

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05607

研究課題名(和文) イネ科牧草に特有なオリゴ糖ロリオースの生合成経路及び代謝機構に関する研究

研究課題名(英文) Studies on biosynthetic and metabolic mechanism of loliose, an oligosaccharide present in ryegrass of the Gramineae.

研究代表者

西本 完 (NISHIMOTO, Mamoru)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・上級研究員

研究者番号：30399381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、イネ科牧草であるライグラス類に特異的に存在するロリオースと呼ばれるオリゴ糖を対象としたものである。はじめに、イタリアンライグラス種子からロリオース標準品をグラムスケールで調製することに成功した。続いて、ロリオースがイネ科植物の中でもLolium属およびFestuca属に限定的に存在していることを確認した。さらに、種子中では登熟の進行に合わせて含有量が増大することを突き止めるとともに、発芽過程においては分解されることを見出した。これらの成果により、ロリオースの生合成・代謝機構の概要が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ロリオースはこれまでの研究報告例が乏しく、オリゴ糖としての特性をはじめ、生合成や代謝のメカニズムなども一切不明であり、研究が立ち遅れていた。本研究はこのロリオースを実験材料として利用できるようにするため、グラム単位でロリオース標品の精製を行った。これにより、ロリオースの定量分析が可能となり、イネ科植物間での種子中の含有量比較や蓄積時期の解明などの成果を上げることができた。このような研究データの積み上げがロリオースの生理的意義、植物内での役割等の解明に貢献できると考えており、本研究の学術的価値は高い。

研究成果の概要(英文)：This study targets oligosaccharides called loliose, which are specifically present in ryegrass of the Gramineae. First, we succeeded in purifying a standard loliose from Italian ryegrass seeds on a gram scale. Second, it was confirmed that loliose is limited to the genus Lolium and Festuca among the gramineous plants. Last, we found that the content of loliose in the seeds increased with the progress of ripening, and that they were decomposed during the germination process. These results clarified the outline of the biosynthetic and metabolic mechanism of loliose.

研究分野：糖質科学

キーワード：ロリオース ライグラス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究開始時点において、ライグラス類にロリオースと呼ばれるオリゴ糖が存在している、という報告(Macleod *et al.*, *Nature*, 20, 1958)や、ロリオースの分子構造を同定した報告(Chatterton *et al.*, *Plant Physiol. (Life Sci. Adv.)*, 12, 1993)があったが、ロリオースに関する学术论文はそれらを含め5報のみであった。したがって、ロリオースに関する情報は極端に少なく、その合成酵素も同定されておらず、ロリオースの生合成メカニズム、さらには、ライグラス類におけるロリオースの生理的役割など、全てが不明な状況であった。

2. 研究の目的

上記のような背景の下、本研究ではロリオースに関する学術的理解を深めることを目的として、以下の3項目(1)ロリオースの調製、(2)ロリオースの分布状況、(3)ロリオースの生合成・代謝機構、を柱として研究を実施した。

3. 研究の方法

(1)ロリオースの調製 市販のイタリアンライグラス種子を粉碎し、エタノール抽出などによりオリゴ糖画分を抽出する。抽出液をゲルろ過カラムクロマトグラフィー等に供することでロリオースを分画し精製を行う。これにより高純度なロリオースを得ることができ、これを本研究におけるロリオース標準品として用いる。

(2)ロリオースの分布状況 ライグラス類及びその近縁イネ科植物の種子について、それぞれのロリオース含有量を分析する。これにより、ロリオースの分布状況を明らかにするとともに、草種による含有量の差異についても評価を行う。

(3)ロリオースの生合成・代謝機構 ロリオースは種子に多く存在していることから、種子形成過程におけるロリオース含有量の変化をモニタリングすること、並びに種子中のロリオース合成酵素活性を検出することで、これまで不明であった生合成メカニズムに関する情報を得るとともに、種子の発芽過程におけるロリオースの消長についても経時変化を追跡する。

4. 研究成果

(1)ロリオースの調製 500gのイタリアンライグラス種子を用い、各種精製工程を経て、最終的に目標の2倍以上となる2.6グラムのロリオース標品を得ることに成功した(図1)。グラム単位でロリオースを保有しているのは世界中を見渡しても当研究室のみであり、以後、独自性の高い研究開発を進めることができる。また、副次的に得られた想定外の成果として、ロリオースを酸加



図1 調製したロリオース標品

水分解することで得られるロリオース二糖についても、大量のロリオースを原料として保有していたことから、世界に先駆けて1グラムの精製品を調製することができた。こちらも新たなオリゴ糖素材としてさらなる研究開発が期待される。

