

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



私たちの体の中には、何種類もの酵素(生体触媒)がある。今回注目するのは、離乳後に減少すると考えられているラクターゼである。さまざまな実験過程から、仔(哺乳期)と成体とのラクターゼ活性の部位、量などを調べた。また、遺伝子レベルからの観点で成体になってから牛乳(乳糖)を飲めるか飲めないかについての実験も、自分の体を使ってDNAの塩基配列を読み取った。

福井県立大野高等学校

3年

金森 琴未

細川 智香

西行 美咲

村上 礼

齋藤 千夏

山本 有紀

窩

糖を摂取した後の血糖値の推移

< 実験の目的 >

- ・マウス(ほ乳類)はどの糖をよく分解するか。
- ・子と成体で分解する量や種類が違うかどうか。

< 実験の方法 >

麻酔をした成体と子のマウスをそれぞれ5匹ずつ準備する。

それぞれにラクトース、スクロース、マルトース、グルコース、ミルク、水を直接胃の中に注入する。

(写真1)

それぞれの糖を投与してから、0分後、30分後、60分後、90分後の血糖値を測定する。(写真2)

< 結果 >

- ・グルコースを投与したマウスは、親も子もどちらも血糖値が増加した。
- ・ミルクを投与したマウスは、親はあまり増加しなかったが子はグルコース程ではないがかなり増加した。
- ・ラクトース、スクロース、マルトース、水はほとんど増加しなかった。

< 考察 >

ラクトースを分解する酵素(ラクターゼ)は子には多く存在するが、成体になると減少している。それに対して、グルコースを分解する酵素の活性が成体になると増加している。子のときにはラクトースをより多く分解し吸収しているが、成体になるとグルコースやスクロースを分解して栄養分としていいると考えられる。



写真1

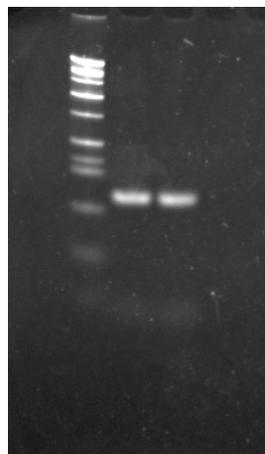


写真2

自分のラクターゼ遺伝子は欧米型か？日本人型か？

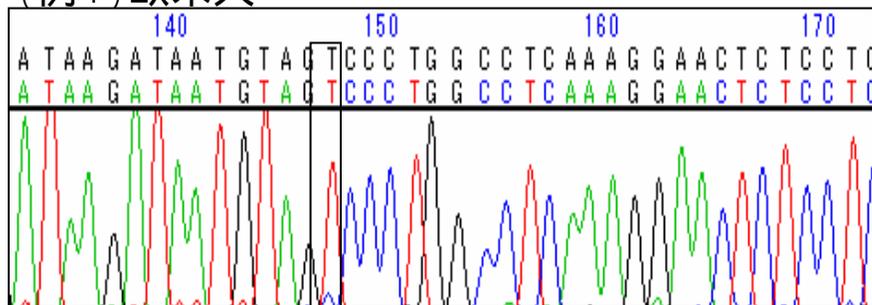
あらかじめ、濾紙に採取しておいた自分の血液(DNA)をPCRで増やし、シーケンス反応によって得られた反応物質をシーケンサーにかけることによって、自分の塩基配列を図表化します。その塩基配列を見ることで、自分のラクターゼ遺伝子が何型なのかを確かめます。

電気泳動によってDNAが増幅されているかを確認する。DNAが-であるという性質を利用し、-電極を上、+電極を下に置く。そして、上からDNA抽出液を流し入れ、寒天のどこで留まるかを観察する。全員のDNAが同じところで留まっていればOK(・ <) b

