

## 隠岐・宍道湖・中海周辺の生物多様性調査 —絶滅危惧種オニヒョウタンボクの分子系統学的研究のサポートと機能性米の開発—

生物科学科 教授

赤間 一仁

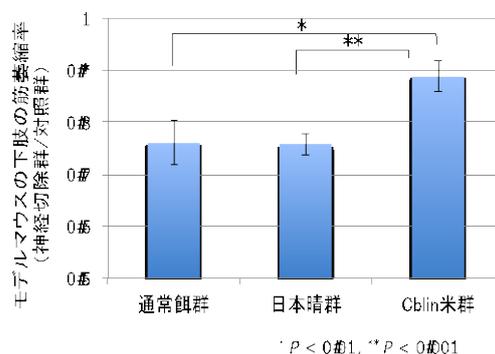
**目的** 本研究は以下二つの研究目的を達成するために行った：

1. スイカズラ科スイカズラ属のオニヒョウタンボクは絶滅危惧種に指定されており、日本国内では限られた地域に生育し、島根県内では隠岐諸島でのみ確認されている。広島県帝釈峡と隠岐諸島のものとの系統的な関係を解明するためにオルガネラ DNA の部分的な塩基配列の比較解析を行った。
2. 平成 25 年島根県の高齢化率（65 歳以上の人口比率）は 30.9%であり、全国平均（25.1%）よりも 5%以上高い。65 歳以上の要介護者数は年々増加しており、その約 2 割は「寝たきり」と推定されている。寝たきり状態は廃用性筋萎縮を引き起こし、リハビリ以外に効果的な治療法はない。本研究では通常の米飯食による食事療法により寝たきりを改善することを目的として進めた。

### 研究成果

1. Demesure *et al* (1995)に従って、葉緑体とミトコンドリア DNA の特定の領域を増幅するためのユニバーサルプライマーを Operon 社に外注した。隠岐と広島産の合計 10 個体から全 DNA を抽出して、PCR を行った。増幅をアガロース電気泳動により確認後、サンガー法により塩基配列を決定した。葉緑体は *trnL* (UAA) と *trnF* (GAA) に挟まれた約 300 bp を、ミトコンドリアは *NAD1* と *NAD4* のイントロン配列、及びリボソームタンパク質 S14 とアポチトクローム b の遺伝子間領域、それぞれ 1,550 bp, 1,700 bp, 1,640 bp を決定した。比較解析の結果、少なくともこれらの配列からは隠岐と広島でオニヒョウタンボクの集団内、集団間で多型は見られなかった。
2. 共同研究者である徳島大・二川健博士らにより同定された筋萎縮を抑制するペプチド Cblin を元にして実験を進めた。Cblin 塩基配列をタンデムに 15 回連結した人工遺伝子をイネの貯蔵タンパク質グルテリン遺伝子に挿入し、種子特異的なプロモーター下流に連結した。定法に従って、形質転換イネを作出した。収穫した種子を脱穀・粉砕した玄米粉（Cblin 米）を筋萎縮モデルマウスに 1 週間投与した。コントロール食との比較で、Cblin 米投与群は下肢の筋萎縮が有意に抑制されていた（図）。血液成分の MS 分析により、Cblin 様ペプチドが検出された。これは機能性米の投与によって、効果が確認され、血液中にその機能性成分（ペプチド）が初めて検出された報告になる（*Nature Biotech.*, in preparation）。

図 筋萎縮マウスを用いた Cblin 米の機能性試験



### 社会への貢献

今回、県内では隠岐諸島にしか生育しないオニヒョウタンボクと広島産のものとの系統関係を分子レベルで明らかにすることはできなかった。今後、核ゲノムを含めて比較する領域を更に検討することで、

隠岐のオニヒョウタンボクの分子系統学的な位置づけが明らかになるものと期待される。

Cblin 米はマウスを用いて筋萎縮抑制効果が検証された。島根県のみならず、高齢化が加速度的に進む日本にとって重要な治療食になる可能性がある。当研究室で開発した GABA 強化米は韓国で自然栽培し、収穫した米（白米粉）を高血圧自然発症ラットに対して投与した結果、6 週間で約 20 mmHg の血圧上昇の抑制効果が見られた（公表論文 1）。遺伝子組換え作物（食品）への理解はまだまだ進んでいないが、将来的には高機能性を付加した、新しい農作物として広く利用される余地はある。そして、中山間地域や離島を多く抱える島根県では次世代型農産業を育成するため有力なシーズになるものと期待される。

### 次年度に向けた検討状況

Cblin 米が含む機能性ペプチドの蓄積量を更に高めるために、翻訳エンハンサーをいくつか検討し、イネ形質転換実験を進める予定である。

### 公表論文

1. Kowaka E, Shimajiri Y, Kawakami K, Tongu M, Akama K (2015) Field trial of GABA-fortified rice plants and oral administration of milled rice in spontaneously hypertensive rats. *Transgenic Research* [Epub ahead of print]

### 学会発表等

1. Brikis, Carolyne J, Bajwa VS, Trobacher CP, Zarei A, Mullen RT, Akama K, Bozzo GG, Shelp BJ, Single and dual localization of plant glyoxylate/succinic semialdehyde reductases in the cytosol, plastid and mitochondrion. Plant Biology 2014 (Portland, USA), July, 2014
2. 赤間一仁・Barry Shelp. 様々なストレスに応答するイネ GABA 経路の機能解析. 第 32 回日本植物細胞分子生物学会（盛岡）大会，盛岡，（2014.8）
3. 松岡広基・永島聖也・大津浩三・赤間一仁・林蘇娟, 絶滅危惧種オニヒョウタンボク (*Lonicera vidalii*) の生育地調査と分類学的研究. 日本植物学会第 78 回大会，川崎，（2014.9）
4. 赤間一仁・Barry Shelp, イネ GABA 経路を構成する酵素群のユニークな特性と組換えイネを用いた機能解析の試み, 第 37 回日本分子生物学会年会，横浜，（2014,11）
5. 北畑香菜子・越智ありさ・中尾玲子・安倍知紀・真板綾子・近藤茂忠・赤間一仁・二川健, 廃用性筋萎縮を予防する高機能性米の開発. 第 29 回宇宙環境利用シンポジウム，相模原，（2015.1）
6. 赤間一仁，島根大学生物資源科学部・生物多様性調査部門ミッション成果報告会，松江，（2015.3）
7. 赤間一仁・Barry Shelp, イネの GABA-T と GLYR のエキトピックな発現はストレス耐性能を植物体に付与するか? 第 56 回日本植物生理学会年会，東京，（2015,3）

### 受賞等

### 外部資金

1. 平成 26 年度クマイ化学工業（株）との共同研究「GABA を高蓄積する遺伝子組換えイネの実用化に関する共同研究」（代表）
2. 科学研究費補助金（基盤研究 C）「様々な環境ストレスに応答するイネ GABA 経路の機能解明と分子育種への展開」（代表，H26～H28）