

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：37102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07607

研究課題名（和文）園芸作物の鮮度保持に関わるポリアミンの役割の解明

研究課題名（英文）Functional analysis of polyamines in horticultural crops during senescence

研究代表者

高橋 芳弘 (TAKAHASHI, Yoshihiro)

九州産業大学・生命科学部・教授

研究者番号：20390891

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では植物の老化機能におけるポリアミンの役割を明確化する事を目的として、収穫後の農作物の老化過程でのポリアミンの動態把握を行った。そして、老化に伴いポリアミンの減少が観察される農作物の一部に関しては、外部から該当ポリアミンを付与する事で老化を抑制できる可能性が示された。また、様々な植物の生体内ポリアミン分析を通じて、一部の植物体のみが生産する微量ポリアミンを発見し、その合成経路や機能の一部を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、収穫後の農作物の保存過程において減少するポリアミン類を外から加える事で、品質低下の指標となる老化を抑制する効果がある事を突き止めた。ポリアミンは人を含む全ての生物の生命維持に必須の化合物である事から、常に我々の体内においても作られている。つまり、本研究成果を応用する事で、人体に悪影響を及ぼさない分子を農作物の品質保持や高品質化に利用できる大きな可能性が期待できる。

研究成果の概要（英文）：To understand the relationship between polyamine and senescence in plants, I analyzed internal polyamine levels and effect of polyamine treatment in various horticultural crops during senescence. Then, it was found that quality of some crops was improved by exogenous polyamine treatment. In addition, uncommon minor polyamine and its biosynthetic pathway was identified.

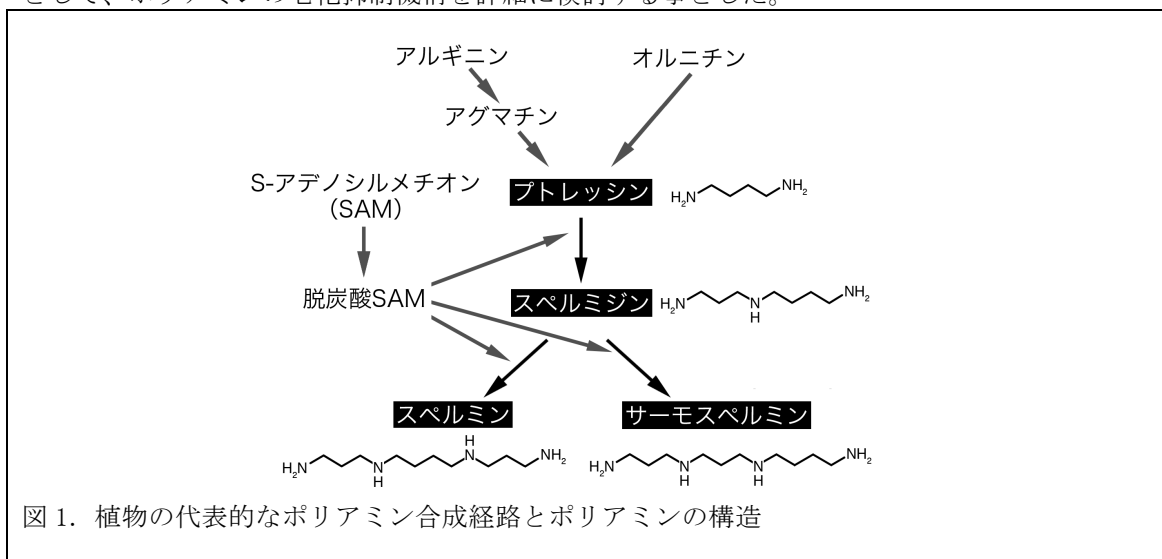
研究分野：植物分子生物学

キーワード：ポリアミン 老化

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ジアミンのプトレッシン、トリアミンのスペルミジン、テトラアミンのスペルミンとサーモスペルミンを代表とする植物のポリアミンは、核酸・タンパク質合成を促進する細胞増殖因子として働くほか、胚発生、形態形成、維管束分化、花器官の発育促進、様々な環境ストレス耐性等に関わる高機能分子である事が知られている(図1にポリアミンの構造および一般的な植物のポリアミン合成経路を示す)。また、これらのポリアミン類は、古くから老化抑制効果も保持している可能性が推察されているものの、ポリアミン合成の基質供給に重要であるS-アデノシルメチオンが老化や果実の成熟を促進する植物ホルモンであるエチレンの前駆物質でもある事にも起因しており、ポリアミンの老化抑制機構に関する直接的な証明例はまだ少ないのが現状であった。数少ない例の1つとして、切り花・カーネーションにプトレッシンを処理すると日持ちが向上する(Bagni and Tassoni, 2006)、という報告がある事から、申請者は、植物の生体内ポリアミン量の減少を抑制する事で老化抑制効果が期待できるのではないかと考え、ポリアミン分解に関わる酵素遺伝子が欠損してポリアミン含量が高まったシロイヌナズナ植物体の老化過程を注意深く観察した結果、ポリアミン分解酵素遺伝子欠損変異体では野生型と比較して優位に老化が抑制される事が確認された。申請者はこれまで、植物におけるポリアミンの様々な生理作用の解明に関する研究に従事しており、環境ストレスを受ける事によって蓄積するスペルミンは、病原菌に対する防御応答反応の強化や、塩、乾燥、高温などの非生物学的ストレス耐性に関わる重要分子である事を様々な実験手法を駆使して証明してきた。そこで本研究では、これまでの経験を生かしつつポリアミンの更なる高機能性を明確化する事を目的として、ポリアミンの老化抑制機構を詳細に検討する事とした。



