

電気パルス刺激によるサナギタケおよびタモギタケ 子実体発生促進と生理活性成分の含有量増加

大賀, 祥治

九州大学大学院環境農学部門森林環境科学講座森林生産制御学分野

アーメッド, イムティアジ

九州大学大学院環境農学部門森林環境科学講座森林生産制御学分野

フェルザナ, イスラム

九州大学大学院生物資源環境科学府環境農学専攻森林環境科学コース森林生産制御学分野

楊, 仲凱

九州大学大学院生物資源環境科学府環境農学専攻森林環境科学コース森林生産制御学分野

他

<https://doi.org/10.15017/26673>

出版情報：九州大学農学部演習林報告. 94, pp.23-29, 2013-05-17. 九州大学農学部附属演習林
バージョン：
権利関係：

電気パルス刺激によるサナギタケおよびタモギタケ子実体発生促進と生理活性成分の含有量増加*

大賀 祥治**・アーメッド イムティアジ**・フェルザナ イスラム***・楊 仲凱***・
清水 幸子****・柿野 賢一*****

電気パルス刺激の子実体発生への効果について、サナギタケおよびタモギタケで検討した。電気刺激処理を施すことで、いずれも子実体の増収効果が認められた。さらに、各々の生理活性成分である、コルジセピンおよびエルゴチオネインの含有量が増大することが明らかになった。

キーワード：電気パルス刺激、サナギタケ、コルジセピン、タモギタケ、エルゴチオネイン

Effect of the electric pulsed power on *Cordyceps militaris* and *Pleurotus cornucopiae* was examined on the artificial medium. Fruit body formation was promoted, and cordycepin and ergothioneine contents were increased with the electric pulse stimulation.

Keywords : electric pulse stimulation, *Cordyceps militaris*, cordycepin, *Pleurotus cornucopiae*, ergothioneine

1. はじめに

きのこ栽培での子実体発生における電気パルス刺激の効果については、いくつかの報告がみられる。シイタケでは、ほだ木（實淵・山元 1987; 大森 1985）や、菌床（Ohga et al., 2001; 大賀 2004）で発生促進効果が明らかにされている。さらに、エリンギ、マイタケ、ナメコ、エノキタケ、ブナシメジ、ヒラタケ、ヤナギマツタケ、クロアワビタケの8種類の栽培きのこで電気パルスの刺激効果が明らかにされている（澄川ほか 2006; Ohga 2012）。また、野外での印加試験では、キツネタケ子実体発生に大きな影響を及ぼすことが見出されている（Ohga and Iida 2001）。きのこ栽培において、電気パルス印加の刺激を利用しようとする取り組みは実用化段階に入ったといえる。きのこの菌糸体から効率良く子実体形成を誘起するには、一定の環境条件の変動が重要であり、温湿度などの調整が汎用されてきた。このような相の転換への刺激として電気パルス印加が働いているが、同時に子実体中の二次代謝成分含有量に影響を及ぼすことが予想されている。

きのこには多くの有効成分が含有されていることが明らかになり、注目されるに至っている。サナギタケおよびタモギタケには、生理活性成分であるコルジセピンおよびエルゴチオネインが含有されており（Dong et al. 2013; Cheah

and Halliwell 2012）、健康食品としての活用が期待されている。

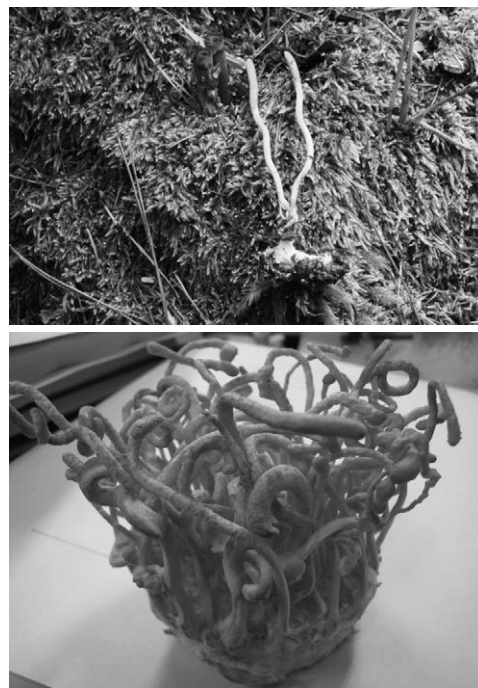


Fig. 1 *Cordyceps militaris*.

