

新技術と研究紹介

付加価値農作物生産のためのデータベースの活用

清水 正 則
小林 裕 和

はじめに

食品の機能性表示に関する新たな制度が、2015年4月に施行され、7月28日現在、1,027品目が機能性表示食品として販売が可能となっている。本制度は、先行する特定保健用食品（特保）における成果を受けて、文献データに基づき機能性が表示できることとなったことから、今後も届け出が増加していくものと見込まれる。本制度の下、生鮮食品も機能性表示が可能となり、みかん、もやしにおいて、8品目が届け出られている。機能性表示食品に含まれる機能性関与成分については、一日摂取目安量と含有量が表示されているが、個々の農作物におけるその含有量は、天候、圃場の立地条件などに左右される。したがって、表示された含有量を満たす個々の商品の生産が、現場での課題となる。さらに、付加価値の高い農作物として、特定の機能性成分を高蓄積させるためにも、農作物の栽培管理が重要となる。機能性成分の代謝系には、全ての高等植物に共通の部分と、個々の植物種や品種に固有のものがある。共通の代謝経路に由来する機能性成分については、現公開データの分析によりその増強に向けた栽培条件が提示できる。

ゲノムプロジェクトが生み出すビッグデータ

ヒトを含む生物の遺伝情報は、医療分野において、遺伝的要因に起因する発病の予測や治療に威力を発揮している。同様に、農作物の遺伝情報の解析も大きく進み、そのデータが集積してきている。しかしながら、その活用は発展段階と言える。応用生物学は、生き物に共通の機構の探求を基盤として、個々の生物種、さらに個々の個体の特殊性を研究していく流れができてきた。農作物についても、まず植物のモデルとして、双子葉植物からはシロイヌナズナが、単子葉植物からはイネが取り上げられ、これらの遺伝情報が解析された。

生物の遺伝情報は、「DNA」と呼ばれる化学物質に書き込まれており、生物ごとに必要な最小セットを「ゲノム」と呼ぶ。多くの動植物は有性生殖であり、片親からの遺伝情報のセットは半数体ゲノムと呼ばれ、この大きさを比較される。ヒトのそれは、 3×10^9 塩基対（遺伝子暗号の文字数）であり、シロイヌナズナは、 1.2×10^8 塩基対、イネは 5×10^8 塩基対である。これら遺伝暗号は、線状の染色体に書き込まれている。染色体の末端の配列や遺伝子暗号の繰り返しの領域の繰り返し数以外は、これら生物のゲノム全塩基配列が決定されている。すなわち、これらは「デー

しみず まさのり：常葉大学 健康プロデュース学部 准教授

こばやし ひろかず：静岡県立大学 大学院食品栄養環境科学研究所／食品栄養科学部 教授

データベース」として公開されており、容易に入
手できる。これらの遺伝暗号のうち、数百か
ら数千文字を単位として、それぞれ異なるタ
ンパク質の配列の遺伝情報が書き込まれてお
り、これらのそれぞれは、「遺伝子」と呼ば
れる。シロイヌナズナとイネは、ゲノムサイ
ズは異なるが、遺伝子の数としては、共に
25,000ほど存在すると推定されている。すべ
ての生物において、DNAに書き込まれた遺
伝情報は、「RNA」と呼ばれる高分子に「転
写」され、そのそれぞれが「タンパク質」
に「翻訳」される。それぞれのタンパク質が
「酵素」として働くことにより、「代謝系」が

構成され、生物としての機能を発現する。す
なわち、遺伝情報が解明されれば、それを基
にして、個体の代謝や機能を評価することが
できる。さらに圃場では、個々の植物個体は
固着場所ごとに異なる環境要因（日射量、温
度、水分補給など）の影響を受けることが想
定される。すなわち、「DNA → RNA → タ
ンパク質 → 代謝産物 → 表現型 → 生物群
集」というスキームが描け、これら各ステッ
プでの解析は、オーム (-ome) あるいはオ
ミクス (-omics) と呼ばれる（図1）。これ
らのデータは、付加価値農作物生産に活用さ
れ得る。そのような実例を紹介する。

