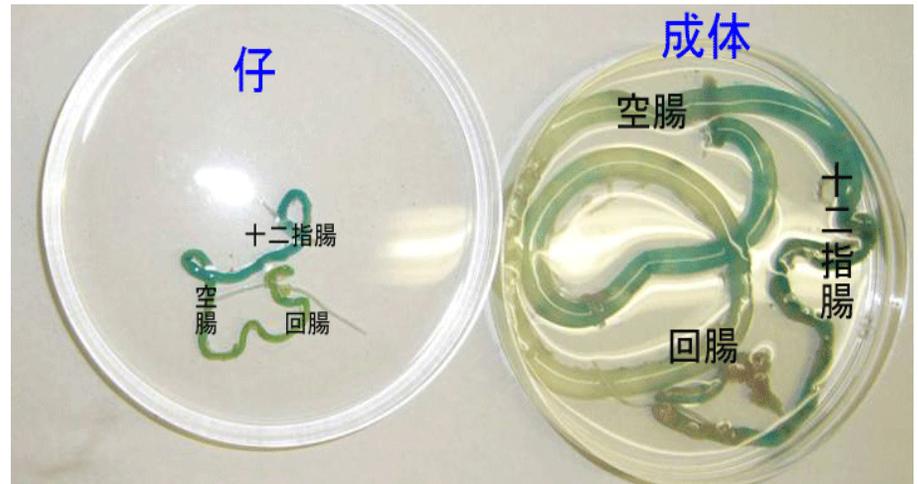
マウス小腸におけるラクターゼ分布

方法

仔マウスと成体マウスから腸を摘出，腸管内をX-Galで化学染色し，観察する。
X-Gal：ラクターゼ活性部位を緑色に染める染色液

結果

仔マウスでは，十二指腸・空腸を中心に，全体が濃く染色された。
成体マウスでは，十二指腸を中心に染まったが，全体的に薄かった。



考察

仔マウスでは，小腸の十二指腸・空腸付近を中心にラクターゼ活性が高いが，成体ではさほどラクターゼ活性が高くないことがわかる。つまり成体では，乳糖分解がうまくできないことを示唆するものである。

小腸各部からの組織抽出液中 に含まれる総蛋白量の定量

方法

純粋190mlに組織抽出液10mlを加え、20倍希釈液を作製する。
 20倍希釈液を10mlずつ、2本の1.5mlチューブに入れる。
 各チューブに試薬A'を50mlずつ入れる。
 次に各チューブに試薬B'を400mlずつ入れ、よく混ぜてから5分間静地。
 96ウェルマイクロプレートのウェルに230mlを入れる。*泡が入ったらつぶしておく。
 プレートリーダーで650nmのOD値を測定し、各Sampleの蛋白量を計算する。

OD : Optical Density · 光学濃度 特定波長における吸光度から、濃度を特定する。

測定結果	仔			成体		
	OD	OD	平均	OD	OD	平均
十二指腸	0.110	0.115	0.113	0.121	0.120	0.121
空腸	0.129	0.126	0.128	0.140	0.141	0.141
回腸	0.142	0.132	0.137	0.134	0.144	0.139

OD値による蛋白量関係式 Xに代入

$$(原液濃度)y = (0.146x + 0.061) \times 20$$

計算結果		原液蛋白濃度
仔	十二指腸	7.12
	空腸	9.18
	回腸	10.42
成体	十二指腸	8.22
	空腸	10.96
	回腸	10.68

($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

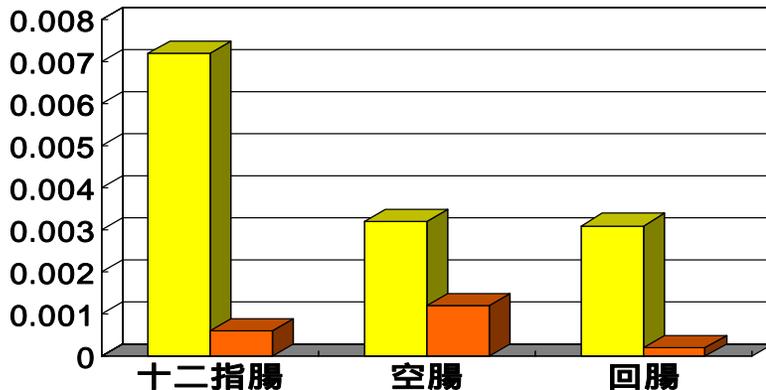
マウス小腸の2 糖類分解酵素の活性測定

方法

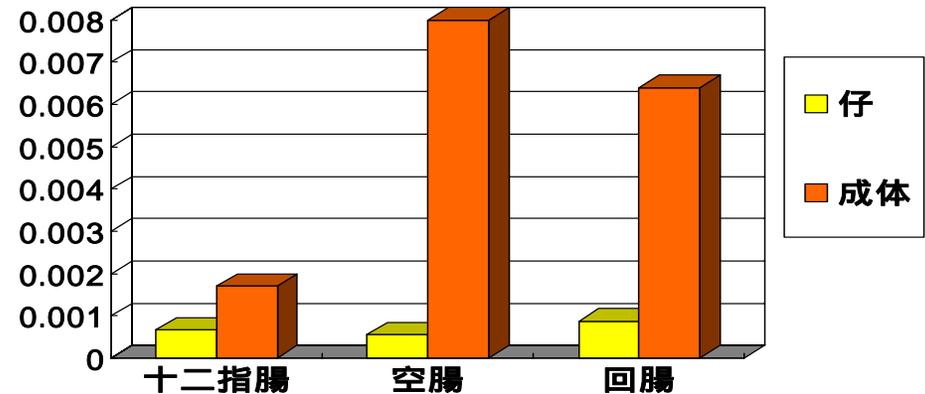
F-キットを用いて、ラクターゼ・スクラーゼ・マルターゼの活性を測定する。

比活性 ($\mu\text{g糖} / \mu\text{g蛋白} \cdot \text{分}$) 測定結果 (グラフの縦軸)

