

おカイコさんダイエットをする。P28

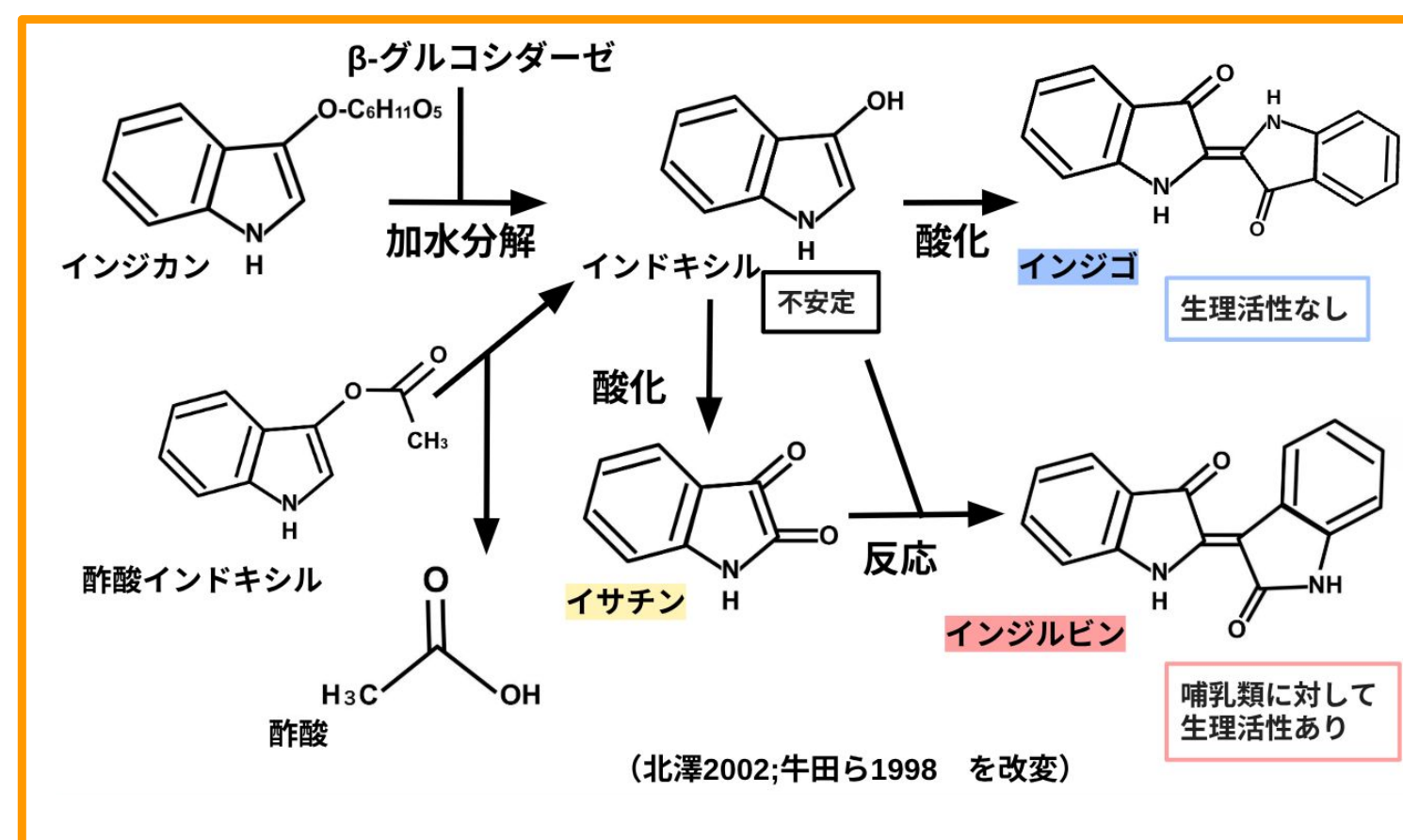
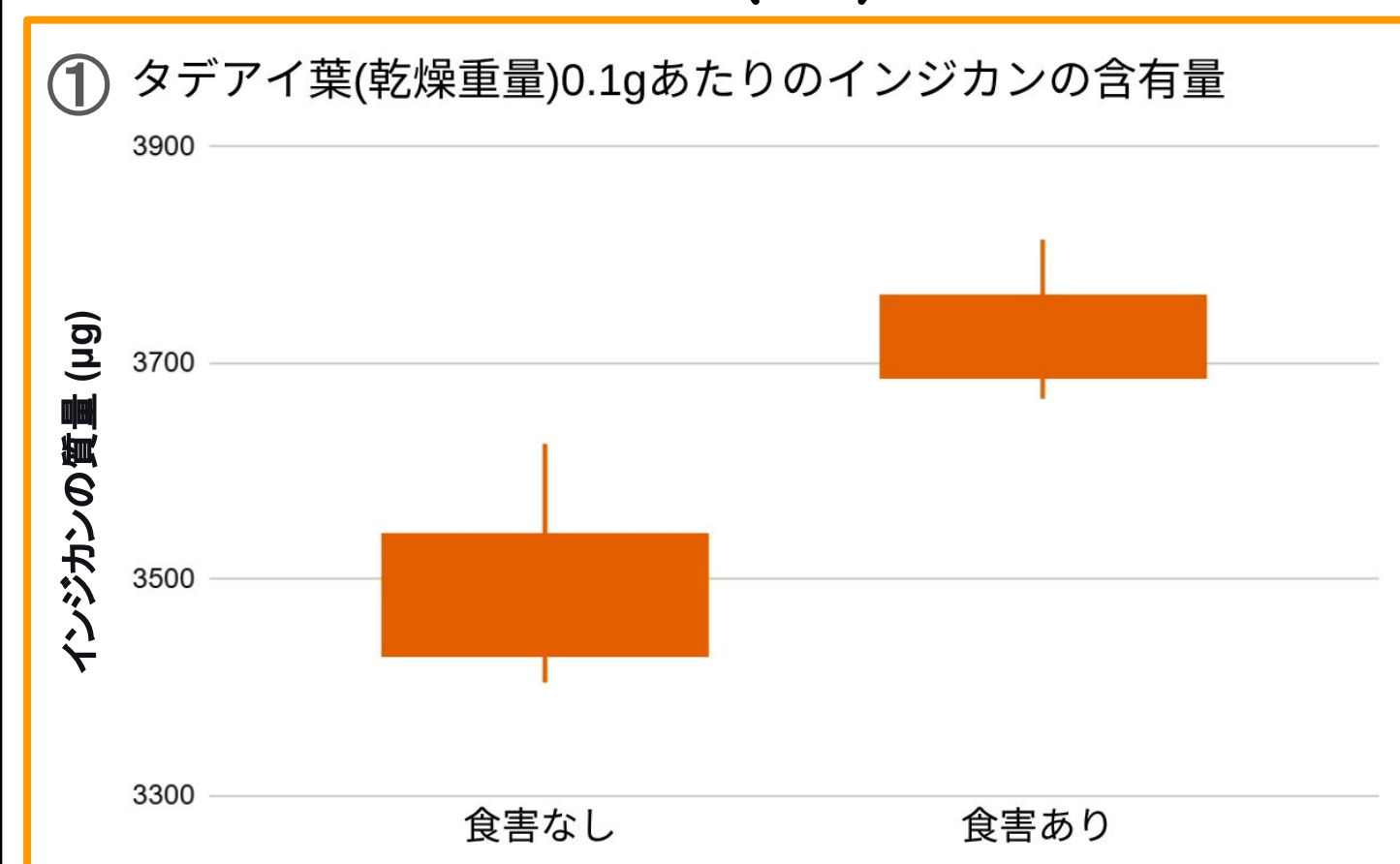
津田学園高等学校 (三年制)

