

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02301

研究課題名(和文)植物工場における二次代謝制御を活用した高機能植物生産システムの開発

研究課題名(英文) Development of a high-functional plant production system using secondary biosynthesis control in a plant factory with artificial light

研究代表者

後藤 英司 (Goto, Eiji)

千葉大学・大学院園芸学研究科・教授

研究者番号：00186884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：赤ジソへのUV-B照射と低培養液温を処理を行い、生育を抑制しないで生理活性物質濃度を増加させる条件を見出した。赤ジソの高機能化には、本研究の照射量の範囲では、UV-B照射を暗期に行い、明期にUV-B非照射の期間を設ける方法が適することを示した。ベビーリーフアマランスにUV-B処理を行い、照射強度、照射期間、照射エネルギー量を検討した結果、生理活性化合物を増加させる処理を見出した。UV-B照射された赤ジソは、四塩化炭素によるマウスの肝損傷に対して有望な保護効果を示した。これは紫外線照射した赤ジソの肝保護効果は、抗酸化活性を示すポリフェノール化合物が多く含まれていることに起因すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

赤ジソへのUV-B照射と低培養液温を処理を行い、生育を抑制しないで生理活性物質濃度を増加させる条件を見出した。またベビーリーフアマランスにUV-B処理を行い、生理活性化合物を増加させる条件を見出した。動物実験により、UV-B照射された赤ジソは、四塩化炭素によるマウスの肝損傷に対して有望な保護効果を示した。この肝保護効果は、抗酸化活性を示すポリフェノール化合物が多く含まれていることに起因すると考えられた。以上のように、本研究は、制御環境下において目的に応じた環境ストレスを調節して二次代謝系を制御する新たな方法を見出し、植物への環境ストレス付与する手法を作ることができた。

研究成果の概要(英文)：By treating red perilla with UV-B irradiation and low nutrient solution temperature, we found conditions to increase the concentration of bioactive compounds without suppressing growth. The results showed that, within the range of irradiation doses in this study, UV-B irradiation during the dark period and a period of non-UV-B irradiation during the light period is suitable for improving the performance of red perilla. UV-B treatment of baby leaf amaranth was applied to the irradiation intensity, duration, and amount of irradiation energy of UV-B, and we found that the treatment increased bioactive compounds. UV-B irradiated red perilla showed promising protection against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. The hepatoprotective effect of UV-irradiated red perilla may be attributed to the high level of its polyphenolic compounds, which exhibit antioxidant activity.

研究分野：植物環境工学

キーワード：環境制御 機能性成分 生理活性物質 遺伝子発現 紫外線 低培養液温 植物工場

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物機能を活用して、高品質で商品価値の高い農作物・食品を生み出して新たな需要の創出、また医薬品や新素材の開発による新産業の創出が期待されている。例えば、ヒトの生活習慣病予防に有効な機能性成分を高含有し、また生薬および化粧品等の原料になる作物を、制御環境下において目的に応じた環境ストレス(紫外線、光質、低温など)を調節して二次代謝系を制御する新たな方法の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究は、対象植物に赤ジソとアマランスを選び、制御環境下において目的に応じた環境ストレス(紫外線、低温など)を調節して二次代謝系を制御する新たな方法を見出し、植物への環境ストレス付与する手法を確立して、葉などの機能性成分、抗酸化成分、薬用成分の濃度を高める方法を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

対象植物には赤ジソとアマランスを用いた。赤ジソは機能性成分・薬用成分は二次代謝系の主な4経路のうちフェニルプロパノイド系、フラボノイド系、テルペノイド系の3経路に分散している。アマランスの機能性成分はフラボノイド系、カロテノイド系に分散している。そのため両作物とも、二次代謝系が活性化されやすく、環境ストレスの影響を受けやすい高機能性植物として様々な活用が期待できる。

栽培試験は千葉大学内の植物工場実験室を用いて実施した。環境ストレス因子に紫外線 B と低温を選び、単独または複合的なストレス環境を構築した。生育ステージごとに、短期・長期の処理を付与し、生合成が変化する状態を人為的に作り、成長および生理活性物質濃度を測定した。また、環境ストレスの影響を受けやすい遺伝子群を選び、qRT-PCRによりストレス環境下の遺伝子発現の定量解析を行った。

4. 研究成果

(1) 赤ジソ「紫外線(UV)および低培養液温」

紫外線(UV)および低培養液温で、生理活性物質濃度とその合成関連酵素の遺伝子発現を調査した。播種後約42日目の食用赤ジソ「芳香赤しそ」を供試した。試験区はUV蛍光灯で栽培パネル面上のUV強度を 1 W m^{-2} とした1W区、クーラーと温度調節器で培養液温を 10°C とした10区、無処理のCont.とした。測定項目は、試験開始後3日目の地上部生体重、乾物重、3節目の本葉のペリラルデヒド(PA)、ロズマリン酸(RA)、アントシアニン(ANT)濃度、抗酸化能(ORAC)、試験開始後0、24、48、72hの8種類の合成酵素遺伝子の発現量を調査した。

