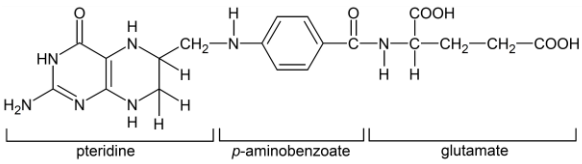
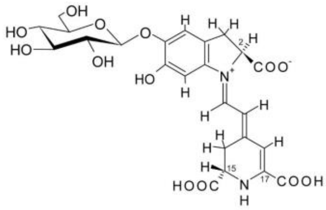
# 野菜工場へのマルチオミックス解析の展開
## ―胎児脳発達や抗酸化機能を持つ野菜の開発に成功―

**概要**

　京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻の植田充美 教授、青木航 同助教、渡辺祥 同修士課程学生（研究当時、現：アサヒビール株式会社勤務）ならびに大谷優太 同博士課程学生は、三菱ケミカル株式会社との共同研究により、年間に十数回収穫できる水耕栽培系で、代謝工学とマルチオミックス解析を活用して新しい機能性野菜の開発に成功しました。この機能性野菜は、遺伝子組み換え技術を用いずに市場流通できるような、液肥で調製できる栄養価の高いものです。本研究では、胎児の脳の発達を促進する葉酸リッチな機能性ホウレンソウと、これまでにない強い抗酸化機能が推定されているベタシアニンリッチな赤茎ホウレンソウを開発しました。

　本研究のうち、葉酸リッチなホウレンソウの開発については 2017 年 6 月 6 日に農学の国際学術誌「Journal of Agricultural and Food Chemistry」にオンライン掲載されました。また、ベタシアニンリッチな赤茎ホウレンソウの開発については 2018 年 9 月 8 日に米国の学術誌「PLOS ONE」にオンライン掲載されました。



（左）水耕栽培ホウレンソウ（三菱ケミカル社）と葉酸の化学式

（右）水耕栽培された赤茎ホウレンソウとベタシアニンの化学構造

## １．背景

機能性食品とは、科学的根拠を基に健康の維持や増進などに役立つ成分を効率よく摂取できるように開発された食品のことをいいます。従来、作物への栄養成分強化を目的とした研究が多く報告されていますが、これらの手法は主に遺伝子組み換え技術を用いています。しかしながら本国では厳しい規制により、一般に流通までは至っていません。そこで本研究では、既に確立されている三菱グループの水耕栽培系を用い、その液肥の成分調整によって栄養価の高い新規機能性ホウレンソウの開発を試みました。（図 1）

## ２．研究手法・成果

### ⑴ 葉酸リッチなホウレンソウの開発

ヒトは葉酸を合成できないため、食物からの摂取が必要とされています。葉酸はビタミン B 群に属し、赤血球の産出やアミノ酸の代謝あるいは核酸（DNA や RNA）の産生に重要な機能を有しています。食物に含まれる葉酸量は非常に少量であり、推奨される葉酸量（一般成人は 240 μg/日、妊婦の場合は胎児の脳の発達に関与するため 440 μg/日が求められる）を摂取することは困難です。そこで、サラダホウレンソウの水耕栽培技術を用いて、葉酸を多く含むホウレンソウの開発を試みました。

図 2 に示す戦略に基づいて候補化合物（グルタミン酸、マグネシウムイオン、フェニルアラニン）をそれぞれ液肥に添加し、ホウレンソウを栽培したところ、フェニルアラニンを添加した条件で通常の約 2 倍の葉酸量を確認しました（図２、3)。また、フェニルアラニンの濃度、添加回数を調節することで最適なフェニルアラニン添加条件を探索しました。さらに、生合成経路における中間代謝物の増加から、フェニルアラニンの添加が生合成経路の活性化を誘導したことが示唆されました。