実験背景

タデアイ *Persicaria tinctoria*

本校の先行研究のグラフ①より、タデアイが食害を受けた際にインジカンの含有量が増加していることから、インジカンとは食害応答物質である可能性が示唆されている。では生物に対して、タデアイに含まれる化合物(本研究では、インジカン関連化合物と称する)はどのようにはたらくていくのだろうか。

タデアイはタデ科イヌタデ属の一年生植物であり、古来より藍染めに用いられてきた。これは、タデアイに含まれるインジカンが加水分解・酸化されることによって藍色色素を持つインジゴが生成されることを利用している。一般的に細胞破壊が起きるとインジゴが生成されるが、アルカリ性条件下ではインジゴの赤色異性体であるインジルビンが盛んに生成される(牛田ら, 1998)。また、インジゴ単体は明確な生理活性の有無が報告されていないのに対し、インジルビンは哺乳類に対して抗癌剤作用などの生理活性を顕著に示し、強力な細胞分裂の阻害を示す。(Li *et al.*, 2012)今までタデアイはインジゴが人などの哺乳類に対して有用であることが注目されてきたが、昆虫類に対しては有害にはたらくのではないかと考えられる(②)。



カイコ *Bombyx mori*

タデアイを含む藍植物を食べる昆虫類の数は他の一般的な植物を食べる昆虫類の数より比較的少ないが、鱗翅目の多くは産卵場所として利用している(森林総合研究所本・支所・試験地のチョウ相)。さらに、鱗翅目幼虫の消化液は強アルカリ性であることが知られている(森本ら, 2014)。したがって、鱗翅目幼虫の体内ではタデアイを摂餌した際に、体内でインジルビンが生成されると考えられる。本研究では、インジルビンの昆虫への影響を調べるために鱗翅目幼虫のモデルとしてカイコを使用することとした。カイコは鱗翅目カイコガ科に属するガの一種であり、カイコも同様に消化液はpH11程度の強アルカリ性を示す。(江口・栗山・大門, 1986)

疑問

- ・藍植物は昆虫類にも生理活性を行う...?
- ・インジカンは食害応答物質だと本当に言えるの...?

②

哺乳類

- ・抗癌剤(インジルビン)
- ・藍染め(インジゴ)

人に有用

昆虫類

- ・食害応答物質(インジカン)
- ・細胞分裂阻害(インジルビン)

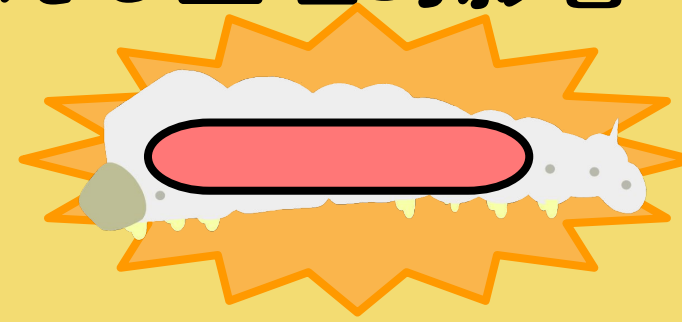
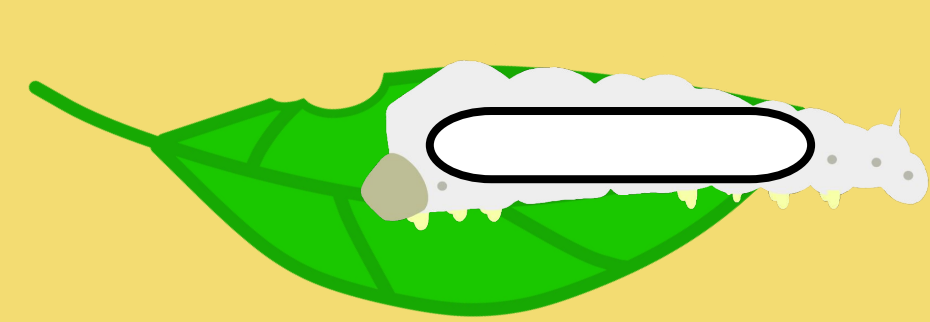
昆虫に対しては有害?

