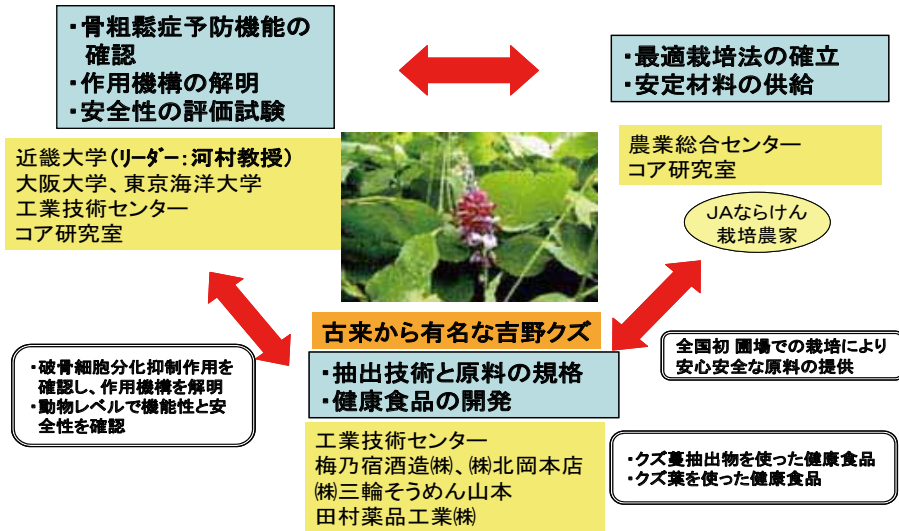


研究実施報告 補足資料

サブテーマ 1 - 1 : 「吉野クズの骨粗鬆予防機能等の評価及び栽培・食品への活用」.....	63
1 - 1 a : クズの実用化に向けたクズ蔓抽出物や構成イソフラボノイド類の骨代謝改善、安全性、作用機構の解明	
1 - 1 b : クズの栽培と安定供給に関する研究ならびにクズ加工用原材料の規格化とクズを利用した機能性食品の開発	
1 - 1 c : クズ抽出残渣の資源化に向けた糖化技術の開発	
1 - 1 d : クズ機能性成分の探索とメタボリックプロファイリングによる機能性評価	
サブテーマ 1 - 2 : 「大和マナの抗炎症機能等の評価及び栽培・食品への活用」.....	65
1 - 2 a : 大和マナ成分の抗炎症機能の解明と作用機構解析	
1 - 2 b : 大和マナ機能性成分に対する栽培法および調理法の影響の解析ならびに収穫法の検討	
1 - 2 c : F ₁ ハイブリッド大和マナの分子育種	
1 - 2 d : 大和マナを素材とした商品開発及び収穫機の開発	
テーマ 2 : 「優良大和生薬品種の鑑定技術及び増殖技術」.....	68
2 a : DNA 鑑定技術を利用した優良品種の識別	
2 b : 優良苗の大量増殖技術の確立	
2 c : メタボリックプロファイリングの品質評価および生理活性化合物の探索とそれをマーカーに用いた品質評価	
2 d : 遺伝子発現解析を用いた奈良県産大和トウキと県外産大和トウキの薬効の比較評価	
テーマ 3 : 大和茶のメタボリックプロファイリングを利用した最適栽培・加工技術の開発.....	71
3 a : メタボリックプロファイリング技術の開発	

テーマ1-1 吉野クズの骨粗鬆症予防機能等の評価及び栽培・食品への活用

研究目標・研究体制・成果



栽培方法の確立 (全面被覆圃場)



小テーマ1-1b

クズ蔓水抽出物を90日間摂取したマウスの大腿骨の微細構造



Sham群



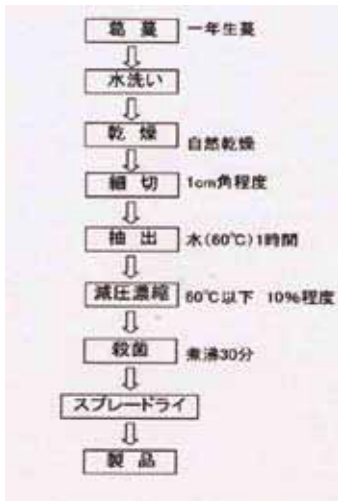
OVX群



OVX+クズ蔓群

小テーマ1-1a

蔓水抽出・加工工程



ヒト介入試験用カプセル

1カプセル中のイソフラボノイド含有量(mg)

Puerarin	2.2
Daidzin	1.9
Glycitin	N.D.
Genistin	0.2
6"-O-Malonyldaidzin	0.9
6"-O-Malonylglycitin	N.D.
6"-O-Acetyldaidzin	0.1
6"-O-Acetylglycitin	N.D.
6"-O-Malonylgenistin	0.1
Daidzein	0.9
Glycitein	N.D.
6"-O-Acetylgenistin	N.D.
Genistein	N.D.
Formononetin	N.D.
Total aglycon	5
Total isoflavone	6.3

成人1人1日あたり6カプセル摂取するように充填



小テーマ1-1b

クズ蔓抽出物摂取によるヒト閉経後女性の骨代謝 改善効果の検証(試験仕様書抜粋)

試験方法: 二重盲検二群間並行比較試験

摂取食品: カプセル形態の被験食品及び対照食品の合計2種

摂取期間: 3回/日、13週間(91日間)

被験者: 閉経後4年以上経過の健康女性(55~65歳)、32名。200名以上
からスクリーニング検査実施、選抜

試験食品: 摂取開始前1ヵ月以内に骨・カルシウム代謝に影響のある医薬品及び健康食品の利用がない者。

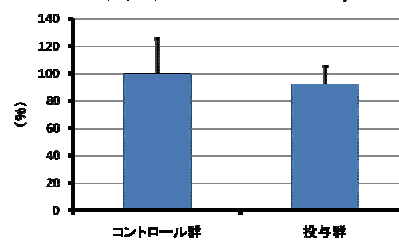
検査項目: 医師診察、被験者背景、血液検査; 血液生化学的検査、尿検査; DXA(デキサ)法による骨密度

食品摂取記録; 試験食品摂取時間、他の健康食品や薬の摂取

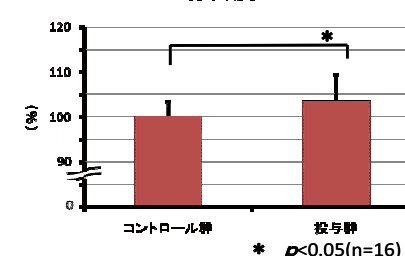
小テーマ1-1a

クズ蔓実用化試料の3ヶ月間ヒト介入試験(2重盲験)

