

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K02566

研究課題名（和文）大根等スライスディスクを用いた新しい浸透圧実験法の確立と教材化

研究課題名（英文）A new osmotic experiment method using sliced discs of radishes and other vegetables and its application to teaching materials

研究代表者

藤井 豊 (Fujii, Yutaka)

福井大学・学術研究院医学系部門・客員教授

研究者番号：80211522

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：大根など身近な野菜のスライスディスクを用いて、アクアポリンを介した水の浸透現象を定量的に解析できる実験法を確立した。中学高校にある通常の汎用機器だけで、特別な機器を使わず、短い時間で実施できる浸透圧学習教材を開発した。また、水銀イオンよりも強力な銀イオンによるアクアポリンの阻害効果を発見した。銀イオンと水銀イオンによる阻害は、大根、人参、キュウリなど種ごとに特徴が見られた。さらに、ニホンアマガエルを用いた浸透圧実験法の開発にも成功し、その生理的浸透圧濃度の測定に応用した。本実験法を用いて、医薬品としてのアクアポリンの阻害剤や活性化剤のスクリーニングとしての活用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで理科教育での浸透圧実験ではセロハンなどの人工半透膜を用いて行われてきたが、本教材は理想的な生の細胞膜の機能を用いている点で画期的である。そのゆえ、浸透現象を定量的に解析することが可能となった。実験材料は身近な野菜等を用い、実験機器も特殊な装置を工夫する必要もなく重量計など汎用性のあるものだけで実施できる点でも優れている。従って、実際の教育現場で活用され、理科教育の質の向上に貢献できるものである。また、細胞膜のアクアポリンの機能を利用したものであることから、その阻害剤の評価に応用可能であり、医学や農学における医薬品や農薬等の開発にも貢献できる。

研究成果の概要（英文）：An experimental method has been established to quantitatively analyze the phenomenon of water osmosis through aquaporins using sliced discs of radishes and other vegetables. An osmotic pressure learning material was developed that can be conducted in a short time without using any special equipment, using only the usual equipment available in junior high and high schools. In addition, the inhibitory effect of silver ions on aquaporin, which is more potent than that of mercury ions, was discovered. The inhibition by silver and mercury ions was characteristic of different species such as radish, carrot, and cucumber. Furthermore, an experimental osmotic pressure method was developed using Japanese tree frogs and applied to the measurement of their physiological osmotic pressure concentration. This experimental method is expected to be used as a screening for inhibitors and activators of aquaporin for pharmaceutical purposes.

研究分野：理科教育

キーワード：浸透 教材 アクアポリン 阻害 銀イオン ダイコン ニホンアマガエル 生理的浸透圧濃度

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

水の束一的性質は、物理、化学、生物において共通した学習項目である。高校化学では、凝固点降下、沸点上昇、蒸気圧降下および浸透の全てを扱い、前3者は適当な実験器具・装置があれば再現性の高い実験が可能である。一方、人や生物を扱う医療系、バイオ系、およびアグリ系分野などの人材育成の観点から重要な教育項目である浸透は、使用する半透膜の性能と特性に大きく影響を受けるため、必ずしも教科書通りの結果が出るとは限らない問題がある。また、浸透圧は粒子濃度(オスモル濃度)に依存するがモル濃度の概念と区別が難しいことも束一的性質の理解の妨げとなっている。これらの問題を如何にして解決するかという命題が本研究の背景にある。

### 2. 研究の目的

水の束一的性質「浸透」の格段の理解増進を図るため、以下の ~ の要件を満たす実用的で高い信頼性と汎用性を備えた浸透圧実験法を確立し、授業プログラムを整備して教材化する。また、広くその開発教材の普及を図ることを目的とする。

理想的な半透膜を有する安価で容易に調達できる身近な素材を利用できること。

安価で汎用性の高い実験器具を用い、簡単な操作だけで実験できること。

通常の50分授業の短時間で完結できる実験法であること。

### 3. 研究の方法

#### (1) 実験材料(図1)

植物系：大根など市販の野菜、動物系：ニホンアマガエル

#### (2) 試薬

食塩、砂糖、塩化水銀、硝酸銀、その他重金属塩類および一般試薬類

#### (3) 実験機器(図1)

必須：デジタル重量計(10mg精度)、ストップウォッチ、家庭用スライサー、型抜き、紙コップ、

キッチンペーパー、深めのシャーレ(ニホンアマガエル用)、ティッシュペーパー

あったら便利なもの：ピーラー、包丁、振とう機(手で時々ディスクを入れた紙コップを揺らす程度でもほぼ同等な結果が得られる。)