仮説

- 鱗翅目幼虫の体内ではインジルビンが生成される
- インジルビンが成長に対して何かしらの影響を与える

目的

- 食害応答ホルモン、ジャスモン酸によるインジカン量が増加
- インジカン関連化合物の生体内変化および鱗翅目幼虫に与える生理的影響の調査



実験方法

1. ジャスモン酸類縁体による処理とインジカン定量



① ジャスモン酸類縁体散布



② 排気チャンバー内により気象環境の制御



③ インジカン固定と酵素失活



④ インジカン抽出



⑤ インジルビン析出とろ別



⑥ 吸光度測定

2. 飼育方法・解剖



カイコの食痕
(タデアイ葉)



餌作り (飼育②)



解剖と観察

飼育①

- ・クワ葉
- ・人工飼料
- ・タデアイ葉
- ・絶食

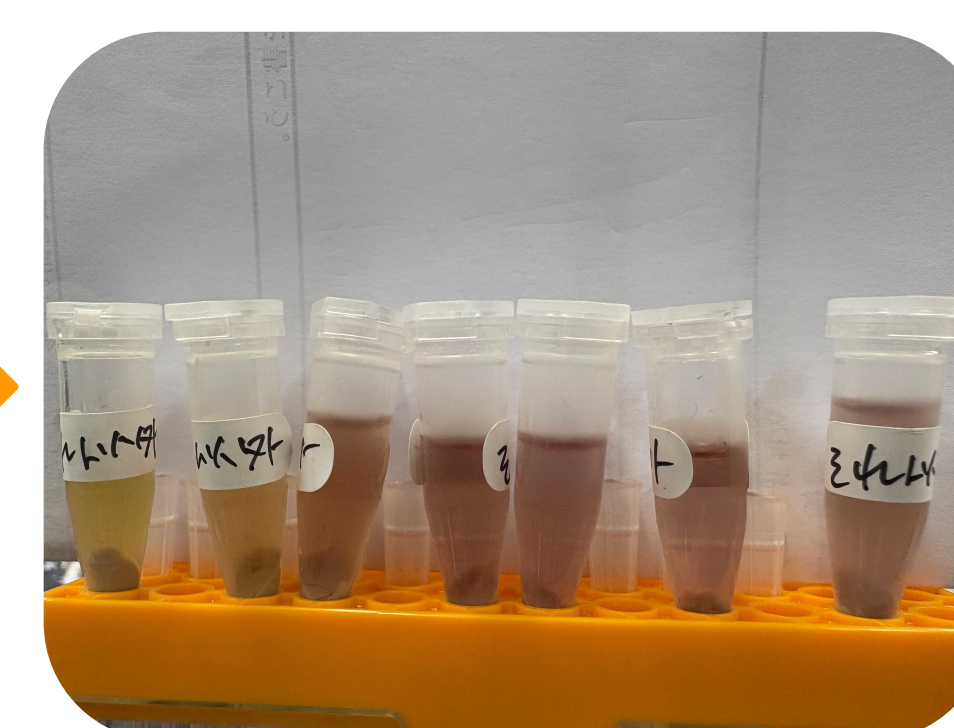
飼育②

- ・人工飼料
- ・人工飼料+インジゴ
- ・人工飼料+インジルビン
- ・人工飼料+酢酸インドキシル

3. 赤色色素の抽出・分離



① 赤色部位を分取



② 赤色色素の抽出



③ 赤色色素の分離
→吸光度測定

4. 糞の抽出方法

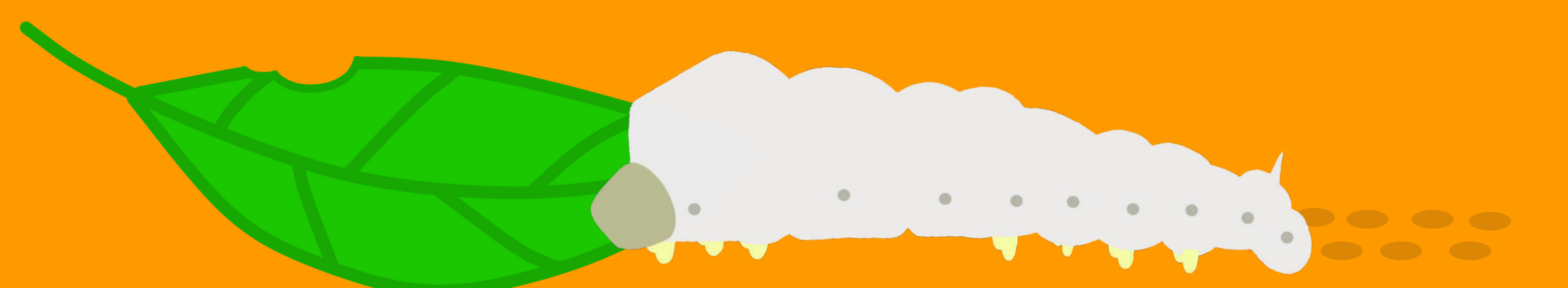


① 糞回収と乾燥



② 温浴抽出
(クロロホルム)