2. 研究の目的

ポリアミンは、全ての生物に存在する生命維持に必要な不可欠な分子である。また、食事を通してポリアミンを多く接種する事で、我々の健康にもプラスの効果がある事が知られており、外から投与したポリアミンが、ヒト細胞を含む様々な動物細胞を長寿命化に導く事も明らかとされている。その為、本研究の大きな目的として、人体に悪影響を及ぼさない分子「ポリアミン」を農作物の品質保持・高品質化に利用する可能性を模索する事である。そこで、切り花や青果物の商品価値を著しく低下させる主現象である「老化」に着目し、カーネーション、バラ、キク、トマト、イチゴなど、特に日本での生産量が多い切り花や青果物の老化・追熟過程におけるポリアミン動態の把握、老化に伴って減少傾向が高いポリアミン類を外部から投与する事による老化抑制効果を検証する。また、地球上の生物の共通祖先の可能性が示唆されている好熱菌では、数十種類ものポリアミン類が生体内に存在する事が確認されており、人においても約20種類ものポリアミン類が存在すると言われている。一方、植物において通常確認されるポリアミン類は図1に示した4種類のみである事から、生体内量がごく微量な為にもしくは、ある特定の種にのみしか存在しない為にも、未だ発見されていないレアポリアミン類が多数存在する可能性も示唆されている。また、そうしたポリアミン類の中には、他のポリアミンよりも効果の高い老化抑制能や生体防御能を保持する高機能分子が存在する可能性も考えられる事から、本研究のもう一つの目的として、高感度ポリアミン分析法を用いて植物内に存在する微量のポリアミン類の探索を行い、そうしたレアポリアミン類が農作物の品質向上に利用できる可能性を模索する。

3. 研究の方法

本研究では、(1) 高感度ポリアミン分析法を用いた生体内ポリアミン類の動態把握、(2) ポリアミン類を処理した際の農作物の日持ち性試験、(3) 植物由来の新規ポリアミン類の探索および合成・分解経路の把握と機能性評価、に関する研究を主として行った。

(1) 高感度ポリアミン分析法を用いた生体内ポリアミン類の動態把握

一般的に植物の生体内ポリアミンを分析する為には、抽出したポリアミン類をベンゾイル化し高速液体クロマトグラフィーにて分離・検出する手法が使用されるが、この分析法では夾雑物由来のノイズに起因するピークが影響する事で、特に生体内量が少ないポリアミンや、その他、一部の植物種のみが生産する微量ポリアミン類を分析・定量する事が難しかった。そこで申請者は、従来の手法を改変する事により夾雑物由来のノイズを低減させた高感度ポリアミン分析条件を検討し、疑似ピークの出現を極力抑えた分析法を確立した。そこで、カーネーション、バラ、キクを代表とする切り花、トマト、イチゴなどの青果物の生体内から過塩素酸にてポリアミンを抽出し、生体内ポリアミン量および老化過程における経時的変化を計測した。同様に、農作物の可食部以外の組織、病気の感染や環境ストレスを受けた植物体、単子葉植物、観葉植物や薬草など、様々な植物種の生体内ポリアミン分析を行い、プトレッシン、スペルミジン、スペルミン、サーモスペルミン以外のポリアミンを合成している植物体を探索した。