生体重と乾物重に試験区間で差はなく、今回の条件では生育を抑制しなかった。生理活性物質濃度と抗酸化能は、1W区と10区でCont.より大となった。一般に環境ストレスで植物体内の活性酸素種(ROS)発生量が増加し、生理活性物質濃度が増加する。1W区と10区で抗酸化能がCont.より大となったことから両区でROS発生量が増加し、生理活性物質濃度が増加したと考えられた。PA合成経路では、試験期間中LIS発現量が1W区と10区でCont.より小、72hのCYP71AT146発現量が両区でCont.より大となった。よってLISより下流のCYP71AT146発現量が高まり、3日目のPA濃度が増加したと考えられた。RA合成経路では、48hのTAT発現量、48hから72hのPAL発現量、24hから48hのRAS発現量が1W区と10区でCont.より大、72hのRAS発現量が両区でCont.より小となった。よって72hまでにPAL、TAT、RAS発現量が高まり、3日目のRA濃度が増加したと考えられた。ANT合成経路では、48hから72hのPAL、CHS、F3H、DFR、ANS発現量が1W区と10区で増加し、72hの発現量が両区でCont.より大となった。よってこれらの遺伝子が協調的に高発現し、3日目のANT濃度が増加したと考えられた。

以上より生育を抑制しない条件のUVと低培養液温で、生理活性物質濃度を増加させることができた。またこの条件で、生理活性物質の合成経路の下流で働く酵素遺伝子が高発現して生理活性物質が蓄積することや、生理活性物質の種類でUVと低培養液温が生合成へ及ぼす影響が異なることが示された。

(2) 赤ジソ「UV-B照射の時間帯」

UV-B照射の時間帯の違いが赤ジソの生理活性物質濃度および抗酸化能に及ぼす影響を調査した。播種後約60日の食用赤ジソ「芳香赤しそ」を供試した。試験ではUV-B蛍光灯を用いて積算UV-B照射量が同一となるように明期中に16h/dで3日間(L区)、暗期中に8h/dで6日間(D区)、明期暗期を通して24h/dで2日間(LD区)のUV-B照射を行った。UV強度は 6 W m^{-2} とした。また、UV非照射のCont.を設けた。

サンプリング時の、4節目の本葉のペリラルデヒド(PA)、ロズマリン酸(RA)、アントシアニン(ANT)の濃度および抗酸化能(ORAC)を分析した。これらの値を用いて、Cont.に対する各処理区の乾物重あたりの生理活性物質濃度および抗酸化能の相対増加率(Plnc(%))を求めた。

PA 濃度は D 区で Cont. より大となった。RA 濃度は全処理区で Cont. より大、L 区と D 区で有意に大となった。ANT 濃度は L 区と LD 区で Cont. より有意に小となり、全処理区で赤色葉の緑色化が観察された。ANT は葉の表皮細胞に蓄積し、UV を吸収して植物体を保護する役割を持つ。L 区と LD 区では UV-B 照射により、ANT の分解量が生合成量を上回った可能性がある。抗酸化能は L 区と D 区で Cont. より有意に大となった。抗酸化物質である ANT 濃度が増加していないことから、L 区と D 区の抗酸化能の増加は RA および他の抗酸化物質濃度の増加によると考えられた。RA の PInc は他の生理活性物質より大となり、RA は PA や ANT より、UV-B 照射により増加しやすい生理活性物質であると考えられた。PA、RA および抗酸化能の LD 区の PInc は、他処理区より小となった。LD 区は UV-B 照射開始から終了までに UV-B 非照射の期間がなく、生理活性物質濃度と抗酸化能の増加には UV-B 非照射の期間が必要であることが示唆された。また LD 区は、UV-B 照射終了後 56 h 経過しても生理活性物質濃度および抗酸化能は Cont. より増加しなかった。このことから、6 W m⁻² の UV-B 照射では赤ジソの生理活性物質濃度、抗酸化能の増加には、UV-B 照射期間と非照射期間を交互に設ける必要が示唆された。D 区の PInc は RA で最大となり、全ての生理活性物質濃度と抗酸化能で正の値となった。

以上より、本研究の照射量では、赤ジソの生理活性物質濃度および抗酸化能の増加、特に RA の高濃度化には、UV-B 照射を暗期に行い、明期に UV-B 非照射の期間を設ける方法が適している可能性が示唆された。