#### (4) 実験操作

植物・キノコ系：

大根や人参などは、ピーラー等で荒く成形したのち、スライサーで薄切りにする。その後型抜きで直径20~50mmのディスクに加工する。キュウリは、太さの均一な部分をそのままスライスしておく。冬瓜は、可食部分を切り出してディスクに加工する。エリンギは、スライサーでは操作し難いので包丁で輪切りして使う。

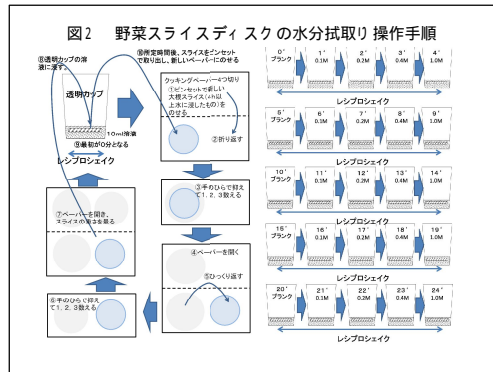
実験目的により、上記加工したスライスディスクをそのまま使用する場合と、あらかじめ所定の水または各種水溶液に順化して使用する場合がある。前者の場合では、細胞外液として水あるいは各種阻害剤を含む低張溶液を使用し、細胞外から細胞内への水の浸透の解析を目的とする。また、低張~高張溶液に晒して植物の生理的浸透圧濃度の解析



図1 実験材料と機器

を目的とする。一方、後者の場合では、主に水にさらして十分に細胞を順化させておいてから、細胞内から細胞外への水の浸透を解析する目的がある。この場合、用いる細胞外液の個別成分の影響を受け難いという利点がある。

そのまま順化したスライスディスクを必要枚数用意し、各種試験水溶液を入れた紙コップを用意したら、実験開始である。はじめに、**①**ディスク1枚を取り出し、**②**表面に残る余分な水分を所定の手順に従いキッチンペーパーで拭き取り(図2)、**③**重量を測定記録したら、**④**紙コップの試験水溶液に浸漬し浸透開始0分とする。**⑤**紙コップを時々揺すりながら所定の時間(例:10分)が来たら、**①**再びディスクを取り出し、**②**キッチンペーパーで余分な水分を拭き取り、**③**重量を測定記録したら、**④**元の紙コップの試験水溶液に戻し浸透開始から10分後のデータとする。**⑤**紙コップを時々揺すりながら所定の時間(例:さらに10分経過したら)が来たら、**①**再びディスクを取り出し、**②**キッチンペーパーで余分な水分を拭き取り、**③**重量を測定記録したら、**④**元の紙コップの試験水溶液に戻し浸透開始から20分後のデータとする。データ処理は、水の浸透による重量変化の割合を求めて解析する。**①**~**④**の操作は30秒ほど1分以内で十分行えるので、10分間隔の間に10サンプルの試験が行えるので実験をそれに合わせて計画する。3~5人で組を作り、それぞれの実験目的に合わせた実験スケジュール表(図3)を作成し、操作**①**~**⑤**をグループの中で分担を決めておくことが重要なポイントとなる。



**図3 作業の分担と実験の様子**

①タイムキーパー  
実験スケジュール表(下記ファイル)通りにサンプルの受け渡しを管理

②スライス拭き取り係  
一定のルーチンで水分を拭き取り重量測定!

