

平成 22 年 2 月 9 日現在

研究種目： 基盤研究(C)
 研究期間： 2005 ～ 2008
 課題番号： 17580015

研究課題名(和文) 作物の光酸化抵抗性の評価

研究課題名(英文) Evaluation of resistance to oxidative stress induced by light in crops

研究代表者

井上 直人 (INOUE NAOTO)
 信州大学・農学部・教授
 研究者番号： 80232544

研究成果の概要：

光の照射にともなって起こる光酸化は作物の多収穫や老化に関わる重要な要因となっている。この研究では、光酸化抵抗性機能を簡易に評価することをねらった。ここでは、ソバやイネなどの主要作物の光酸素化酸化(光酸化)に対する抵抗性の器官間差異を調査した。ソバの花器の抽出液の一重項酸素寿命は葉、茎、種子よりも短かった。また過酸化水素の消去活性は葉と花器の抽出液で高かった。花器は生殖器官であるためと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
17年度	1,500,000	0	1,500,000
18年度	700,000	0	700,000
19年度	600,000	180,000	780,000
20年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,500,000	390,000	3,890,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目： 農学、 作物学・雑草学

キーワード：光、酸化、活性酸素、老化、ソバ、ダツタンソバ、一重項酸素、過酸化水素

1. 研究開始当初の背景

エネルギーの移動によって生じる一重項酸素は光の照射にともなって起こる光酸化(正確には、光増感酸素酸化)でも生じるために光老化をもたらす重要な要因となっており、作物の生産性を支配している。この研究では、化学的には未同定ではあっても光酸化抵抗性機能を有する遺伝子型を簡易に評価する方法を確立して、育種プログラムの特性検定試験に取り入れることを可能にすることをねらった。

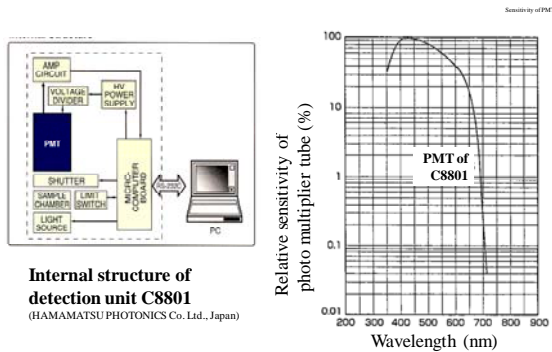
たえず強い光ストレス環境下におかれて進化してきた作物は、一重項酸素をクエンチングする化学物質を多量に合成して自らの老化を阻止していると推察されるので、それを材料にして評価することは機能性食品の素材となる作物を育種する上で極めて重要と考えられる。最もよく知られている一重項酸素のクエンチャーは β -カロチンであるが、これ以外のさまざまな物質が関与して協奏的に働いていると推察されるので、単一の物質に特定せずに総合的な機能の評価が望まれる。

2. 研究の目的

そこでこの研究では、光酸素化酸化(光酸化)に対する抵抗性の器官間差異を明らかにすることにした。また、光酸素化酸化をもたらす光合成に注目し、その能力に関わる主要色素やタンパク質を非破壊でモニタリングしようとした。具体的には、明反応では光増感剤であるクロロフィル a、クエンチャーであるキサントフィルなどである。

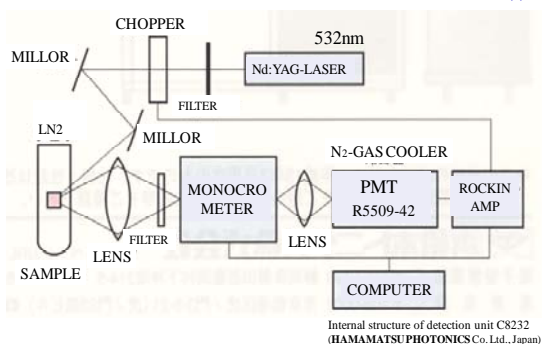
3. 研究の方法

材料はソバ、ダツタンソバなどの器官の乾燥粉碎物である。ソバ類では開花初期と後期の作物体を葉、茎、花器(果実を除去した開花中の小花と蕾)、果実に分離し、蒸留水で煮沸した(1g/30ml)。評価した活性酸素は過酸化水素と一重項酸素である。過酸化水素は下記の写真カウンティングによって行った。



