

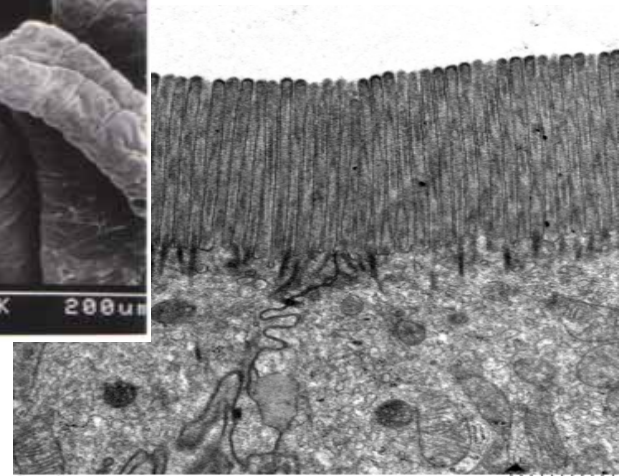
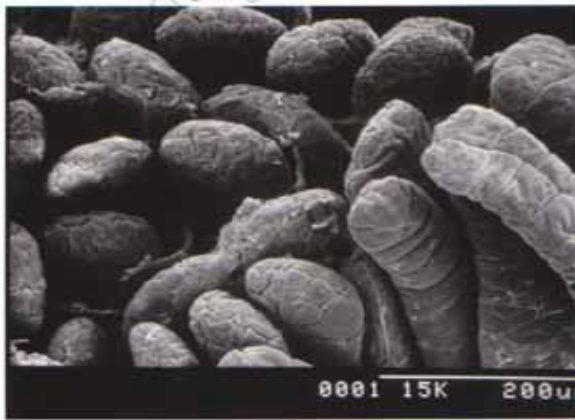
平成19年度 福井大学SPP事業 参加レポート

2007年8月9日(木)・10日(金)

「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

参加者

3年	金具	志寿香
	中島	麻衣
	林	沙織
	加藤	綾
	吉田	久美恵



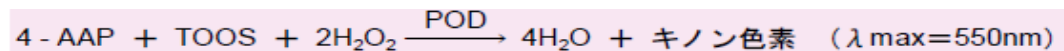
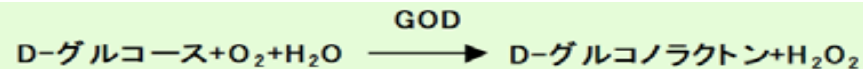
File name: 001.jpg
Image name: 001.jpg
Image number: 1
Image size: 1024 x 1024
Calibration: 1.75 micrometers
Scale: 1.75 micrometers
Date: 2007/08/10
Time: 14:00:00
User: yfujita
Stage: 10000 x 10000
Axis: x-y-z
Axis: x-y-z

福井県立羽水高等学校

課題1) 糖負荷試験

● マウスへの経口投与

胃ゾンデにより、写真のように、マウスに二糖類 (ラクトース、スクロース、マルトース) を直接投与し、尾部からとった血液により、糖の種類毎に血糖値を測定した。糖の測定には右下の写真のようなテルモ社のメディセーフという器具を用いて、酵素比色法により測定した。