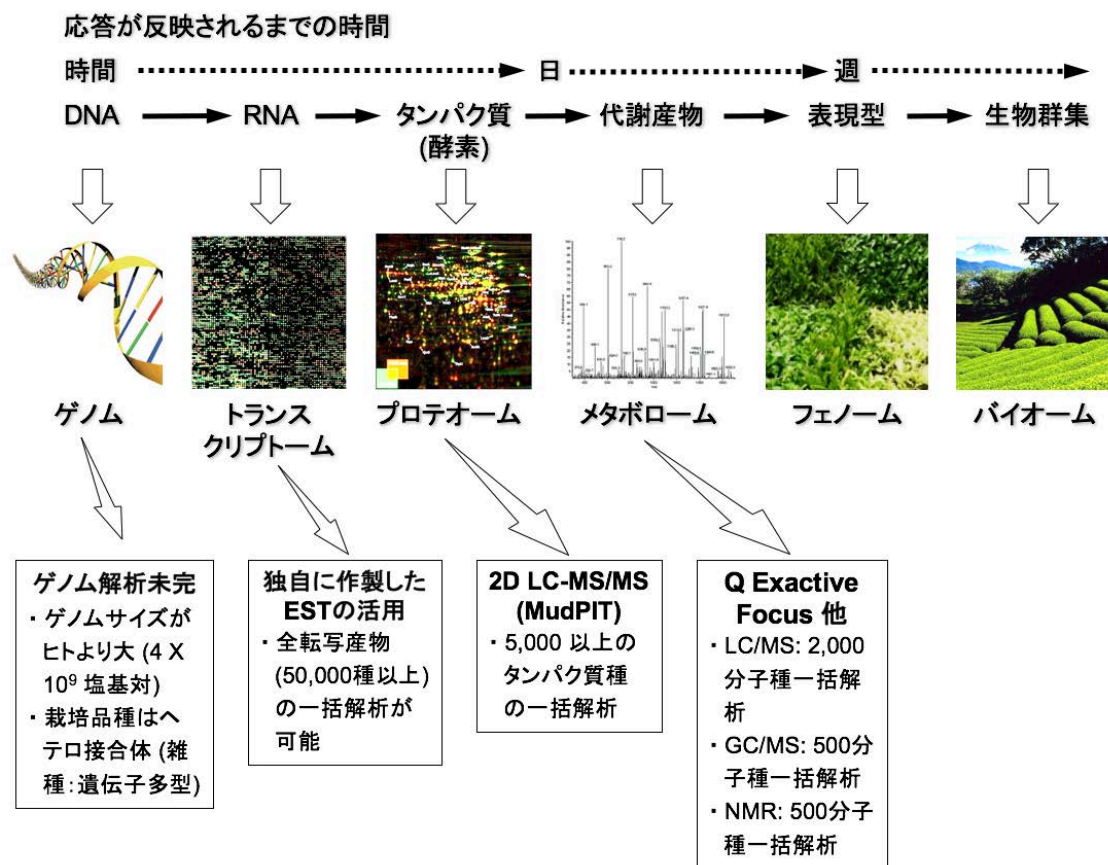


図1 植物で用いる各種オミクス解析の特性 (茶の場合)

EST (expressed-sequence tag): RNAとして発現している遺伝子の種類と発現量を網羅的に解析。

2D LS-MS/MS (二次元液体クロマトグラフィー質量分析) [multidimensional protein identification technology (MudPIT)]: プロテアーゼを用いタンパク質をペプチドに消化後、個々のペプチドを二次元液体クロマトグラフィーにより分取し、それぞれのペプチドの部分破壊産物の分子量からアミノ酸配列を同定する。さらに、シグナルの強さからペプチド量を推定する。

Q Exactive Focus: LS-MS/MS装置 (Thermo Fisher Scientific 製)。これは一例として示した。

フェノーム: 画面の4区画は異なる遮光条件。遮光の程度に応じ、「玉露」、「白葉茶」などとなる (写真提供: 中村順行博士)。
バイオーム: 写真は茶畑。茶葉は、場所ごとに異なる環境要因 (日射量、温度、水分補給など) の影響を受ける。

モデル植物シロイヌナズナのデータベース

シロイヌナズナは雑草であるが、以下の特長を有するモデル実験植物であり、植物ゲノムプロジェクトの先陣を切った。(1) 植物体が小さい(栽培に圃場を要しない)、(2) 1世代が短い(5~6週間)ため遺伝学的解析に有利、(3) 核ゲノムのサイズが小さい(半数体ゲノム: 1.2×10^8 塩基対)ためゲノム解析に有利、(4) 自家受粉の頻度が高いため純系維持が容易、(5) 交配が可能、(6) 外来遺伝子の核ゲノムへの導入が可能、(7) 遺伝子座およびマーカーの情報充実、(8) 核、葉緑体、ミトコンドリアの全ゲノム塩基配列が決定済み。したがって、DNAチップを用いたマイクロアレイ解析やRNA塩基配列を決定するRNA-seq解析により、各種栽培条件における遺伝子発現のデータが取得され、これらは公開されている。

