

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：23201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22566

研究課題名（和文）コムギにおける脂質および二次代謝を介した乾燥耐性機構の解明

研究課題名（英文）Drought tolerance mediated by lipids and specialized metabolites in wheat

研究代表者

宇部 尚樹（UBE, Naoki）

富山県立大学・工学部・助教

研究者番号：00879405

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、パンコムギにおける乾燥ストレス誘導性二次代謝産物の探索とその機能解明を目的とした。乾燥処理を行ったパンコムギ地上部を抽出し、誘導される物質を調べたところ、3つの化合物が増加することが分かった。それぞれの化合物を精製し、構造解析を行った結果、化合物1-3はそれぞれ、トリプトファン（1）とヒドロキシ桂皮酸類2分子がグリセロールとエステル結合したフェニルグリセロール類2種（2, 3）であった。加えて、これらのフェニルグリセロール類は抗酸化活性を有することから、乾燥ストレスによって引き起こされる酸化ストレスの抑制に関わると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パンコムギは主要な食料源の一つである。今後の世界の人口増加に加え、気候変動を考慮すると、ストレス耐性を持った作物品種の育種は重要である。本研究では、パンコムギにおいて乾燥ストレスにより抗酸化活性を有するフェニルグリセロール類が蓄積することが明らかとなった。これらの成果はこれまで分かっていなかった二次代謝産物を介した乾燥ストレス耐性機構の一つであり、乾燥ストレス耐性品種の育種につながる基礎的な情報を提供することができた。

研究成果の概要（英文）：Changes in specialized metabolites were analyzed in wheat aerial parts treated drought stress. HPLC analysis detected the accumulation of three compounds in drought-treated aerial parts. Of these, we purified two compounds by silica gel column chromatography and preparative HPLC, and identified them as phenylglycerol esters, 1-O-couamroyl-3-O-feruloylglycerol and 1,3-O-diferuloylglycerol, by spectrometry. These phenylglycerol were synthesized from glycerol and corresponding hydroxycinnamic acids and confirmed their structure purified from wheat plants. The remaining compound was determined to be tryptophan by mass spectrometry. In addition, these phenylglycerol esters showed antioxidative activity, indicating these compounds prevent from oxidative stress induced by drought stress.

研究分野：天然物化学

キーワード：パンコムギ 乾燥ストレス フェニルグリセロール

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パンコムギは主要な食料源である一方で、乾燥や高温ストレスに弱く、栽培可能な地域が限られている。そのため、乾燥や高温耐性を有するパンコムギの育種は重要な課題である。

植物のストレス応答において、誘導性の二次代謝物は重要な役割を持つ。これまでに、病原菌が感染したパンコムギでは二次代謝産物の桂皮酸アミド類が誘導され、誘導性抗菌性物質ファイトアレキシンとして機能することや細胞壁の強化に関わることを明らかにした。誘導性二次代謝産物の蓄積は病害抵抗性だけでなく、乾燥耐性にも関わる。イネ科のトウモロコシやイネでは、ファイトアレキシンとして機能する二次代謝産物の蓄積が乾燥耐性の向上に繋がることがわかっている。コムギの乾燥耐性にも、病害ストレスで誘導された桂皮酸アミドなどの二次代謝産物が関わりと想定される。コムギの乾燥耐性機構を明らかにする上で、誘導性代謝物の変動は重要であると考えられるが、乾燥耐性に関わる二次代謝を対象とした研究はなく、取り組むべき課題である。

2. 研究の目的

本研究では、パンコムギにおける乾燥ストレス誘導性物質の同定とその機能を検証することで、代謝物を介した乾燥耐性機構を明らかにする。そして、耐性品種育種の発展に寄与する基礎的な情報を提供する。

3. 研究の方法

(1) 乾燥ストレスを受けたパンコムギにおいて誘導される代謝物の探索

播種後 3 週間のパンコムギ幼苗に対して、灌水を止め、乾燥処理を行った。24 時間おきに灌水を行ったものをコントロールとして用いた。乾燥処理後 5 日目の地上部を採取し、80%MeOH で抽出を行った。得られた抽出液を HPLC を用いて分析することで、代謝物の変動を調べた。

