

線虫を用いた琥珀エタノール抽出物の生理活性機能の解析

高橋 遥 (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】

装飾品として広く用いられている琥珀 (コハク) は元を辿れば古代マツ科の樹液で、樹脂や精油、コハク酸を含有する植物由来の宝石である。宝石として重用される一方で、体の不調を緩和する民間療法としても琥珀は世界各国で古くから利用されてきた。

現在ではマウスや動物細胞を用いた研究から、肌荒れ防止効果やチロシナーゼ活性阻害能、B16 メラノーマ細胞におけるメラニン産生抑制活性やグルタチオン産生促進活性など健康や美容に対する効果が報じられており、琥珀の持つ生理活性機能が着目されつつある。琥珀の生理活性機能を実験的に明らかにし、採掘されたコハクの装飾品以外の産業利用については健康利用に役立てることが本研究の目的である。

本研究では、モデル生物である線虫 *C.elegans* に琥珀エタノール抽出物を投与し、生理活性機能の解析を行った。

【方法】

<モデル生物>

本研究では *C.elegans* var. Bristol (N2 株) を用いた。線虫は大腸菌 OP50 株を播種した NGM (Nematode Growth Medium) プレートで飼育した。飼育温度は 20°C である。

<同調処理/材料>

発生段階を揃えるため、成虫となった線虫を次亜塩素酸処理によって破碎し虫卵のみを回収後、18 時間 S-basal で培養した。琥珀エタノール抽出物を Dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解し、更にこれを OP 飼料と混合し NGM プレートに添加した (琥珀プレート)。その後、幼虫を琥珀プレートで 72~96 時間培養し、これを実験に用いた。

(1) 脂肪蓄積量の測定

96 時間培養した線虫を Nile-Red で染色し、8%エタノールにより麻酔後、蛍光顕微鏡で観察した。

(2) 体長の測定

72 時間培養し、8%エタノールで固定後線虫の体長を測定した。

(3) 熱ストレス耐性 (生存率)

96 時間培養した線虫を 37°C の熱ストレス下で飼育し、2 時間毎に生存個体数を測定した。

(4) 熱ストレス耐性 (運動性)

96 時間培養した線虫を無菌培地に移した後、4 時間 35°C の熱ストレス下で飼育した。4 時間後を 0 時間とし、0, 12, 24 時間おきに線虫の thrashing 運動の回数を測定した。

(5) 抗老化 (運動性)

96 時間培養後、3 日毎に線虫の thrashing 運動の回数を測定した。幼虫の混入を防ぐため、DNA 合成阻害剤である FUdR を用いた。

(6) 寿命測定

96 時間培養後、2 日毎に生存個体数を測定した。幼虫の混入を防ぐため、DNA 合成阻害剤である FUdR を用いた。

【結果】

琥珀エタノール抽出物の投与により、

- (1) 脂肪蓄積量は変化しなかった。
- (2) 体長は短縮する傾向が見られた。
- (3) 37°C の熱処理により、生存個体数は減少した。
- (4) 熱ストレス耐性 (運動の回復率) は上昇する傾向が見られた。

(5)、(6) は現在進行中であり、上記の実験も必要に応じて繰り返し実施中である。

【考察・今後の展望】

体長短縮の理由として成長・発生の遅延が考えられるため、琥珀エタノール抽出物の投与による発生・老化の解析を予定している。また、熱ストレス耐性の実験においては運動性に変化が見られたことから、琥珀エタノール抽出物は運動性の低下を抑制する可能性がある。

今後は生理活性機能の解析を重ね、更に遺伝子発現の解析や変異体を用いた解析などにより作用機構を解明すると同時に、有効成分の同定を行う予定である。