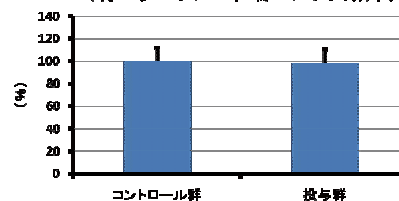
尿中骨吸収マーカー(FOPD/Cre)



骨密度



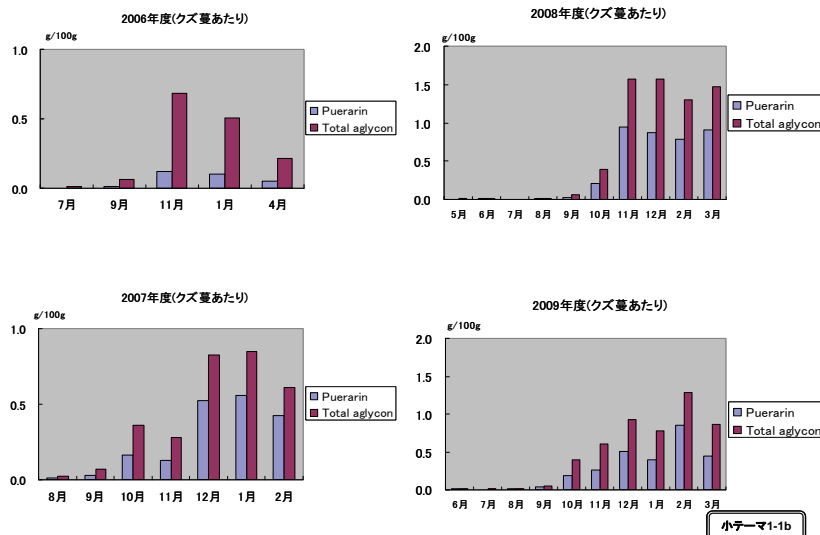
血中骨吸収マーカー
(骨コラーゲンN末端ペプチド断片)



		average	stdev.	ttest
尿中骨吸収マーカー (デオキシピリリノ)	コントロール群	100.000	25.323	0.300
	投与群	92.492	13.071	
骨コラーゲンのN末端ペプチドの濃度	コントロール群	100.000	11.586	0.591
	投与群	97.693	12.434	
骨密度	コントロール群	100.000	3.363	0.043
	投与群	103.553	5.841	

小テーマ1-1a

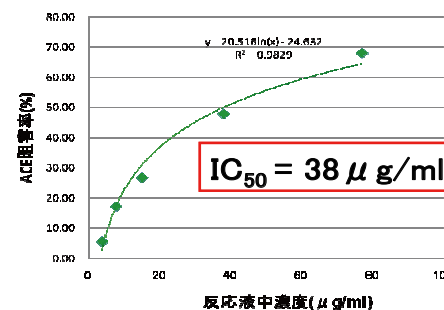
クズ蔓中の季節別イソフラボノイド含有量(2006~2009年)



小テーマ1-1b

クズ葉のアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性(血圧上昇抑制作用)

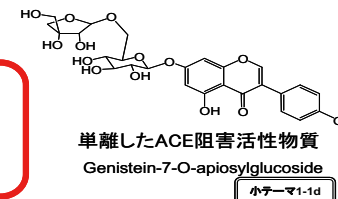
クズ葉水抽出物



<他の植物との比較>

血圧降下作用がある植物 ()内はACE阻害物質の主成分	IC ₅₀
ラビットアイブルーベリーの葉 (クロロゲン酸など)	46 μg/ml
<キノコ>ヌメリシタケ (ニコチアナミン)	60 μg/ml
ダイズ (ニコチアナミン)	60~130 μg/ml
インゲン (ニコチアナミン)	60~170 μg/ml
サツマイモの葉 (カフェ酸など)	161 μg/ml
ソバ粉 (2'-ニコチアナミン)	470 μg/ml

- クズ葉(水抽出物)は
- 血圧上昇抑制作用が報告されている植物よりもACE阻害活性が強い。
 - 収穫時期によらず高いACE阻害活性を示した。
 - マウスの血圧上昇を有意に抑制した。

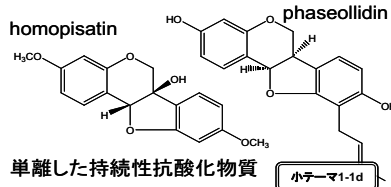


クズ葉の抗酸化活性

構造	抗酸化物質	mg/100g	高含有食品中 (mg/100g)
	β-カロテン	7.2	8.4 (ニンジン)
	ルテイン	11.1	21.9 (ケール)
	α-トコフェロール	26.2	31.2 (アーモンド)

