

私立大学研究ブランディング事業 成果報告書

学校法人番号	251002	学校法人名	関西文理総合学園		
大学名	長浜バイオ大学				
事業名	フレキシブル植物工場システムと先端バイオ技術を基盤とした新たなグリーンイノベーション				
申請タイプ	タイプA	支援期間	3年	収容定員	960人
参画組織	バイオサイエンス学部、バイオサイエンス研究科				
事業概要	<p>本事業では、本学が構築したフレキシブル完全閉鎖型植物工場と本学が有する先端研究設備、トップレベルの研究技術を活用することで、長浜地域の伝承野菜である「尾上菜」の実用化技術の開発と長浜で生産されている脂肪代謝物質を含む「アイスプラント」とカルノシン酸を含有する「セージ」の高機能化技術の開発を行い、新たなグリーンイノベーションを長浜バイオ大学から発信することで、新事業展開や地域の産業振興に貢献する。</p>				
事業目的	<p>本事業では、本学が構築したフレキシブル完全閉鎖型植物工場と本学が世界に誇る研究設備と研究実績を活用することで、これまで全く注目されてこなかったびわ湖北部地域特産の植物素材を活用するための実用化技術の開発を行い、新事業展開に寄与する新技術・新製品の創出を目指すことで、地域の産業振興に貢献することを目的とする。さらに、このような開発を通して、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析やメタボローム解析、分子育種技術などを中核技術とした研究開発拠点を創出し、持続的な地域の産業振興への貢献を通して地域産業の活性化につなげたい。本事業による試みは、これまで多収・大量生産に支えられてきた日本の農業にも新たな可能性を提供し、農業分野における日本の国際的競争力強化に資するものとなる。</p> <p>本事業での詳細なプロジェクトは、</p> <ol style="list-style-type: none"> 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、 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、 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となる。 				

私立大学研究ブランディング事業 成果報告書

学校法人番号	251002	学校法人名	関西文理総合学園
大学名	長浜バイオ大学		
事業名	フレキシブル植物工場システムと先端バイオ技術を基盤とした新たなグリーンイノベーション		
事業成果	<p>本事業は、長浜バイオ大学が構築したフレキシブル完全閉鎖型植物工場と世界に誇る研究設備と研究実績を活用することで、これまで全く注目されてこなかったびわ湖北部地域特産の植物素材を活用するための実用化技術の開発を行い、新事業展開に寄与する新技術・新製品の創出を目指すことで、地域の産業振興に貢献することを目的としている。本事業で行われたプロジェクトとしては、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」、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」、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」である。本事業は当初5年間の事業計画であったが、途中で3年間に事業が短縮されたため、本事業の最終目的をすべて到達したとは言いがたいが、事業自体は当初計画していたものより早く遂行することが出来た。</p> <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」プロジェクトでは、びわ湖北部地方で古くから栽培されてきた尾上菜のブランド力を向上させるため、尾上菜の表現型解析と次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析、食味試験やメタボローム解析などによって、尾上菜の優良系統株を確立することを目的とした。まず、尾上地区の各農家から提供された尾上菜種子を播種し、フレキシブル植物工場で生育させることが出来るかについて検討を行い、栽培に最適な条件を確立した。次に、尾上菜の全ゲノムについて次世代シーケンサーで解析したところ、尾上菜のゲノムは423Mbpで構成されており、68408個の遺伝子が含まれていることを世界で初めて明らかにすることが出来た。また、このゲノム解析により、尾上菜は<i>Brassica rapa</i>に属しており、自家不和合性を支配するS遺伝子座も有していることも明らかになった。そこで、実際に尾上菜の自殖と他殖を行ったところ、尾上菜は自身の花粉が雌しべについても受精に至らない自家不和合性を示すことが証明された。そこで、30個体以上の受粉実験を行い、各個体間の和合、不和合を確認することで各株のS遺伝子型について決定することが出来たので、優良系統の構築方法としては自家不和合性の特質を生かしF1ハイブリッドとすることとした。そこで、S遺伝子型を決定した9株をつばみ受粉で自家不和合性を打破して受精させS遺伝子型ホモ接合体の取得を試みた結果、6系統の優良系統を選抜した。これらS遺伝子型ホモ系統化をそれぞれ交配することで、より優良な形質を持つF1ハイブリッドを得ることができたので、この優良株の各種ビタミン量についてメタボローム法で分析したところ、尾上菜はこれら有効成分も多く含むことが明らかになった。以上のような研究で、当初5年間の目標としていた尾上菜の優良形質作出を3年で達成することが出来た。</p> <p>本事業では、伝承野菜である伊吹大根についても途中から対象としてその優良形質を持った系統の確立も試みた。まず、伊吹大根の全ゲノムについても次世代シーケンサーを用いて解析した結果、推定ゲノムサイズは371Mbpで64877個の遺伝子が存在することが初めて明らかになった。さらに、この伊吹大根の自殖・他殖実験を行うことで、自家不和合性であることも示されたので、優良形質を持つ伊吹大根を自殖させることで、形質が均一なニアアイソジェニックラインの作出を試みた。現在、3回の自殖を行い、伊吹大根としての形質を強く持つ2系統を確立することが出来た。</p> <p>本プロジェクトにおける研究成果によって、実際に尾上菜のF1ハイブリッド種子と優良形質を持つ伊吹大根のニアアイソジェニックラインを農家に提供することで、地域の伝承野菜をブランド化する道を開いたことになる。このプロジェクト研究に関しては、長浜市の全面的なバックアップで遂行しており、長浜農業高校には栽培方法の最適化を、滋賀県調理短期大学校には尾上菜を用いた料理レシピの開発をそれぞれ担当していただいている。この本プロジェクトや共同事業体での成果や取り組みは、全国紙やNHK、各民放、地元のケーブルテレビなどで数十回も取り上げられ、また実際に地域の住民への検討会や成果報告会なども開催することで、地域に貢献している本プロジェクトの広報を行ってきた。</p>		

