

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：13801

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21658025

研究課題名（和文）イソチオシアネートによる植物体内レドックス調節機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of redox regulating mechanisms by isothiocyanates in plants

研究代表者

原 正和 (Hara Masakazu)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：10293614

研究成果の概要（和文）：イソチオシアネートは、主にアブラナ科植物が発生する辛味成分であり、植物にとって、抗菌及び動物忌避物質である。しかし、イソチオシアネートが、植物自身へ与える影響については不明であった。本研究では、イソチオシアネートが、植物体内のレドックスバランスを変化させ、熱ショックタンパク質遺伝子の発現を高めて、結果として、植物の高温耐性を高めることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Isothiocyanates, which are pungent compounds generated by mainly Brassicaceae plants, are antimicrobials and animal repellents for plants. However, influences of isothiocyanates to plants have not been elucidated. In this study, we found that isothiocyanates enhanced heat tolerance of plants by altering redox balances in plants and by increasing the expression of heat shock protein genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	0	1,800,000
2010年度	800,000	0	800,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	180,000	3,380,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学・土壌学

キーワード：イソチオシアネート、植物、レドックス、高温耐性

1. 研究開始当初の背景

イソチオシアネートは、主にアブラナ科植物が発生する抗菌及び動物忌避物質である。したがって、イソチオシアネートは、それを発生する植物にとって、生体防御物質であるというのが、現在の定説である。しかし、多くの植物は、抗菌及び動物忌避活性を発揮するのに十分な量のイソチオシアネートを生成できない。また、実験植物シロイヌナズナの変異株を使った研究によれば、遺伝的にイソチオシアネートをほとんど発生できない植

物もまた、病原菌に対して耐性を有する。つまり、イソチオシアネートイコール生体防御物質という既成概念は、再検討を要するといえる。しかし、これまで、誰も、この“再検討”に着手する研究者はいなかった。

最近、イソチオシアネートは、ヒトの発がんを抑制する食物因子であることが分かってきた。疫学及び分子医学の研究によれば、ブロッコリー、キャベツ、ワサビ、ダイコンなど、アブラナ科植物が発生するイソチオシアネートには、ヒトの体内で酸化還元（レド

ックス) バランスを調節し、がん原性物質を解毒する酵素を活性化させる作用がある。そこで、私は、イソチオシアネートは、植物にとってもまた、自身の健康を守る物質なのではないかと着想した。

2. 研究の目的

植物へ投与したイソチオシアネートが、植物のレドックスバランスを変化させ、結果として、植物のストレス耐性獲得につながることを証明する。

3. 研究の方法

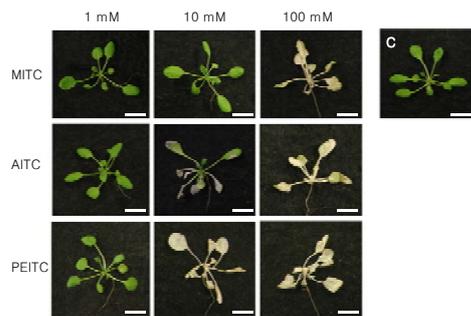
植物材料には、多くの場合、モデル植物のシロイヌナズナを用いたが、一部の試験には、ホウレンソウ、アルファルファ、タバコを使った。

イソチオシアネートには、フェネチルイソチオシアネート、アリルイソチオシアネート、メチルイソチオシアネートの3種類を用いた。これらは、超音波によって水に懸濁して一定量噴霧した。

各種遺伝子の発現、レドックス関連物質の定量は、規定の方法で行った。植物の熱処理は、温度コントローラーがついたオープンで行った。

4. 研究成果

シロイヌナズナに、3種類の異なるイソチオシアネート（フェネチルイソチオシアネート、アリルイソチオシアネート、メチルイソチオシアネート）をそれぞれ様々な濃度で処理した。すると、高濃度（10～100 mM）で処理したシロイヌナズナは、多量の活性酸素を発生し、葉緑素を失い、数日以内に枯死した。低