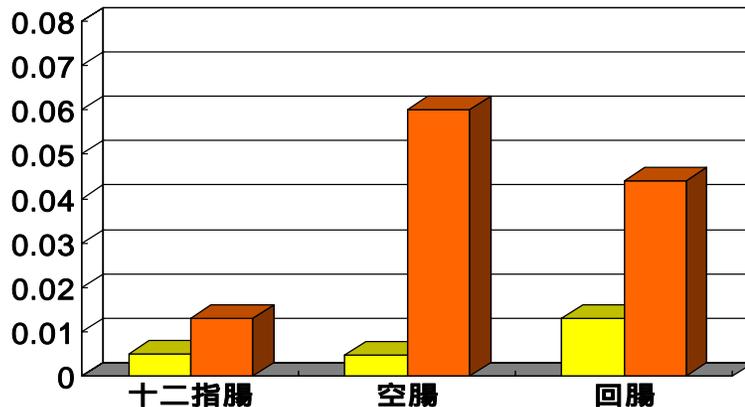
ラクターゼ



スクラーゼ



マルターゼ



結果 & 考察

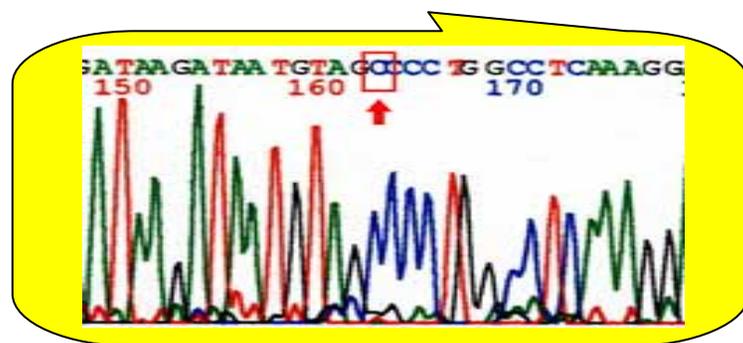
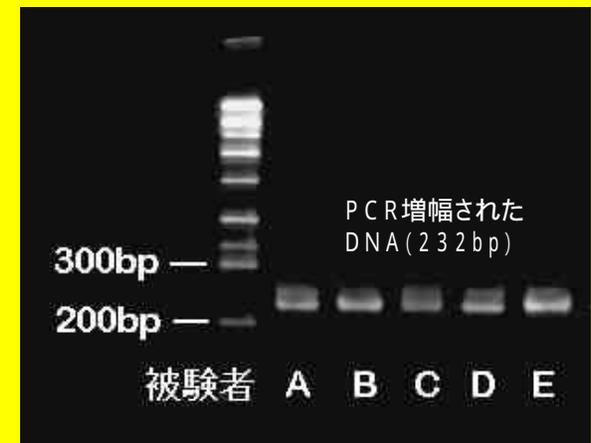
仔マウスの場合、ラクトースは消化しやすいが他の糖は消化しにくい。

成体マウスの場合、ラクトースは消化しにくい、他の糖は消化しやすい。

この結果、仔にはラクトースが適し、成体には適さない事が分かった。

ラクターゼ遺伝子転写調節部のSNP解析

1. サンプル(被験者血液)の採取およびPCRの準備
2. PCR装置によるDNAの増幅
3. PCRによる増幅DNAの確認
4. シーケンスのためのDNA精製
5. シーケンス反応(塩基配列の分析)



結果

被験者全員が「C」であり、「牛乳が飲めない体質」であることが判明！ 「飲める」欧米人は、この塩基が「T」となっている!!

実験を終えて・・・

マウスの解剖や
血糖値の組測定など
はじめてのコトばかりで
頭が痛くなりました。
でも、TAの方の話が
非常に面白く、
良い経験になりました。

山崎美里

実験内容が難しそう
でしたが、聞いたり
読んだりするよりも
実際にやった方が理解
できました。

TAの方の話はため
になりましたし、実験に参加
できてよかったです。

信田理衣

マウスの解剖などの
難しい実験が私たち
高校生にできるか
どうか不安でしたが
TAの方が丁寧に
教えてくれたので大変
有意義な時間が
過ごせました。

柿本朋恵

実際に自分の血液を採取し、DNA
を調べ、牛乳が飲めない体質
だと知りました。自分は飲める
体質だと思っていたので
意外でした。その他にも普段
できないような実験をすることが
できてよかったです。

笹木康陽

最初に実験講座の話聞いたときは、
大学の実験ということもあり難し
そうでした。実際の実験もとても
難しかったです。大学のスタッフ
の方々がサポートしてくださり、
とても貴重な体験ができました。

井上翔太