### ⑵ ベタシアニンリッチ赤茎ホウレンソウの開発

植物が合成する色素成分は抗酸化力を高め、ガン細胞の増殖抑制などにも有用な機能を示す二次代謝産物として注目を浴びています。本研究では、赤茎ホウレンソウに含まれる赤色色素成分の一部同定を行い、色素成分の強化を行いました。赤茎ホウレンソウより抽出した赤色色素について、UV（紫外）検出及び MS（質量分析計）のスキャンモードを用いて化合物の検出を行ったところ、ベタシアニン系の化合物であることが推定されました（表１)。次にベタシアニン量の増加に寄与すると期待できる化合物（チロシン、ドーパミン、カルシウムイオン、スクロース）をそれぞれ液肥に添加してホウレンソウを栽培したところ、スクロースを添加した条件で通常の約 5.0 倍のベタニンが含まれていることを確認しました（図 4)。

## ３．波及効果、今後の予定

野菜工場の大量安価な栽培システムの活用により、液肥にフェニルアラニンを添加するだけで最大で約 2.0 倍のホウレンソウの葉酸リッチ化を達成しました。さらに、スクロースを添加するだけで、最大で約 5.0 倍のホウレンソウのベタニンリッチ化を達成しました。これらは、代謝工学のこれまでのデータの蓄積活用と、我々の推進しているバイオテクノロジーにおけるマルチオミックス解析手法の融合による成果です。この手法は、これからの食用野菜の育種に大いに活用でき、一般市場への新しい高付加価値食品の展開に貢献できると考えています。

## 4．研究プロジェクトについて

本研究は、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻と三菱ケミカルとの共同研究によるものです。

**＜論文タイトルと著者＞**

**<u>葉酸リッチなホウレンソウの開発</u>**

タイトル：Folate biofortification in hydroponically cultivated spinach by the addition of phenylalanine

著　　者：S. Watanabe, Y. Otani, Y. Tatsukami, W. Aoki, T. Amemiya, Y. Sukekiyo, S. Kubokawa, M. Ueda

掲 載 誌：Journal of Agricultural and Food Chemistry　DOI：10.1021/acs.jafc.7b01375

**<u>ベタシアニンリッチ赤茎ホウレンソウの開発</u>**

タイトル：Detection of betacyanin in red-tube spinach (Spinacia oleracea) and its biofortification by strategic hydroponics