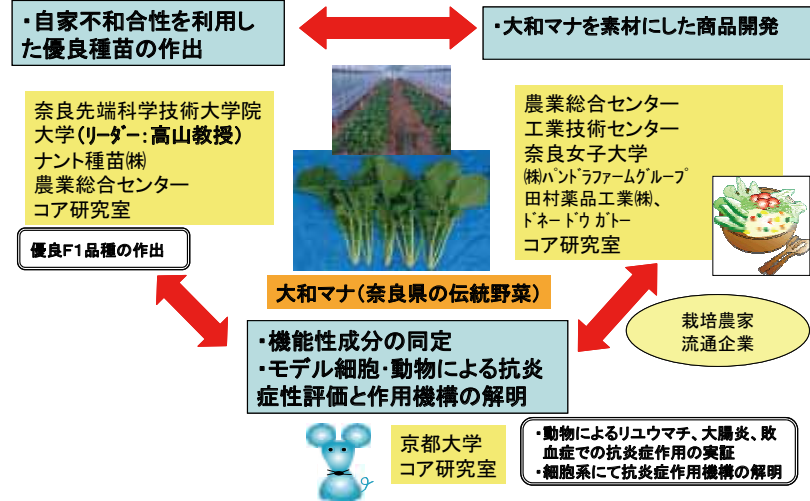
クズ葉は

- 抗酸化物質を多く含むことが知られている食品と同等に多くの抗酸化物質を含む。
- 8-10月収穫サンプルに抗酸化物質が多い。
- 持続性抗酸化活性を示した。

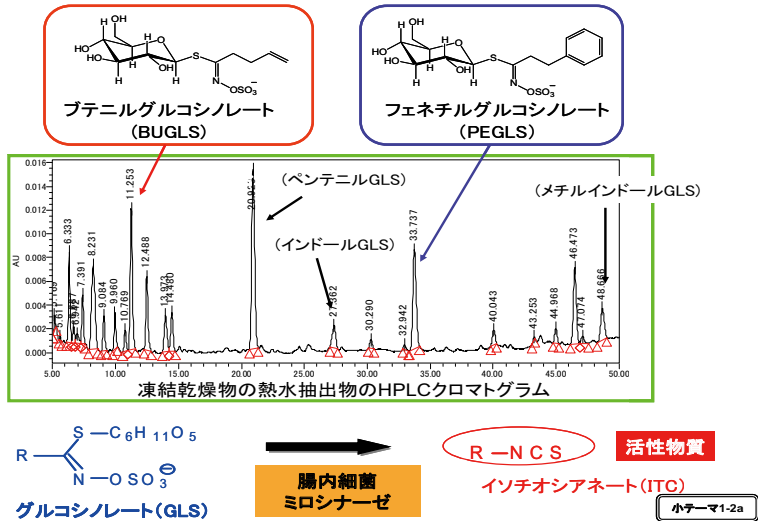


テーマ1-2 大和マナの抗炎症機能等の評価・優良F1品種及び栽培・食品への活用

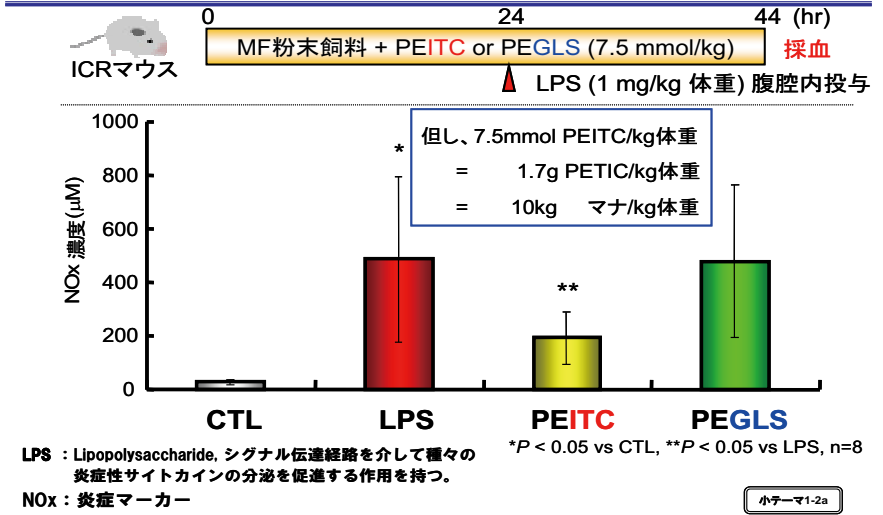
研究目標・研究体制・成果



大和マナに含まれるグルコシレート (GLS) の同定

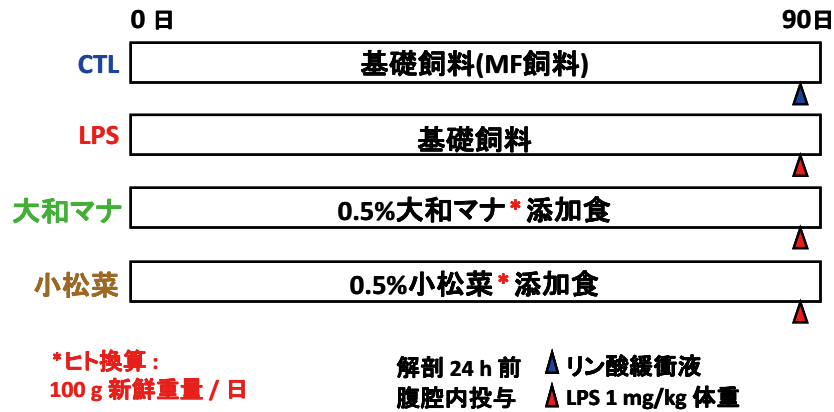


フェネチルイソチオシアネート(PEITC)は *in vivo*(敗血症)でNOx産生を有意に抑制!



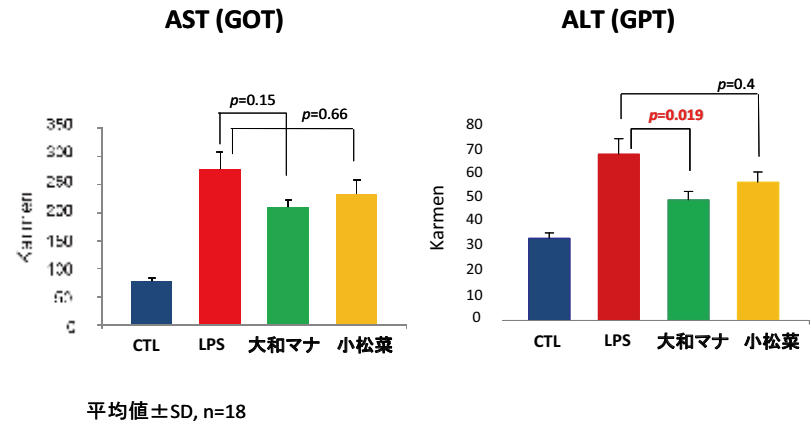
大和マナ凍結乾燥品のマウス長期投与試験(敗血症)

ICR male, 5週齢 (n=5)



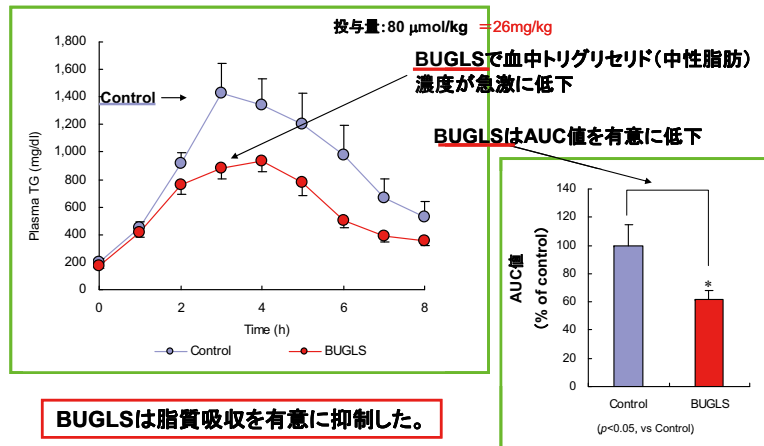
小テーマ1-2a

マウス長期投与試験(敗血症)で、LPS処理による肝臓機能マーカーの低下を抑制!