4 - AAP : 4 - アミノアンチピリン

TOOS : N - エチル - N - (2 - ヒドロキシ - 3 - スルホプロピル) - m - トルイジン

POD : ペルオキシダーゼ

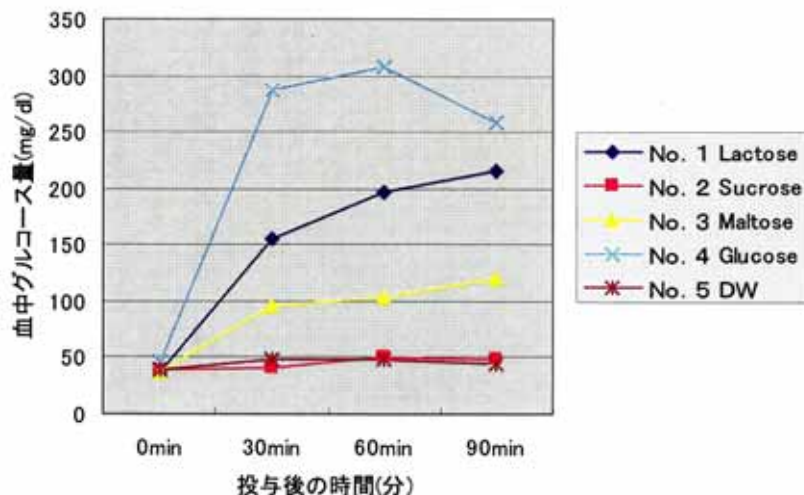


糖負荷試験の結果

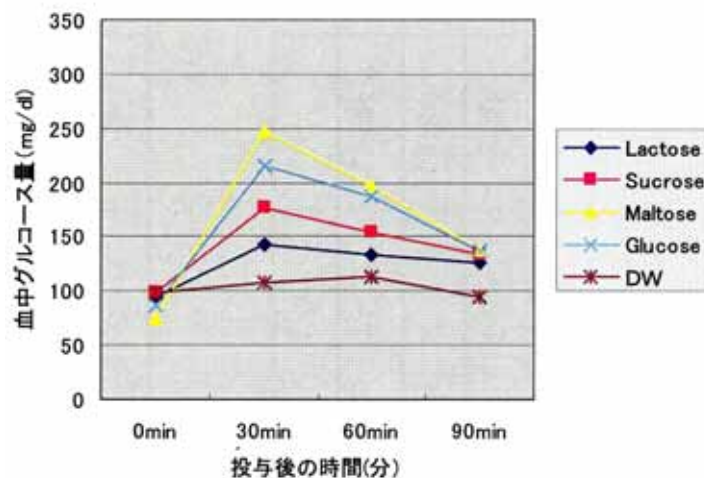
ラクトース、スクロース、マルトース、コントロールとしてグルコースとDW (水) を投与し、30分ごとに血液中の血糖値を測定した結果が下のグラフです。

グラフから、乳児ではラクトースの分解が盛んに行われ、成体ではマルトースやスクロースの分解が盛んに行われることがわかりました。

乳児マウスの血糖値(5校の平均)



成体マウスの血糖値(5校の平均)



課題2) ラクターゼ活性を調べる

方法

- (1) 摘出した腸管の内部を生理食塩水で洗う。
- (2) 腸管の一方を糸で縛り、開放した方からラクターゼの酵素基質を含むpH6.6の反応液を注入し、注入口も糸で縛る。
- (3) プラスチック製のシャーレに乾燥しないように生理食塩水とともに腸管を入れ、2時間程37℃のオーブン中で反応させる。

結果

緑色が濃い部分がラクターゼ活性が高いことを示しているが、乳児のマウスの十二指腸でラクターゼの活性が高く、成体のマウスではラクターゼ活性が低い。

乳児の腸



染色したもの



成体の腸

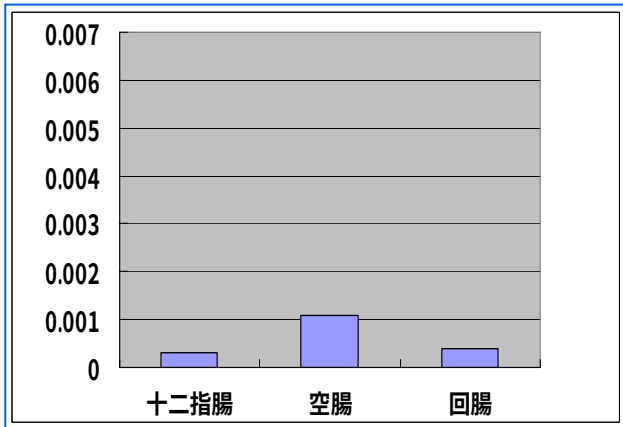
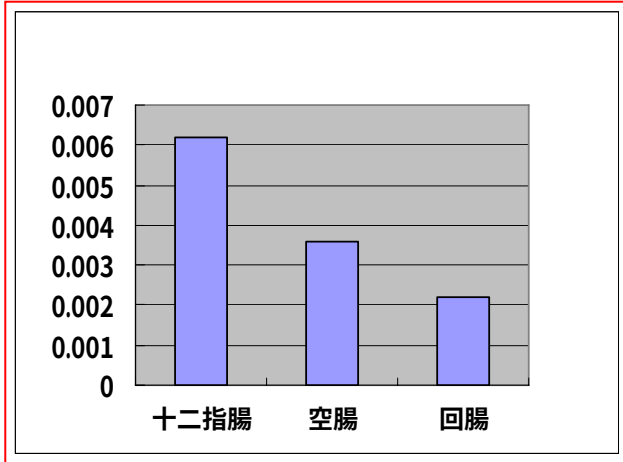


染色したもの



ラクターゼ活性について

ラクターゼの比活性 (μg 生成ガラクトース/ $\text{mg}\cdot\text{分}$)