4. 研究成果

(1) 乾燥ストレスを受けたパンコムギにおける誘導される代謝物の探索

パンコムギ幼苗を乾燥処理し、処理後 5 日目の地上部を抽出した。得られた抽出液を HPLC を用いて分析したところ、病原菌の感染によって誘導されるフェニルアミド類の蓄積量は変化しなかった。一方で、3 つのピーク(化合物 1 - 3)が乾燥処理によって増加することを見出した。それぞれの化合物をカラムクロマトグラフィーおよび分取 HPLC を用いて精製し、各種機器分析を行った。化合物 1 は ESI スペクトルの結果、分子量が 204 と推定された。標品と比較

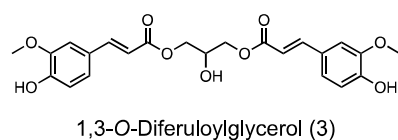
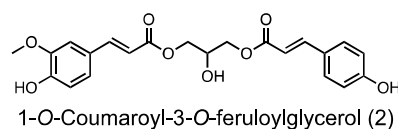


図 化合物 2 および 3 の構造

を行ったところトリプトファンであるとわかった。また化合物 2 および 3 は、ESI マススペクトルの結果より、分子量 414 および 444 である推定された。NMR 解析の結果、化合物 2 および 3 はヒドロキシ桂皮酸類 2 分子がグリセロールに結合したフェニルグリセロール類であり、それぞれ、1-O-coumaroyl-3-O-feruloylglycerol (CFG) および 1,3-O-diferuloylglycerol (DFG) であった。乾燥ストレスによるトリプトファン (1) の蓄積はパンコムギを含め多くの植物で確認されていることから、以降は化合物 2 および 3 を中心に実験を行った。また CFG および DFG を化学合成を用いて調製し、パンコムギより単離した化合物 2 および 3 の NMR スペクトルと比較を行った

ところ、良好な一致を示したため、化合物 2 および 3 はそれぞれ CFG および DFG であることを確認した。

(2) フェニルグリセロール類の定量

乾燥処理したパンコムギにおける化合物 2 および 3 の蓄積量を調べた。化合物 2 および 3 は乾燥処理後 3 日目で増加し始め、以降も増加していくことがわかった。また開花期におけるこれら化合物の蓄積を調べるために、開花後の植物体に対して乾燥処理を行った。処理後 5 日目の植物体の止め葉、外皮および穂軸をそれぞれ抽出した。得られた抽出液を HPLC 分析に供し、化合物 2 および 3 を定量した。その結果、化合物 2 および 3 は、開花期においても蓄積が誘導されることが分かった。また部位によって、その蓄積量に大きな違いは見られなかった。

(3) 病原菌接種によるフェニルグリセロール類の蓄積

乾燥ストレス以外のストレスによるフェニルグリセロール類の蓄積を調べるためにパンコムギでは、生物ストレスである病原菌接種によってもこれらの化合物が増加するのか調べた。パンコムギ幼苗の葉にイネ科斑点病菌 *Bipolaris sorokiniana* を接種し、接種後 72 時間目の葉を抽出した。その結果、フェニルアミド類である *p*-coumaroylagmatine やファイトアレキシンの triticamide 類の蓄積量は増加したが、フェニルグリセロール類である化合物 2 および 3 の蓄積は誘導されなかった。これらの結果より、パンコムギは乾燥ストレスおよび病害ストレスによって、蓄積するヒドロキシ桂皮酸類縁体の種類が異なることがわかった。

(4) フェニルグリセロール類の抗酸化活性

これまでの報告から、フェニルグリセロール類は抗酸化活性を有することが分かっている。そこで、化合物 2 および 3 の抗酸化活性を調べるとともに、病原菌の感染によって増加するフェニルアミド類 (*p*-coumaroylagmatine および triticamide A) の抗酸化活性と比較した。抗酸化活性の評価は DPPH アッセイを用いて行った。その結果、化合物 2 および 3 は、ラジカル消去能を示したが、*p*-coumaroylagmatine および triticamide A は 1 mM の濃度でも示さなかった。

以上の結果から、乾燥ストレスを受けたパンコムギは、トリプトファン (1) に加えて、新たにフェニルグリセロールである 1-*O*-coumaroyl-3-*O*-feruloylglycerol (2, CFG) および 1,3-*O*-diferuloylglycerol (3, DFG) を蓄積することが明らかになった。これらの化合物は、幼苗期に限らず開花期でも乾燥ストレスにより誘導されることが分かった。これらのフェニルグリセロール類は、抗酸化活性を有することから、乾燥ストレスによって生じる酸化ストレスを抑制するために機能していると推定される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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