

## 研究成果

<p>サブテーマ名：環境ストレス制御による機能性食材創生を目指した生命活動センシング技術開発研究</p> <p>小課題名：環境ストレス制御による機能性食材開発のための分光計測・画像化及び局所計測技術</p>
<p>サブテーマリーダー：(財)山形県企業振興公社生物ラジカル研究所 副所長 大矢博昭</p> <p>研究従事者：(財)山形県企業振興公社 福井孝一・多田美香・白石卓夫 山形大学工学部派遣 尾形健明、キーコム株 鈴木洋介 生物ラジカル研究所 青山正明・大矢博昭・上野智子・野田博行・伊藤治</p>
<p>研究の概要、新規性および目標</p> <p>研究の概要</p> <p>生体用の高感度・高分解能 ESR 装置の開発、携帯型 ESR 装置による植物ストレス応答計測技術の確立、生体極微弱発光検出によるストレス評価技術の確立</p> <p>研究の独自性・新規性</p> <p>高感度・高分解能 ESR 装置の生体への応用は新規性が高い。植物ストレスの in vivo 計測技術は新規性が高い。生物フォトンの高感度測定によって、生体の活性酸素・ラジカルを追跡する生体極微弱発光検出によるストレス評価技術は独自の概念・手法である。</p> <p>研究の目標</p> <p>フェーズ</p> <p>ESR 技術および発光計測技術の確立、新規分子プローブの開発、生体構造・機能の可視化手法の開発、抗酸化性食品開発のための物質の探索</p> <p>フェーズ</p> <p>再構築胚の評価、微生物の多糖分泌機能の評価、果樹の環境ストレス応答、シグナル機構解明、地域食料資源を対象にした抗酸化性食品（機能性食材）の開発</p> <p>フェーズ</p> <p>ESR による生体計測技術・装置の実用化</p>
<p>研究の進め方および進捗状況</p> <p>生体用の高感度・高分解能 ESR 装置の開発については、フェーズ Ⅰ で Wバンド ESR 装置の高感度化による生体試料の測定と、ストレス応答計測法の条件検討による実験室内でのストレス応答計測法の確立を目指した。その結果、Wバンド ESR 装置の各部改良によって感度を向上させ、生体試料の測定を実際に行った。フェーズ Ⅱ では Wバンド ESR 装置の生体試料への適用を進め、その有用性を示し製品化につなげた（平成 15 年 7 月に受注開始）。</p> <p>携帯型 ESR 装置による植物ストレス応答計測技術の確立については、フェーズ Ⅲ で植物体の反応を ESR 信号として計測するための様々なスピンプローブ剤とその投与方法を比較検討し、植物の低温ストレス計測方法を確立した。フェーズ Ⅳ では植物のストレス応答計測を in vivo で実現し、鉢植え植物への適用に成功した。</p> <p>生体極微弱発光検出によるストレス評価技術の確立については、フェーズ Ⅴ で極微弱発光時空間特性計測によって、植物葉の対ウイルス生体防御反応として接種後の発光計測に成功し、その時空間特性について検討した。この研究は平成 12 年度で終了し、その後培養細胞を用いた薬剤および機能性成分の評価システムの開発研究（複合技術融合研究）にノウハウを引き継いだ。</p> <p>再構築胚の評価及び機能性食材の開発に関しては、中間評価後、複合技術融合研究の課題に組み換えた（詳細は複合技術融合研究）。</p>

**主な成果**

**具体的な成果内容：**

WバンドESR装置について、キーコム株式会社と共同で製品化を進め、平成15年7月に受注活動を始めた。同装置は、キャピティ安定化型ミリ波発振器及びミキサーの導入により、これまで不可能であった水溶液試料や含水性の生体試料の測定を可能にした。感度は、高感度XバンドESR装置に匹敵し、Mn<sup>2+</sup>イオンの検出についてはXバンドESRを凌駕した。異なった存在状態にあるスピンプローブを分離して観測できた。生体に投与したスピンプローブの分布や、水相中と脂質中の酸化化能を別々に測定するなどの応用が可能。溶液の粘度が測定できることから、生体の状態と体液の粘度の関係を利用した新しい生体状態計測法への応用が可能。

主にXバンドESRを用いた実験条件探索やスピンプローブ吸収・代謝について基礎的研究を行い、「ガラクトシドパーミアーゼ活性測定法」を考案し、特許化した。これは、ESRを用いて遺伝子発現を検出した初めての例となっており、今後この分野の基礎となる成果である。

局部検出用の表面コイル型共振器 (surface-coil type resonator; SCR) を備えた生体計測用700 MHz-ESR装置を用いて、植物のストレスに対する応答計測が可能なスピンプローブ剤及びその導入方法を明らかにし、次の果樹の環境ストレス応答を非破壊的に行った。

甘果オウトウ花芽中のESR信号強度 (面積) から内部の酸化還元状態を観察し、ESR信号線型から凍結状態を観察した。

晩霜による甘果オウトウ花芽の障害発生には、花芽の凍結・融解による酸化力の増加が関与していることがリアルタイムで示された。

携帯型ESR装置による植物ストレス応答計測については、タバコ葉の損傷度を把握するとともに、耐凍性を付与した組み換え体の葉において凍結による酸化力の増加を抑制することを明らかにした。

特許出願件数：6

論文数：20

口頭発表件数：42

**研究成果に関する評価**

1 国内外における水準との対比

いずれの成果も独自性が強く、高い専門性が故に競合が少ない。

2 実用化に向けた波及効果

開発されたWバンドESR装置については、研究現場や医療検査分野での活用が可能である。携帯型ESR装置によるin vivo計測については、成果の積み重ねによって農学・医学・薬学分野での活用が期待される。

**残された課題と対応方針について**

すでに、フェーズ の目標に到達した。

	JST負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H10	H11	H12	H13	H14	H15	小計	H10	H11	H12	H13	H14	H15	小計	
人件費	15,937	58,740	53,173	24,923	20,640	9,705	183,118	5,075	8,688	20,344	20,322	20,256	10,128	84,814	267,932
設備費	52,346	2,788	19,423	4,452	2,996	0	82,005	0	1,625	4,586	4,969	1,625	0	12,805	94,810
その他研究費 (消耗品費、材料費等)	12,555	21,459	7,830	3,845	1,232	555	47,476	2,400	2,000	599	2,000	2,000	1,090	10,089	57,565
旅費	598	2,445	1,795	1,164	547	218	6,767	0	0	0	500	500	250	1,250	8,017
その他	0	3,385	6,046	2,837	2,488	1,140	15,896	69,288	96,848	93,097	36,632	23,579	11,790	331,233	347,129
小 計	81,436	88,817	88,267	37,221	27,903	11,618	335,262	76,764	109,161	118,625	64,423	47,960	23,258	440,190	775,452

代表的な設備名と仕様 [ 既存 (事業開始前) の設備含む ]

JST負担による設備：ループギャップレゾネータ (Xバンド用)

地域負担による設備：ミリ波増幅システム (株)アムテックス製 PAN35-10A型)