小テーマ1-2a

マウスの脂質吸収に対するブテニルグルコシレート(BUGLS)の効果



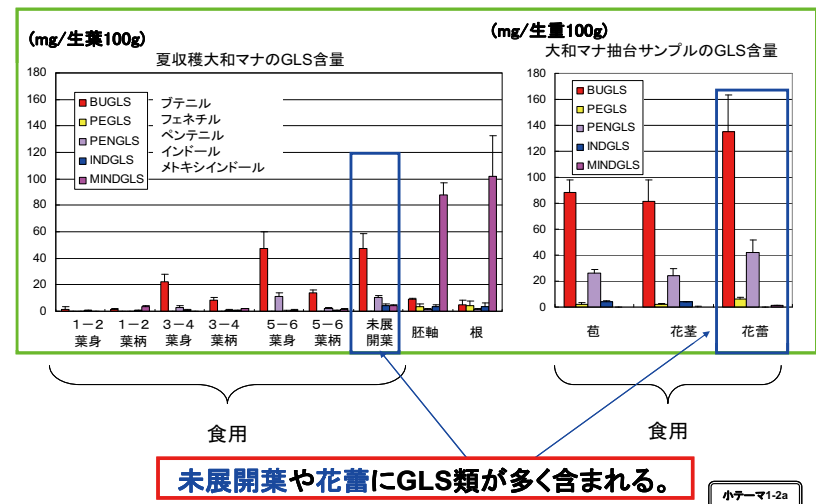
BUGLSは脂質吸収を有意に抑制した。

*PEGLSはこの濃度でもほぼ無効

AUC値: 曲線下面積(AUC: area under the curve)
左図の曲線と横軸に囲まれた面積分、濃度を時間で積分した値

小テーマ1-2a

大和マナの部位によるグルコシレート(GLS)含量の変動

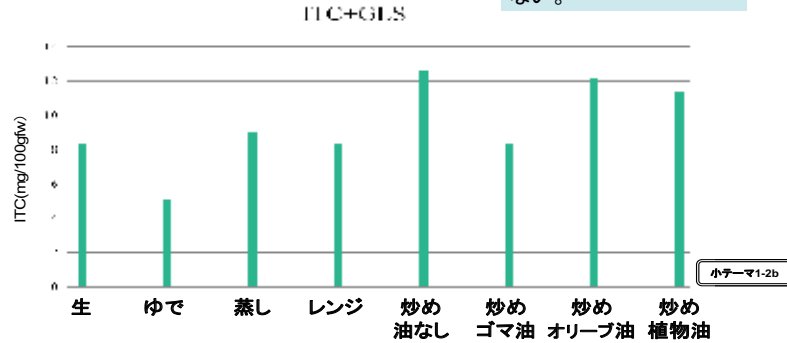


小テーマ1-2a

調理法がイソチオシアネート(ITC)含量に及ぼす影響

ゆで加熱ではITCが大きく減少した。蒸し加熱と電子レンジ加熱では生とほぼ同程度のITCが残存していた。炒め加熱では、油の添加・無添加に関わらず、生よりも多いITCが残存していた。

大和マナの代表的な料理である「煮浸し」は「ゆで」であるためITC・GLSの摂取に適していない。



GLS(ITC)類の安定性の検討

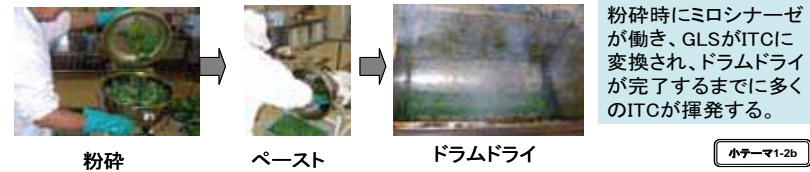
大和マナ水煮におけるpHの影響

pH3	pH4	pH5	pH6	pH7	pH8
19.1±0.1	36.1±4.0	38.0±0.8	40.7±10.0	37.5±1.5	22.8±5.0

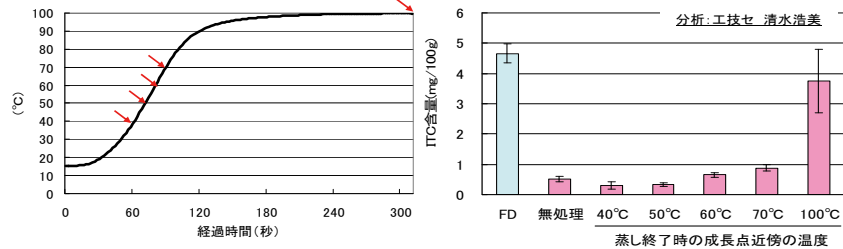
大和マナ乾燥法の検討

フリーズドライ	クーールドライ	ドラムドライ
117.5±10.8	108.5±21.2	26.2±6.5

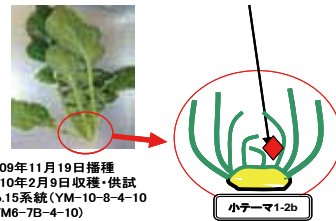
ドラムドライ工程



GLS(ITC)類維持のためのドラムドライ前処理法



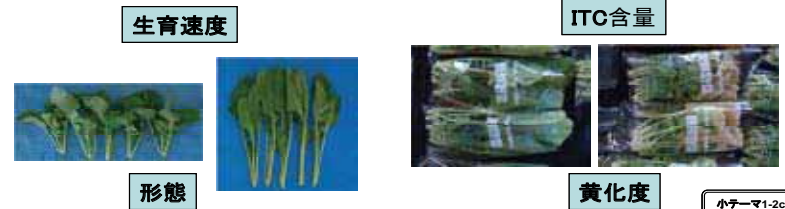
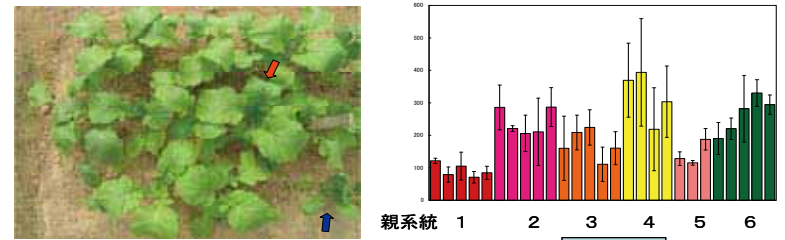
蒸し工程



