

SPP2007 (講大—B1010) レポート

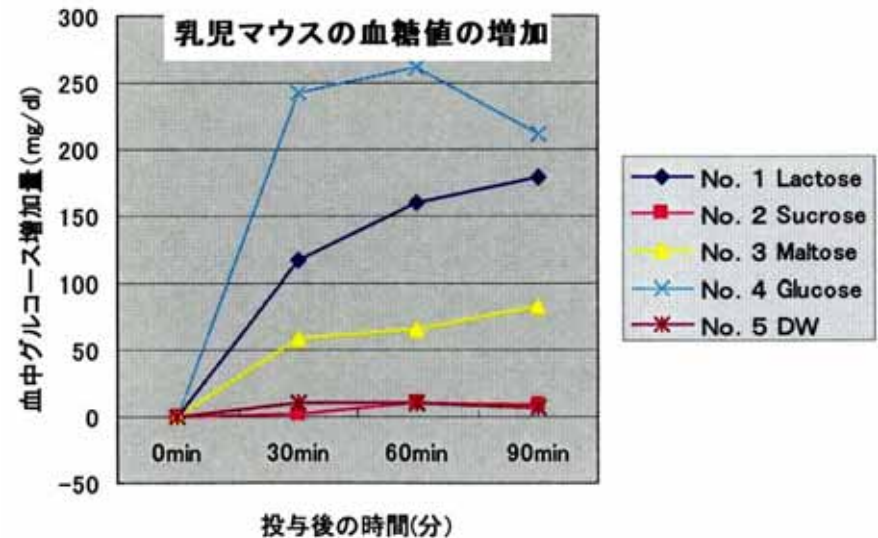
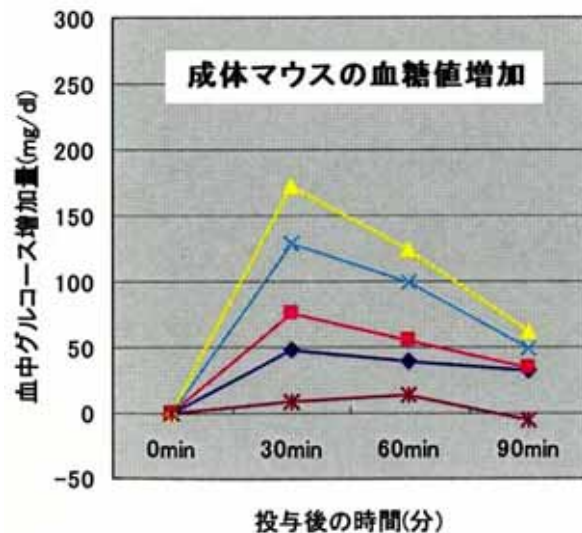
**「子供の頃に牛乳を飲めたのに大人
になると飲めなくなるのはどうしてか」
から生物の分化と進化を考える**

2007年8月 9, 10日

鯖江高校

1. マウスを用いた糖負荷試験

●実験 成体および乳児マウスについて、それぞれラクトース、スクロース、マルトース、グルコースの各水溶液および精製水を経口投与し、血糖値の変化を時間経過とともに測定した。



