

ベタニン色素に関する研究

レッドビート塊根からの効率的精製法の開発, 安定性の検討, ならびに植物細胞内での動態解明

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 浅野 純一

1. はじめに

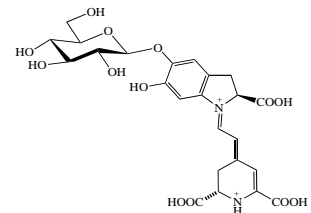
植物4大色素の1つであるベタレインは, 中心子目の植物にのみ含まれる水溶性含窒素化合物であり, 植物に強光ストレス, 塩ストレス, あるいは乾燥ストレスに対する耐性を付与することで知られる。また, ベタレインは植物のみならず, ヒトに対しても抗酸化能をはじめとした多機能性を示し, 現在のところ, 肝機能保全作用, 抗糖尿病作用, 抗炎症作用などが期待されている。加えて, ベタレインはイミン結合を持つ比較的不安定な化合物であり, 大量かつ効率的な高純度精製は困難と認識されている。そこで本研究では, ベタレインの一種“ベタニン (*cyclo*-DOPA 7-*O*- β -glucoside, 1)”の大供給源であるレッドビート (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) 塊根から, 安定的かつ効率的なベタニン簡易精製法と長期保存法を確立し, ベタニンの精製度ならびに保存安定性を検証した。さらに, 精製した高純度ベタニンやその誘導體, さらには細胞膜や液胞膜でのエンドサイトーシスを仲介する DRP1 阻害剤 (終濃度 100 μ M クロロプロマジン等) を用い, ベタレイン含有植物アカバセンニチコウ (*Alternanthera dentata*) 維管束細胞でのベタニン輸送機構解明を試みた。

2. 方法

恵庭市島松の有機農業認定圃場で完全無農薬栽培を委託し, 夏期に収穫したレッドビート (デトロイトダークレッド, シリンドラ) 塊根を材料とし, その搾汁液を 70% 硫酸飽和溶液として遠心分離に供し, 除タンパク処理済み上清を逆相担体 (Cosmosil 75C₁₈-PREP) に吸着させ, クエン酸水溶液による担体洗浄で硫酸の吸引除去を行った。洗浄後, 20% エタノールで溶出したベタニン含有画分を濃縮し, 得られたクエン酸共沈澱物を 95% エタノール洗浄でクエン酸と低極性物を除き, その不溶物を純水に再溶解したものから, 2次精製用 Cosmosil 75C₁₈-PREP から 6-8% エタノール水溶液でほぼ純粋なベタニンを溶出した。さらに得られたベタニンについて, ¹H-NMR による純度検定と退色を指標にする安定性試験を行った。また, 植物生体内におけるベタニン輸送機構を検証するため, 長日条件で室内栽培したアカバセンニチコウを被検植物とし, 精製ベタニンやベタニン類似化合物, 液胞膜輸送阻害剤を投与した際の色素と色素胞の動態を蛍光顕微鏡で観察した。

3. 結果と考察

逆相担体を用いたベタニンの精製では, ベタニンをクエン酸と共沈させるステップを通して飛躍的にベタニンの精製度が向上し, 最終精製後, 乾燥粉末状にした高純度ベタニンは高い安定性を示し, 4°C で長期保存できることが確認された。また, これまで高収率かつ大量のベタニン精製を行うことは難しかったが, 確立した精製法ではそれが可能となり, 純粋なベタニンを用いた関連化合物の機能性探索が可能となった。さらに植物体内におけるベタニン輸送形態として, 小胞体と液胞膜とのエンドサイトーシスと細胞膜との融合を介した輸送機構および導管を介した色素輸送が示唆された。



ベタニン

(*cyclo*-DOPA 7-*O*- β -glucoside, 1)