2009年11月19日播種
2010年2月9日収穫・供試
No.15系統(YM-10-8-4-10
*YM6-7B-4-10)

集団採種大和マナの多様性

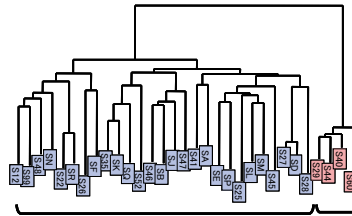
大和マナは集団栽培で維持されてきたため、個体毎のパラツキが大きい



自家不和合性遺伝子を利用した効率的なF1育種

大和マナのS遺伝子の網羅的解析

1. 農業総合センター系統(宇陀市)50個体
2. ナント種苗株式会社系統(橿原市)61個体
3. フカセ種苗会社系統(田原本町)30個体
4. 株式会社大和農園系統(天理市)30個体
5. 五條市系統(五條市)30個体
6. 大和高田系統(大和高田市)30個体



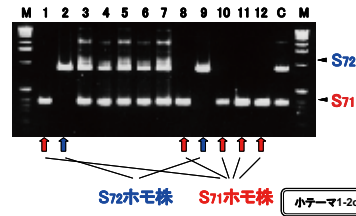
優性(Class I) 劣性(Class II)
優良Class I S遺伝子の選択

舊受粉による親株の作出(純化)



S1~S4世代

S遺伝子の簡易同定法の確立 → S遺伝子ホモ株の選抜



3元交配による夏用・冬用F1大和マナの作出

親1 YM-4-1 (SA) 親2 YM-10-13 (S26)
 親1 YM-10-8 (SA) 親2 YM-6-7A (S28)
 親1 YM-4-9 (SB) 親2 YM-6-7B (S26)



夏用F1ハイブリッド



冬用F1ハイブリッド

小テーマ1-2c

「夏なら菜」および「冬なら菜」の品種登録出願



「夏なら菜」: 第24073号
「冬なら菜」: 第24072号

品種登録出願: 平成22年3月23日
公表: 平成22年8月12日



小テーマ1-2c

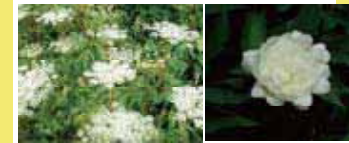
テーマ2 優良大和生薬品種の鑑定技術及び増殖技術の開発

研究目標・研究体制・成果

・大和生薬の品種・品質の鑑定方法の確立
・大和トウキの優位性の確認

大和シャクヤクの大量増殖技術

奈良先端科学技術大学院大学
大学 (リーダー 橋本教授)
大阪大学
(財)サントリー生物有機科学研究所
(学)北里研究所
コア研究室



大和トウキ 大和シャクヤク

近畿大学
県農業総合センター
コア研究室

集落営農組織

・揮発性成分による品質鑑定法の確立
・メタボリックプロファイリングによる品質鑑定法の確立

高い評価がある

薬王製薬(株)

520個のランダムプライマーを用いた検討 → 有望なバンドをSTS化

プライマー

R12L-F1280: ACAGGTGCGTAGGAAGTGTC

R12L-R1280: ACAGGTGCGTCATGAACATC

北海トウキ

大和トウキ

前忠系

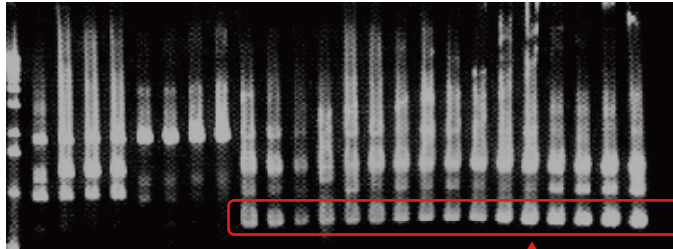
福田系

福田系

阪本系

前忠A系

前忠B系



大和トウキ特異的バンド

小テーム2a

R12L500-5, GGC	1	ACAGGTGCGTAGGAAGTGTC	SCAAAACTTTG	STT	ATTTCTCTGAGTGTGAAAA	60	
R12L150-5, AGC	1	ACAGGTGCGTAGGAAGTGTC	SCA	SCAACTTTCT	STT	ATTTCTCTGAGTGTGAAAA	60
R12L500-5, GGC	61	TCG-CCGTGAAGGTGTAGGTTATTGATTAAC	TTATATATCTCTAAAAACATCAGAGATA	119			
R12L150-5, AGC	61	TCGTGTTTC	-----	69			
R12L500-5, GGC	120	TTCTCTCCAGGCTGAGATGTAAGTGCTCATACTCAGAGGT	CAGGATTTCCAACTTATTC	179			
R12L150-5, AGC	69	-----	-----	69			
R12L500-5, GGC	180	TCTCTGACTTCTCAGTCCCTCATTTATAATCTGAATGGTGTCCAGATATGCTTAGCA	239				
R12L150-5, AGC	69	-----	-----	69			
R12L500-5, GGC	240	TCTTTACAATTAACAACATGATTGTACATGATTGCATCTAGGGATTCCACCAAGATCAGT	299				
R12L150-5, AGC	69	-----	-----	69			
R12L500-5, GGC	300	TGTAGGTTTCATATCCAAGGCAGCTTCTCTTTTTTCAGCAGAGGTATACCTATTAGGATCT	359				
R12L150-5, AGC	69	-----	-----	69			
R12L500-5, GGC	360	TTTGGATATTGTTGACTACTAA-ACCGCAAGCTCCCGGGTCACAAGTAATATAATGAT	418				
R12L150-5, AGC	70	-----	ACTAATTCACGCAAGCTTACCTGGTCACAAGTAATATAATGAT	112			
R12L500-5, GGC	419	AA-CTTAAAGTTCTCCACAGAGACTGGTTTAGG	452				
R12L150-5, AGC	113	AA-SATTSATTCCTCCACAGAGACTGGTTTAGG	147				

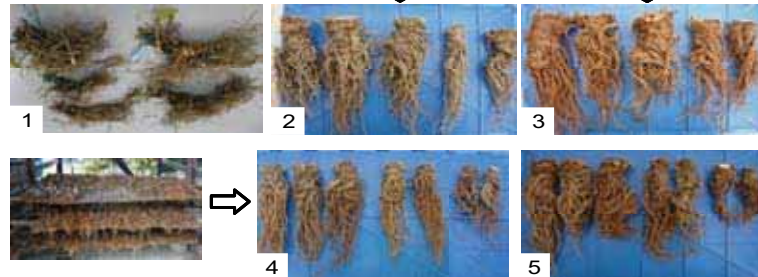
大和当帰と北海当帰に共通してある塩基配列: 452 bp
大和当帰特異的にある塩基配列: 147 bp

