

イネはうつ病の改善に役立つのか

生物資源科学部 生物生産科学科

2年 鈴木 直人

2年 中嶋 涼太

2年 安藤 広貴

指導教員 生物資源科学部 生物生産科学科

助教 曾根 千晴

【背景・目的】

近年、世界的にうつ病患者数は増加している。うつ病は気分の落ち込みや喜び・興味の減退などの症状が長時間持続し、日常生活にも支障をきたすようになった状態を指し、平成26年時点で日本でのうつ病患者数は112万人以上と報告されている(厚生労働省)。うつ病の改善の一つに、幸福物質のセロトニンの前駆物質であるアミノ酸のトリプトファンが注目されている。うつ病の改善に向け、遺伝子組換えを用いて高トリプトファン米が開発されたが(農研機構 2003)、日本での一般的な栽培は難しい。西アフリカイネ開発協会(現Africa Rice)によって、アフリカイネとアジアイネを種間交雑して開発されたイネ系統は、ネリカと名付けられた。このネリカ系統は、アジアイネと比較して籾中のタンパク質含量が高いと報告されている。タンパク質はアミノ酸を基に構成されており、タンパク質含量の高い米ではアミノ酸含量も高いことが期待できる。そこで、高タンパク質米のネリカに注目した。Africa Riceが測定した試験で、タンパク質含量の高いネリカ品種でトリプトファン含量も高かった。しかしながら、その後ネリカ系統のトリプトファン含量について試験は行われていない。本実験ではネリカとアジアイネのトリプトファン含量の比較及び、土壌の窒素濃度を変えた時のトリプトファン含量への影響を調査した。

【材料】

- ・アジアイネ：あきたこまち、フクニシキ、ホウネンワセ、Benenego
- ・アフリカイネ：CG14、5680、5495
- ・ネリカ：NERICA1、NERICA4、NERICA6

【方法】

5月：種子消毒・浸種・催芽・播種

種籾を消毒液に30分間厳密につけ、その後1時間毎に水を入れ替えながら、種籾を水に浸した。

種籾に水分を十分に吸わせるため、籾内の発芽阻害物質を取り除くために水に種籾を約1週間浸した。育苗用セル1つに種籾を1粒ずつ播種し、3週間ほど育苗した。

6月～8月：移植・追肥・水管理

秋田県の窒素施用量に準じた肥料を与えた対照区、対照区の2倍の窒素肥料を施用した高窒素処理区(高N区)の2処理区を設けた。リン及びカリウムについては両区で等量を与えた。肥料を混合した粒状培土を詰めたポットに、1ポット1個体で苗を移植した。各品種、各処理区で3ポットずつ準備した。必要に応じて追肥や水管理を行った。追肥については定植35日後に1回、施肥した。6月26日、7月4日、7月18日に植物体の様子を観察し、各品種の葉齢、茎数、草丈の計測、葉緑素計でのSPAD値の計測を行った。

10月：収穫

育てたイネを収穫し、乾物重を測定する予定だったが、生育が悪く収穫できなかった。

11月～1月：播種・追肥・水管理

再度、各品種の種籾を播種し、温室で育てた。必要に応じて追肥、水管理を行った。

3月：トリプトファン含量測定

2度目のイネの生育も悪かったため、実験室にあるあきたこまちとNERICA6の種籾を使用し、トリプトファン含量を測定した。各品種の玄米を60粒磨り潰し、3つずつサンプルを作製した。1サンプルにおいて、玄米粉を内部標準入りの1M HCl300 μL中で破碎、遠心して上清を回収した。約300 μLの上清にエタノール/ピリジン溶液240 μL、クロロギ酸エチル30 μLを加え、攪拌・遠心し、5分間静置した。5分間静置後、ジクロロメタン400 μLを加え、攪拌・遠心し、下層を採取し、GCMS分析計で各サンプルのトリプトファン含量を計測した。