●結果 乳児マウスでは、ラクトース投与個体の血糖値の増加が著しかったが、成体マウスでは、ラクトース投与による血糖値の増加は、他種の糖と較べて小さい値を示した。

●結論 乳児マウスは、ラクトースをエネルギー源として利用できるが、成体マウスは、利用できない。

2. マウス小腸におけるラクターゼの分布

●実験 成体および乳児マウスについて、それぞれ小腸を摘出し、内部に X-Gal を入れて37℃・2時間反応させて発色変化を観察した。

※ X-Gal はラクターゼ(ラクトース分解酵素)と反応する人工基質で、腸管壁にラクターゼが存在すると反応し、緑色の発色が観察される。



●結果 乳児マウスでは、十二指腸と空腸に強い発色が見られた。
成体マウスでは、空腸で弱い発色が見られた。

●結論 乳児マウスは、ラクトースを消化するための酵素ラクターゼを多く分泌しているが、成体マウスのラクターゼは、乳児マウスに比べて少ない。

3. 小腸各部の組織抽出液に含まれる総タンパク量の測定

●実験 成体および乳児マウスの小腸について、それぞれ十二指腸、空腸および回腸をとり、それぞれの組織のホモジェネートを作製した後、20倍希釈しサンプルとした。このサンプルを、DC Protein Assay Kit (BIO RAD)を用いて処理し、650nmのOD値を測定した。以上のデータと検量線から各サンプルの総タンパク量を計算した。

●結果		抽出原液の 総タンパク量 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
乳 児	十二指腸	5.8
	空腸	15.2
	回腸	10.4
成 体	十二指腸	9.5
	空腸	10.3
	回腸	10.3

このデータは、次の
酵素活性の測定に
必要な基礎データ
である。

4. マウス小腸の2糖類分解酵素の活性測定

●実験 実験3のサンプルを用いて、ラクターゼ、スクラーゼおよびマルターゼの各酵素活性を測定した。各2糖は右のように分解するので、ラクターゼはガラクトースを、スクラーゼはフルクトースを、マルターゼはグルコースをそれぞれ定量することによって分解活性を測定した。酵素活性は、定量した値をもとに、1分間あたり、1 μ gタンパクあたりの分解産物の量として計算した。

★ラクターゼ酵素反応

ラクトース→**ガラクトース**＋グルコース

★スクラーゼ酵素反応

スクロース→**フルクトース**＋グルコー

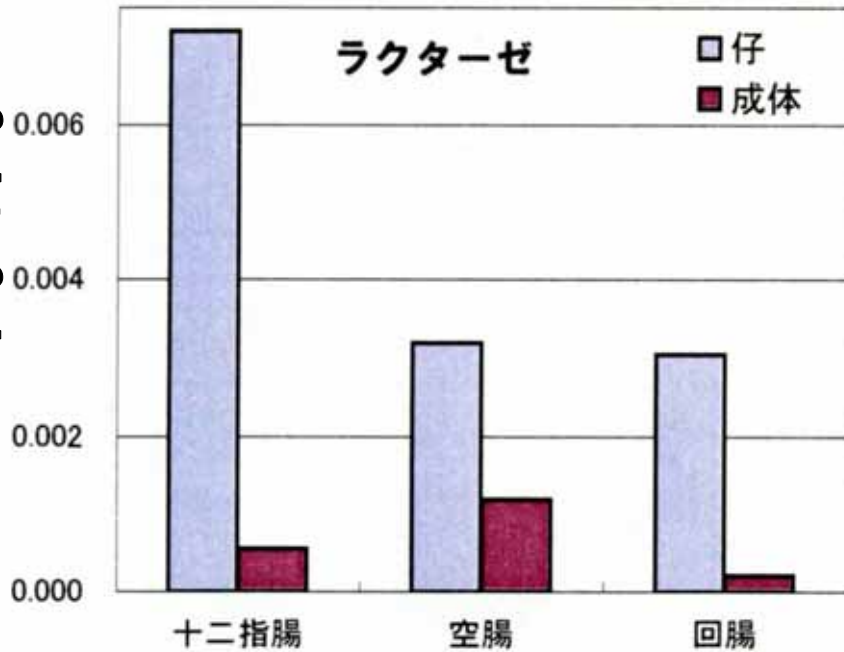
★マルターゼ酵素反応

マルトース→**グルコース**＋**グルコース**

		ラクターゼ	スクラーゼ	マルターゼ
乳児	十二指腸	0.0072	0.00067	0.0050
	空腸	0.0032	0.00055	0.0048
	回腸	0.0031	0.00087	0.013
成体	十二指腸	0.0006	0.0017	0.013
	空腸	0.0012	0.0080	0.060
	回腸	0.0002	0.0064	0.044