図1 サナギタケ（上：野生種，下：栽培品）

* Ohga S., Imtiaj A., Islam F., Yang C., Shimizu S. and Kakino K.: Promotion for fructification of *Cordyceps militaris* and *Pleurotus cornucopiae* and productivity for physiologically active substances with electric pulses stimulation.

** 九州大学大学院環境農学部門森林環境科学講座森林生産制御学分野 Laboratory of Forest Production Control, Division of Forest Environmental Science, Department of Agro-environmental Sciences, Faculty of Agriculture, Kyushu University

*** 九州大学大学院生物資源環境科学府環境農学専攻森林環境科学コース森林生産制御学分野 Laboratory of Forest Production Control, Course of Forest Science, Department of Agro-environmental Sciences, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

**** 株式会社クリエーション Creation Co., Ltd.

***** 九州大学大学院医学研究院予防医学分野 Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

サナギタケは冬虫夏草で、サナギの幼虫に感染する寄生菌である。古来より漢方薬として珍重されてきた。中国では、北方草として知られ広く栽培利用されている(図1)。また、タモギタケはキシメジ科ヒラタケ属で、鮮やかな黄色の傘が特徴である。冷温帯でよく発生が見られ、北海道のハルニレに群生している例が多い。本州でも発生し、最近では九州で観察されている。美味しい食用きのことして知られ、菌床での栽培が普及してきている(図2)。中国、台湾や韓国などの東アジア諸国でも流通している。

近年、各々のきのこで機能性が着目され、サナギタケに含有されるコルジセピンは核酸系の抗生物質のひとつで、3-デオキシアデノシンとも呼ばれ、アデノシンの3'位からヒドロキシ基が失われた構造である(Ramesh et al. 2012)。化合物名は冬虫夏草属(*Cordyceps*)から抽出されたことに由来している。マウス腹水ガンに対して抗腫瘍作用があるとされ、その作用機序は、DNA、RNA合成阻害作用、悪性細胞の増殖抑制、アポトーシスを誘発する働きなどとされている(Jagger et al. 1961)。

一方、タモギタケに含有されるエルゴチオネインは、ラジカル消去活性による高い抗酸化作用が評価されている(Dong et al. 2007)。また、化粧品配合成分として有効性が期待され、エラスターゼ活性阻害による皮膚の光老化やしわ形成抑制、チロシナーゼ活性阻害によるメラニン生成抑制などにより美白効果を促すことが知られている(Meng et al. 2012)。安全性が高く、保湿作用を持つ、肌に優しいアンチエイジング成分とされ注目されている。

ここでは、サナギタケおよびタモギタケを取り上げ、電気パルス刺激が子実発生量、および産出する生理活性成

分であるコルジセピンおよびエルゴチオネインの含有量への影響について検討した。

2. 材料および方法

2. 1. 供試菌

サナギタケ (*Cordyceps militaris*) KUMB106:九州大学福岡演習林産、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*) KUMB116:九州大学北海道演習林産。いずれも九州大学保存株である。

2. 2. 試料

サナギタケ菌床:玄米にスキムミルクを加え60%に調整後100gを500ml容ポリプロピレン容器に詰め、滅菌(120°C, 30分間)、放冷した後に純粋培養しておいた液体種菌を接種した。23°C, 80%RHで一定期間培養した。

タモギタケ菌床:ブナおが屑にフスマを加え(3:1)含水率が60%になるよう調製し、ポリプロピレン瓶に500g詰めた。同様に滅菌、放冷し、あらかじめ用意しておいた、おが屑種菌を5g接種した。23°C, RH80%の条件下で一定期間培養した。

2. 3. 電気パルス印加

高電圧パルス電源(Wave Motion Gun):TYC-1友信工機株式会社を使用した。培養30日目の完熟菌床に対して、直接10-60kV, 10⁻⁶秒を単回印加処理した(図3および4)。



Fig. 2 *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*.
図2 タモギタケ(上:野生種,下:栽培品)