小テーム2a

トウキ収穫後の成分変化把握

—どうしたら上質の当帰になるかの予備試験—

明日香村のトウキ



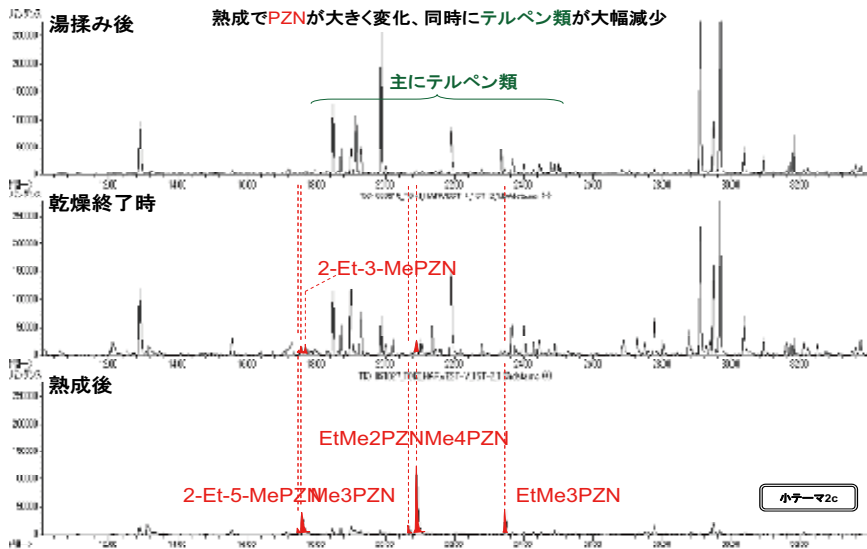
1:収穫後, 2:はざ掛け後, 3:湯揉み後, 4:風乾後, 5:熟成後

小テーム2b

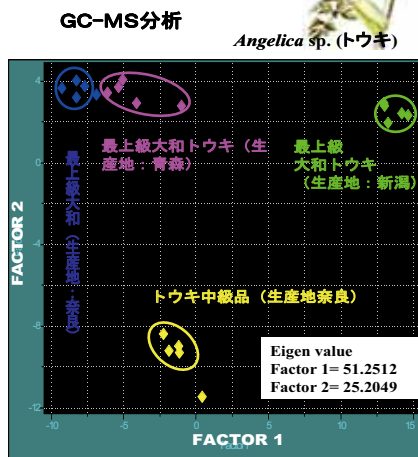


小テーム2b

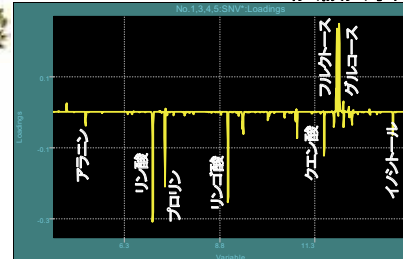
トウキ収穫後の成分変化把握—熟成の効果—



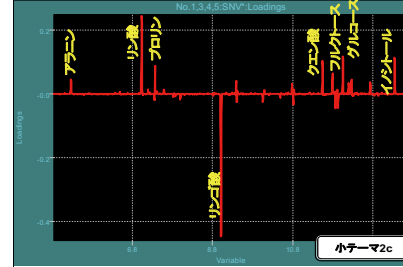
トウキ品質変動要因解析(品種/生産地)



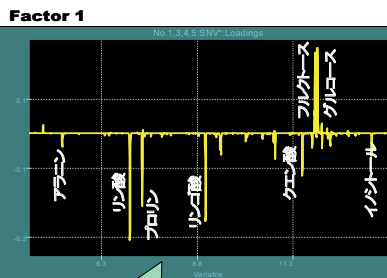
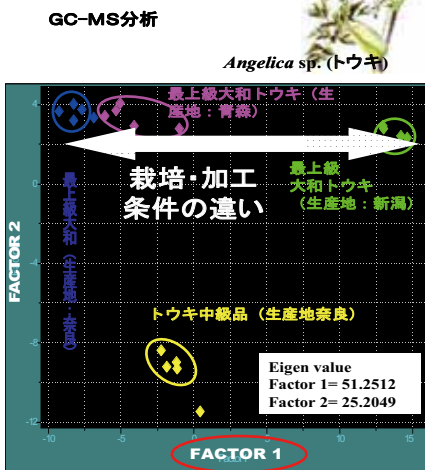
Factor 1 (大阪大学)



Factor 2



トウキ品質変動要因解析(品種/生産地)



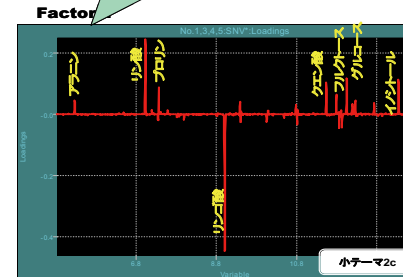
同一の大和トウキ最上級品をなる生産地で栽培・加工したところ Factor1でクラスター分した。ローディングから上級品(奈良で生産・加工)は有機酸類が含まれ類がないことが示された。栽培条件に加えスト加工件がしているといわれる。

小テーマ2c

トウキ品質変動要因解析(品種/生産地)



大和トウキ最上級品と中級品は Factor2でクラスター分した。ローディングからトウキの品質は ラニン リン酸 プロリン ケン酸 フルコース グルコース リン酸等の ランスに依存することが示された。