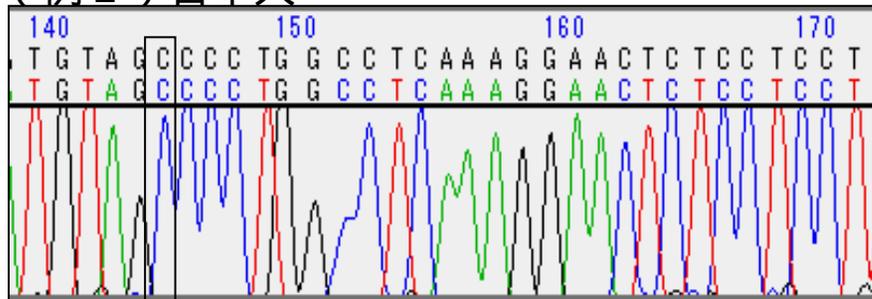


寒天に留まったDNA

(例1) 欧米人



(例2) 日本人



Cが4つ並んでいるところを見ます。

(例1)の欧米人(ラクターゼ遺伝子有り)は4つのCのはじめがTになっています。よってこのタイプの人には牛乳を大量に飲んでも、ラクターゼによって分解されるためお腹の調子が悪くなることはありません。

逆に、(例2)の日本人(ラクターゼ遺伝子無し)は4つすべてがCです。このタイプの人には大量の牛乳を飲むと、分解しきれないので、お腹の調子が悪くなります。



シーケンサー

この機械でDNAの塩基配列を図表化する。中には細いガラスでできた管が通っている。

電子顕微鏡

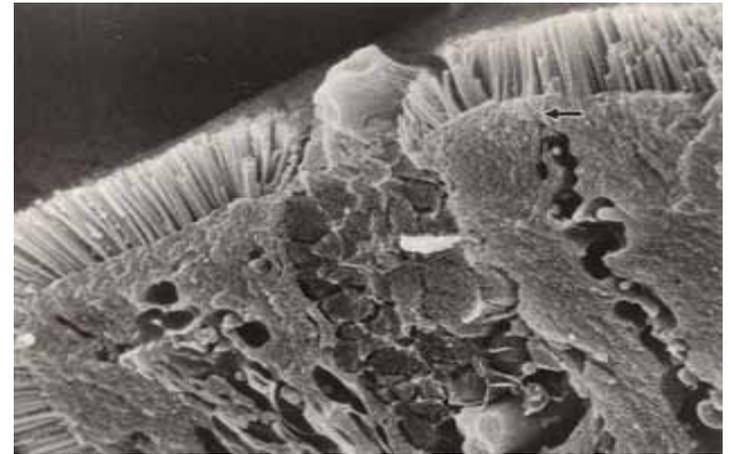


十二指腸表面の絨毛
(走査電子顕微鏡写真)

初めて間近で電子顕微鏡を見ました。電子顕微鏡の分解能は0.2nmと覚えていましたが、大学で見せて頂いたのは、走査型電子顕微鏡(分解能2nm)と透過型顕微鏡(分解能0.2nm)の2つでした。どちらもとても大きくて高価なものでとても驚きました。透過型顕微鏡は試料を非常に薄い切片にしなくてはならず、その技術が難しいと聞きました。電子顕微鏡の像はどちらもモノクロですが、走査型顕微鏡のほうが立体感のある像が得られるそうです。

ヒトの髪の毛のキューティクルの写真や赤血球、ノミの拡大された写真などいろいろな写真を見せてもらいました。ヒトの髪の毛の写真では、痛んだ髪とそうでない髪との差がはっきりと分かり、シャンプーのCMで見るような写真でとても面白かったです。上の写真はマウスの十二指腸の写真です。走査型顕微鏡らしい立体感があると思います。本当にこれだけの絨毛があるのかととても驚きます。

下の写真はマウスの絨毛をさらに拡大した絨毛の断面の写真です。絨毛にはさらに細かい微絨毛と呼ばれる部分が存在していて、絨毛の表面を覆っているそうです。(下の写真の繊維状のもの)私は微絨毛の存在を知らなかったので、とても驚きました。少しでも小腸の表面積を広くして栄養分を取ろうとする。そんなところに私は少し生命の神秘的なものを感じました。自分たちが生きていて目に見えないところででも、確かに存在し活躍し私たちが生きていくのを支えている。電子顕微鏡の写真を見ていろいろ感じることもあり、とても勉強になりました。自分の見たことない世界にとっても感動しました。