【結果と考察】

次に示した図(図1～図4)は各品種の生育中の葉齢、茎数、草丈、SPADの推移を示したものである。

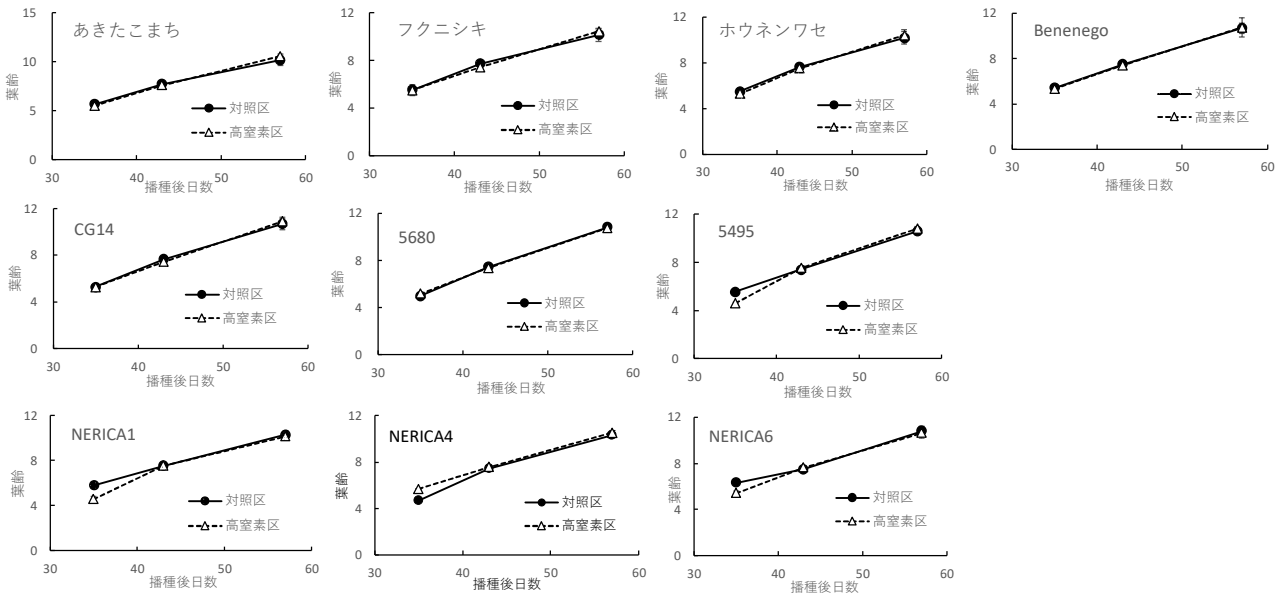


図1. 生育中の葉齢の変化

あきたこまち、フクニシキ、ホウネンワセ、Benenego、CG14、5680において、窒素施肥による葉齢の違いはなかった。5495、NERICA1、NERICA6においては、播種後35日で、対照区の方が高N区よりも大きかった。NERICA4においては、播種後35日で、高N区の方が対照区よりも大きかった。しかし、生育が進むにつれて処理区間の違いは無くなった。