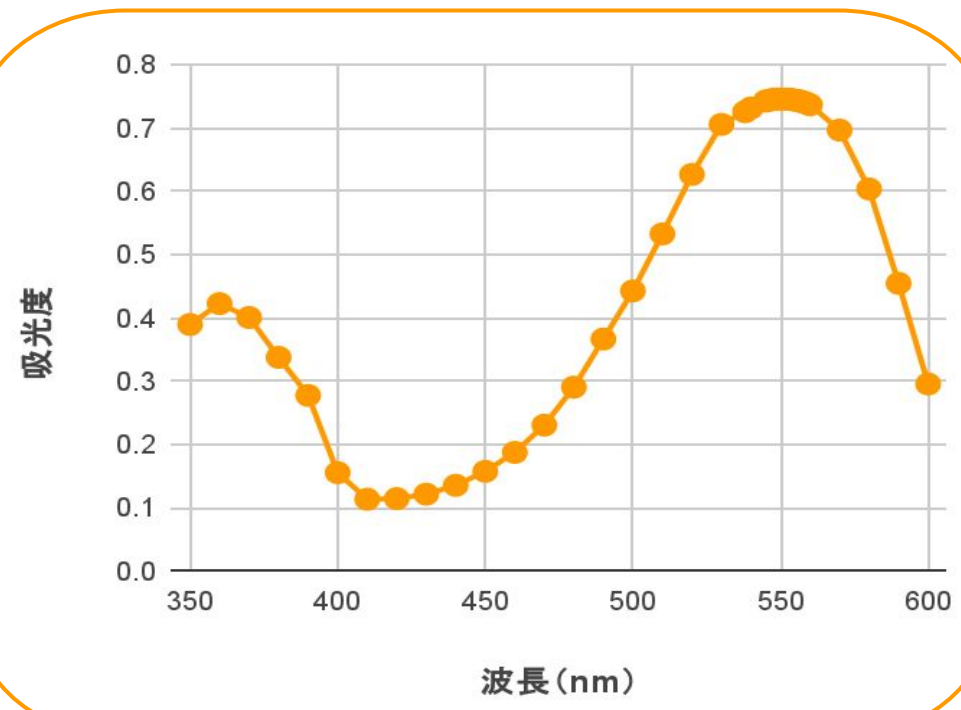
糞抽出液を作成
→各給餌区で比較



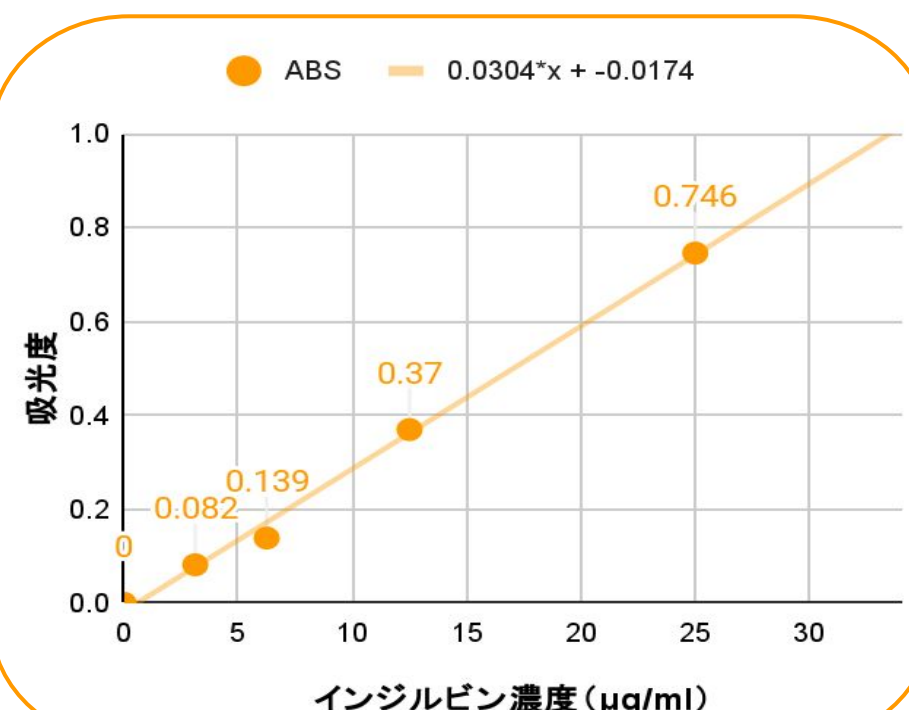
実験結果

1. ジャスモン酸類縁体散布によるインジカン含有量変化