(3) ベビーリーフアマランス

アマランス (*Amaranthus tricolor* L.) は、多くの生理活性物質を含む栄養価の高いベビーリーフ野菜として食用されている。ベビーリーフアマランスの成長と品質に及ぼす短期紫外線 B (UV-B) 処理の影響について、照射後 24 時間の回復期間の条件、照射強度 (3.0~9.0 W m⁻²)、照射期間 (4~16 時間)、照射エネルギー量 (130~170 kJ m⁻²) の違いなどを検討した。UV-B 照射後 0 時間および 24 時間における葉の生育および品質の変化を観察するために回復期間を置く実験も行った。その結果、UV-B 照射後 24 時間で葉のフェノール化合物、フラボノイド、アントシアニン、アスコルビン酸の濃度、および葉の抗酸化能が上昇することが確認された。3, 6, 9 W m⁻² の UV-B をそれぞれ 12, 16, 8, 12, 4 時間の照射時間で照射した葉では、成長および外観に負の影響を及ぼすことなく、前述の化合物濃度および抗酸化能の増加が観察された。最も高い生理活性物質濃度を示したのは、UV-B を 6 W m⁻² で 7 時間照射した葉であった (照射エネルギー量: 150 kJ m⁻²)。6 W m⁻² で照射エネルギー量 150 kJ m⁻² の UV-B を照射し、照射後 24 時間の回復期間を設けることが、ベビーリーフアマランスにおいて外観異常を引き起こすことなく生理活性化合物を増加させるための適切な処理であると結論づけた。

(4) 生理活性物質の機能評価 (動物実験)

前述の通り、赤ジソの機能性を高めるためには、紫外線処理においては UV-B 照射を暗期に行い明期に UV-B 非照射の期間を設ける方法が適していることを明らかにした。そこで、赤ジソの機能性を評価するためにマウス実験により、新しい機能および有効成分の体内への吸収率、機能性発現などの基礎的なデータを収集した。紫外線照射した赤ジソは、四塩化炭素によるマウスの肝損傷に対して有望な保護効果を示した。紫外線照射により、赤ジソのロスマリン酸、マロニーシソニン、シソニンの蓄積量が有意に増加し、DPPH ラジカル消去能が増加した。紫外線照射した赤ジソの肝保護効果は、抗酸化活性を示すポリフェノール化合物が多く含まれていることに起因すると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Wittayathanarattana Takon, Wanichananan Praderm, Supaibulwatana Kanyaratt, Goto Eiji	4. 巻 182
2. 論文標題 Enhancement of bioactive compounds in baby leaf <i>Amaranthus tricolor</i> L. using short-term application of UV-B irradiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Physiology and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 202 ~ 215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plaphy.2022.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Goto E., Someya K., Ogawa E., Hikosaka S.	4. 巻 1271
2. 論文標題 Effect of UV light on the accumulation of bioactive compounds and expression of related biosynthesis genes in red perilla	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 155 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17660/ActaHortic.2020.1271.22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurniati Dian, Umeda Ryohei, Kagawa Natsuko, Goto Eiji, Wakabayashi Ryo, Shimada Kanae, Hirai Shizuka, Egashira Yukari	4. 巻 zbac067
2. 論文標題 Protective effect of UV-irradiated red perilla (<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton) on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 島田楓奈恵, 彦坂晶子, 後藤英司
2. 発表標題 UV-B 照射の時間帯がアカジソの生理活性物質濃度および抗酸化能に及ぼす影響
3. 学会等名 日本生物環境工学会2019年千葉大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanae Shimada, Shoko Hikosaka, Eiji Goto
2. 発表標題 Effect of the period of time of UV irradiation on the concentration of bioactive compounds and antioxidant capacity in red perilla
3. 学会等名 AGHPF2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eiji Goto, K. Someya, K. Shimada, E. Ogawa, S. Hikosaka
2. 発表標題 Effect of UV Light on the Accumulation of Bioactive Compounds and Expression of Related Biosynthesis Genes in Red Perilla
3. 学会等名 IHC2018 (International Horticulture Congress、国際園芸学会総会) (国際学会)
4. 発表年 2018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
研究分担者	江頭 祐嘉合 (Egashira Yukari) (80213528)	千葉大学・大学院園芸学研究科・教授 (12501)	
研究分担者	加川 夏子 (Kagawa Natsuko) (60467686)	千葉大学・環境健康フィールド科学センター・講師 (12501)	
研究分担者	吉田 英生 (Yoshida Hideo) (40729852)	千葉大学・大学院園芸学研究科・助教 (12501)	

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
---------	---------