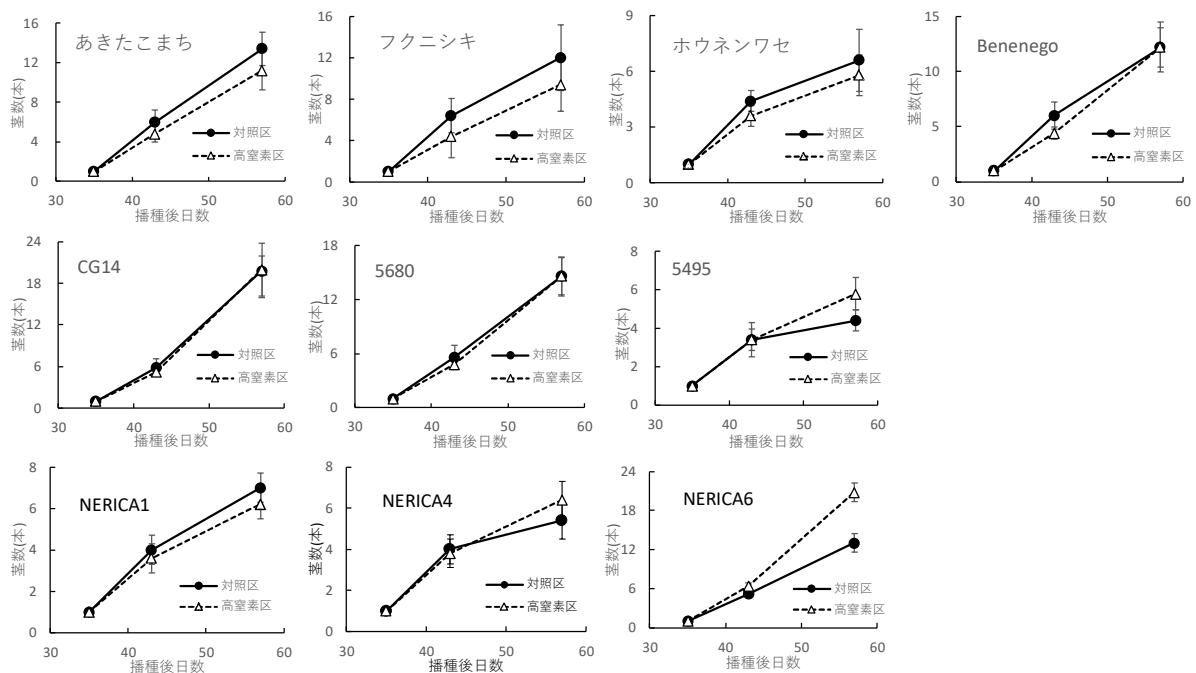


図2. 生育中の茎数の変化

あきたこまち、フクニシキ、ハウネンワセ、NERICA1においては、全ての期間で対照区の方が高N区よりも茎数が多かった。Benenegoでは播種後43日に対照区の茎数が高N区よりも多かったが、他の期間では差が無かった。CG14、5680に関しては、窒素施肥の有無による茎数の変化はなかった。5495、NERICA4、NERICA6においては生育が進むにつれて、高N区の方が、茎数が多くなる傾向が見られ、特にNERICA6で、播種後57日に対照区と高N区で大きな差が見られた。