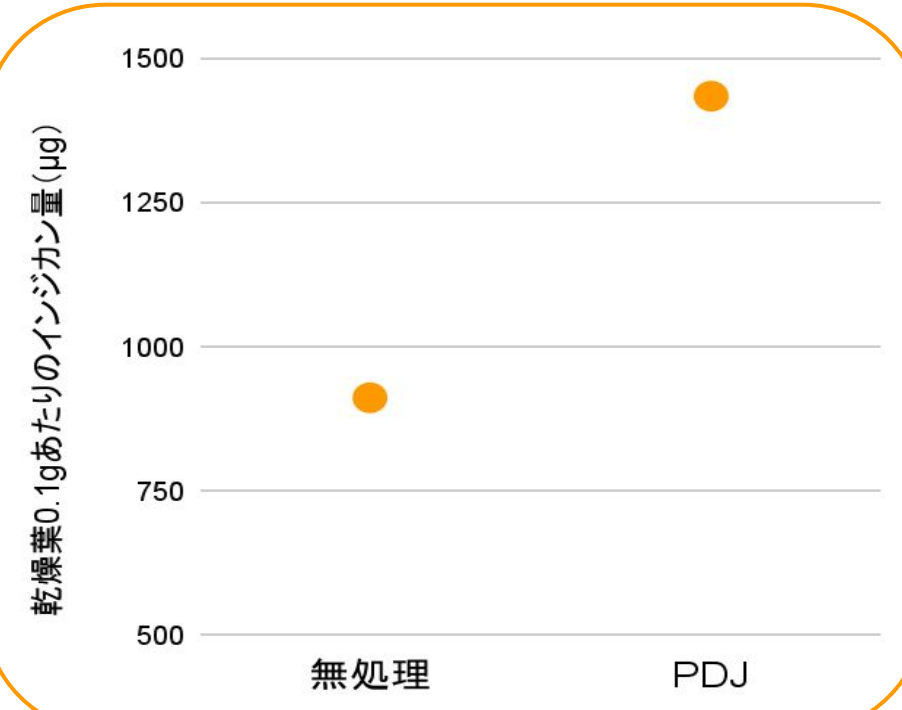
標本となるインジルビン - DMSO溶液の吸収スペクトル



インジルビン-DMSO溶液の550nmにおける検量線

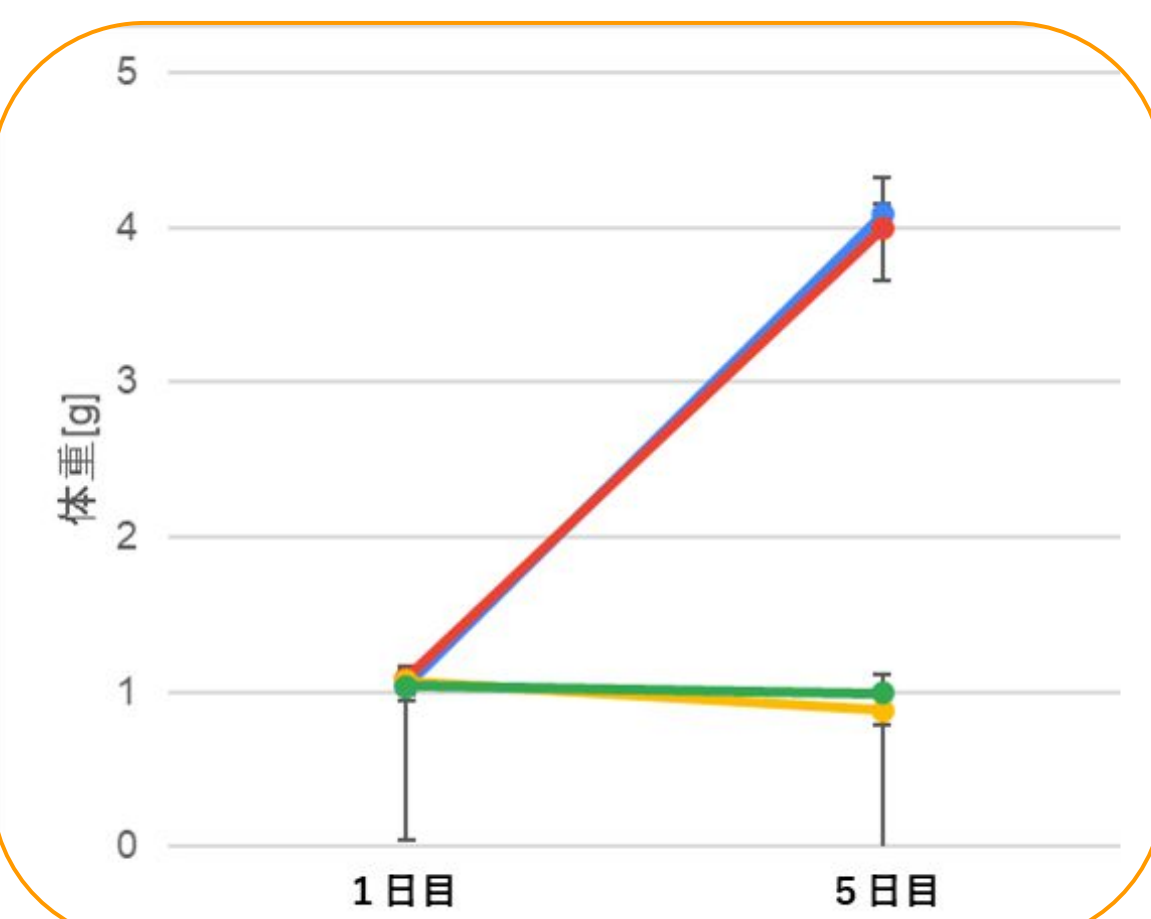


インジカン量の変化

