

## 年次計画

平成29年度	
目 標	<p>①「フレキシブル植物工場システムを用いた伝承野菜である尾上菜の系統解析と生理活性の評価による植物イノベーション」 フレキシブル植物工場を新たに設計し、これを整備することで、本申請研究を遅滞なく行うために必要な施設を構築すると共に、構築した装置で各系統の尾上菜を栽培し、系統ごとの形態、表現型、食味、自家不和合性などを評価する。</p> <p>②「フレキシブル植物工場で栽培したアイスプラントに含まれる生理活性の評価による食品イノベーション」 アイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質や抗酸化活性を持つ化合物を簡便に測定する生物検定系を構築し、これらを用いた生理活性物質の単離・同定を行う。</p> <p>③「カルノシン酸高含有セージの栽培法確立による医薬品イノベーション」 カルノシン酸蓄積量を評価するための分析法を構築すると共に、フレキシブル植物工場においてカルノシン酸を高蓄積する栽培条件を確定する。</p>
実 施 計 画	<p>本申請事業を実施するために必要なフレキシブル植物工場を設計し構築する。フレキシブル植物工場の照明としては、我々が開発した新規HEFL光源を用いるが、必要に応じて、単波長での実験に対応できるLED照明も検討する。</p> <p>①尾上菜の系統解析と生理活性の評価 ・尾上地区の各農家から提供された種子をフレキシブル植物工場で栽培し、各系統における形態、表現型、食味、自家不和合性の有無（強弱）などを評価する。 ・表現型が同等と判断された系統の集団交雑を複数回行い、遺伝的多様性が比較的均一な表現型集団を作製する。</p> <p>②アイスプラントに含まれる生理活性の評価 ・様々な条件で栽培したアイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質を定量するために、本学で新たに構築した検定系を用いて、様々な条件で栽培したアイスプラントにおいてこの活性がどのように変化するかを詳細に調べる。 ・植物体から活性物質を精製する。また、抗炎症活性を測定する系を用いて、アイスプラントに含まれる抗炎症活性物質の精製も検討する。</p> <p>③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立 ・本学で構築したカルノシン酸分析系を用いて、フレキシブル植物工場において温度、照明、養液などの条件を細かく変化させて栽培した、コモンセージ、クラリセージ、ホワイトセージのカルノシン酸量を定量する。</p>
平成30年度	
目 標	<p>①表現型を指標として分類した尾上菜各系統内の個体間の遺伝的相同性を調べると共に、各系統内に存在する自家不和合性を制御するS遺伝子型についても解析を行う。</p> <p>②アイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質や抗炎症活性を持つ化合物を実際にアイスプラントからカラムクロマトグラフィなどを駆使して精製し、これら物質の構造解析を行う。</p> <p>③各種セージやローズマリーがカルノシン酸を高蓄積する条件を確定すると共に、この条件で栽培した植物体におけるメタボロームやトランスクリプトームによりカルノシン酸合成や代謝経路について解析する。同時に未だ確立されていないセージの組織培養を目指し、脱分化と再分化系の確立も目標とする。</p>

<p style="text-align: center;"><b>実施計画</b></p>	<p>①尾上菜の系統解析と生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・表現型を指標として分類した尾上菜各系統内の個体を、本学に既設の次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析または系統間差異の大きい領域の解析を行う。得られたデータに基づいて表現型と遺伝子型との相関などについて本学で開発した新たなアルゴリズムなどを駆使して調べる。</li> <li>・アブラナ科植物の自家不和合性は雌しべ側因子であるSRKと雄しべ側因子であるSP11の配列特異的な結合とタンパク質リン酸化によって制御されていることが知られている。そこで、次世代シーケンサーで得られた全ゲノムデータからこれら二つの遺伝子の配列を調べ、各個体のS遺伝子型を同定し、その遺伝子型に依存した自家不和合性を交雑により確認する。</li> </ul> <p>②アイスプラントに含まれる生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・アイスプラントに含まれる脂肪代謝促進物質と抗炎症活性物質の精製を引き続き行う。精製物の構造解析については、本申請研究で購入予定のオービトラップ質量分析系と共に、本学既設のNMRやイオントラップ型MS/MS、GC-MSなどを用いることで可能である。また、活性物質を多く含む栽培条件と通常の栽培条件で栽培したアイスプラントにおける各遺伝子の発現量をRNA-seq解析により明らかにし、この物質の蓄積に関わる遺伝子を同定する。</li> </ul> <p>③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・カルノシン酸高蓄積に関わる遺伝子の発現量を指標としたカルノシン酸高蓄積栽培条件の検討を新たに行う。</li> <li>・各条件で栽培したローズマリーやセージにおける代謝産物のプロファイリングをオービトラップ質量分析計によるメタボローム解析と統計的な解析によって調べる。同時に、各条件で栽培した植物種の遺伝子発現についてRNA-seqによって明らかにし、カルノシン酸の代謝経路とカルノシン酸蓄積の律速酵素に関する解析を行う。</li> <li>・カルノシン酸の生合成遺伝子の高発現株や代謝遺伝子のノックアウト株等を作製することも考え、これらセージにおける脱分化と再分化、組織培養法などについて検討する。</li> </ul>
<p><b>平成31年度</b></p>	
<p style="text-align: center;"><b>目標</b></p>	<p>①遺伝的に均一な系統のメタボロミクス解析を行い、食味と代謝産物との相関性についてのデータを得る。また、異なるS遺伝子型をホモで持つラインを確立し、F1ハイブリッド作製の準備を開始する。</p> <p>②同定した脂肪代謝促進物質と抗炎症活性が実際の動物においても活性を示すかどうかを動物実験で明らかにする。</p> <p>③フレキシブル植物工場においてカルノシン酸を高蓄積する条件を検討する。また、各セージの遺伝子組換え法についても確立する。</p>
<p style="text-align: center;"><b>実施計画</b></p>	<p>①尾上菜の系統解析と生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・遺伝的に均一な系統内におけるメタボロミクス解析を行い、それぞれの遺伝系統に特異的に存在する代謝産物について特定する。</li> <li>・全ゲノム配列解析とS遺伝子型解析によって明らかになった様々なS遺伝子型ハプロタイプを持つ株を自家不和合性打破条件で自殖させ、各遺伝子型をホモで持つ個体を選抜する。</li> </ul> <p>②アイスプラントに含まれる生理活性の評価</p> <p>脂肪代謝促進物質が実際の動物において脂肪代謝促進活性を有するかどうかを調べるため、肥満モデルのマウスに本物質を経口投与し、実際に体重減少が認められるかを明らかにする。この時に、実際に脂肪細胞の分化や蓄積についても本学既設の動物専用CT等を用いて明らかにする。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・抗炎症活性を示す化合物についても、炎症モデルのマウスに経口投与することで、実際に炎症抑制作用があるかどうかを調べる。</li> </ul> <p>③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・セージをフレキシブル植物工場において温度、照明、肥料などの条件を細かく変化させて、各セージを栽培し、カルノシン酸を高蓄積する条件を検討する。セージにおける脱分化と再分化条件が確立したなら、アグロバクテリウム法などによる遺伝子組換え法についても検討を行う。</li> </ul>