Detection system and the sensitivity of the photon counting for evaluating the H₂O₂ scavenging activity

一重項酸素種 (¹Δg) は、下図のような Nd:YAG レーザーによる時間分解近赤外分光分析によって評価した。一重項酸素種 (¹Δg) が発生するときに、近赤外光(1270nm)を発生し、他の影響が無いために消去能を正確に計測できるからである。

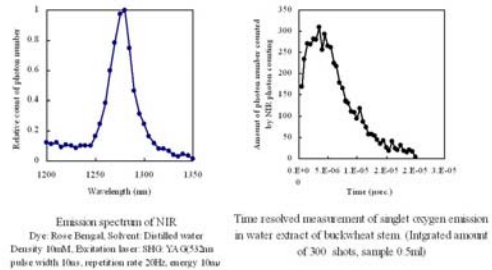


Detection system of the singlet oxygen life time by Near infrared spectrophotometer

4. 研究成果

一重項酸素種 (¹Δg) 由来の 1270nm の光子は確認され、時間に伴う消失が観察された。

Results 1: Emission spectrum and time-resolved emission of singlet oxygen



ダツタンソバ(TB)の葉、茎、果実の一重項酸素消去能は花よりも高かった。

Results 2: Singlet oxygen life time of TB

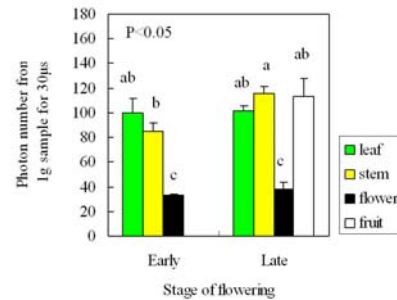


Fig.3 Singlet oxygen life time of Tartary buckwheat

普通ソバ(CB)の果実、茎の一重項酸素消去能は花よりも高かった。種・部位によって異なることがわかった。

Results 3: Singlet oxygen life time of CB

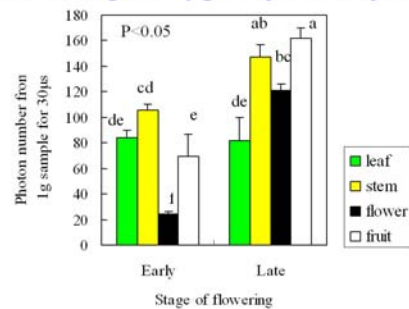


Fig.4 Singlet oxygen life time of common buckwheat

ダットンソバ(TB)の花と葉の過酸化水素消去能は花よりも高かった。活性酸素種によって器官の抵抗性の順位が入れ替わることが分かった。

Results 4: H₂O₂ scavenging activity of TB

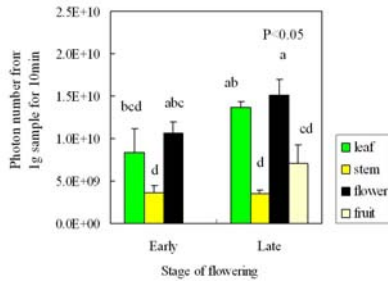


Fig. 5 H₂O₂ scavenging activity of Tartary buckwheat

普通ソバ(CB)の葉、花の過酸化水素消去能は茎や果実よりも高かった。種・部位によって異なることがわかった。

Results 5: H₂O₂ scavenging activity of CB

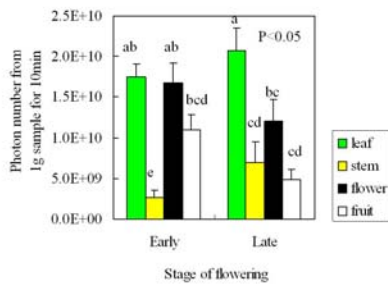
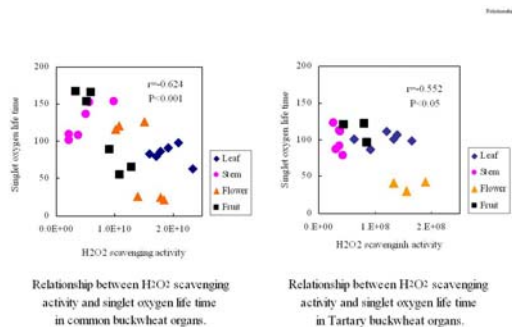