モデル植物としてのシロイヌナズナでは、様々なストレス環境下での遺伝子発現が網羅的に調べられており、誰でも利用可能なデータベースとして、The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (<https://www.arabidopsis.org>) に統合されている。Arabidopsis Electronic Fluorescent Pictographs (eFP) Browser (<http://bar.utoronto.ca/efp/cgi-bin/efpWeb.cgi>) は網羅性が高く、使いやすい。ここでは、シロイヌナズナの各遺伝子の発現に対する各種環境要因(寒冷、高浸透圧、塩、乾燥、パラコートによる酸化、UV-B、傷、熱)の影響がピクトグラムにより表示される。また、生物の代謝経路と対応する遺伝子のデータベースは、京都大学のグループによって、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (<http://www.kegg.jp>) としてまとめられている。これらのデータベースを活用

することにより、目的の機能性成分を増強する条件が予測でき、より付加価値の高い農作物生産への栽培管理が可能になる。これらを適用する具体的な農作物として、筆者は茶などを試みている。ここでは、ヒトの健康維持や改善に貢献する成分であるアルギニン関連代謝産物、GABA、およびカロテノイドとして、リコピン、 β -クリプトキサンチン、ルテインについて紹介する。

アルギニン関連代謝産物

老化に付随する様々な症状の改善に対し、アルギニン関連代謝産物が注目を集めている¹⁾。これらの中で、アグマチンには脳梗塞の緩和作用が知られている。また、ポリアミンには、老化防止機能などが報告されている。これらの機能性成分は、アルギニンから生合成され、その鍵酵素がアルギニン脱炭酸酵素(ADC)である(図2)。一方、アルギニンはうま味成分であり、筋力低下を抑える働きもある。アルギニン含量は、ADCの働きにより減少する。また、オルニチンは肝臓の機能保持に必要だと考えられている。オルニチンはアルギニンから合成され、オルニチンアミノトランスフェラーゼ(OAT)により代謝される(図2)。シトルリンには、血管拡張作用が挙げられ、これは血管を介した酸素と栄養素の送達に有効である。これにより、美容やダイエット、脳や心臓など、さまざまな部位の健常維持が可能になると言われている。シトルリンは、オルニチンからオルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)により生産される(図2)。一酸化窒素(NO)は、運動時のパフォーマンスに貢献することが知られているが、これはアルギニンから合成される(図2)。eFP(上述)から、ADC > OAT > OTCの量比で、塩ストレスにより遺伝子発現が誘導されることが分かる(図

2)。塩ストレス下においては、植物は根圏からの水分吸収が困難になり、この点から塩ストレスは乾燥ストレスと類似する。したがって、乾燥ストレスによりアグマチンやポリアミンが増え、乾燥ストレスの緩和により、アルギニンは分解され難くなり、NOが生産され得る。また、オルニチンは大幅に増加し、その結果シトルリンも増えることが見込まれる。このように、水分補給の管理による乾燥ストレスの誘導により、農作物中の機能性成分の量比を制御することが期待できる。

γ-アミノ酪酸 (GABA)

GABAの生理活性作用として、特定保健用食品では、血圧の上昇を穏やかに抑える機能があり、機能性表示食品では、これに加えてストレスを軽減する旨を表示できる。GABAは微生物を用いた発酵法により供給されているが、植物ではトマト、なす、じゃがいも、発芽玄米、みかんに多く含まれる。KEGG(上述)において、GABAは「アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸代謝系」として表示される(図3)。すなわち、GABAはTCA回路の2-オキソグルタル酸とグルタミンからグルタミン酸が生成されるとグルタミ

ン酸デカルボキシラーゼ (GAD) によってグルタミン酸の脱炭酸反応が行われ合成される。一方、GABAは分解されるとコハク酸セミアルデヒドを経てコハク酸となり、TCA回路に戻る。GABA代謝にかかわる遺伝子の発現情報の取得方法は、(1) KEGGのGABA代謝経路にある緑色の酵素名をクリックし、AGIコードを取得する。(2) TAIRにおいて登録されているAGIコードを検索する。(3) 検索結果から目的のAGIコードをクリックする。以上の操作によって対象の遺伝子の様々な情報を得ることができるようになる。ここでは、「External Link」にある「eFP Browser」から、対象となる遺伝子の発現情報を得た。このようにしてGABA代謝にかかわる遺伝子の発現情報を解析したところ、非生物的ストレス下で様々な影響を受けていることを見いだした。