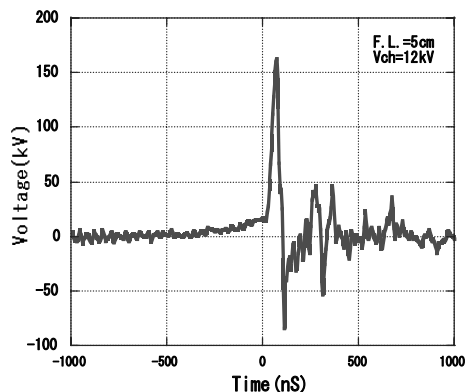
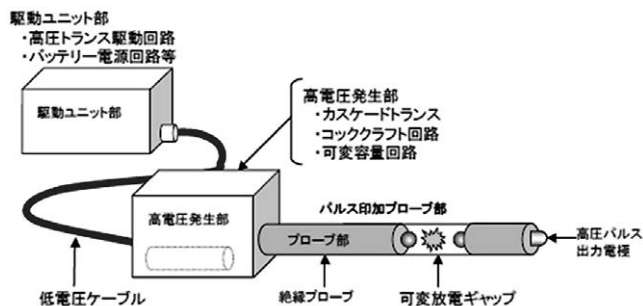


Fig. 3 Electric stimulation instrument and shape of pulsed power
図3 電気パルス印加装置および波形



Fig. 4 Pulsed power stimulation treatment.
図4 電気パルス印加による刺激処理

2. 4. 子実体発生

電気パルス印加後に10日間の低温処理を施した (23→18℃, 95%RH)。発生した子実体について、重量測定により発生量を求めた。

2. 5. 生理活性成分の定量

コルジセピン：子実体を80℃熱水で2時間抽出し、濾過したものを試料とした。凍結乾燥したものにメタノールを加え0.45 μ mメンブレンフィルターでろ過したものを定量した。HPLC測定条件：資生堂CAPCELL PAK C18AQカラム (4.6 mm×150mm)，移動層メタノール：KH₂PO₄ buffer = 15：85，流速1 ml/min，検出波長254nm。

エルゴチオネイン：子実体を凍結乾燥し，粉碎後10倍量の80%メタノールを加え，超音波処理で90分間抽出を行った。抽出液を4℃，12000rpmで5分間遠心分離し，上澄み

部を0.45 μ mのメンブレンフィルターでろ過後HPLC分析を行った。測定条件は，日本分光JASCO PU-2089 カラム：JASCO Crestpak C18S 4.6 mm×150mm，移動相：50mMリン酸ナトリウム緩衝液，3%アセトニトリル，0.1%トリエチルアミン，流量：1ml/min，カラム温度：40℃，波長：254 nm JASCO GNB-2075 UV。

3. 結果および考察

3. 1. サナギタケ

図5に示すように，電気パルス刺激によって発生量が最大32gとなり，無処理の12gに比べ，子実体発生量が著しく増加することが明らかになった。印加電圧によって効果に差がみられ，30kVで最も良好な結果が得られた。無処理に比べ印加区では267%の発生率 (BE：Biological Efficiency) となった。

サナギタケの有効成分のうち，コルジセピン (図6) について定量を行った。図7に示すように，コルジセピンの含有量が著しく増加して子実体発生量の場合と同様に30kV印加で著しい効果が認められた。無処理区では，子実体絶乾1gあたり42mgであるのに対し，印加区では88mgと大幅に増加することが分かった。図8は菌床あたりのコルジセピン含有量を示しているが，無処理区の50mgに比べ，30kV印加区では282mgとなり大幅に含有量が増加することが明らかになった。

コルジセピンは3'-deoxyadenosineとも呼ばれ，ヌクレオシドの一つのアデノシンの3'位からヒドロキシル基 (OH基) を失った構造である。期待される機能性としては，DNAやRNA合成阻害作用があると言われている。そのため，悪性細胞の増殖抑制効果があると考えられている (Kredich and Guarino, 1961)。冬虫夏草菌のうちでは，シネンシス冬