事業成果

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」

長浜バイオ大学ではフレキシブル植物工場において機能性物質を多く含む植物の栽培法を確立し、すでに特許化している。そこで、フレキシブル植物工場で栽培したアイスプラントを凍結乾燥した後、各溶媒で抽出したところ、50%メタノール抽出画分にヒトの脂肪代謝促進を制御する核内受容体であるペルオキシソーム増殖活性化受容体 α

(PPAR α)を活性化する物質が含まれていることを明らかにした。そこで、この50%メタノール抽出画分をマウスに投与したところ、脂肪肝の予防に効果があることも明らかになった。そこで、このような活性物質の構造を明らかにするために、活性が存在した50%メタノール抽出画分をXAD-7 HP担体を用いた吸着クロマトグラフィーでさらに精製を行ったところ、10%エタノール溶出画分にPPAR α 活性化物質が存在していた。これまでのクロマトグラフィーや溶媒抽出の挙動からPPAR α 活性化物質は比較的親水性の高い有機物質である可能性が考えられたので、逆相HPLCでさらに精製し、各画分のPPAR α 活性化能について調べ、活性物質を精製することに成功した。

一方、この活性物質が実際に脂肪代謝に効果があるかどうかについても新たに検討を開始し、HEK293細胞を用いた脂肪代謝関連遺伝子であるCPT-1A遺伝子とPGC-1 α 遺伝子の発現量の変化を指標とした新検定系を確立した。そこで、この検定系を用いて活性物質について検討を行ったところ、この物質は脂肪代謝を促進する活性を持つことを新たに明らかにした。

このプロジェクトについては、地域の企業と共同で進めているため、この活性物質については、今後特許を取得し、商品化にまでこぎつけることでブランディングに貢献したい。

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」

ローズマリーやセージに含まれるカルノシン酸は、脳の細胞死を防ぎ、アルツハイマー型認知症およびパーキンソン病の症状を緩和することが報告されている。シソ科のローズマリー (*Rosmarinus officinalis*) やセージ (*Salvia sp.*) に含まれるカルノシン酸は抗酸化作用、神経突起伸長の促進などの有用な生理活性を有している。しかし、ローズマリーやセージにおけるカルノシン酸の含有量は非常に少なく、カルノシン酸の有効利用はなされていないのが実情である。そこで、遺伝子組換え技術を用いてカルノシン酸高蓄積形質転換植物を作出することで、カルノシン酸高生産系を確立することを目的として研究を行った。まず、各植物の無菌培養条件を検討するために、ローズマリー、コモンセージ (*Salvia officinalis*)、クラリセージ (*Salvia sclarea*)、ホワイトセージ