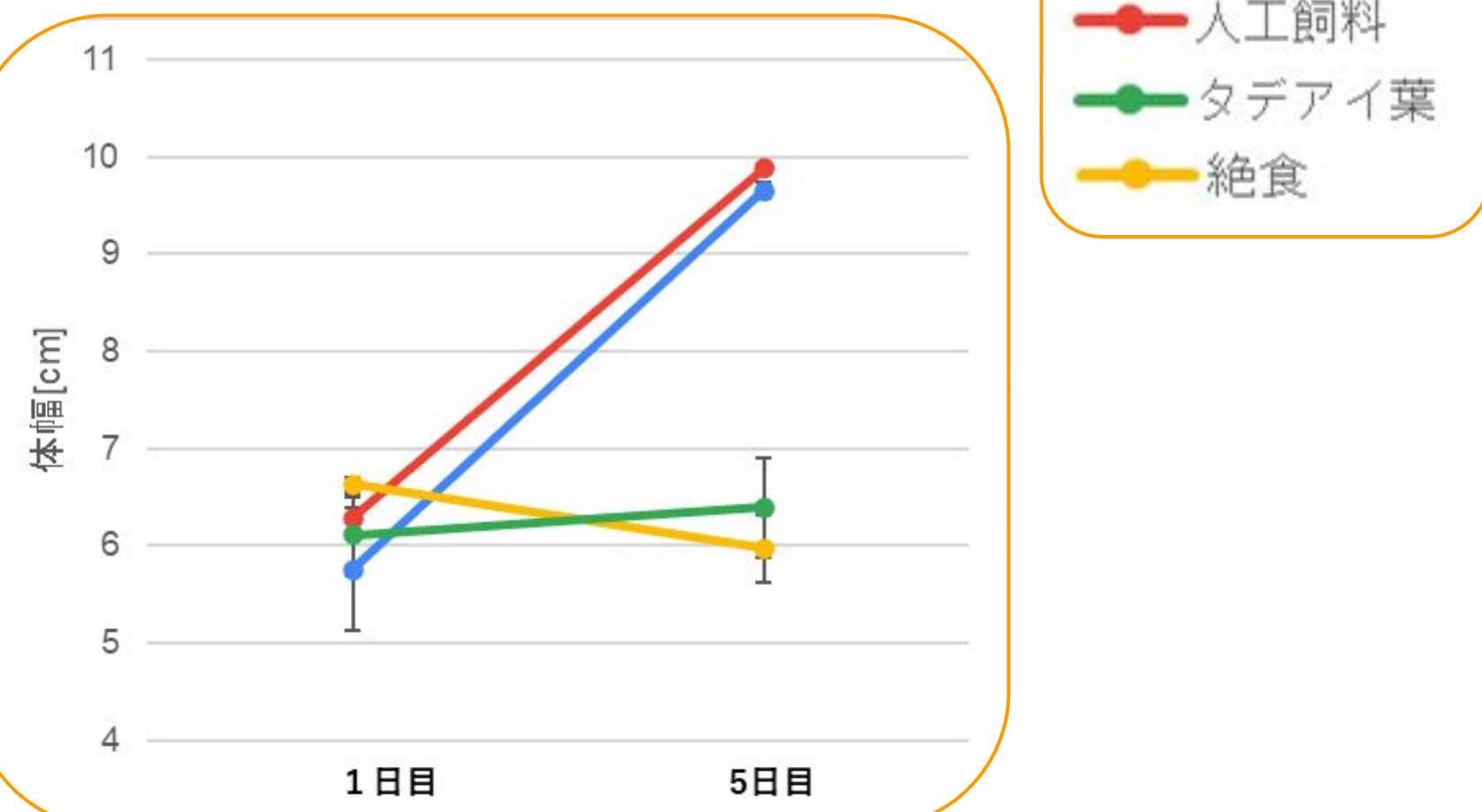


2 - a. 飼育結果（1回目）

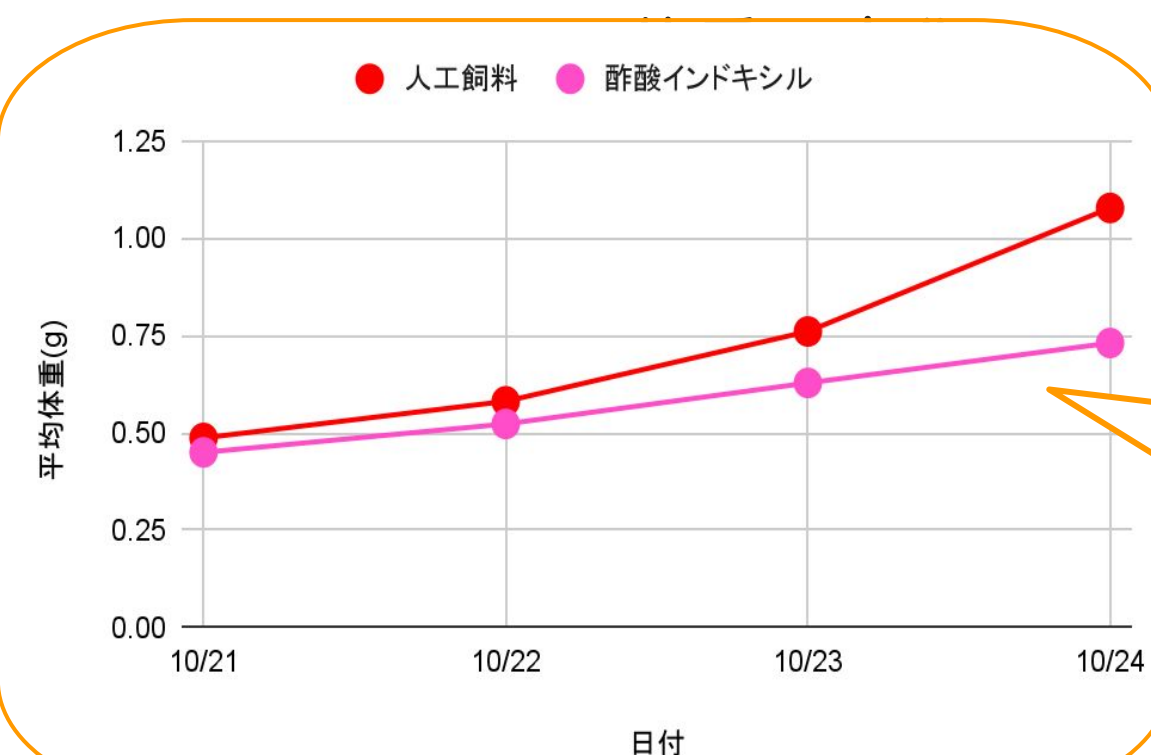
体重の変化



体幅の変化



2 - b. 飼育結果（2回目）



人工飼料給餌区に比べて
体重変化が小さい

2 - c. 解剖結果