Fig. 6 H₂O₂ scavenging activity of common buckwheat

これは、国際ソバ学会 2008 において発表され、「Differences of Singlet Oxygen and H₂O₂ Scavenging Activities among Organs in Common and Tartary Buckwheats」だが、食品機能性の面でも高い評価を得られた。また、一重項酸素の寿命と過酸化水素消去活性は有意な負の相関関係があることを見出した点も新しい知見である(下図)。



これにより、抗老化機能を保有した食品素材の育種が促進される効果が期待された。

今後は、光酸化酸化をもたらし光合成システム自体に注目し、その能力を非破壊モニタリングしようとして研究している。具体的には、明反応では光増感剤であるクロロフィル a、クエンチャーであるキサントフィル、カロテン、暗反応では光合成を律速する酵素 Rubisco である。現在、紫外励起蛍光分析システムの構築が完了し、Rubisco の非破壊分析を模索している。

その結果は紫外レーザー励起蛍光分析(LIF)によって Rubisco も推定が可能との結果を得ており、大きな研究課題である。

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 5 件)

1) Naoto INOUE, Seiko HIRAKAWA, Kaori FUJITA, Shi-ya KASAJIMA and Rezwanul MAHMUD

Differences between singlet oxygen and H₂O₂ scavenging activities among various

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat (2007) pp. 247-251

2) Kaori FUJITA, Naoto INOUE and Seiko HIRAKAWA

Visualization of internal buckwheat fruits structure by the three dimensional spectral imaging system

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat (2007) pp. 238-296

3) Aiko KOMORI, Naoto INOUE and Hiromi KITABAYASHI and HORII

Measurement of rutin and quercetin in Tartary buckwheat flour by ultraviolet-induced fluorescence

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat (2007) pp. 403-409

4) 井上直人・平川聖子・藤田かおり ダットンソバと普通ソバにおける光酸化抵抗性の器官間差異 (2006) 北陸作物学会報 42: 110-113

5) 藤田かおり・井上直人・ソバ種子における活性酸素消去部位の種間・種内変異 (2004) 北陸作物学会報 40: 82-85

〔学会発表〕（計 5 件）

1) Naoto INOUE, Seiko HIRAKAWA, Kaori FUJITA, Shi-ya KASAJIMA and Rezwanul MAHMUD

Differences between singlet oxygen and H₂O₂ scavenging activities among various

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat (2006) . Oral and chairman

2) Kaori FUJITA, Naoto INOUE and Seiko HIRAKAWA

Visualization of internal buckwheat fruits structure by the three dimensional spectral imaging system

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat. (2006) Poster

3) Aiko KOMORI, Naoto INOUE and Hiromi KITABAYASHI and HORII

Measurement of rutin and quercetin in Tartary buckwheat flour by ultraviolet-induced fluorescence

Proceeding of the 10th international symposium on Buckwheat (2006) , Poster

4) 井上直人・平川聖子・藤田かおり ダンソバと普通ソバにおける光酸化抵抗性の器官間差異（2006）北陸作物学会講演会 42, Oral

5) 藤田かおり・井上直人・ソバ種子における活性酸素消去部位の種間・種内変異（2004）北陸作物学講演会 40, Oral

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 直人 (INOUE NAOTO)

信州大学・信州大学・農学部・教授

研究者番号：80232544

(2) 研究分担者

萩原 素之 (HAGIWARA MOTOYUKI)

信州大学・農学部・教授

研究者番号：90172840

(H19→H20：連携研究者)

斉藤 保典 (SAITO YASUNORI)

信州大学・工学部・教授 斉藤保典

研究者番号：40135166

(H19→H20：連携研究者)

(3) 連携研究者

なし