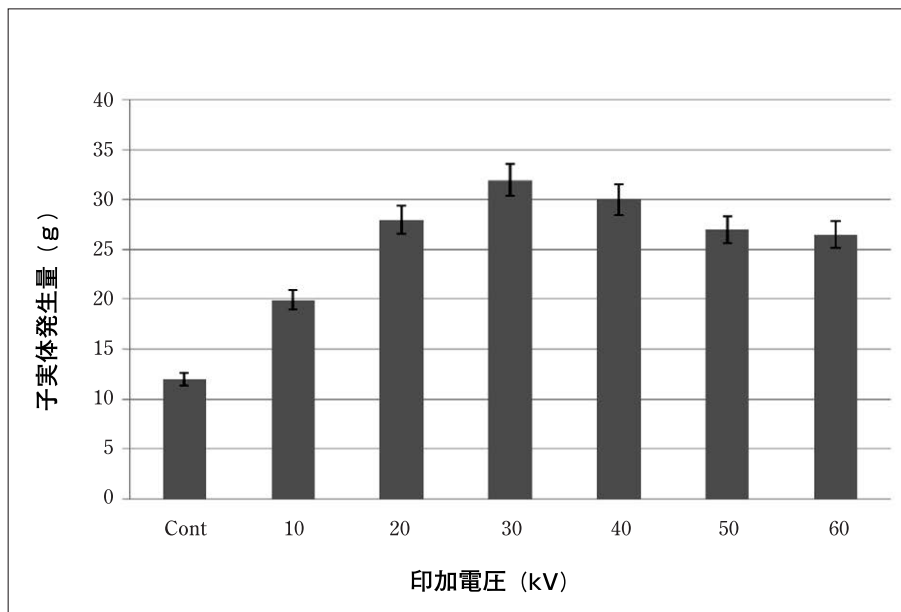


Fig. 5 Effect of electric impulse on fructification of *Cordyceps militaris*. n=32
図5 サナギタケ菌床への電気パルス刺激が子実体発生におよぼす影響

虫夏草 (*Cordyceps sinensis*) などにはほとんど含まれておらず、サナギタケに特異的に含有される化合物である (Cheah and Halliwell 2012)。

発芽操作での刺激処理によって、代謝産物であるコルジセピンの含有率が大きく増大することが明らかになった。子実体の発生量が上昇し、さらに子実体中の含有率が2倍に増加すれば、菌床あたりのコルジセピンは5倍以上の収量が見込めることが可能になるものと思われる。

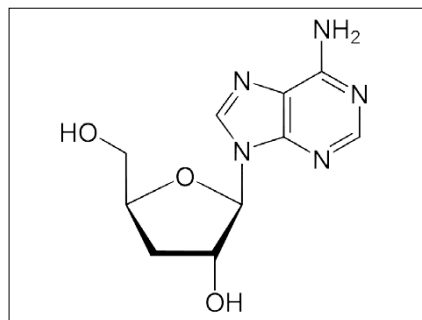


Fig. 6 Physiologically active substances cordycepin contained in *Cordyceps militaris*.

図6 サナギタケに含有される生理活性成分のコルジセピン

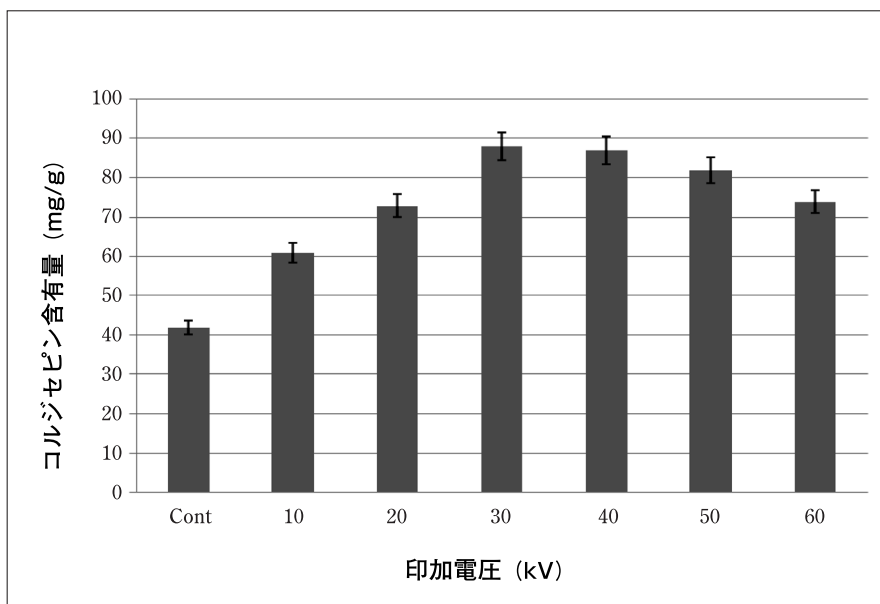


Fig. 7 Effect of electric impulse on cordycepin content of *Cordyceps militaris*. n=32