小テーマ2c

奈良県産大和トウキと他地域産トウキの薬効の遺伝子発現解析による評価

北里研究所・奈良先端大・コア研

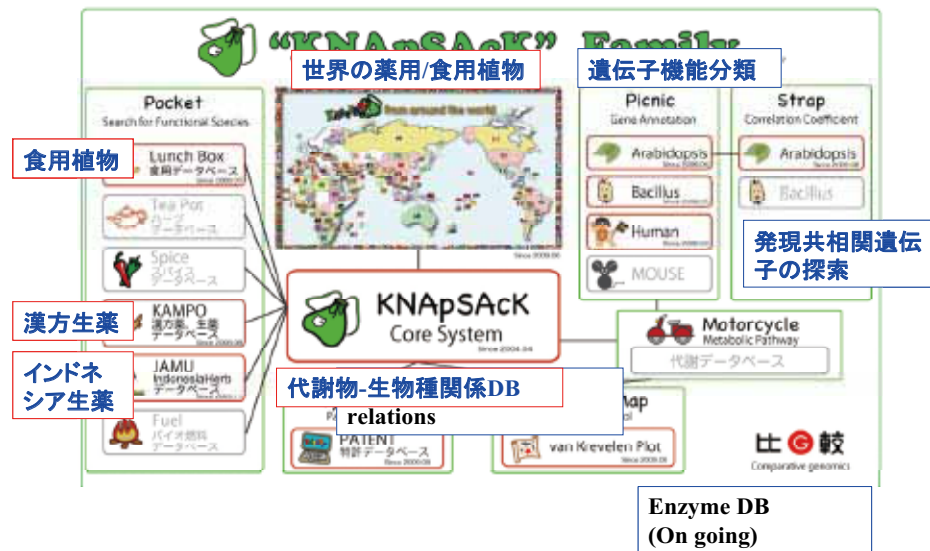
大和トウキ	治った症状 (=マイクロレイデータで裏付けられたアンケートの項目)	治った症状と連動して変動した発現遺伝子
奈良県産	手、足、お腹の冷え 足のむくみ 月経痛	女性ホルモンに 関係する遺伝子など
他地域産	腹痛などの消化器症状 排尿の回数 関節痛	免疫系に 関係する遺伝子など