著　　者：S. Watanabe, Y. Otani, W. Aoki, Y. Uno, Y. Sukekiyo, S. Kubokawa, M. Ueda

掲 載 誌：PLOS ONE　DOI：未定

**＜お問い合わせ先＞**

植田充美（うえだ・みつよし）

京都大学大学院農学研究科 応用生命科学専攻 応用生化学講座 生体高分子化学分野 教授

Tel：075-753-6110　Fax：075-753-6112

E-mail：miueda@kais.kyoto-u.ac.jp

**＜参考図＞**

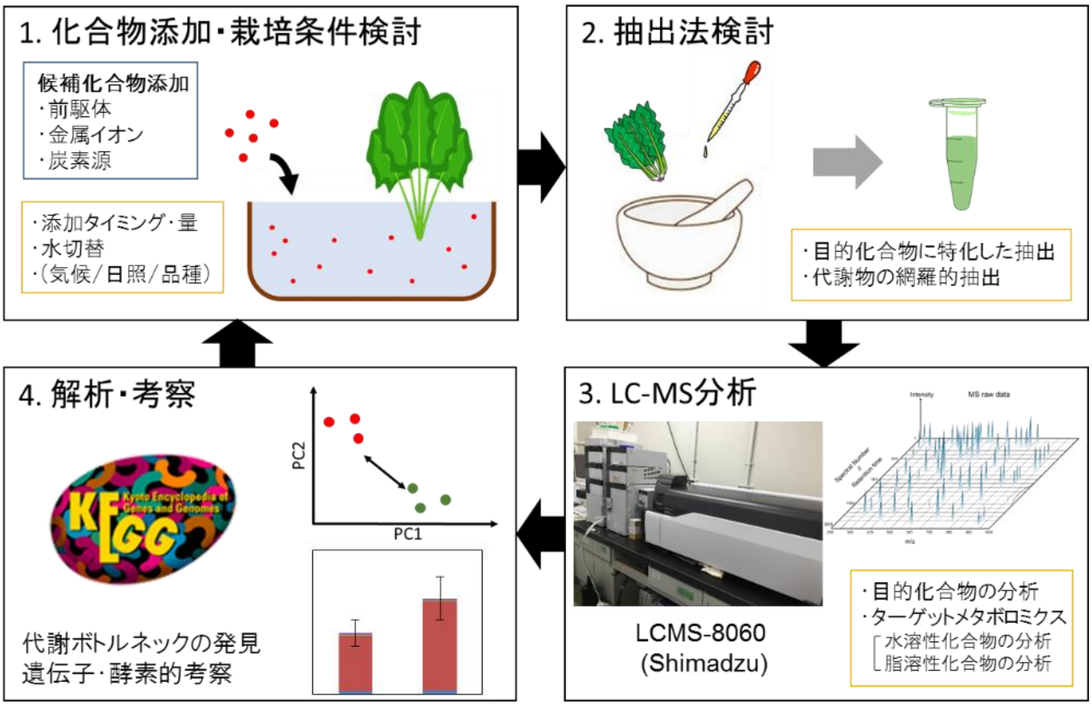



**図 1.** 研究のワークフロー

**戦略①：前駆体の投与**
**（Glutamic acid）**
**戦略②：金属イオンによる酵素の活性化**
**（$Mg^{2+}$）**
**戦略③：フィードバック制御による葉酸合成量の増大**
**（Phenylalanine）**