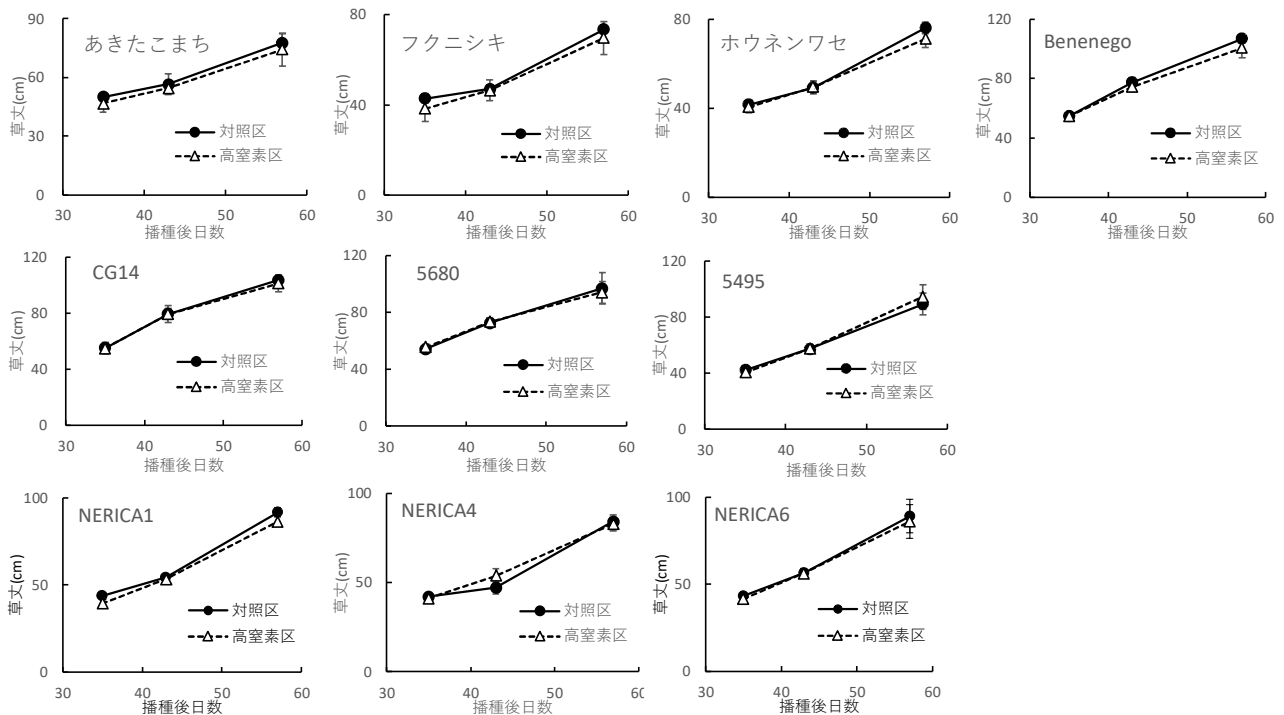


図3. 生育中の草丈の変化

どの品種においても草丈は対照区、高窒素区であまり大きな差が見られず、窒素施肥の有無によって、草丈は変化しないことが分かった。

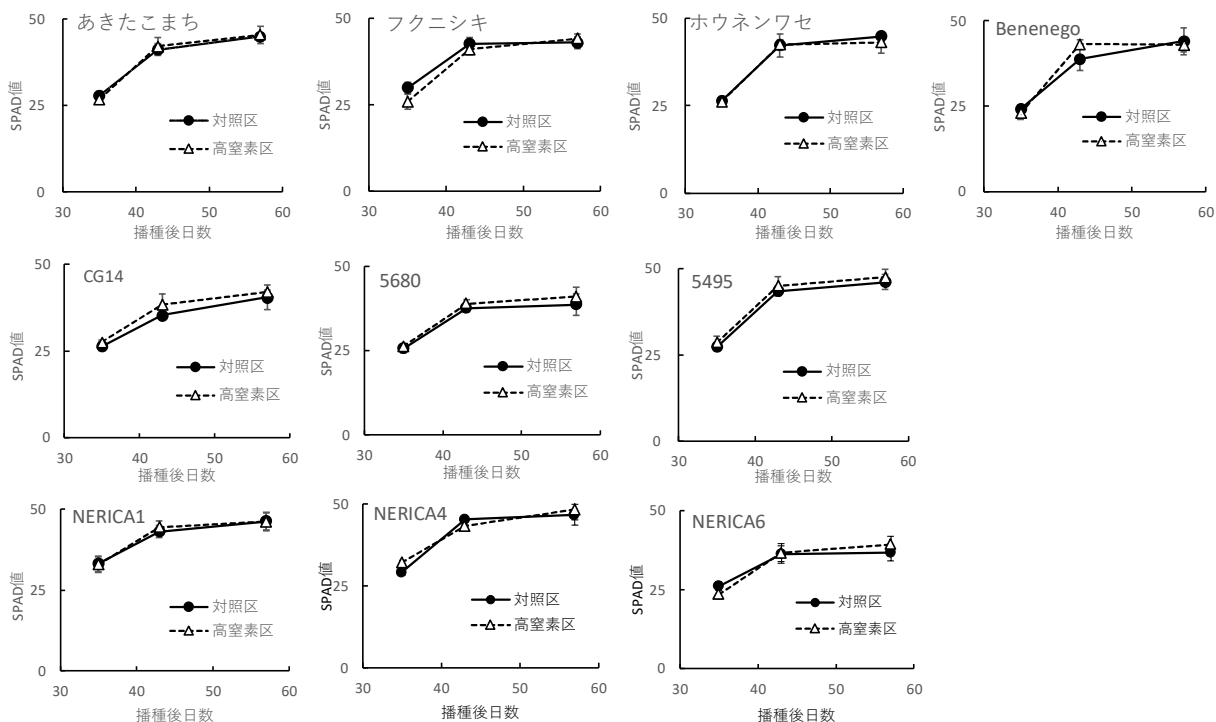


図4. 生育中のSPADの変化

SPAD値は葉緑素計で計測される葉緑素の濃度を数値化した値であり、一般に窒素施肥が多いと葉のSPAD値が高くなり、葉の色が濃くなるとされている。多くの品種では、高N区の方が対照区より

