

平成 29 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	レタスの硫化水素誘導性アントシアニン蓄積機構の解析	
研究者所属・氏名	研究代表者： 生物理工学部 生物工学科・坂本勝	

1. 研究目的・内容

近年、硫化水素が動植物における新たなシグナル因子として機能するとの報告がなされているが、植物の色素蓄積における役割は明らかになっていない。そこで本研究では、レタスのアントシアニン蓄積における硫化水素の役割を明らかにするために、硫化水素発生剤の NaHS を用いて、アントシアニン蓄積時における硫化水素の影響を調査した。

2. 研究経過及び成果

水耕栽培用ウレタンキューブに赤色系リーフレタスレタスレッドウエーブの種子を播種し、150PPFD、16 時間明期の光条件で 14 日間栽培を行った。播種 7 日後以降は、大塚 A 処方 1/2 倍培養液で生育させた。この苗をプラントボックス内に移行し、150PPFD、16 時間明期の光条件で硫化水素発生剤 NaHS を 1mM で処理したところ、NaHS 処理後 2 日目のレタス第 3 葉で、アントシアニンの着色とみられる赤色色素の蓄積が所々に認められた。一方、NaHS を処理しないコントロール区では、赤色系リーフレタスにもかかわらずほとんど着色は認められなかった。よって、NaHS に処理によるアントシアニンの蓄積は、硫化水素によるストレス応答反応であることが考えられた。

次に、レタスのアントシアニン蓄積時に硫化水素がどのような影響であるかを調査した。まず、人工栽培環境下で人為的に着色を促進させる条件について検討した。その結果、播種 14 日目のレタス苗を水耕栽培培養液（大塚 A 処方 1/2 倍）から水に置換し、1 週間 150PPFD、16 時間明期の光条件で栽培することで、葉全体にアントシアニンの蓄積が強く誘導されることを確認した。次に、この条件下での NaHS の処理濃度の検討を行った。プラントボックス内で 1 週間継続して栽培したところ、培養液の水置換によるアントシアニンの蓄積は抑制され、葉に過湿によるものと考えられるダメージが認められたため、プラントボックス内での NaHS の継続的な処理は不適であると考えられた。そこで、一時的にプラントボックス内で NaHS 処理を行い、その後通常の水耕栽培条件下で育成させる方法を検討した。その結果、レタス苗を NaHS が入ったプラントボックス内で 2 時間培養しその後水耕栽培に移行させると、コントロール区ではレタス葉の明確な着色が認められたのに対し、NaHS 処理区では、着色が抑制されることが明らかとなった。また、NaHS の濃度を 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mM と変えて処理を行ったところ 2.0 mM 処理時に最も着色が抑制された。さらに、NaHS の処理回数について検討した。播種 14 日目のレタス苗を 1 日目のみ 2 時間、1,2 日目に 2 時間、1,2,3 日目に 2 時間、1-5 日目に 2 時間、2 mM NaHS 処理を行ったところ、1,2,3 日目に 2 時間処理を行えば、水置換一週間後の葉のアントシアニン着色をほぼ抑制できることが明らかとなった。

次に培養液の水置換により誘導されるアントシアニンと総フェノールの定量を行った。その結果、水置換 1 週間後のレタス葉では、アントシアニンと総フェノール含量が有意に増加していた。よって、培養液の水置換は、レタスの抗酸化物質の生産を誘導する、すなわち酸化ストレス応答反応を引き起こすと考えられた。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

今後は、今回明らかになった、硫化水素が水置換による赤色系レタスのアントシアニン蓄積抑制現象に関して、アントシアニンや総フェノールなどの定量的な調査を行う。また、硫化水素は、抗酸化シグナルを活性化させることが様々な植物の様々な組織で明らかとなっている。そこで、本研究で見いだされたアントシアニン蓄積の抑制現象にも抗酸化シグナルの活性化が関与しているかを調査する。具体的には、活性酸素除去酵素である **superoxide dismutase** や **ascorbate peroxidase**、**catalase** などの酵素活性の測定やアスコルビン酸やグルタチオンなどの抗酸化物質の定量、**DPPH** などの抗酸化活性の測定を検討している。これらの結果を通じて、レタスのアントシアニン蓄積現象における抗酸化シグナルを介した硫化水素の影響について明確にする予定である。さらに、今回確立した処理方法を用いて、今後他の生理的現象における硫化水素の役割について解明する計画である。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)