タデアイ葉



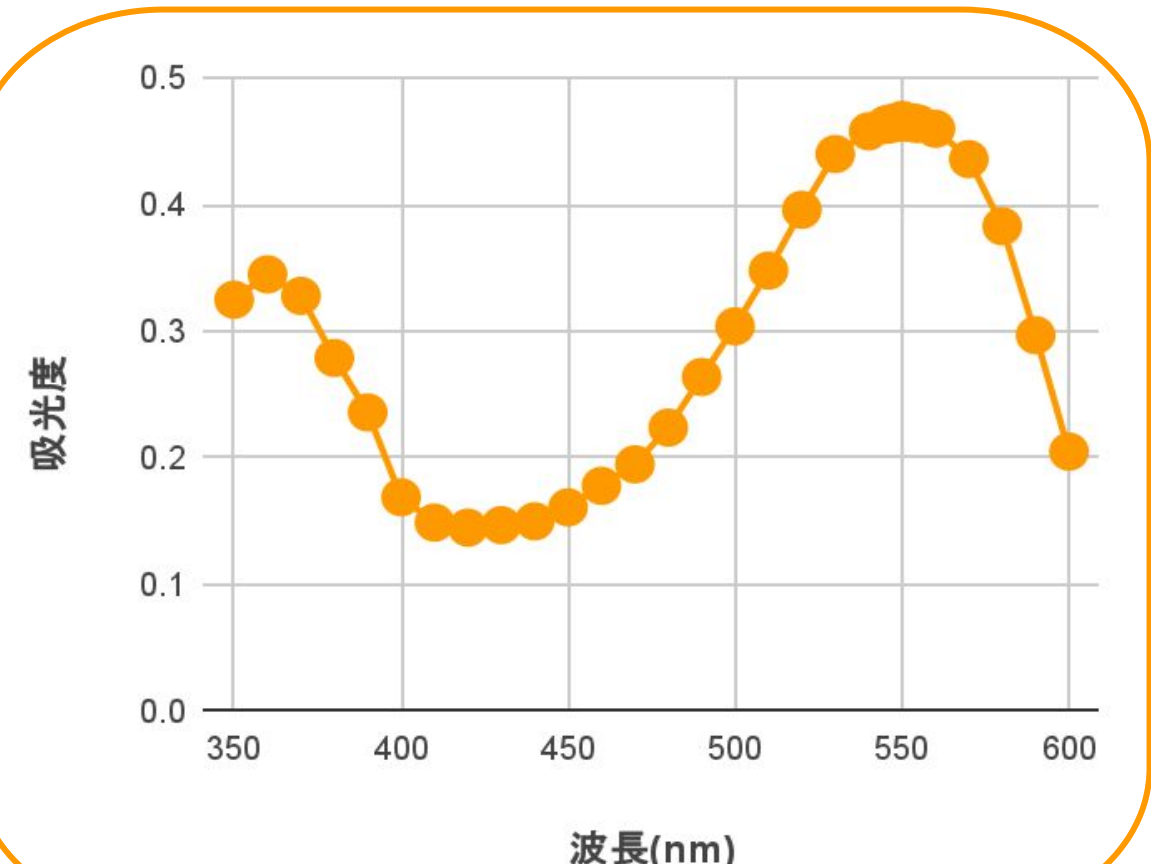
人工飼料



酢酸インドキシル

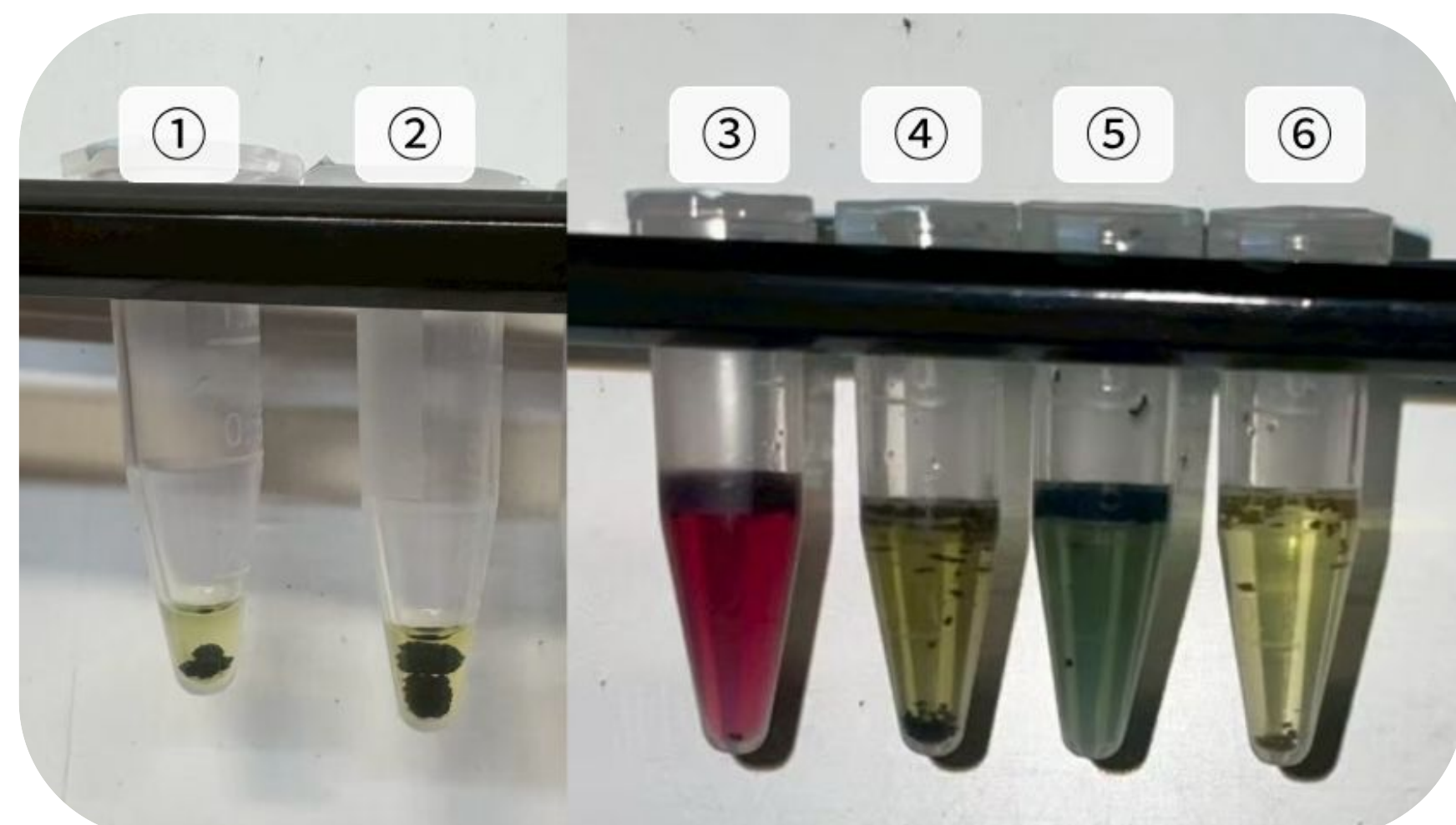
タデアイ葉を摂餌した個体では
脂肪体・絹糸腺・生殖巣
中腸の上流から中流
において赤色を呈した