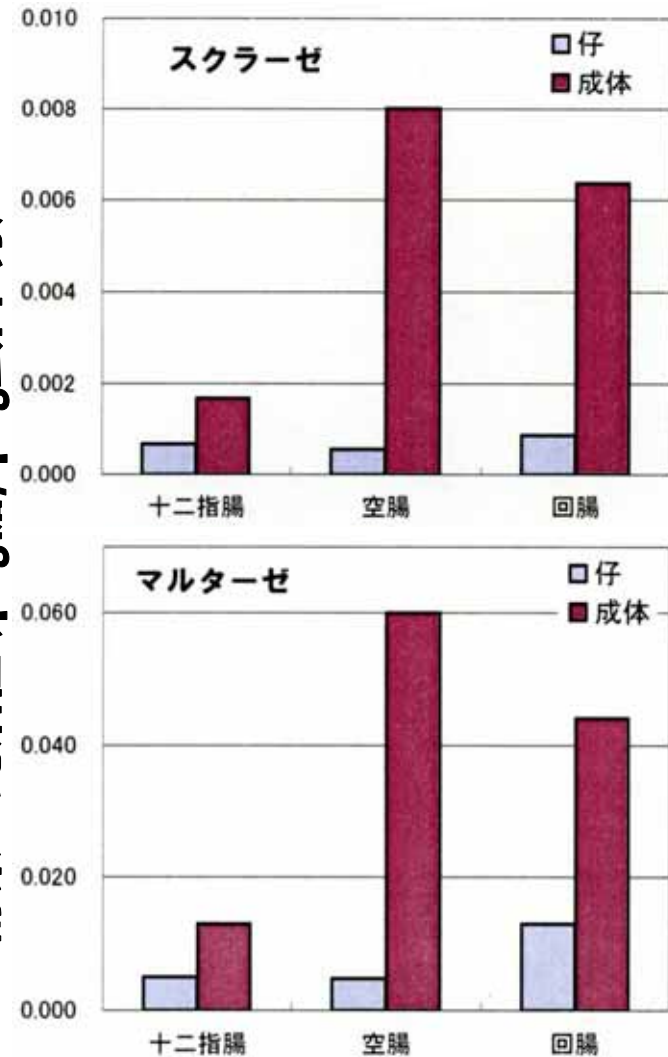
酵素の比活性：
 μ g糖/ μ gタンパク
・分

酵素の比活性 ($\mu\text{g糖}/\mu\text{g蛋白}\cdot\text{分}$)



●結果 ラクターゼ活性は、小腸全体で成体マウスよりも乳児で高い活性が見られた。特に十二指腸において強い活性が見られた。
スクラーゼ活性とマルターゼ活性は、よく似た傾向を示した。ともに小腸全体で乳児マウスよりも成体で高い活性が見られた。特に空腸において強い活性が見られた。