図7 サナギタケ子実体のコルジセピン含有量に対する電気パルス刺激効果

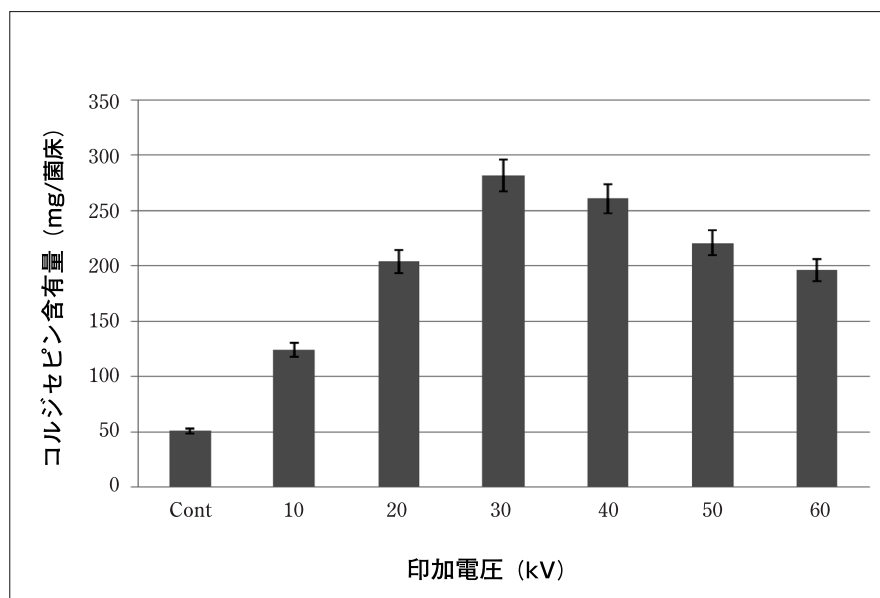


Fig. 8 Effect of electric impulse on cordycepin contents in the *Cordyceps militaris* substrate. n=32

図8 サナギタケ菌床あたりのコルジセピン含有量に及ぼす電気パルス刺激の効果

3. 2. タモギタケ

タモギタケ菌床の熟成度が増大した時点で、電気パルス印加を行うと子実体発生量が増大することが明らかになった(図9)。これまでに、検討してきた10種類以上の食用担子菌と同様に子実体形成促進作用が認められた。そして、今回着目したエルゴチオネイン(図10)の含量が著しく増加することを見出した。通常での子実体中の含量の16 mg/gに比べ、39 mg/gと大幅に増加することが分かった(図11)。菌床あたりのエルゴチオネインの含有量を図12に示

すが、無処理区の350mgに比べ、30kV印加区では1030mgとなり約3倍の収量となっていることが分かる。印加電圧については、30kVで十分であり、それ以上高くても子実体発生量およびエルゴチオネイン含量に影響しないことが示された。

エルゴチオネインはヒスチジンから生合成され、システインが関与することが知られているが、電気パルス印加によって、代謝経路が影響されたものと考えられる。

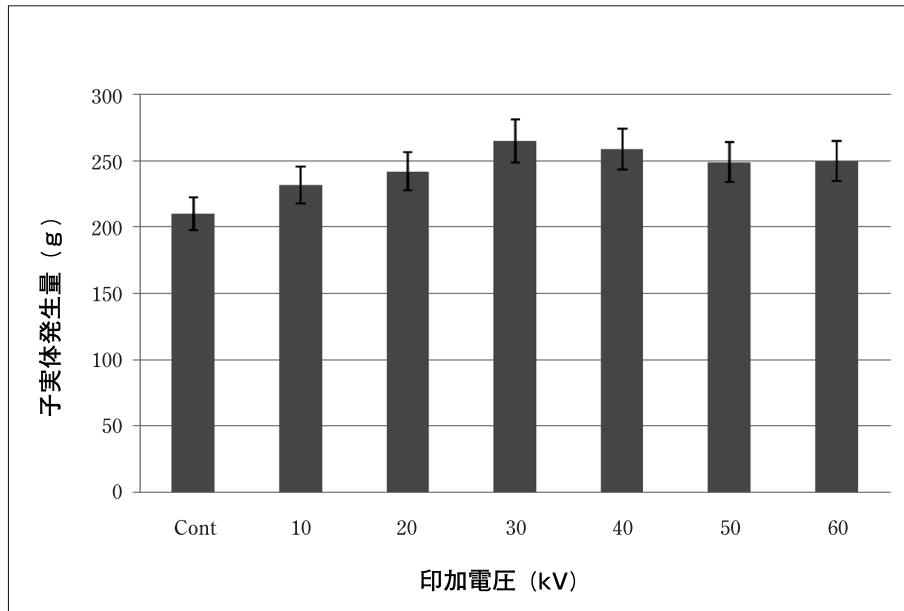


Fig. 9 Effect of electric impulse on fructification of *Pleurotus cornucopiae*. n=32