3. 赤色色素の吸収スペクトル



吸収スペクトルの波形と
 λ_{max} が一致

4. 糞抽出液の比較



- ① タデアイ葉
- ② クワ葉
- ③ インジルビン
- ④ 酢酸インドキシル
- ⑤ インジゴ
- ⑥ 人工飼料

まとめ

	体内色調	糞の色調	増加量(体重)	
クワ葉	黄色	黄色	大きい	A
人工飼料	黄色	黄色	基準	
タデアイ葉	赤色	黄色	小さい	
人工飼料 + インジゴ	結果なし	青色	結果なし	B
人工飼料 + インジルビン	結果なし	赤色	小さい	
人工飼料 + 酢酸インドキシル	赤色	黄色	小さい	C

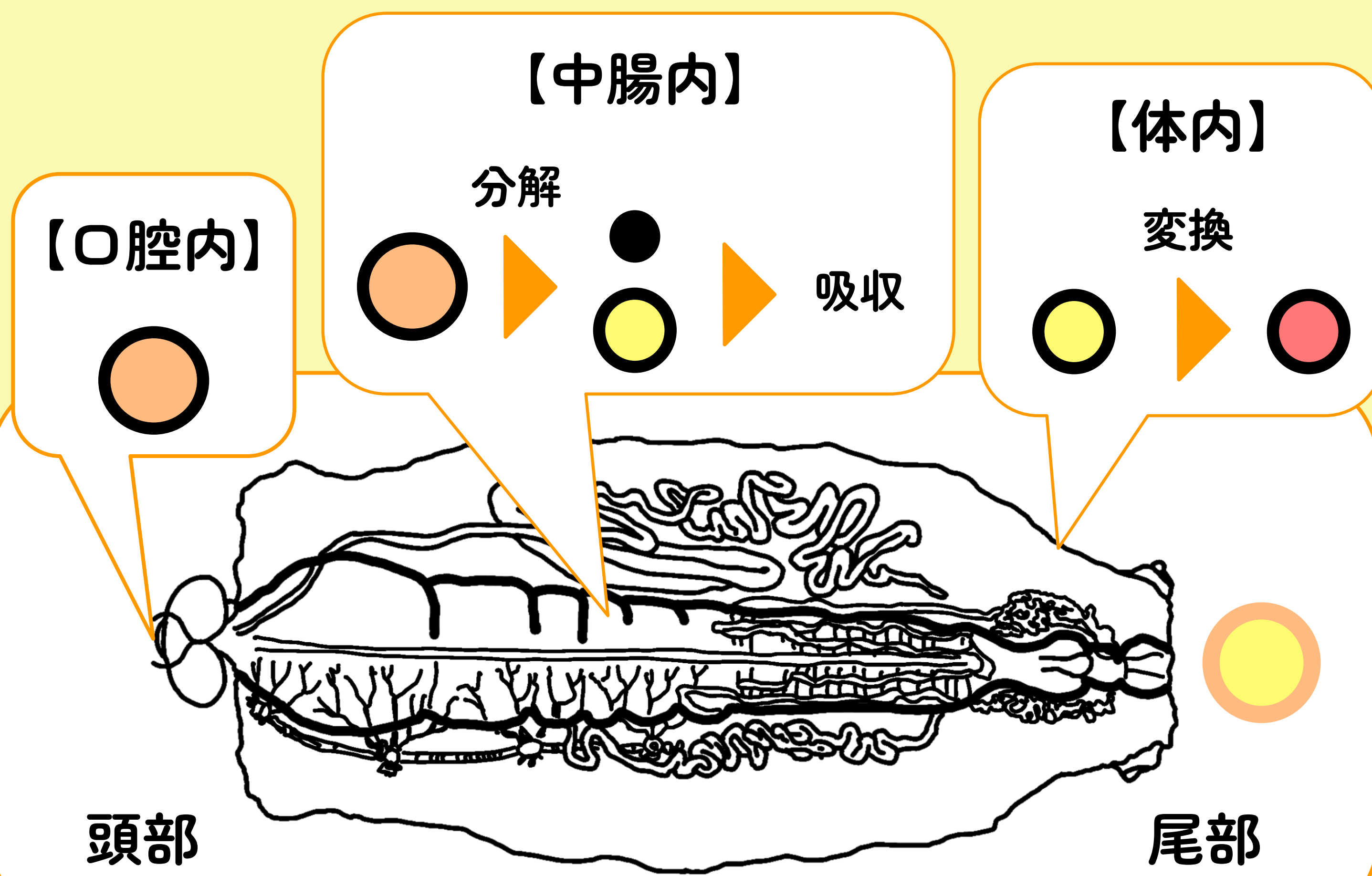
考察

食害応答ホルモン

- ジャスモン酸類縁体を散布したタデアイにおいてインジカンの含有量が増加した。
- ▷ インジカンは食害応答物質であると示唆された。

生体内変化

- 赤色物質とインジルビンの吸収スペクトルの形状と最大吸収波長が一致した。
- ▷ カイコ体内において観察された赤色物質はインジルビンであると考えられた。
- タデアイ給餌区および酢酸インドキシル給餌区の個体からインジルビンが観察された。
- ▷ カイコ体内においてインジカン、酢酸インドキシルが分解された後、インドキシルとして体内に吸収されている。



生理的影響

- 糞抽出液の色調観察において、体内が赤色であった個体の抽出液は黄色を呈していた。
- ▷ 人工飼料に添加したインジルビンは体内に吸収されていなかった一方、酢酸インドキシル由来のインジルビンは体内に吸収された。
- 体内に赤色が観察された給餌区において成長の増加量が小さかった。
- ▷ インジルビンは哺乳類だけでなく、昆虫類においても成長を阻害すると考えた。

今後の展望

- HPLCカラムを用いてカイコ体内における各部位を調べる。
- ▷ インジルビン生成部位の特定を進めていきたいと考えている。
- 全区の給餌量を統一し、正確な体重の増加量を算出する。
- ▷ インジルビンが植食性昆虫に及ぼす影響を解明したいと考えている。