

助成番号

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	エチレンナノバブルを活用した植物有用物質の高速・高濃度生産システムの開発				
研究テーマ (欧文) AZ	Development of a high-speed production system for plant useful metabolites using ethylene nano-bubbles.				
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓) アオヤギ	名) ヒデキ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	青柳	秀紀	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	AOYAGI	HIDEKI	研究機関名	筑波大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	生命環境系・教授				
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>多孔質ガラス膜を用いたナノバブル生成システムを開発した。本システムを用いて植物ホルモンであるエチレンのナノバブル(ENB)を効率的に植物細胞培養用の培地中で生成できる操作条件を設定した。また、二酸化塩素を用いた植物種子の殺菌法を確立することで、ニチニチ草(<i>Catharanthus roseus</i>)や日本イチイ(<i>Taxus cuspidata</i>)の活性が高い液体培養細胞株(カルス)を種子から迅速に作成することができた。ENBを含む液体培地(PM-ENB)を作成し、ニチニチ草の培養細胞を培養した結果、培養14日目の細胞増殖量や糖消費量がコントロールの培地(PM)と比べて抑制されたが、血圧降下作用を有する ajmalicine の総生産量や培養液中への分泌生産量が顕著に増大した(PM-ENB:細胞内 17.0 mg/L, 細胞外 9.0 mg/L, PM:細胞内 5.3 mg/L, 細胞外 0.5 mg/L)。また、ENBにより serpentine や他の indole alkaloid 類の顕著な生産促進が認められた。PM-ENB にメチルジャスモン酸を添加し、<i>C. roseus</i> 細胞を培養した結果、培養14日目の細胞外への ajmalicine の分泌が更に促進された(細胞内 18.5 mg/L, 細胞外 15.5 mg/L)。さらに、合成吸着剤を用いることで、培養液中に分泌生産された Indole alkaloid 類を連続的に回収しながら生産することに成功した(効率的な連続生産システムの構築の可能性が得られた)。新たに作成したイチイ培養細胞を用いて種々検討を行った結果、ENB やメチルジャスモン酸を含む培地を用いることで社会的ニーズの高い抗癌剤の paclitaxel を高効率に生産(細胞外: 30.6 mg/L、コントロールの細胞外は 0.5 mg/L)することができた。</p>					
キーワード FA	エチレンナノバブル	ニチニチ草培養細胞	ajmalicine	Indole alkaloid	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	エチレンナノバブルが植物有用代謝産物生産に及ぼす影響の解析と利用							
	著者名 <sup>GA</sup>	青柳秀紀ら	雑誌名 <sup>GC</sup>	第65回日本生物工学会大会講演要旨集					
	ページ <sup>GF</sup>	144~144	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	3	巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

A nano-bubble generation system that uses a porous glass membrane was developed. Ethylene is the gaseous phytohormone. The optimal operation conditions for effective generation of ethylene nano-bubbles (ENB) in a medium were determined. A method for sterilization of plant seeds using chlorine dioxide was also developed. Based on these methods, cultured cell lines of *Catharanthus roseus* and *Taxus cuspidata* were established. *C. roseus* was cultivated in a liquid medium containing ENB. In comparison with medium without nano-bubbles (PM), both cell growth and sugar consumption were slightly inhibited in the medium containing nano-bubbles (PM-ENB). On the other hand, the intracellular and extracellular ajmalicine (a hypotensive agent) concentrations were respectively 17.0 mg/L and 9.0 mg/L in PM-ENB medium but only 5.3 mg/L and 0.5 mg/L in the control (PM) medium. Production of serpentine and other indole alkaloids were also promoted in PM-ENB medium. Addition of both ENB and methyl jasmonate (MeJA) to the medium stimulated the total and extracellular ajmalicine production in *C. roseus* cells, increasing the intracellular and extracellular ajmalicine concentrations to 18.5 mg/L and 15.5 mg/L, respectively. The indole alkaloids in the broth could be simultaneously recovered with neutral resin, which suggests that continuous production of ajmalicine and various indole alkaloids, (which are normally stored intracellularly in vacuoles), may be feasible. Addition of both ENB and MeJA to the medium also promoted secretory production of paclitaxel (an anticancer agent) by *T. cuspidata* cultured cells. In this case, the extracellular paclitaxel concentrations was 30.6 mg/L, which is much higher than 0.5 mg/L obtained in the control experiment.