乳児の場合

全体的に一分間あたりの比活性が高く、特に十二指腸が多い。これによって、ラクトースが良く分解されることが分かった。

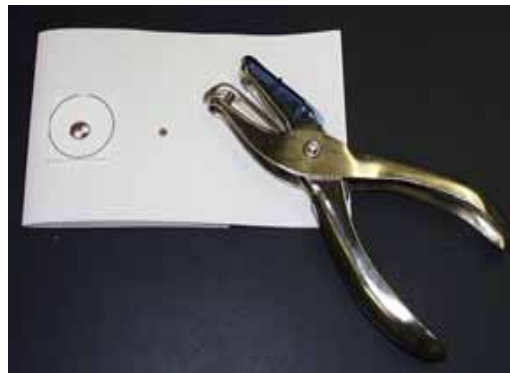
成体の場合

空腸の一分間あたりの比活性が一番高いが、仔の空腸の比活性の3分の1程である。よって成体は、ほとんどラクトースを分解できないことが分かった。

課題3) 染色体DNAにあるSNP解析

ゲノムDNAの取り出し方 (最新のPCR法)

- ◆ きれいにした指先を注射針で軽く突き、血液をろ紙に吸わせる。
- ◆ 血液が乾いたら、パンチングでろ紙を抜きチューブへ入れる。
- ◆ 血球のDNAを鋳型として、PCR (遺伝子増幅) 法で増幅する。

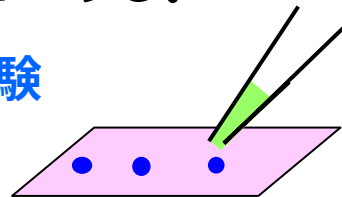


DNAのシーケンスにより、A、G、C、Tの塩基配列がわかり、「牛乳が飲める」「飲めない」の違いが、塩基1個の配列の違いで生じることがわかりました。

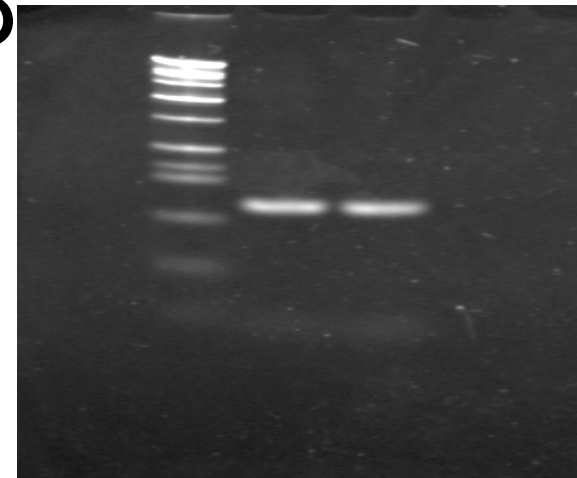
PCR(遺伝子増幅) 法と確認

- ①PCRによる増幅が終了したチューブを遠心機でスピンドウンする。
- ②DNA溶液から2 μl の色素溶液を取りパラフィルム上に置き、1 μl のDNA溶液と混合する。
- ③混合した液を5%アクリルアミドゲルのウェルに注入し、45 mAで10min程電気泳動を行う。
- ④泳動終了後染色し、写真を撮る。
- ⑤サンプルのサイズを分子サイズマーカーのデータをもとに決める。
マーカーより200と300の間にある。

②の実験



④の写真



感想

- 金具** 初めてマウスの解剖をした。最初は戸惑いもあったが、解剖を進めていき動物の臓器を直接見ることができ、今まで創造していた体内を、生々しく感じた。TAの方も優しい方ばかりで、多くのことを教えてもらった。とてもよい体験ができたのでよかった。
- 中島** 今回の実験は、高校で使えない機器を使い、高校ではできない実験を多くすることができたので、とても楽しく有意義でした。大学の授業がさらに楽しみになりました。
- 林** 私は赤ちゃんにラクターゼが多いなんて知りませんでした。マウスの血糖値を調べたり、解剖したりと高校でできないことをたくさんして、とても楽しく酵素のことについて理解できました。TAの方や先生方がいろんなことを教えてください、とても分かりやすかったと思います。
- 加藤** TAの人が質問しやすく、丁寧に教えてくれて実験が楽しかった。初めて解剖して、本物の臓器を見て少し驚いた。高校では使わない実験道具を見、使うことができてよかった。また、大人になると牛乳が飲めなくなる理由がわかってよかった。
- 吉田** 2日間でたくさんの実験をしました。どれも高校では扱わないものばかりで、その内容も難しく最初は戸惑いましたが、徐々に慣れて来て、楽しんで実験ができました。いろいろと勉強になることが多く、とても貴重な2日間でした。