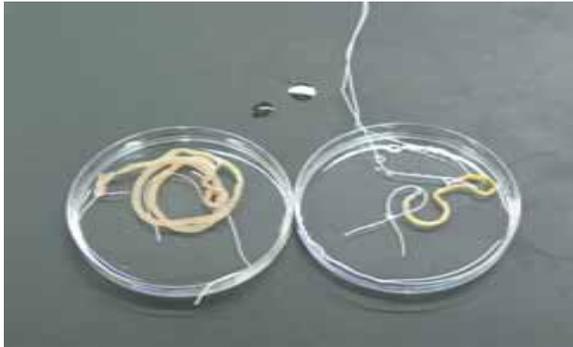
絨毛の断面
(走査電子顕微鏡写真)

成体マウスと仔マウスのラクターゼ活性部位の違い

小腸のX-gal染色(組織化学染色法)

乳児、成体マウスを安楽死させ、解剖して小腸を採取する。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。

()5-ブromo-4-クロロ-3-インドリール-D-ガラクトースという、人工基質。ラクターゼの天然基質はラクトース。



左の写真は、取り出したマウスの小腸。(左:成体・右:仔体)

右は、解剖したマウスの写真。腸に詰まっている便を生理食塩水で押し出した後、染色液注入。

結果



上図は仔マウス、下図は成体マウスの染色結果。緑色に染まっている部分がラクターゼ活性の見られる部分。仔と成体では、よく染まっている部分が明らかに違うことがわかる。

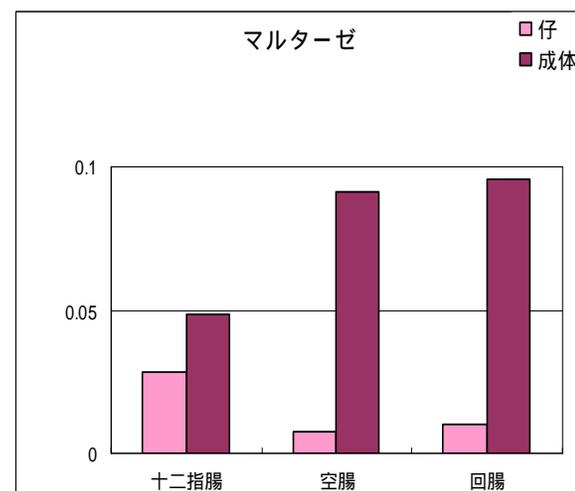
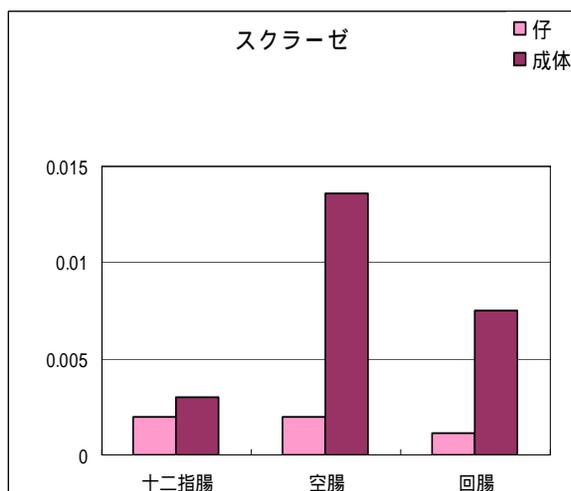
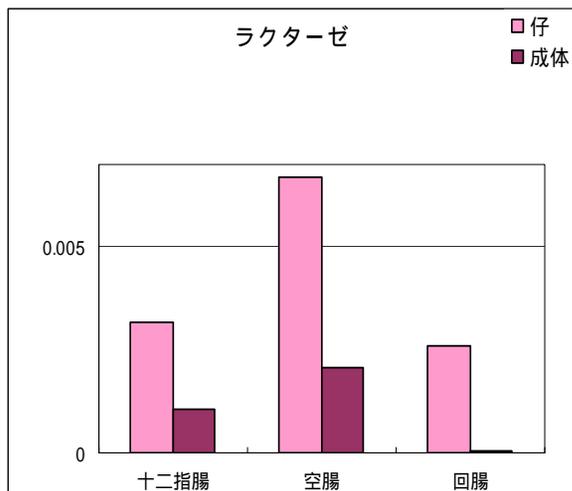
成体マウス 空腸がよく染まっていた = 空腸で活性が高い。(しかし、色が薄いので、酵素の働き自体は低い。)