問診でしかデータを取得できない自覚症状を遺伝子発現解析から生理学的に裏付けて評価できる可能性を示した。

早崎知幸先生(北里研究所)
加藤主任研究員(コア研究室)
第26回和漢医薬学会学術大会口演による優秀賞受賞

小テーマ2d

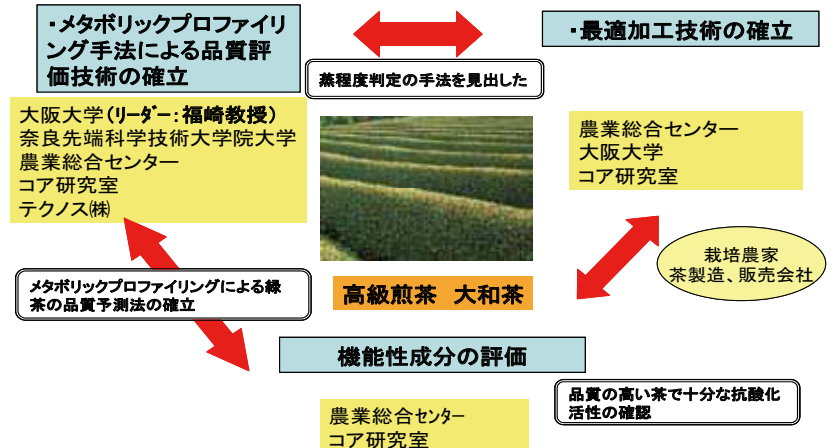
http://kanaya.naist.jp/KNApSACK_Family/



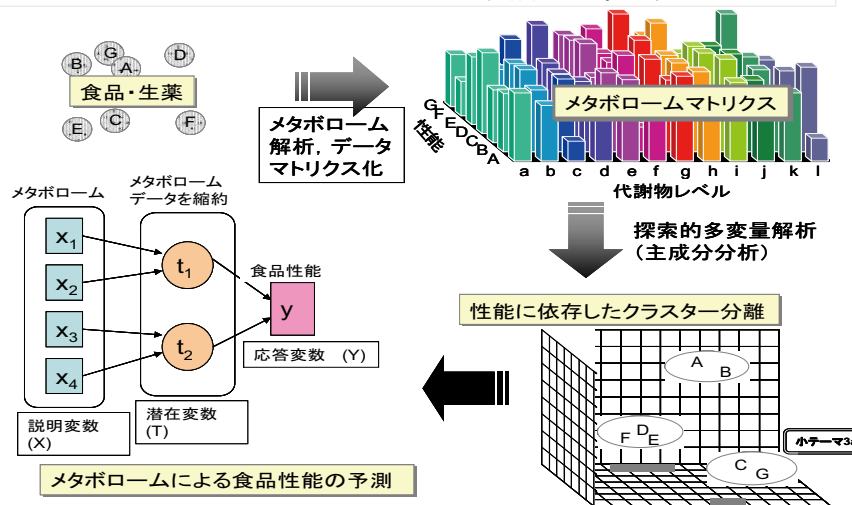
71

テーマ3 大和茶のメタボリックプロファイリングを利用した最速栽培・加工技術の開発

研究目標・研究体制・成果

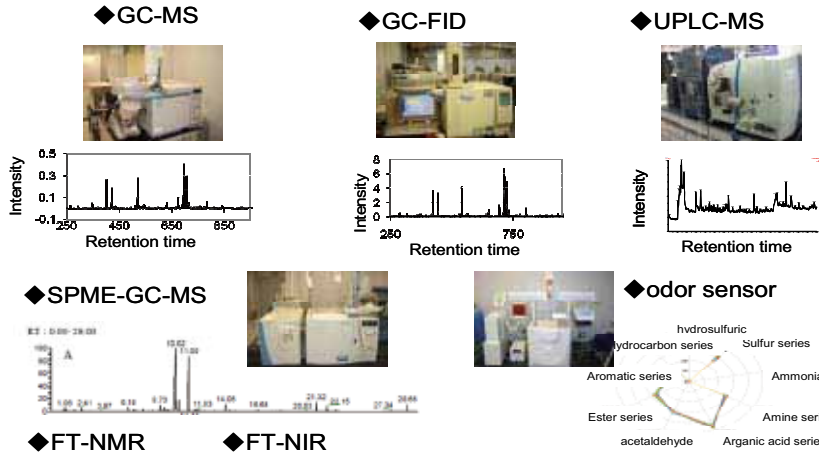


メタボリックフィンガープリンティングの食品・生薬研究への応用



小テーマ3a

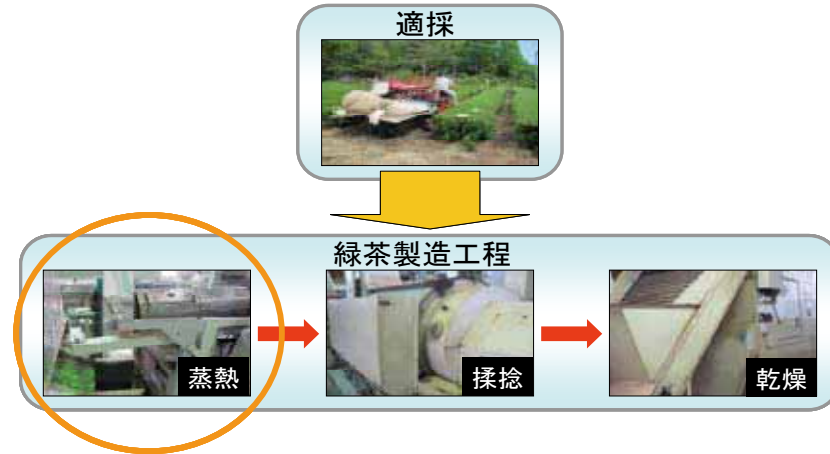
成分分析方法各種



池田研究員(コア研究室)
第7回日本化学会情報化学部会 jcac論文賞

小テマ3a

背景



製品緑茶の品質に最も影響を与えている

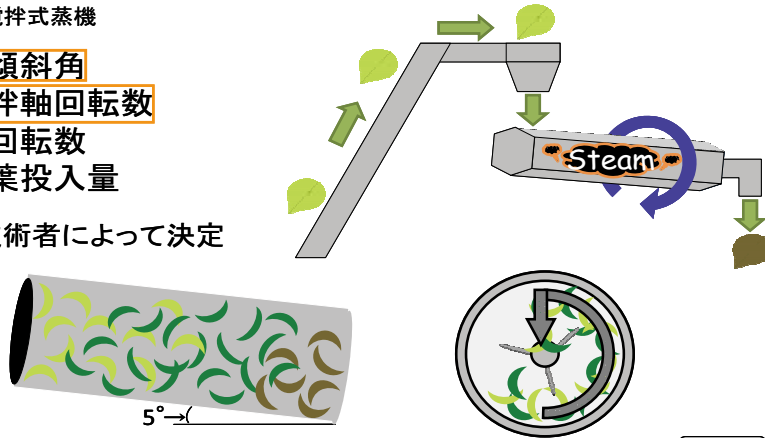
小テマ3a

蒸熱工程

網胴回転攪拌式蒸機

- 胴傾斜角
- 攪拌軸回転数
- 胴回転数
- 茶葉投入量

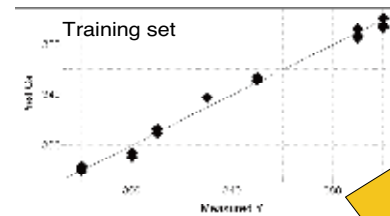
専門技術者によって決定



小テマ3a

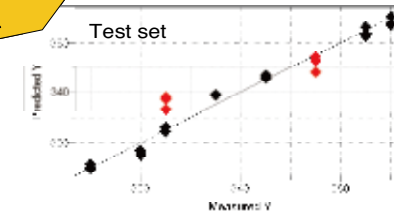
高品質の緑茶をつくるためには熟練技術者の存在が不可欠

PLS(攪拌軸回転数)



波長領域: 1200-2500 nm
データ変換: 2nd derivative
解析前処理: mean-center
ファクター数: 2
Test set: No.4, No.7
SEC: 5.16
SEP: 9.03

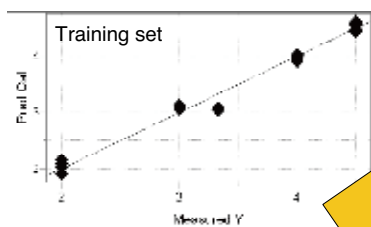
生葉の状態をスループットが高い近赤外分光(FT-NIR)により定量的に観測し、得られたデータから蒸熱工程の最適パラメータを推定するシステムを開発することを目的とした。



赤色のプロットはテストセットである

小テマ3a

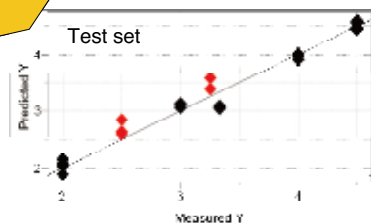
PLS(胴傾斜角度)



波長領域: 1200-2500 nm
 データ変換: 2nd derivative
 解析前処理: mean-center
 ファクター数: 2
 Test set: No.4, No.7
 SEC: 0.14
 SEP: 0.15

茶業振興センターの試験茶畑で栽培した茶葉を用いて予備実験を実施。

次に構築したシステムを生産工場で検証した。



赤色のプロットはテストセットである

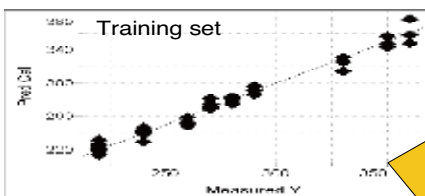
小テマ3a

奈良県の各工場の位置

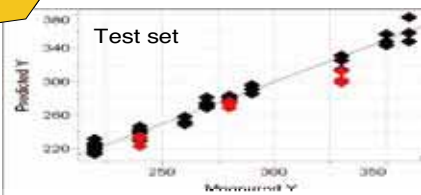


PLS(攪拌軸回転数)

グリーンウェーブ月ヶ瀬



波長領域: 1200-2500 nm
 データ変換: 2nd derivative
 解析前処理: mean-center
 ファクター数: 3
 Test set: 5/13, 5/21, 5/30
 SEC: 6.73
 SEP: 9.21

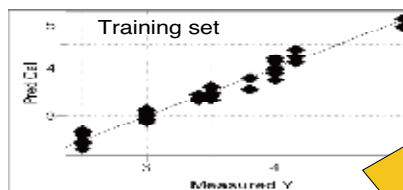


赤色のプロットはテストセットである

小テマ3a

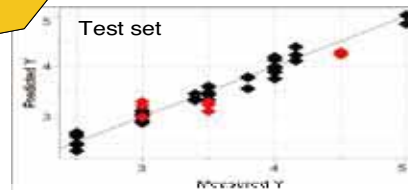
PLS(胴傾斜角度)

グリーンウェーブ月ヶ瀬



波長領域: 1200-2500 nm
 データ変換: 2nd derivative
 解析前処理: mean-center
 ファクター数: 3
 Test set: 5/13, 5/21, 5/30
 SEC: 0.12
 SEP: 0.15

2010年度の実験から、実の製茶スケールであっても、生葉のスペクトルデータと最適な蒸熱パラメータ値に相関があることが示された。



赤色のプロットはテストセットである

小テマ3a