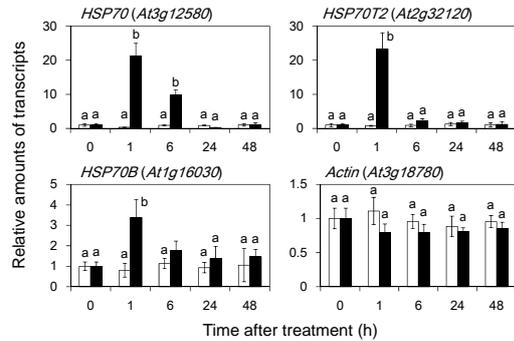


イソチオシアネートを高濃度（10～100 mM）に与えた植物は枯死する

濃度（1 mM）の処理では、枯死には至らぬものの、植物体内で、解毒酵素（グルタチオンS 転移酵素）遺伝子の発現が高まった。この時、生物組織のレドックスバランスを整える物質（グルタチオン）の含量が、1時間以内に一過的に減少した。しかし、興味深いことに、その後数時間以内にグルタチオン含量は回復し、最終的には、イソチオシアネートを与える前のグルタチオン濃度より、高い値となった。一般に、ストレスに強い植物では、

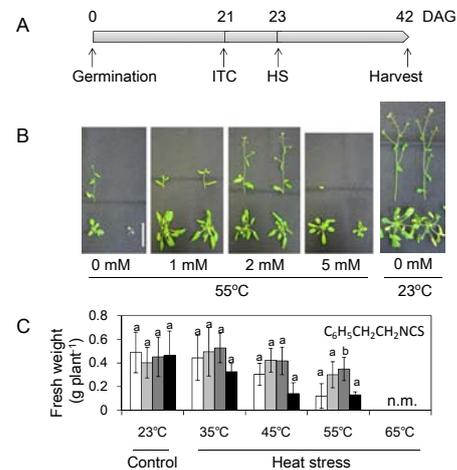
グルタチオン含量が高い傾向にある。つまり、低濃度のイソチオシアネートを浴びた植物は、その後、ストレス耐性を獲得する可能性が示唆された。

さらに、低濃度のイソチオシアネートを与えたシロイヌナズナにおける遺伝子の発現を網羅的に調査すべく、マイクロレイ解析を行った。処理後1時間から2日後まで、継続的に解析したところ、イソチオシアネートの処理によって、ヒートショックタンパク質



フェネチルイソチオシアネートを処理したシロイヌナズナでは、一過的にヒートショックタンパク質の遺伝子発現が高まった。

遺伝子群の発現が、一過的にかつ顕著に増加することが分かった。ヒートショックタンパク質は、生物に普遍的に存在するストレスタンパク質であり、例えば、生物が熱ストレスを受けた時に、変性したタンパク質の構造を修復し、元の健全なタンパク質へ戻す働きがある。そこで、われわれは、イソチオシアネートを浴びた植物は、高温に対して耐性を獲得するのではないかと推論した。

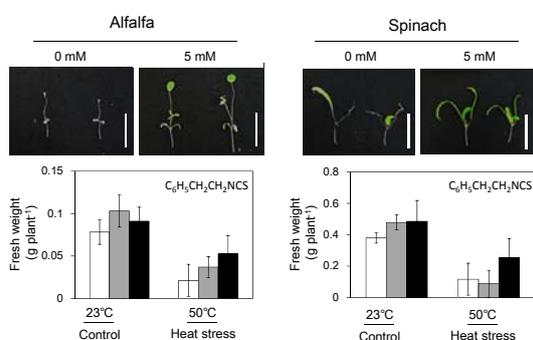


フェネチルイソチオシアネートを処理したシロイヌナズナは高温に強くなった。A: 実験スケジュール、B: 耐性獲得の様子、C: 新鮮重量グラフ

この推論に基づき、イソチオシアネートを噴霧したシロイヌナズナを一定期間栽培し、不意打ち的に、熱ショック（55°C、1時間）を与えた。この熱ショックは、シロイヌナズナの約半数が枯死してしまうほどの、強いストレスである。その結果、イソチオシアネート（2 mMが最適）を噴霧しておいたシロイヌナズナは、そのほとんどが生き延び、最終的