③記録係  
記録を取り、ディスクを戻す

④振とう係  
装置がない場合、ときどきカップを振とうする

実験スケジュール表

試験AI	0	01	02	04	1
0	1	2	3	4	5
0		01	02	03	04
1		01	02	03	04
2		01	02	03	04
3		01	02	03	04
4		01	02	03	04
5		01	02	03	04

**動物系：**

ニホンアマガエルは野外で採集する。北海道、本州、四国、九州で見られ低地~高地のどこにでも生息している。奄美沖縄エリアには近縁種のハコウエルアマガエルが生息している。5月~10月までの季節性がある。8月ごろは子ガエルが沢山上陸するが個体が小さいのでなるべく親ガエルを使用する方が良い。捕獲後は実験前5時間ほど絶水すると水の吸収量が増大し安定化する。

動物の場合、大根ディスクのように、水や所定の水溶液で順化することが困難である。そのため、捕獲後、2、3日水分の取れる環境で飼育し、実験に使用する5、6時間前から絶水した乾燥状態に順化する。乾燥ケースに移す際と実験開始直前に、下腹部をグリグリと刺激し膀胱内の尿を排泄させる。アマガエルは、腹部から水分を吸収するため、試験水溶液はシャーレの底に円形に切り出したキッチンペーパーを3、4枚敷いて染み込ませ、その上にアマガエルを鎮座させて動かないように蓋をして行う。あまり窮屈にならないよう深めのシャーレを用いると良い。そのほかの操作は、上記操作**①**~**⑤**に準じて行う。

**4. 研究成果**

(1) 生の大根の細胞膜とアクアポリンの機能による浸透を確認

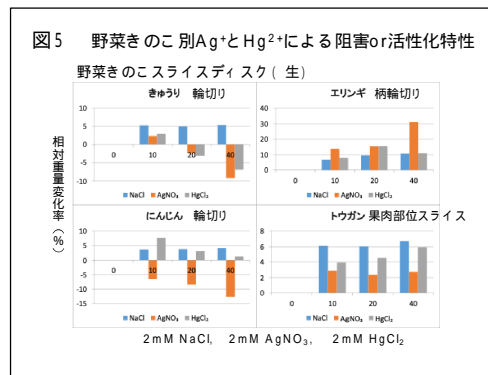
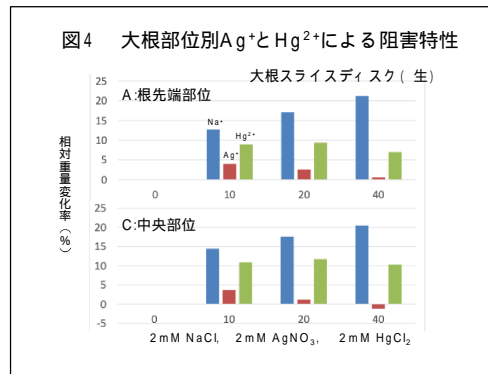
100、1分の熱処理および1% SDS (界面活性剤) 処理で浸透現象が完全に消失した。25～50、10分の熱処理では、50 で浸透現象の完全消失を確認した。浸透現象が細胞膜を介した現象であることを認めた。また、細胞膜にある水チャンネル・アクアポリンの唯一の阻害剤である水銀イオン数 mM でほぼ阻害されることを確認したことから、生理的な機能を維持している細胞膜とアクアポリンを介した浸透現象を観察したものと考えられる。

(2) 大根の生理的浸透圧濃度のレベルで水の束一的性質を確認

酸変性卵囊膜などを用いた従来法では、1 M ほどの高濃度溶液でなければ短時間で実験を終えられないものを、より生理的浸透圧濃度に近い低濃度溶液で速やかな浸透現象を観察した。非電解質・電解質の粒子性濃度 (オスモル濃度) 依存性を確認できた。