図9 タモギタケ菌床への電気パルス刺激が子実体発生に及ぼす影響

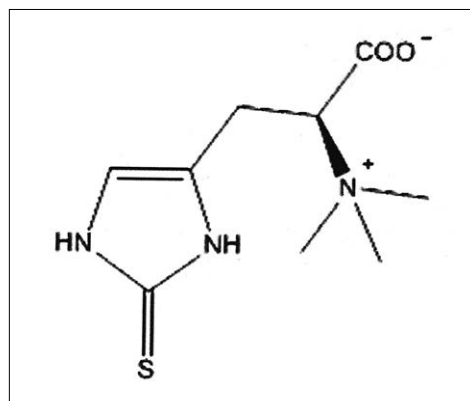


Fig. 10 Physiologically active substances ergothioneine contained in *Pleurotus cornucopiae*.

図10 タモギタケに含有される生理活性成分のエルゴチオネイン

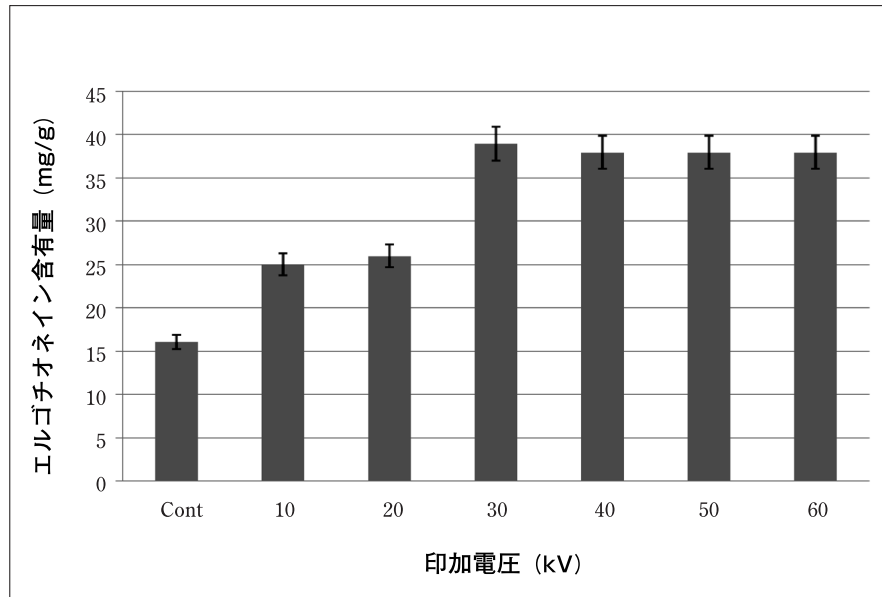


Fig. 11 Effect of electric impulse on ergothioneine content of *Pleurotus cornucopiae*. n=32
 図 11 タモギタケ子実体のエルゴチオネイン含有量に対する電気パルス刺激効果

