

線虫のストレス耐性に対するキノコ類抽出物の生理作用解析

新井 将人 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 坂本 和一 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

キノコ類は、血圧・血糖低下、抗腫瘍作用など様々な生理作用を持つことが知られている。また、近年では、健康維持や疾病予防のための機能食品として注目を浴びている。一方で、キノコ類の有効機能成分の分析や、生理作用の生化学的または分子生物学的な解析は進みつつあるが、多くはまだ不明のままである。

線虫 (*C.elegans*) は、飼育や遺伝学的解析が容易であり、当研究室では機能食品の一次スクリーニングに用いている。また、転写因子 FoxO は、一般に代謝・老化・寿命・ストレス耐性など様々な生理作用に関与することが知られている。線虫においても、FoxO のホモログとして Daf16 が知られている。

本研究は、キノコ類抽出物 (霊芝、まいたけ) を線虫に与え、DAF-16 の核局在を始め、その生理作用の解析を目的とした。

【材料・方法】

キノコ類抽出物は、霊芝、YM-2A、YM-2G の三つの試料を用いた。

霊芝は粗抽出物であり、YM-2A、YM-2G はまいたけから抽出した α グルカンである。(分岐率: YM-2A < YM-2G)。

いずれの試料も、水に溶かして実験に用いた。

これらキノコ類抽出物と大腸菌 (OP50 株) 培養液を NGM 寒天培地 (Nematode Growth Medium: NGM) 上に塗布し、線虫に与えた。

線虫は、NGM 培地上で 20°C で培養した。実験では主に、野生型 N2 系統を用いた。以下の 2 と 6 では、それぞれ *col-19::gfp*、*daf-16::gfp* 系統を用いた。

1. 体長測定

同調処理 (発生段階を揃える処理) をした線虫を、キノコ類抽出物が塗られた NGM 培地上で 72 時間培養した。その後、線虫を固定し、体長を測定した。

2. 成長速度測定

線虫は *col-19::gfp* 系統を用いた。*col-19* は線虫が成虫に移行する際に発現上昇する遺伝子である。*col-19::gfp* 系統の線虫を 1 と同様に培養し、成虫になる時期 (48~60 時間) に固定し、GFP 発現個体を測定した。

3. 脂肪蓄積量 (Nile red 染色) 測定

同様に、96 時間培養した線虫を、Nile red で染色し、脂肪蓄積量を測定した。

4. 産卵数測定

72 時間培養した線虫を新しい NGM 培地に移し、一定時間培養後、線虫が産んだ卵の数を測定した。

5. 熱ストレス耐性 (運動性) 測定

96 時間培養した線虫に熱ストレス (35°C、4 時間) を与え、0, 12, 24 時間後の全身運動の回数を測定した。

6. DAF-16 核局在測定

線虫は TJ356 株 (*daf-16::gfp*) を用いた。大腸菌 (OP50) のみで 96 時間培養した TJ356 株の線虫に対し、キノコ類抽出物を 24 時間与えた。その後、DAF-16::GFP の核への局在度合いを測定した。

【結果】

1. 線虫の体長は、各キノコ類抽出物により変化しなかった。
2. 成長速度は、霊芝と YM-2G により増加し、YM-2A により減少した。
3. 脂肪蓄積量は、各キノコ類抽出物により減少した。
4. 産卵数は、霊芝により増加し、YM-2A、YM-2G では変化しなかった。
5. 熱ストレス耐性 (運動性) は、各キノコ類抽出物で上昇した。
6. DAF-16 の核局在の割合は、各キノコ類抽出物で増加傾向を示した。

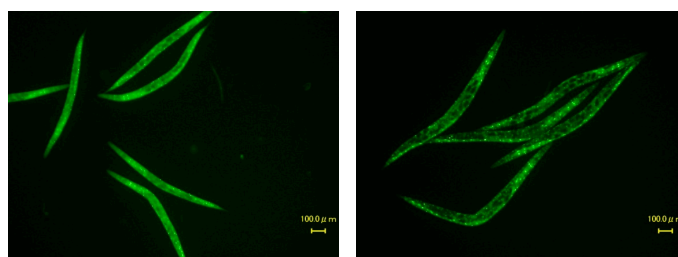


図 1. DAF-16 の核局在。左がコントロール。右が霊芝。

【考察・課題】

以上の結果から、キノコ類抽出物は線虫の DAF-16 を活性化し、熱ストレス耐性を上昇させる可能性が示された。また、キノコ類抽出物は線虫の発生や生殖にも作用を持つ可能性がある。

今後は、遺伝子発現を調べ、キノコ類抽出物の作用メカニズムを明らかにする予定である。また、線虫の老化や寿命に対するキノコ類抽出物の作用についても解析する予定である。