

令和元年5月29日現在

機関番号：16301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06936

研究課題名（和文）網羅的遺伝子スクリーニング法を用いた食品因子デルフィニジンの生体調節作用機構解明

研究課題名（英文）Elucidation of molecular mechanism for Delphinidin by using a genetic screen

研究代表者

村田 希（Murata, Motoki）

愛媛大学・学術支援センター・助教

研究者番号：50808110

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：アントシアニジンの1つであるデルフィニジンは多彩な生体調節作用が報告されているが、「なぜ効くのか」という入り口部分の研究が欠落しており、その作用機構は不明な点が多い。本研究では、網羅的遺伝子スクリーニング法を利用することでデルフィニジンの機能性を担う遺伝子を同定することに成功し、デルフィニジンが機能性を発揮する作用機構の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の遂行により、デルフィニジンの生理作用メカニズムを解明することができ、食品の機能性研究において高いインパクトを与えた。また、本研究の手法を活用することで、多様な食品成分の生理作用機構解明に貢献できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, I identified several genes of sensory systems for food factor (delphinidin) to exhibit their functionally by using genetic suppressor element methodology.

研究分野：食品機能学

キーワード：食品因子 フードケミカルバイオロジー 機能性 アントシアニン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々の身体は、様々な生体外シグナルに適切に応答しながら生体の恒常性を維持しており、機能性食品成分も生体内の標的分子に作用することで生体恒常性の維持に影響を与える生体シグナル因子と捉えることができる。これまでに、緑茶カテキンの主成分である Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) の細胞膜上受容体として 67-kDa ラミニンレセプター (67LR) が同定され、EGCG が 67LR を介して様々な生理作用を発揮することが明らかになった (Tachibana H., *et al, Nat Struct Mol Biol.* (2004) 11, 380-381)。さらにその下流のシグナル伝達経路に関しても、網羅的遺伝子スクリーニング法である Genetic Suppressor Elements (GSE) 法を用いることで明らかにしている (Umeda, D., *et al, J Biol Chem.* (2008) 283, 3050-3058)。これに倣えば、機能性食品成分それぞれの感知システムが存在することが考えられる。

### 2. 研究の目的

近年、食品の生体調節機能が注目され、特定保健用食品や機能性表示食品など機能性食品の開発が盛んに行われている。多くの研究は食品の機能性にスポットを当てたものであるため、機能性食品の効果を安全かつ適切に享受するためには、機能性食品成分の作用メカニズムを解明する必要がある。しかしながら、機能性食品成分が作用する標的分子はほとんど明らかにされていない。本研究は、機能性食品成分の1つであるデルフィニジンを生体調節シグナル因子として捉え、デルフィニジンが生体内において作用する標的因子を GSE 法により同定するとともに、生体内における作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

GSE 法は断片化 cDNA (GSE) を細胞に導入し、導入された GSE がその由来遺伝子の機能をアンチセンス RNA 或はドミナントネガティブ変異体として阻害することを期待して、機能を担う遺伝子を網羅的に同定できる遺伝子探索法である。具体的には、レトロウイルスを用いて導入した各遺伝子を細胞内で発現させたのち、デルフィニジンで処理を行う (図 1)。通常、デルフィニジンの作用により表現系に影響が見られるが、GSE の機能阻害によりデルフィニジンの効果が発現しなかった細胞、つまりデルフィニジンの作用を担う分子が GSE の導入により阻害されている細胞を回収する。回収した細胞より得た GSE に対応する由来遺伝子は、デルフィニジンが生理機能を発揮する上で重要な遺伝子 (標的分子) であることが予想される。さらに、RNA 干渉法により標的分子の発現を抑制し、その機能とデルフィニジンの作用に与える影響を検討する。

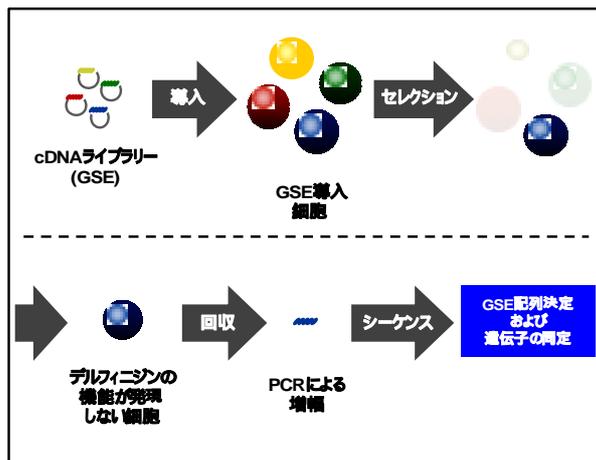


図1 GSE法の概要

### 4. 研究成果

#### (1) デルフィニジンの標的分子を同定

デルフィニジンはアントシアニジンの一種であり、糖や糖鎖と結びついた配糖体の形で花や果実の色素成分として植物中に存在しているが、抗がん作用や抗炎症作用を示す機能性食品成分として注目されている。その作用機構は不明な点が多いため、遺伝子断片ライブラリーを用いた表現型スクリーニングにより、デルフィニジンの機能性発現に関与する標的分子を同定することに成功した。デルフィニジンの生体調節作用を担う分子として同定した遺伝子 X は、これまでに機能に関する報告が全くないことから、アントシアニジンの新たな機能性発現機構の存在を明らかにした。

## (2) 遺伝子 X を介したデルフィニジンの機能性発現機構

筋萎縮を誘導したマウスにデルフィニジンを経口投与した結果、筋萎縮誘導遺伝子 (MuRF1) の発現を抑えることで、筋重量の低下を抑制し、筋萎縮を改善することを見出している (Murata M., et al, *Biosci Biotech Biochem.* (2016) 80, 1636-1640)。そこで、デルフィニジンの筋萎縮抑制作用に対するデルフィニジン標的分子の影響を検討した結果、遺伝子 X 低発現細胞においてデルフィニジンによる MuRF1 の発現抑制作用が消失することを明らかにした。以上の結果より、デルフィニジンは遺伝子 X を介して筋萎縮抑制作用を発揮する可能性が示された。

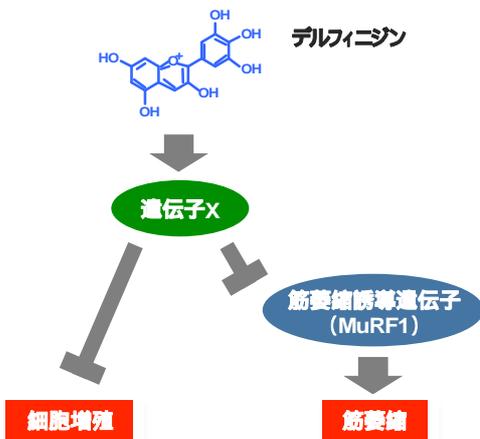


図2 本研究の成果

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

村田希：日本農芸化学会 2019 年度大会, 2019 年 3 月 24 日 (東京都)「マイクロ RNA Let-7b を会したデルフィニジンの抗メラノーマ作用」

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：立花 宏文

ローマ字氏名：Tachibana Hirofumi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。