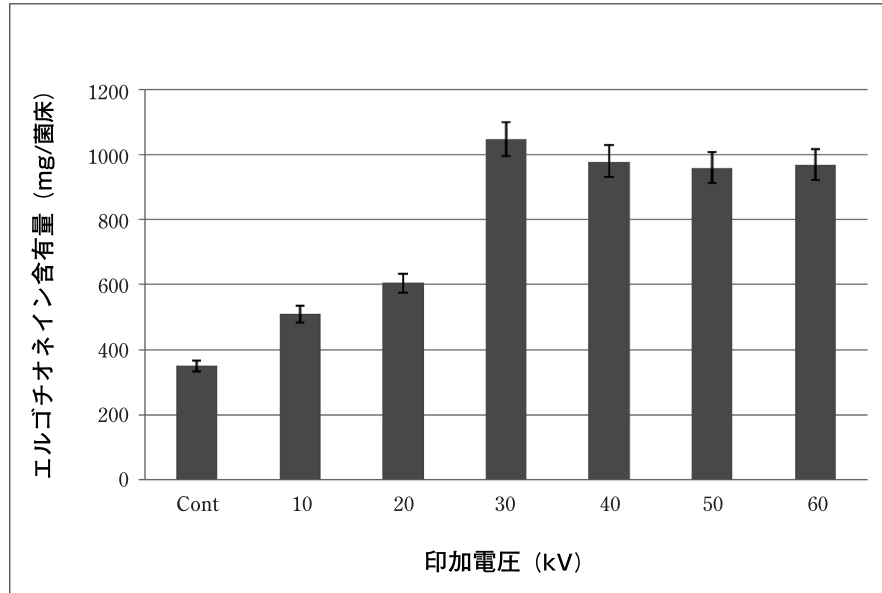


Fig. 12 Effect of electric impulse on ergothioneine contents in the *Pleurotus cornucopiae* substrate. n=32
 図 12 タモギタケ菌床あたりのエルゴチオネイン含有量に及ぼす電気パルス刺激の効果

4. 謝 辞

本研究では、友信工機株式会社の機器を使用させていただきました。ここに記して感謝いたします。

引用文献

- Cheah, I.K. and Halliwell, B. (2012) Ergothioneine: antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1822: 784-793
 Dong, K.K., Damaghi, N., Kibitel, J., Canning, M.T., Smiles,

- K.A. and Yarosh, D.B. (2007) A comparison of the relative antioxidant potency of L-ergothioneine and idebenone. *Cosmetic Dermatology* 6: 183-188
 Dong, J.Z., Ding, J., Yu, P.Z., Lei, C., Zheng, X.J. and Wang, Y. (2013) Composition and distribution of the main active compounds in selenium-enriched fruit bodies of *Cordyceps militaris* link. *Food Chem.* 137: 164-167
 Jagger, D.V., Kredich, N.M. and Guarino, A.J. (1961) Inhibition of ehrlich mouse ascites tumor growth by cordycepin. *American Soc. Biol. Chem.* 6: 216-220
 實淵喜康・山元理代(1987) シイタケ栽培技術の改良に関する

- る研究 (電気刺激のキノコ栽培への応用). 九州電力研究報告 No. 87004, 1-1
- Kredich, N.M. and Guarino, A.J. (1961) Homocitryllamino-adenosine, a nucleoside isolated from *Cordyceps militaris*. J. Biol. Chem. 236: 3300-3302
- Meng, T.X., Zhang, C.F., Miyamoto, T., Ishikawa, H., Shimizu, K., Ohga, S. and Kondo, R. (2012) The melanin biosynthesis stimulating compounds isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus citrinopileatus*. J. Cosmetics, Dermatol. Sci. Appl. 2: 151-157
- Ohga, S., Iida, S., Koo, C.-D. and Cho, N.-S. (2001) Effect of electric impulse on fruit body production of *Lentinula edodes* in the sawdust-based substrate. Mushroom Sci. Biotechnol. 9: 7-12
- Ohga, S. and Iida, S. (2001) Effect of electric impulse on sporocarp formation of ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* in Japanese red pine plantation. J. For. Res. 6: 37-41
- 大賀祥治 (2004) キノコ学への誘い.海青社, 大津, pp42-43
- Ohga, S. (2012) Application of electric pulsed power on fruit body production of edible and medicinal mushrooms. CNU J. Agr. Sci., 39: 597-600
- 大森清寿 (1985) シイタケほだ木への電氣的刺激効果について. 菌蕈 31 (4): 33-37
- Ramesh, T., Yoo, S.K., Kim, S.W., Hwang, S.Y., Sohn, S.H., Kim, I.W. and Kim, S.K. (2012) Cordycepin (3' - deoxyadenosine) attenuates age-related oxidative stress and ameliorates antioxidant capacity in rats. Experiment. Geront. 47: 979-987
- 澄川真也・チャンドラ ポクレル・楊柏松・谷口哲幸・田中優子・工藤久・塚本俊介・金子周平・北島良信・倉光幸子・大賀祥治 (2006) 食用きのこ類の子実体発生におよぼす電気インパルス印加効果. 九大演報 87: 1-8

(2012年10月31日受付；2013年1月11日受理)