(*Salvia apiana*) の種子を次亜塩素酸ナトリウム、エタノールで滅菌を試みたところ、全ての種子で発芽能力を損なわない種子滅菌法を確立することができた。さらに、この種子をそれぞれ適切な培地に播種することで、全ての植物種の無菌栽培条件も確立すると共に、土壌での栽培条件も確立した。また、カルノシン酸、カルノソールが最も蓄積しているのはローズマリーであり、ローズマリーに比べコモンセージは1/4、カルノソールは1/3、ホワイトセージには1/3、カルノソールは1/400が存在することも明らかにした。次に、再分化条件を確立するため、クラリセージのカルスを0.2 mg/l 2,4-Dを含む培地で培養したところ、再分化できることが明らかになった。さらに、クラリセージの主軸からの直接的再分化についても検討したところ、20%スクロースを含む1/2MS培地で不定芽、不定根の誘導に成功した。また、再分化が確認されたクラリセージの遺伝子導入法を確立するため、主軸にGFP遺伝子を導入したアグロバクテリウムを感染させたところ、節間部分においてGFP蛍光を持つ細胞が確認されクラリセージではアグロバクテリウムを用いた遺伝子組換えが可能であることが明らかになった。

**今後の事業成果の
活用・展開**

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」

本プロジェクトによって、形質が一定ではなく、品質も不揃いで商品化することが出来なかった尾上菜のF1ハイブリッド法を用いた優良形質を持つ株を大学が社会に提供できる道を開いたことになる。現在、長浜市北部に尾上菜を栽培できる新たにビニールハウスを長浜市から提供していただいております、こちらでF1ハイブリッド種子を大量に生産できる拠点が形成されている。そこで、この圃場を利用して、F1ハイブリッド種子を市場に供給できる体制を構築していく予定である。また、優良なF1ハイブリッド種子を供給することが可能となれば、地元の種苗会社やJAなどと協力して長浜の特産品として一般販売する道を探っていきたい。また、本プロジェクト遂行において初めて構築することが出来た本学と長浜市、滋賀県調理短期大学校、長浜農業高校との連携も強化し、さらに、地元の企業などにも新たに参加いただき、尾上菜のブランド化に向けた事業展開を行っていきたい。

優良形質を持つ伊吹大根のニアアイソジェニックラインについては、数年以内に実際に株を提供できるものと思われる。この伊吹大根については、種子としての提供と共に、種苗としての提供も考えられ、新たな産業の構築にも貢献できるものとする。

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」

本プロジェクト事業では実際にアイスプラントに脂肪代謝を促進する物質が含まれていることを初めて明らかにすることが出来た。また、実際に動物実験でも脂肪燃焼促進が確認されたことから、本物質の同定と構造解析が急がれるところである。また、この物質が明らかになったら、特許の取得と共に、サプリメントとしての商品化にこぎつけた。このような事業を行うには、サプリメントの作成と販売に実績を持つ地元の企業と共同で事業を行うことが必要となるであろう。

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」

カルノシン酸はアルツハイマー病の予防と治療に効果が認められることから注目を集めている。本プロジェクトではカルノシン酸を大量に蓄積する植物種の開発を目的として研究を行った結果、一部のセージにはカルノシン酸生合成経路が存在するが、その代謝経路も存在することが示された。このことは、これらセージにおいてゲノム編集を用いて代謝酵素遺伝子をノックアウトすることによってカルノシン酸を大量に蓄積するセージを作成することが可能であることを示している。このように作成した植物体は遺伝子組換え体ではないため、野外で栽培できることが見込まれ、その生産コストも大幅に下がることになる。そのためにも、セージを用いたゲノム編集法を確立することが重要となる。