図3に示すように、GABA合成の第一段階を触媒するグルタミン酸シンターゼ (GLT) は、3~4時間の熱ストレス、12~24時間の浸水ストレスと12~24時間の塩ストレスによって増加する。次に、GABAを合成するグルタミン酸デカルボキシラーゼ遺伝子 (GAD) の発現は、長時間の低温ストレスや、

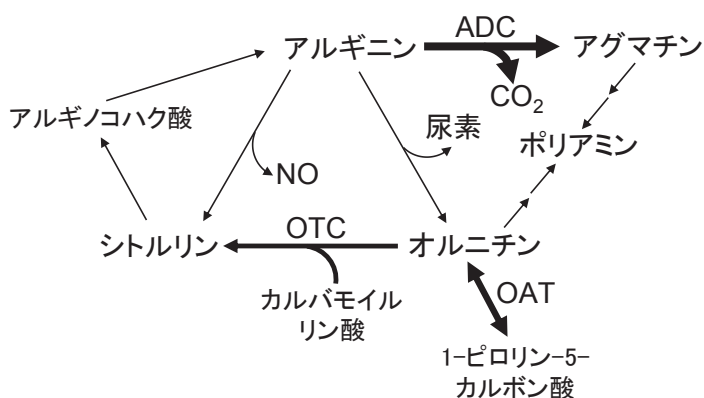


図2 アルギニン関連代謝系と各種酵素遺伝子発現の塩および乾燥ストレス誘導

代謝経路には代表的代謝産物のみ示されている。矢印の太さは、誘導の程度を示す。
 ADC: アルギニン脱炭酸酵素 OTC: オルニチントランスカルバミラーゼ
 OAT: オルニチンアミノトランスフェラーゼ

短時間の塩ストレス、傷害ストレス下において増加する。さらに、GADの発現は、短時間の熱ストレスでは増加するが、6時間以上になると半減する。以上の条件によってGABAの蓄積が期待できる。一方、GABAの蓄積を妨げるグルタミン酸からピロリンカルボキシレイト (P5C) の合成反応とGABAの分解反応は、6時間の低温ストレスにより抑制される。しかし、これらの遺伝子発現は障害、浸水、塩ストレスによって増加するため、GABAが蓄積するためには、栽培時に熱、浸水や塩ストレス下で生育させ、収穫直前あるいは収穫後に短時間の低温処理を行うことが必要となる。

カロテノイド

上述のGABAと同様の方法を用い、カロテ

ノイド代謝経路について、栽培時ストレス条件における遺伝子発現データを解析した。植物由来の機能性成分であるカロテノイドは総称であり、血中HDL (善玉) コレステロールを増やす機能はリコピン、目の調子を整える機能はルテインとゼアキサンチン (両者は異性体)、骨代謝の働きを助ける機能はβ-クリプトキサンチンとして知られている。これらは、特定保健用食品や機能性表示食品に含まれている²⁾。

リコピンおよびβ-クリプトキサンチンが蓄積する条件を図4Aに示した。これによるとリコピン合成系が亢進する条件は、低温処理を3~6時間行ったときのみである。また、この条件下においてLYC発現量が増加し、LUT1のそれは低下することから、リコピンからルテイン合成よりも、β-カロテン合成