(2) ポリアミン類を処理した際の農作物の日持ち性試験

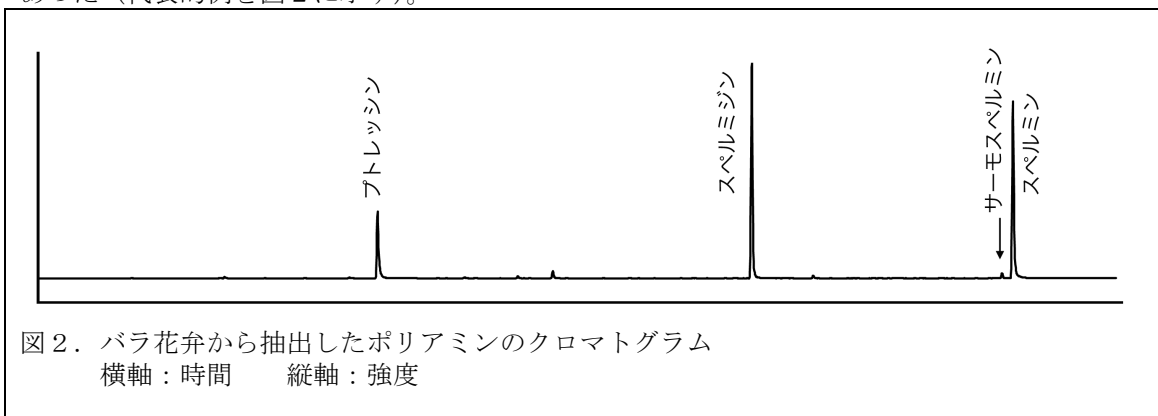
老化過程でのポリアミンの動態把握解析が終了した植物体に関しては、特に老化過程での減少が著しいポリアミン類を外部から投与し、その後の貯蔵中の品質変化を観察した。

(3) 植物由来の新規ポリアミン類の探索および合成・分解経路の把握と機能性評価

植物由来の新規レアポリアミンが確認された植物種のポリアミン合成・分解に関わる遺伝子群を、データベース検索・PCR・5' -レースおよび 3' -レース法によって単離し、その特徴解析を行った。また、新規レアポリアミンの機能を把握する為、スペルミン応答性遺伝子の発現量を指標に生体防御能効果を計測した。

4. 研究成果

カーネーション、バラ、キク花卉、トマト、イチゴ等の青果物の可食部からポリアミン類を抽出し、これらの植物体にどのようなポリアミン類が含まれているのかを検討した結果、代表的なポリアミンとして、プトレッシン、スペルミジン、スペルミンおよびサーモスペルミンの4種類のポリアミンが検出された。しかし、いずれの植物体においても、プトレッシン、スペルミジン、スペルミンは十分量検出されるものの、サーモスペルミンの生体内量は極わずかであった(代表的例を図2に示す)。



次に、これらの植物体の老化過程におけるポリアミン類の変動を調査した結果、切り花や青果物の種類によって特徴に違いが見られた。代表的な比較例を以下に示すが、バラ花卉においては開花時にプトレッシン量が顕著に減少するものの、その後の老化過程において特に大きく変動するポリアミン類は確認されなかった。一方、カーネーションは、老化に伴って花卉内のスペルミン量が特に減少している事が示された。そこで、カーネーションおよびバラ花卉の品質保持にポリアミン類が関係するのかが検討するため、切り花保存液中に少量のプトレッシン、スペルミジン、スペルミンを加えて一定期間観察した結果、バラ花卉の老化抑制効果はいずれのポリアミンにおいても弱いものであったが、カーネーションに関しては、特にスペルミンの老化抑制効果が顕著であった(図3)。



こうしたポリアミンによる老化抑制効果は全ての切り花や青果物において共通して観察され

る現象では無かったものの、老化に先だってポリアミンが顕著に減少する一部の植物体においては、該当ポリアミンを外部から補充する事で一定の老化抑制効果が期待出来る事が示された。

新規レアポリアミンの探索として、様々な農作物の可食部以外の組織や環境ストレスを受けた植物体、その他、食用として利用されていない植物体から生体内ポリアミンを抽出し、どのようなポリアミン類が存在するのかを高感度ポリアミン分析法によって調査した結果、一部の植物体のみが存在する微量ポリアミンを発見した。そこで、この微量ポリアミンの合成・分解に関わる事が推察される遺伝子群を単離して機能解析を進めた結果、微量ポリアミン合成に関わる可能性の高い遺伝子を同定する事ができた。また、新規レアポリアミンの体防御能をスペルミン応答遺伝子群の発現量から比較した結果、スペルミンと同程度の生体防御能を保持する可能性が示された。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi Y, Tahara M, Yamada Y, Mitsudomi Y, Koga K.	4. 巻 37
2. 論文標題 Characterization of the polyamine biosynthetic pathways and salt stress response in <i>Brachypodium distachyon</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Plant Growth Regul	6. 最初と最後の頁 625-634
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00344-017-9761-z	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Takahashi Y, Ono K, Akamine Y, Asano T, Ezaki M, Mouri I.	4. 巻 131
2. 論文標題 Highly-expressed polyamine oxidases catalyze polyamine back conversion in <i>Brachypodium distachyon</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Plant Res	6. 最初と最後の頁 341-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-017-0989-2	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Takahashi Y, Uemura T, Teshima Y.	4. 巻 516
2. 論文標題 Polyamine oxidase 2 is involved in regulating excess spermidine contents during seed germination and early seedling development in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 1248-1251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.07.022	査読の有無 有
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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----