もSPAD値が高いか同じである傾向にあった。しかし、フクニシキは播種後35日と43日で対照区の方が高く、ハウネンワセやBeneengoは播種後57日で対照区の方が高かった。この要因として、施肥する窒素量が高すぎたため植物体に負担がかかってしまったこと、SPAD値を測定する際のミスなどが考えられる。アフリカイネのCG14、5680、5495については、どの期間でも高N区でSPAD値が高く、アフリカイネの窒素に対するSPAD値の反応性が高いことが分かった。

今回の実験で計測した4つの要素の内、窒素による影響があったのは葉齢と茎数であった。葉齢と茎数において、アフリカイネ、ネリカは窒素に対する反応性が高い傾向にあった。今回、イネの生育が悪かったため、収穫・乾物重量測定が出来ず、窒素肥料施用量による収量の増加、タンパク質及びアミノ酸の増加を確かめることは出来なかった。

収穫が出来なかったため、前年のあきたこまちと、ネリカの中でも高トリプトファンが報告されているNERICA6イネの粳を使用し、トリプトファン含量を測定した。下図は、各サンプルの計測結果をまとめた表(表1)と、その結果から求めたサンプル1 μL当たりのトリプトファン含量をまとめた図(図5)である。

サンプル	内部標準のピーク面積	トリプトファンのピーク面積	玄米粉の重量(g)
aki1	319042	240117	0.3006
aki2	245230	259721	0.3001
aki3	189041	310274	0.3006
NER1	261925	213203	0.3004
NER2	266537	220772	0.3000
NER3	244397	214711	0.3008

表1.各サンプルの計測結果

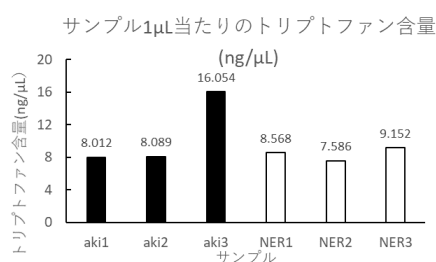


図5. のトリプトファン含量

トリプトファン含量を求める計算過程を示すため、あきたこまち(aki1)のトリプトファン含量を実際に以下のように求めた。まず、GCMS分析で得られた内部標準とトリプトファンのピーク面積から、 $240117 \div 319042 \times 100 = 75.26187$ という値が得られた。検量線から得られたトリプトファン含量を求める式、 $\text{Trp (ng/μL)} = (X + 13.286) \div 14.735$ のXの部分に75.26187を代入することで、トリプトファン含量を求めた。 $(75.26187 + 13.286) \div 14.735 = 88.54787 \div 14.735 = 6.0093566 \text{ ng/μL}$ 400 μLのジクロロメタンの内、1 μLを分析したため、 $6.0093566 \times 400 = 2403.7426 \text{ ng}$ のトリプトファンが用いたサンプル溶液に含まれていたことになる。300 μLのサンプル溶液を用いたため、 $2403.7426 \text{ ng} \div 300 \text{ μL} = 8.012 \text{ ng/μL}$ という式から、aki1のサンプル1μLに含まれていたトリプトファン量は、8.012 ng/μLであると求めることができた。同じようにして、他のサンプルについてもトリプトファン量を求め、図5にまとめた。

ネリカは他品種よりもタンパク質含量、アミノ酸含量が多いと報告されていたが、本実験では、あきたこまちとネリカにおいてトリプトファン量の違いがほとんど無かった。この要因として、今回のトリプトファンの測定に用いた粳が、あきたこまちは日本で栽培されたのに対し、ネリカはウガンダで栽培された粳を使用したことが考えられる。アフリカと日本では、気候や栽培環境が異なっており、施肥量についても日本と比べ少ないことが考えられる。そのために、同条件下で栽培されたアジアイネとの比較ではトリプトファン含量がネリカ品種で、アジアイネとトリプトファン含量が変わらない結果になった可能性がある。同条件下で栽培したアジアイネとネリカのトリプトファン含量の比較及び、窒素濃度を変えた時のトリプトファン含量への影響については再度調査が必要である。

参考文献

農研機構成果情報 作物研究所 2003「高トリプトファン含量イネの作出」

<http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/nics/2003/nics03-03.html>