仔マウス 十二指腸から空腸にかけてよく染まっていた。 = 十二指腸から空腸にかけて活性が高い

《ラクターゼとは》乳糖を分解する生体触媒で、哺乳類の哺乳期に多く見られる。離乳期からその活性は低下し、成体になるとほとんど見られなくなる。

マウス小腸の2糖類分解酵素の活性測定

大野高校はラクトースを分解するラクターゼが、小腸の十二指腸・空腸・回腸のどの部分に多く含まれているか、また、仔と成体では多く含まれる部分は違うのか調べた。グラフの縦軸は酵素の比活性 (ug生成単糖/ug蛋白・分)。

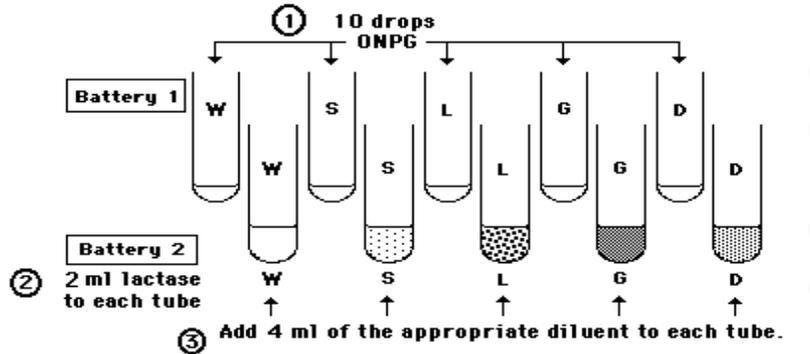


【結果】

小さいころは、乳糖を分解してグルコースを得ているが、成長すると、ラクターゼが減ることによって、乳糖をあまり分解できなくなり、スクラーゼとマルターゼが増え、ショ糖と麦芽糖を分解してグルコースとフルクトースを得るようになる。



