

線虫のストレス耐性に対するウバ茶抽出物の生理機能解析

川木 純平 (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

近年、植物由来の生理活性物質であるファイトケミカルが抗老化や生活習慣病の予防、改善に効果があるとして注目されている。これらの効果があるとされているファイトケミカルの多くは抗酸化作用を持ち、その一部のファイトケミカルが長寿遺伝子を活性化することが知られている。

ウバ茶はスリランカのウバ州の高地で生産されている紅茶であり、生化学的解析により強い抗酸化作用があることが示唆されている。また発酵が進むにつれてウバ茶に含まれるファイトケミカルの構造が変化し、それが生理機能に違いをもたらすことが示唆されている。しかしウバ茶が生体においてどのような生理機能を持つかは明らかではない。本研究では発酵期間が短いヤングウバ茶とウバ茶を線虫に投与し、生理機能の解析を行った。

○材料、方法

・ウバ茶の抽出方法

本研究では水抽出物と DMSO 抽出物を用いた。水中抽出物では茶葉 5 g を 90°C まで温めた 30 ml の dDW にそれぞれ 3 分間、30 分間入れて抽出した。DMSO 抽出物では粉末状の茶葉のエタノール抽出物を DMSO に溶かした。

・モデル生物

本研究において線虫は N2 株を用いた。線虫は大腸菌 OP50 株を播種した NGM 培地上で飼育した。飼育温度は 20°C である。

・同調処理

成虫となった線虫の表皮を次亜塩素酸処理によって破砕し、得られた卵を 18 時間 S-basal で培養し、発生段階のそろった個体を得た。

(1) 熱ストレスからの回復

同調処理によって得た線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、4 日間 20°C で培養した。4 日後、線虫を NGM 培地に移し 35°C で 4 時間培養した。その後 0, 12, 24 時間毎に線虫の thrashing 運動の回数を測定した。この実験は水抽出物および DMSO 抽出物で行った。

(2) 熱ストレス耐性

方法 1

同調処理によって得た線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、4 日間 20°C で培養した。4 日後、線虫を OP プレートに移してから 37°C で 3.5 時間培養し、その後 20°C に戻した。その後 2 日毎に生存している個体を計測した。幼虫の混入を防ぐために FUDr を使用した。この実験は水抽出物のみ行った。

方法 2

同調処理によって得た線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、4 日間 20°C で培養した。その後、線虫を OP プレートに移し 35°C で培養したまま 10 時間後から生存している個体を計測した。この実験は DMSO 抽出物のみ行った。

(3) 酸化ストレス耐性

同調処理によって得た線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、4 日間 20°C で培養した。その後、0.1 M パラコートと OP を播いた培地で線虫を培養し、2 日毎に生存している個体を計測した。また、幼虫の混入を防ぐために FUDr を使用した。この実験は水抽出物のみ行った。

(4) 抗老化

同調処理によって得た線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、4 日間 20°C で培養した。その後 3 日おきに線虫の thrashing 運動の回数を測定した。また幼虫の混入を防ぐために FUDr を使用した。この実験は水抽出物および DMSO 抽出物で行った。

(5) 寿命測定

同調処理によって得た線虫を OP50 を播いた培地で 4 日間 20°C で培養した。その後、線虫を OP50 とウバ茶/ヤングウバ茶の抽出物を添加した培地に移し、2 日毎に生存個体を計測した。また、幼虫の混入を防ぐために FUDr を使用した。この実験は水抽出物のみ行った。

結果

(1) 水抽出物ではウバ茶、ヤングウバ茶ともに熱ストレスからの回復を促進した。一方で DMSO 抽出物ではウバ茶、ヤングウバ茶ともに熱ストレスからの回復を促進したが、ウバ茶ではヤングウバ茶ほどの顕著な回復はみられなかった。

(2) 水抽出物ではウバ茶、ヤングウバ茶ともに熱ストレス耐性が上がった。一方 DMSO 抽出物ではヤングウバ茶のみ熱ストレス耐性を高めた。

(3) 水抽出のウバ茶、ヤングウバ茶による酸化ストレス耐性の変化はみられなかった。

(4) 水抽出物、DMSO 抽出物ともに老化に伴う運動性の低下を抑制した。

(5) 水抽出のウバ茶、ヤングウバ茶による寿命の変化はみられなかった。

考察

水抽出のウバ茶、ヤングウバ茶ともに熱ストレスからの回復や熱ストレス耐性の向上に老化に伴う運動性の低下の抑制に効果があると考えられる。DMSO 抽出物ではヤングウバ茶は熱ストレスからの回復、熱ストレス耐性の向上、老化に伴う運動性の低下に効果があると考えられる。一方でウバ茶は老化に伴う運動性の低下の抑制のみに効果がありそうである。

また水抽出物ではウバ茶、ヤングウバ茶の生理機能の違いはみられないが、一方で DMSO 抽出物ではウバ茶、ヤングウバ茶の生理機能が異なると考えられる。

今後は遺伝子発現を解析し、変異体を用いてシグナル経路を明らかにする予定である。また有効成分の同定も行う予定である。