平成32年度	
目標	<p>①遺伝的バックグラウンドが比較的均一で、食味や形態が良い優良系統の後代を作製する。また、それぞれのS遺伝子型をホモで持つ株の表現系、形態、食味、代謝産物プロファイリングを解析すると共に、優良F1雑種作製の可能性について検討を行う。</p> <p>②脂肪代謝促進物質と抗炎症物質を与えたマウスのトランスクリプトーム解析とメタボローム解析によって、活性の分子機構を明らかにする。</p> <p>③選定したマーカー遺伝子を指標にしたカルノシン酸高含有セージの最適栽培条件検定系を確立する。また、カルノシン酸やカルノシン酸高蓄積セージが神経軸索の成長に与える影響や脳虚血後の再還流における脳細胞のダメージ回復に与える影響、アルツハイマー型痴呆への影響についても明らかにする。</p>
実施計画	<p>①尾上菜の系統解析と生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>解析によって得た遺伝的バックグラウンドが比較的均一で、食味や形態が良い系統を一集団として、集団交雑を行うことで、優良系統の後代を作製する。</li> <li>それぞれのS遺伝子型をホモで持つ株の表現系、形態、食味などについて調べ、各ホモタイプに含まれる代謝産物についての知見をメタボロミクス解析により得る。</li> <li>各ホモ系統間同士で交雑を行い、得られたF1雑種における表現系、形態、食味、代謝プロファイルのデータを得て、優良形質を持ったF1雑種の作製を試みる。</li> </ul> <p>②アイスプラントに含まれる生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>脂肪代謝促進物質や抗炎症活性物質を与えたマウスのトランスクリプトーム解析とメタボローム解析を行うことで、活性の分子機構を調べる。</li> </ul> <p>③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>カルノシン酸生合成において重要となる遺伝子の発現を指標にしたカルノシン酸高含有するセージの最適栽培条件の検討も行う。</li> <li>カルノシン酸やカルノシン酸高蓄積セージを用いた動物実験を行い、神経軸索の成長に与える影響や脳虚血後の再還流における脳細胞のダメージに与える影響、アルツハイマー型痴呆への影響を調べる。</li> <li>カルノシン酸生合成律速酵素の高発現株やカルノシン酸代謝酵素のノックアウト株を作製し、カルノシン酸の蓄積量について調べる。</li> </ul>
平成33年度	
目標	<p>①尾上菜の優良系統の後代を得て、ゲノム配列やトランスクリプトーム解析、メタボローム解析によって、品質維持性を確定する。また、S遺伝子型のホモ株を用いたより優れたF1ハイブリッド個体についても作製し後代を得る。</p> <p>②脂肪代謝促進物質と抗炎症活性物質の急性毒性と慢性毒性などの安全性について知見を得ると共に、活性物質の効率的抽出法やサプリメント化についても検討する。</p> <p>③カルノシン酸高蓄積株やカルノシン酸代謝酵素のノックアウト株からカルノシン酸を効率的に精製する方法を確立する。</p>
実施計画	<p>①尾上菜の系統解析と生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>長浜市小谷城近辺の試験圃場において優良系統の後代を得て、ゲノム配列やトランスクリプトーム解析、メタボローム解析を行い、品質特性を確定する。優良系統として問題ないようであれば、尾上地区の農家や長浜バイオクラスターネットワークに参加している農業法人などを中心に優良系統種子と栽培方法を配布し、実際の商業栽培を開始する。</li> <li>優れた形質を持つ親株を自殖させそれぞれの遺伝子をほとんど同じとするアイソジェニックラインの作製を行う。アイソジェニック親株を交雑し、より優れたF1ハイブリッド個体を得る。</li> </ul> <p>②アイスプラントに含まれる生理活性の評価</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>脂肪代謝促進物質と抗炎症活性物質の急性毒性と慢性毒性について本学と専門機関において検討する。</li> <li>地元の企業と共同で、活性物質の効率的抽出法やサプリメント化を進め商品化についても検討する。</li> </ul> <p>③カルノシン酸高含有セージの栽培法確立</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>カルノシン酸生合成律速酵素の高発現セージやカルノシン酸代謝酵素のノックアウトセージからカルノシン酸を効率的に精製する方法を確立する。</li> <li>地元の企業と共同で、商品化についても検討する。</li> </ul>