に花を咲かせるまで成長することがわかった。一方、イソチオシアネートの代わりに等量の水を噴霧した対照区のシロイヌナズナは、その半数が枯死し、生き延びた個体も、成長が抑制された。

そこで、イソチオシアネートを有する、または、有さない、様々な関連化合物を試験したところ、イソチオシアネートを有する物質のみに、この作用が確認できた。つまり、耐熱性向上作用には、イソチオシアネート基が関与していることが示唆された。さらに、シロイヌナズナのみならず、ホウレンソウ、アルファルファ、タバコでも、同様の効果が確認できた。これは、イソチオシアネートを生成する植物種(シロイヌナズナ)のみならず、イソチオシアネートを生成しない植物種(ホウレンソウ、アルファルファ、タバコ)においてもまた、イソチオシアネートによって耐熱性が高まることを示している。



フェネチルイソチオシアネートの植物高温耐性向上効果は、アルファルファやホウレンソウでも見出された。

以上の結果、イソチオシアネートを植物に与えると、熱ショックタンパク質の発現を誘導し、植物の熱耐性を高めることが分かった。この作用は、イソチオシアネートの新機能である。イソチオシアネートは、抗菌剤や食品添加剤として汎用されているため、安全性が保障されている上、低コストで供給可能である。このように、本結果は、温暖化に苦しむ農業及び環境分野において、画期的な植物育成方法となりうる。本結果に関し、その周辺結果とともに、特許を出願済みである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

① Hara M, Yatsuzuka Y, Tabata K, Kuboi T (2010) Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in Arabidopsis but act as herbicides at higher concentrations. *Journal of Plant Physiology* 167:643-649

② Hara M, Takahashi I, Yamori M, Tanaka T, Funada S, Watanabe K (2011) Effects of 5-aminolevulinic acid on growth and amylase activity in radish taproot. *Plant Growth Regulation* 64: 287-291

③ Hara M, Torazawa D, Asai T, Takahashi I (2011) Variations in the soluble sugar and organic acid contents in radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars. *International Journal of Food Science and Technology* 46: 2387-2392

[学会発表] (計3件)

① 田端杏子, 八塚幸枝, 久保井徹, 原正和 日本植物細胞分子生物学会 イソチオシアネートによるシロイヌナズナグルタチオン S-トランスフェラーゼ 2009年7月30日 日本大学生物資源科学部湘南キャンパス (神奈川県)

② 田端杏子, 久保井徹, 原正和 日本植物細胞分子生物学会仙台大会 イソチオシアネートによるシロイヌナズナのグルタチオン含量に及ぼす影響 2010年9月3日 東北大学農学部・農学研究科 (雨宮キャンパス) (宮城県)

③ 原崎安紀乃, 田端杏子, 原正和 日本農芸化学会 2012年度大会 イソチオシアネートによる植物高温耐性向上効果 2011年3月23日 京都女子大学 (京都府)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称: 植物耐熱性誘導剤

発明者: 原 正和

権利者: 国立大学法人静岡大学、静岡商工会議所

種類: 特願

番号: 2011-282111

出願年月日: 平成23年12月22日

国内外の別: 国内

名称: 植物成長促進剤

発明者: 原 正和、碓氷 泰市、尾形 慎、

アディッティヤ クルカルニ

権利者: 国立大学法人静岡大学

種類: 特願

番号: 2012-012202

出願年月日: 平成24年1月24日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.agr.shizuoka.ac.jp/abc/envplant/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 正和 (HARA MASAKAZU)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：10293614