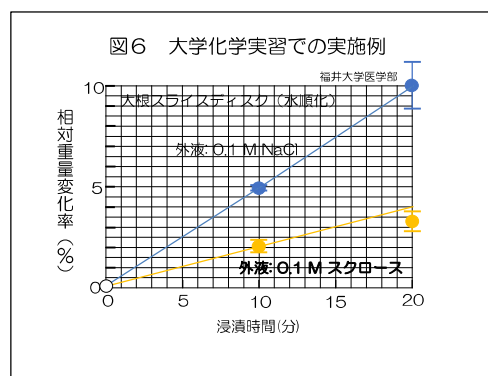
(3) アクアポリンの新しい阻害剤銀イオンによる阻害を確認

マンガンイオン、銅イオン、銀イオンおよびアルミニウムイオンによる大根ディスクの浸透阻害実験から、今まで報告のなかった銀イオンによる阻害が観察された。従来報告されている水銀イオンより強力なアクアポリンの阻害が認められた (図4)。また、大根よりもキュウリおよび人参に対する阻害がより顕著に観察された。一方、冬瓜ではその阻害は弱いものであった。しかし、エリンギでは逆に浸透を活性化するというこれまでに報告のない新しい知見が得られた (図5)。キノコなど真菌類のアクアポリンの特性は植物や動物とは大きく異なることを示唆する結果となった。このことから、アクアポリンをターゲットとした新しい抗真菌薬の開発の可能性を示唆するものとなった。



(4) これまでの教育実施例

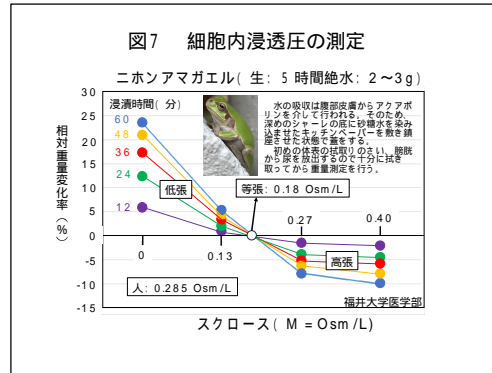
これまで、福井県内の公立・私立高校等で課外授業という形態ではあるが豊富な実施例がある。今後、学会等でその成果を発表し啓蒙する。また、高校のみならず、大学での化学実習の教材としても非常に有効である。福井大学医学部の化学実習で実施した。非電解質と電解質により水の束一的性質の実習に応用できることを証明した (図6)。



(5) ニホンアマガエルの生理的浸透圧濃度の測定と応用

これまで、植物を用いた浸透を解析してきたが、動物由来の細胞膜・アクアポリンによる浸透現象の観察も行った。ニホンアマガエルあるいはその近縁種は日本の大部分の地域に生息しており人里で普通に見られるカエルである。大根ほど汎用性には欠けるが、入手できないわけではないので十分教材としての価値はある。これまで大根などは、採れたてと萎びた状態では細胞内浸透圧濃度が変わることを観察してきた。今回、両性類の生理的浸透圧濃度 0.18 オスモル濃度が哺乳類・人の 0.29 オスモル濃度よりも低いことを実験的に確認できた

ことは非常に有意義である(図7)。漢方薬の五苓散の薬効の一つに利尿作用がある。五苓散中のマンガンイオンに動物アクアポリンの阻害作用が発見されている。今回、大根のアクアポリンの阻害は認められなかったが、ニホンアマガエルのアクアポリンの阻害が観察されるかもしれない。今後の課題としている。



(6) まとめ

生きた野菜やカエルを用いると、アクアポリンによる速い浸透現象のため、短い時間で有意な「水の移動」=「重量変化」が得られる。そのため、1単限での実習授業の立案が容易となる。

正真正銘の半透膜=細胞膜による非電解質・電解質の粒子性や低張・等張・高張など浸透現象を学習するに相応しい教材になる。

野菜を千切りや輪切りにして、水にさらしてパリパリのみずみずしいサラダにしたり、逆に塩や砂糖の入った調味液に漬けて漬物やピクルスにしたりと調理と浸透現象の関わりを学習する家庭科教材にもなる。

植物(細胞・細胞膜)の生きた状態と加熱(or SDS)処理などで死んだ(細胞膜破壊)状態を、浸透現象を利用して学習する教材になる。

医学薬学的には、水分代謝調節薬開発のためのアクアポリンの阻害剤や活性化剤のスクリーニングに応用可能。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 藤井 豊、川内 一憲、川崎 隆徳、山田 雅巳	4. 巻 21
2. 論文標題 細胞膜アクアポリンの機能を活かした浸透圧学習教材の開発	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 第73回日本理科教育学会全国大会発表論文集	6. 最初と最後の頁 406
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井 豊、川内 一憲、川崎 隆徳、山田 雅巳
2. 発表標題 細胞膜アクアポリンの機能を活かした浸透圧学習教材の開発
3. 学会等名 第73回日本理科教育学会全国大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------