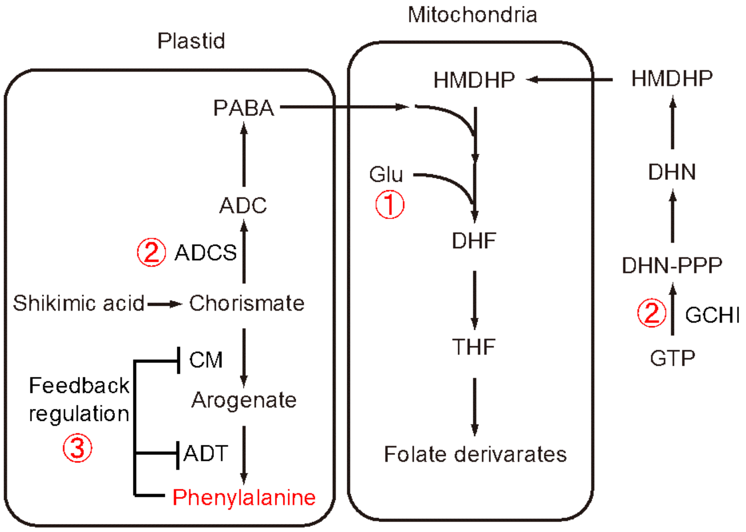



**図 2.** 葉酸富化戦略

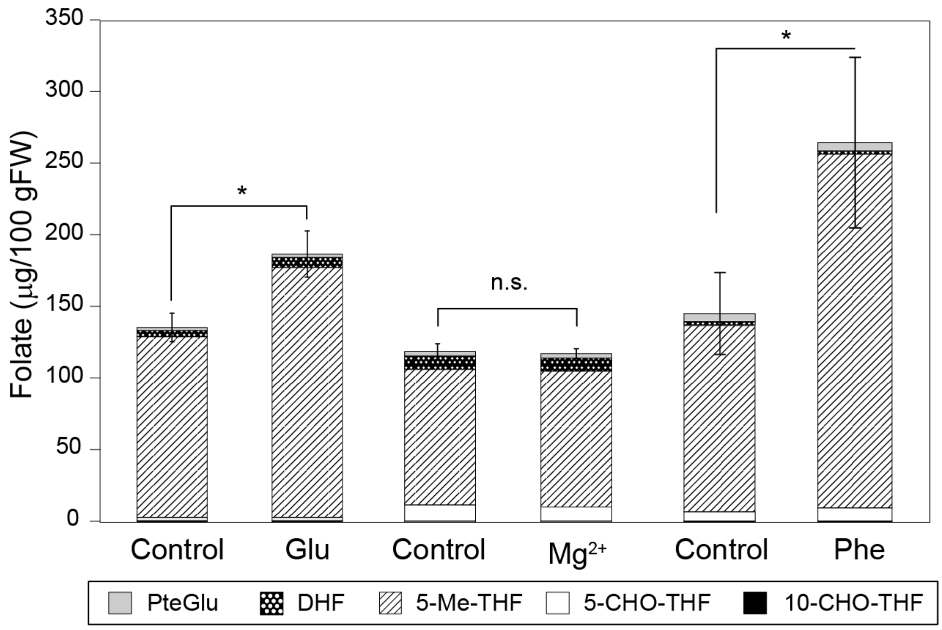



**図 3.** 葉酸類の定量

※1 GTP, triphosphate; DHN, dihydroneopterin; DHN-PPP, dihydroneopterin triphosphate; HMDHP, hydroxymethyldihydropterine; DHF, dihydrofolic acid; THF, tetrahydrofolic acid; PABA, para-aminobenzoic acid; ADC, aminodeoxychorismate; ADCS, aminodeoxychorismate; CM, chorismate mutase; ADT, arogenate dehydratase; Glu, glutamic acid; Phe, phenylalanine; PteGlu, pteroylmonoglutamate folic acid; 5-Me-THF, 5-methyltetrahydrofolic acid; 5-CHO-THF, 5-formyltetrahydrofolic acid; 10-CHO-FA, 10-formylfolic acid.

※2 葉酸はメチル化（-Me)及びカルボキシル化（-CHO)など様々な形態で存在する。各葉酸類をそれぞれ定量した合算値を葉酸量として表示する。

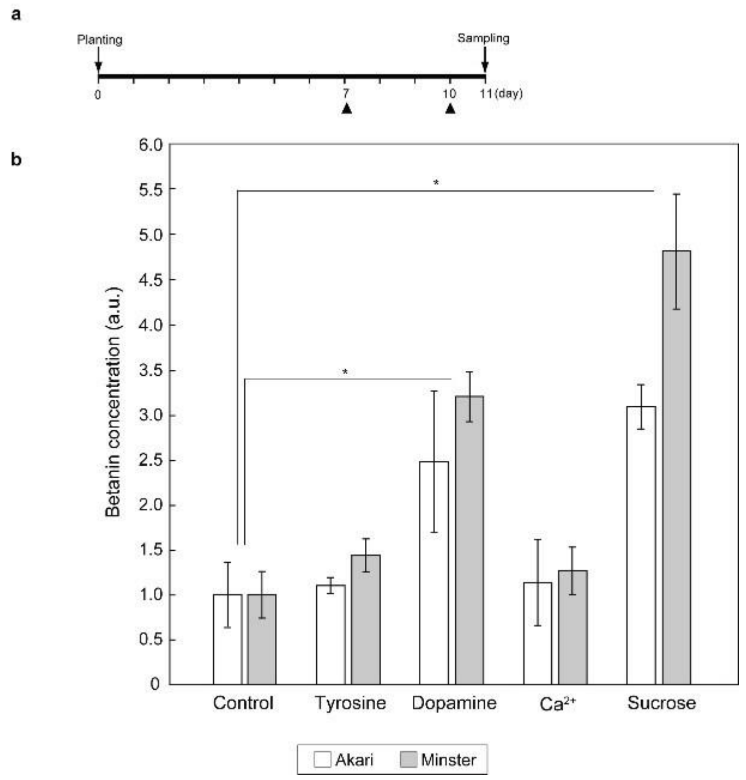



**図 4.** ベタシアニン定量測定

| No. | Compound | RT [min] | m/z [$M+H^+$] |
|---|---|---|---|
| 1 | 17-Decarboxy-betanin | 2.5 | 507 |
| 2 | 17-Decarboxy-isobetanin | 3.0 | 507 |
| 3 | Betanin | 3.4 | 551 |
| 4 | 2-Decarboxy-isobetanin | 3.6 | 507 |
| 5 | 2-Decarboxy-betanin | 3.9 | 507 |
| 6 | Isobetanin | 4.5 | 551 |

**表 1.** 推定されたベタシアニン化合物