(2) ロリオースの分布状況 9草種17系統のライグラス類、および7草種10系統の近縁イネ科植物について、種子中のロリオース含有量を調査した(図2)。その結果、ライグラス類では分析したすべての系統で10-15 mg/g 乾燥種子のロリオースが検出された。一方、近縁のイネ科植物ではいずれもロリオースは検出されなかった。本結果は、ロリオースがライグラス類特有のオリゴ糖である、というこれまでの報告を強く支持するものである。

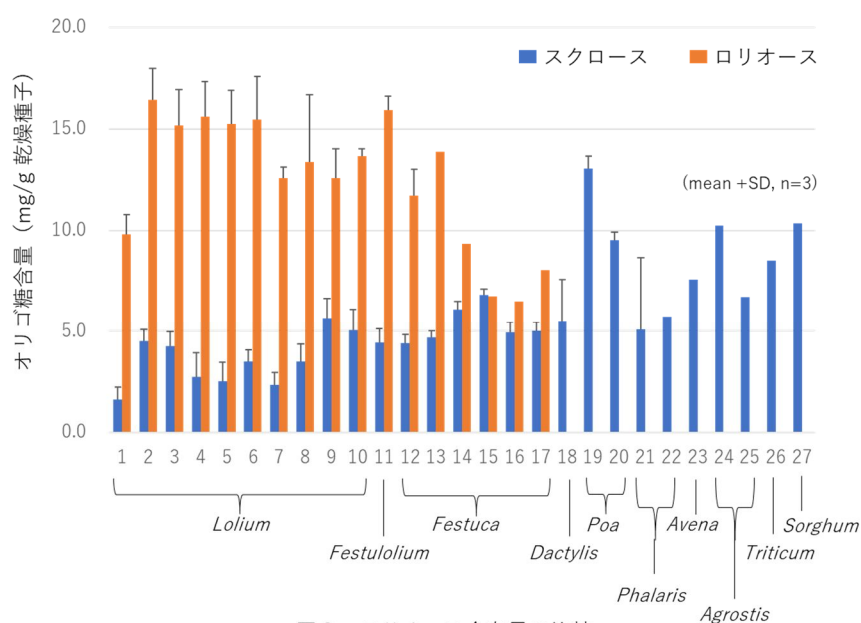


図2 ロリオース含有量の比較

(3) ロリオースの生合成・代謝機構 イタリアンライグラス極早生品種「ミナミアオバ」の穂におけるロリオース含有量について、採取した分析用試料の処理方法を構築し、ロリオースとグルコースやスクロース等の混在するオリゴ糖を再現良く分離定量可能な HPLC による分析手法を確立した(図3)。本技術を用いて、開花後から登熟期までのロリオース含有量の経時変化を追跡した結果、種子が登熟に近づくにつれ、ロリオース含有量が徐々に増加していくことを見出した。また、ロリオース合成酵素活性を種子抽出液中に確認し、部分精製することができた。さらに、発芽時にはロリオースが分解されることが観察され、ロリオース代謝に関与すると思われる新たな酵素活性を見出すことに成功した。以上の結果により、これまで不明であったロリオースの生合成・代謝機構の概要を明らかにすることができた。今後、さらに詳細なメカニズムの解明が期待される。

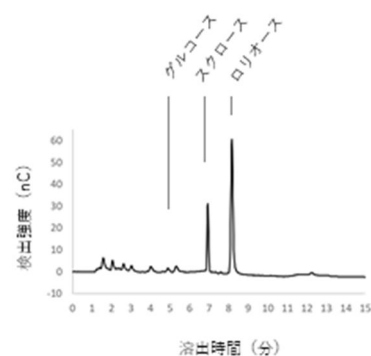


図3 HPLCを用いた定量分析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西本 完、清 多佳子、田村 健一
2. 発表標題 イタリアンライグラス種子登熟期におけるロリオースの蓄積
3. 学会等名 2020年度日本草地学会静岡大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 牧草由来オリゴ糖、ロリオースおよびロリオース二糖の調製
2. 発表標題 西本 完、北岡本光
3. 学会等名 2019年度第68回日本応用糖質科学会本大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西本 完
2. 発表標題 Festuca-Lolium属特有のオリゴ糖「ロリオース」について
3. 学会等名 2020年度日本草地学会静岡大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西本 完、清 多佳子、菅原 幸哉
2. 発表標題 Festuca-Lolium属草本から見いだされたオリゴ糖「ロリオース」の各種イネ科植物種子中での含有量の比較
3. 学会等名 2019年度日本草地学会広島大会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

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