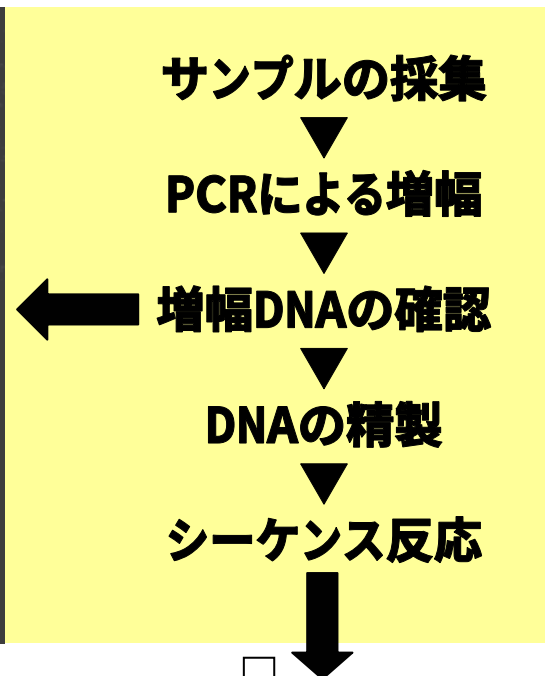
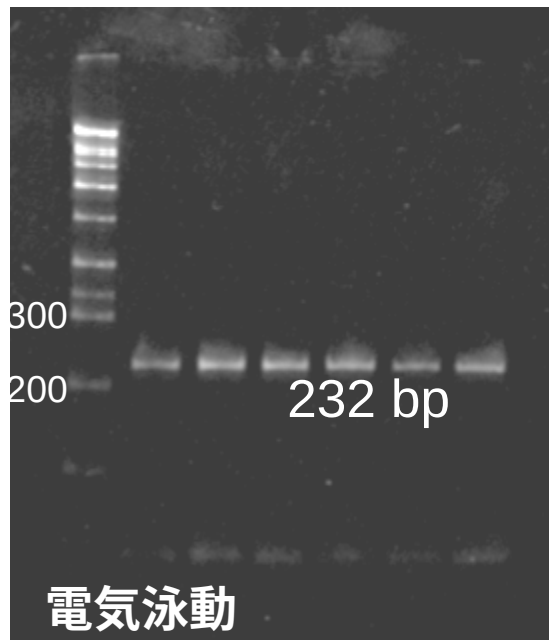
酵素の比活性 ($\mu\text{g糖}/\mu\text{g蛋白}\cdot\text{分}$)



●結論 乳児マウスは、ラクトースを消化吸収しており、成体マウスは、スクロースやマルトースを消化吸収している。

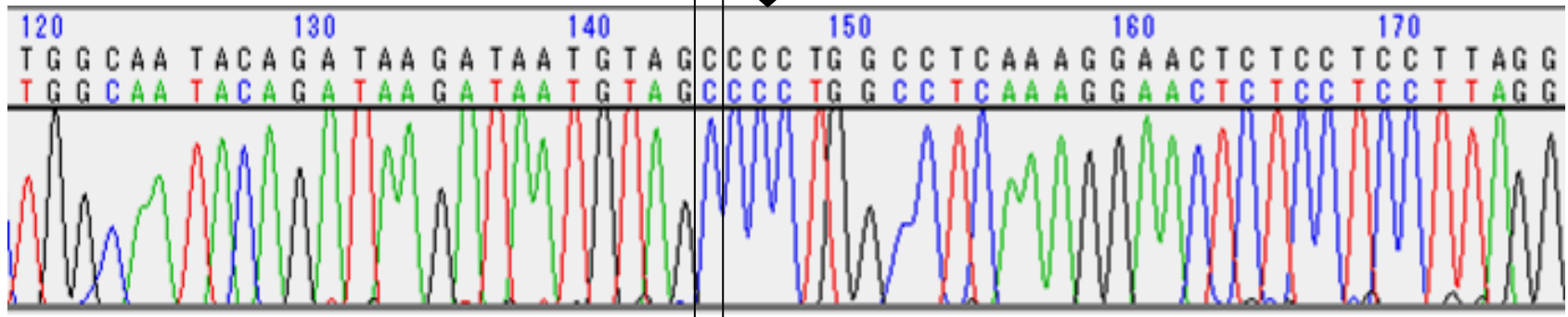
5. ヒトのラクターゼ遺伝子転写調節部のSNP解析

●実験 血液を少量採り、ろ紙に付けて乾燥したものをサンプルとした。ターゲットは、白血球DNAのラクターゼ遺伝子転写調節部 (サイレンサー) である。これをPCRで増幅し、DNAシーケンサーで塩基配列を調べて、一塩基多型 (SNP) 部のタイプを調べた。



●結果 一塩基多型部の塩基配列は、班全員がCであった。

●結論 大人になっても牛乳が飲める人は同部位の塩基がTなので、私たちは日本人に典型的な、飲めなくなるタイプだとわかった。



実験風景



大変勉強になりました。生化学・遺伝子工学への進学意欲が高まりました。

お世話になった先生方、アシスタントの大学生の皆様、ご指導いただきありがとうございました。