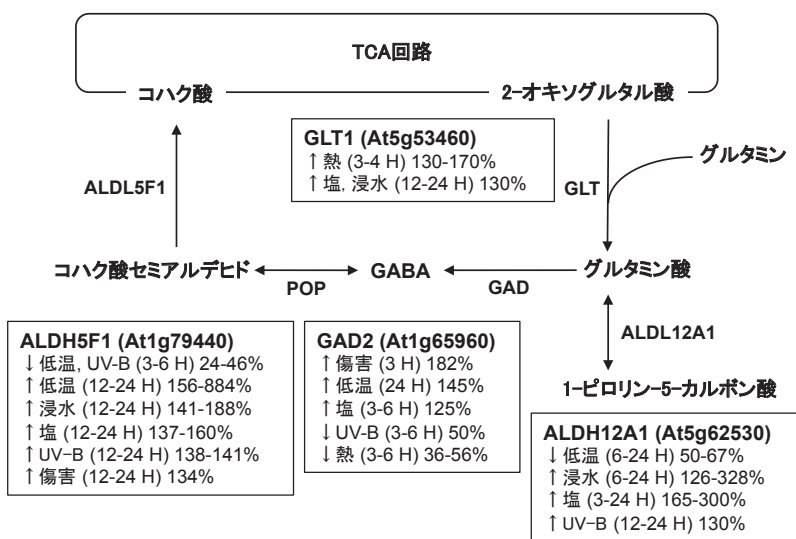


図3 栽培時のストレスによるγ-アミノ酪酸 (GABA) 代謝酵素遺伝子の発現制御

GABAはグルタミン酸から合成され、さらに代謝されるとコハク酸となりTCA回路に回収される。グルタミン酸の合成は、熱、塩、および浸水の各ストレスによって増大する。GABAの合成は、傷害、低温と塩の各条件によって増加し、UV-Vや熱によって低下する。また、GABAの分解は、低温、塩、および浸水の長時間 (12~24時間) ストレスによって進行する。これらのことから、グルタミン酸の蓄積を期待し、まず、熱、塩、あるいは浸水の処理を行った後に、短時間の低温処理を実施することによって、GABAの蓄積が期待できる。

H: 時間 ↓: 0時間に対して低下 (<100%)、↑: 0時間に対して増加 (>100%)

GLT: グルタミン酸シターゼ

ALDH5F1: コハク酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ

GAD: グルタミン酸デカルボキシラーゼ

ALDH12A1: アルデヒドデヒドロゲナーゼ

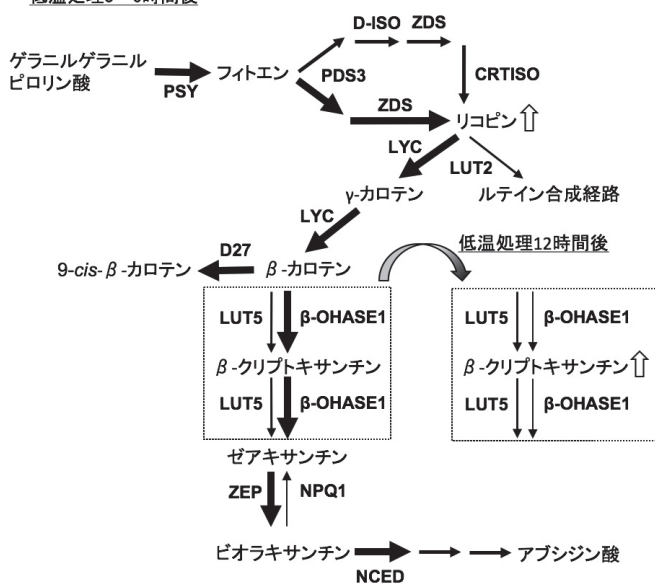
POP: ピリドキサルリン酸依存型トランスフェラーゼ

に向かうと考えられる。さらに、D27とZEPが増加していることから、 β -カロテンとゼアキサントンの分解が進むと予測される。温州ミカンにおいて β -クリプトキサントンの高蓄積する理由として、 β -カロテン合成遺伝子の高発現に加え、 β -カロテンおよびゼアキサントンの分解にかかわる遺伝子の高発現によることが明らかになっている³⁾。したがって、3～6時間の低温処理により、 β -クリプトキサントンの蓄積が期待できる。しかし、 β -カロテンから β -クリプトキサントンを介してゼアキサントンに変換する酵素である β -OHASE1の発現が増加していることから、低温処理3～6時間においては、 β -

クリプトキサントンの蓄積はわずかであると推定される。一方、低温処理を12時間以上行うと、 β -OHASE1の発現が半減することから、12時間程度の低温処理により、 β -クリプトキサントンの蓄積が期待される。

次に、ルテインが蓄積する条件を図4Bに示した。これによると塩ストレス3～6時間では、LUT2と β -OHASE2の発現が上昇している。したがって、リコピンからルテイン合成に向かう経路が活性化されると考えられる。TAIRには、各遺伝子に対するシロイヌナズナ変異系統の表現型の情報が、文献情報に基づいて引用されている。それによると β -OHASE2が機能しなくなった遺伝子破壊系