ラクターゼ阻害実験



方法

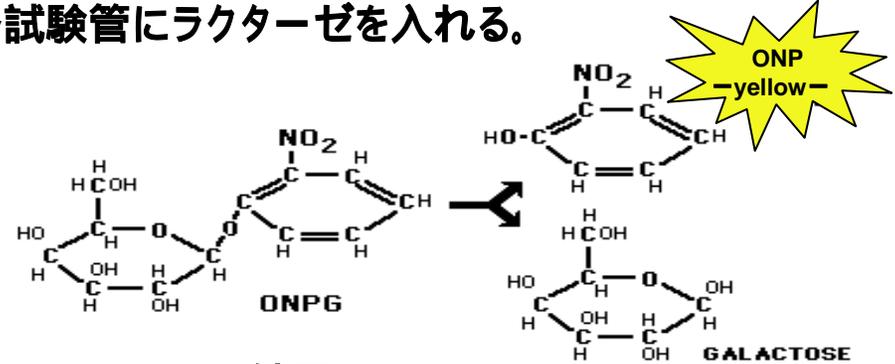
6本の試験管に水・乳糖・麦芽糖・ショ糖・ガラクトース・ブドウ糖を入れる。

各試験管にONPG溶液を入れる。

各試験管にラクターゼを入れる。

ONPG溶液はラクターゼにより分解され黄色の色を呈する。

ラクターゼはガラクトースの部分だけで分解する基質を判断するため乳糖も分解するがONPGも分解する。

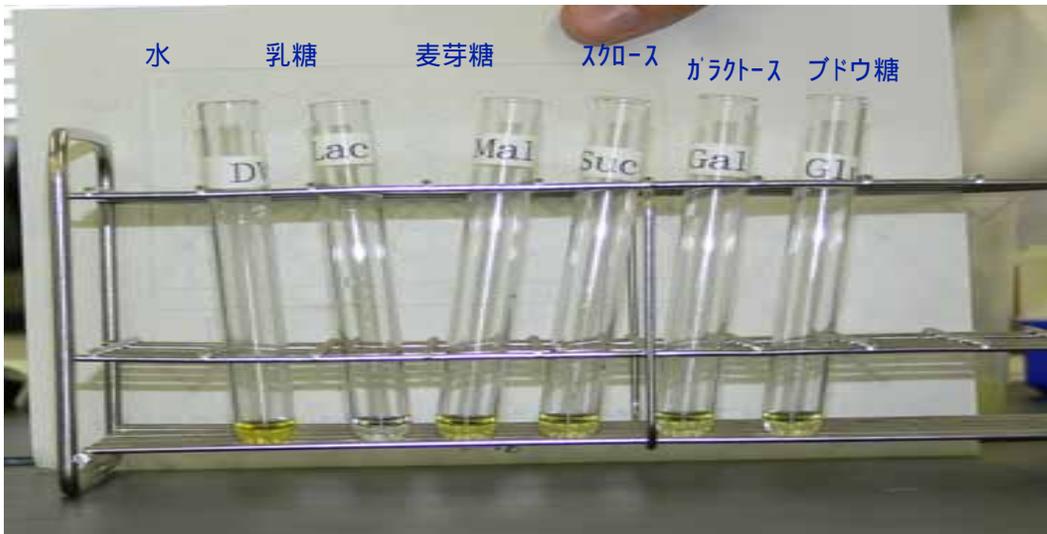


結果

乳糖が黄色の色を呈するまでに**時間がかかった**。他の試験管は短い時間で黄色の色を呈した。

考察

この実験ではONPG:乳糖=1:213で存在する。ラクトースが多いため、酵素はラクトースを分解するのに時間を費やす。よって、ONPGの酵素による分解が阻害されたように見える。これを酵素的阻害という。



感想

・マウスの解剖をしたり、自分のDNAの塩基配列を見たり、今までにしたことのない実験をして、とてもいい経験になりました。大学の職員の方々、学生の皆さん、とても優しく指導して頂き、本当にありがとうございました。理系分野の学問の幅の広さに感動しました。

金森

・一昨年のSPPにも参加しましたが、今年は一昨年とはまた、違った発見がいくつもありました。実験をした結果だけでなく、なぜ大人になってもラクターゼがなくなる人種が現れたのか、という説も知ることができたし、図や表などでとても分かりやすく酵素の仕組みを理解することができました。今回のSPP参加したことで、理科的知識を深め、さらに興味を持てたように思います。

西行

・今回初めてSPPに参加して、普段できないような実験をしたり、自分の塩基配列を見ることができて感動しました。ますます生物に興味を持つことができました。また、このような機会があったら、是非参加したいです。

齋藤

・私は、子がどんどん成長すると、ミルクを分解する酵素がなくなることを始めて知った。しかし、私はどうして酵素がなくなる必要があるのかなと思った。そして、大飢饉が起こったら、もっと牛乳を飲める人は増加するかもしれないなと思った。

細川

・一つの結果から、多くの疑問を発見し、自分で考えることが大切なのだなと思った。今回のSPPでは本当は人類は皆同じものだったのが、外環境に適応するため、おこった突然変異が原因というものであった。生物の遺伝子までも変えてしまう突然変異のしくみを知りたいと思いました。

村上

・マウスの解剖が印象的でした。実際に目で見る内臓は感動的でした。医学とは、犠牲や献体と、発展とが、紙一重になっている学問だと痛感しました。私は今回、そのように医学の発展のために身を献じてくれるすべてのものに感謝したいと思いました。

山本