A リコピンおよび β -クリプトキサントンの蓄積条件
低温処理3～6時間後



B ルテインの蓄積条件
塩ストレス3～6時間後

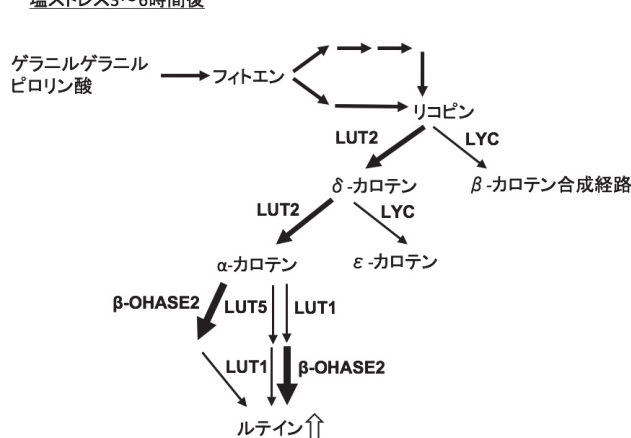


図4 低温ストレスおよび塩ストレス下におけるカロテノイド合成系の遺伝子発現

A 低温処理を3～6時間行うと、PSY、PDS3、ZDSの遺伝子発現が増加するため、リコピン蓄積が期待される。また、LUT2よりLYCが誘導することから、 β -カロテン合成が促進する。 β -クリプトキサントンの蓄積する条件として、(1) β -カロテン合成の亢進、(2) β -カロテンおよびゼアキサントンの分解の促進、(3) LUT5/ β -OHASEの低下を満たすのは、低温ストレス12～24時間である。B 塩ストレス1～3時間後に、LUT2と β -OHASE2が上昇している。TAIRにおける β -OHASE2の情報では、 β -OHASE2はルテインの蓄積に関与することから、塩ストレスを数時間かけることによってルテインの蓄積が期待される。矢印の太さは、誘導の程度を示す。

PSY: フィトエンシターゼ
ZDS: ζ -カロテンデサチュラーゼ
CRTISO: カロテノイドイソメラーゼ
LYC: リコピン- β -サイクラーゼ
LUT5: β -リングヒドロキシラーゼ
ZEP: ゼアキサントニンエポキシダーゼ
D27: β -カロテンイソメラーゼ

PDS3: フィトエンデサチュラーゼ
Z-ISO: ζ -カロテンイソメラーゼ
LUT2: リコピン- ε -サイクラーゼ
LUT1: カロテン- ε -モノオキシゲナーゼ
 β -OHASE: β -カロテンヒドロキシラーゼ
NPQ1: ノンフォトケミカルクエンチング
NCED: 9-*cis*-エポキシカロテノイドジオキシゲナーゼ

統において、ルテイン蓄積は10%程度に減少している。このことから、 β -OHASE2の増加によってルテインが蓄積すると推察できる。以上のようなデータベースからの情報により、塩ストレス下、すなわち水不足条件下において、ルテイン蓄積量が上昇すると予測される。

おわりに

ここで紹介したように、植物のゲノムプロジェクトにより蓄積されたビッグデータを活用することにより、各種農作物において、それぞれの機能性成分を高蓄積するための栽培管理条件が提示できる。なお、実用化には、この提示を基にした圃場での栽培管理、および農作物の成分分析を伴う実証が必要である。ヒトに代表される動物のゲノムプロジェクトの成果は、医療に活用され、主たる死因であるがん、心疾患、脳血管疾患の予防や治療に活用されてきた。また、個人の体質に合った医療、さらに胎児の遺伝子診断などにも利用

されている。それに対し、植物のゲノムプロジェクトの成果の社会への還元は、大きく後塵を拝してきた。植物ゲノムプロジェクトに由来するデータは、本シリーズで紹介された「食品のおいしさと健康にかかわるデータサイエンス」のデータベースと統合することにより、その有効性・実行性をさらに強大とし、高レベルのビッグデータに成長し得る。ここに至って、植物ゲノムプロジェクトの成果は、データサイエンスを介して、漸く実社会に貢献するまで成熟してきたと言えよう。

参考文献

- 1) 林登志雄: 動脈硬化症とアルギニン, シトルリン. 生化学, 86, 352-359, 2014
- 2) 矢賀部隆史, 宮下達也, 吉田和敬, 稲熊隆博: 野菜と果物の色に宿るチカラ: 野菜や果物に含まれるカロテノイドと疾病の予防, 改善. 日薬理誌 (*Folia Pharmacol. Jpn.*), 141, 256-261, 2013
- 3) 生駒吉識: 柑橘の機能成分カロテノイドの代謝生理と制御. 日本農学アカデミー会報, 23, 12-20, 2015 http://www.academy.nougaku.jp/annual%20report/kaiho23/3_rondan.pdf