

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-511202

(P2007-511202A)

(43) 公表日 平成19年5月10日(2007.5.10)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A01G 7/00 (2006.01)</b>	A01G 7/00 601C	2B022
<b>C12N 5/04 (2006.01)</b>	C12N 5/00 F	4B018
<b>A23L 1/29 (2006.01)</b>	A23L 1/29	4B029
<b>C12M 3/00 (2006.01)</b>	C12M 3/00 Z	4B065

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 29 頁)

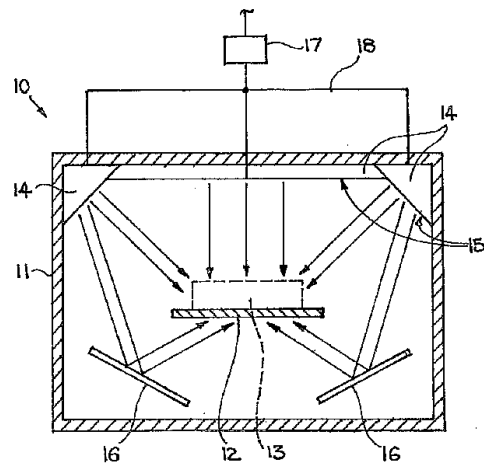
(21) 出願番号 特願2006-530529 (P2006-530529)  
 (86) (22) 出願日 平成16年5月24日 (2004. 5. 24)  
 (85) 翻訳文提出日 平成18年1月20日 (2006. 1. 20)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2004/002211  
 (87) 国際公開番号 W02004/103060  
 (87) 国際公開日 平成16年12月2日 (2004. 12. 2)  
 (31) 優先権主張番号 0311953.4  
 (32) 優先日 平成15年5月23日 (2003. 5. 23)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)  
 (31) 優先権主張番号 0311954.2  
 (32) 優先日 平成15年5月23日 (2003. 5. 23)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 505434582  
 スタニスラウ・カルピンスキ  
 スウェーデン・S-14451・ロニンゲ  
 ・モッシャージェ・ストリート・63  
 (74) 代理人 100064908  
 弁理士 志賀 正武  
 (74) 代理人 100089037  
 弁理士 渡邊 隆  
 (74) 代理人 100108453  
 弁理士 村山 靖彦  
 (74) 代理人 100110364  
 弁理士 実広 信哉  
 (72) 発明者 スタニスラウ・カルピンスキ  
 スウェーデン・S-14451・ロニンゲ  
 ・モッシャージェ・ストリート・63  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 400nmから700nmの光の波長を適用することによって植物細胞内の植物化学物質の濃度を変更するための方法およびそのための装置

(57) 【要約】

クロロフィルを含む植物細胞またはクロロフィルを含む植物組織に400nmから700nmの波長範囲から選択される少なくとも1種の波長を有する光を照射することにより、該植物細胞内または植物組織内の少なくとも1種の植物化学物質の濃度を変更する方法、植物組織の植物化学物質濃度を変更するために該範囲から選択される光の波長の使用、変更された濃度の植物化学物質変更を含む収穫された植物器官、および植物化学物質の濃度が変更された植物組織を生成するための装置。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

クロロフィルを含有する植物細胞またはクロロフィルを含有する植物組織に400nmから700nmの波長範囲から選択される少なくとも1種の波長の光を照射することによって前記植物細胞内または植物組織内の少なくとも1種の植物化学物質の濃度を変更する方法。

## 【請求項2】

前記少なくとも1種の光の波長が600nm~700nmの範囲にある波長の赤色光である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項3】

前記赤色光の波長が620nm~690nmの範囲にある、請求項2に記載の方法。

10

## 【請求項4】

前記赤色光の波長が625nm~680nmの範囲にある、請求項2または3に記載の方法。

## 【請求項5】

前記赤色光の波長が約650nm+/-15nmである、請求項2から4のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項6】

前記少なくとも1種の光の波長が420nm~490nmの範囲にある波長の青色光である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項7】

前記青色光の波長が430nm~470nmの範囲にある、請求項6に記載の方法。

20

## 【請求項8】

前記青色光の波長が435nm~465nmの範囲にある、請求項6または7に記載の方法。

## 【請求項9】

前記青色光の波長が約450nm+/-15nmである、請求項6から8のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項10】

前記光が請求項2から9のいずれか一項に記載の赤色光および青色光の範囲から選択される波長の赤色光および青色光から選択される光の2種の波長を含む、請求項1に記載の方法。

## 【請求項11】

青色光:赤色光のエネルギー比が7:1から1:7の範囲にある、請求項10に記載の方法。

30

## 【請求項12】

青色光:赤色光のエネルギー比率が6:1から1:6の範囲にある、請求項11に記載の方法。

## 【請求項13】

青色光:赤色光のエネルギー比率が5:1から1:5の範囲にある、請求項11または12に記載の方法。

## 【請求項14】

前記植物細胞または植物組織が180分を超える時間間隔の間に前記光の少なくとも1種の波長に暴露される、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項15】

前記植物細胞または植物組織が最大180分の時間間隔の間に前記光の少なくとも1種の波長に暴露される、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【請求項16】

前記時間間隔が最大120分である、請求項15に記載の方法。

## 【請求項17】

前記時間間隔が最大60分である、請求項15または16に記載の方法。

## 【請求項18】

前記時間間隔が最大45分である、請求項17に記載の方法。

## 【請求項19】

前記時間間隔が最大30分である、請求項17または18に記載の方法。

50

## 【請求項 20】

前記時間間隔が5から15分の範囲にある、請求項17から19のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 21】

前記植物細胞または植物組織が植物に含有され、あるいは、高次植物の葉茎、萼、および葉、藻細胞、コケ原系体、ならびに食用および/または非食用もしくは食用に適さない高次植物種および低次植物種における高次植物および低次植物の細胞の細胞培養物から選択される、植物から得られて光合成能を有する植物組織から選択される、請求項1から20のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 22】

前記植物細胞または植物組織が、ハーブ、カサランツスロセウス、イチイ科の植物、カナビス植物、緑色野菜、および緑の種を含む群から選択される植物から得られる、請求項21に記載の方法。

10

## 【請求項 23】

前記植物細胞または植物組織が、カサランツスロセウス、エンドウ豆、グリーンピース、ハウレンソウ、ブロッコリ、緑キャベツ、赤キャベツ、もやし、コールラビ、カリフラワー、白キャベツ、レタス、白菜などのブラシカオレラシア由来の種、ヒメツリガネゴケの原系体などのコケ組織、レムノスポラ種の培養物、および藻細胞培養物を含む群から選択される植物から得られる、請求項21または22に記載の方法。

## 【請求項 24】

可視スペクトル内に認められ、400nmから700nmにある少なくとも1種の波長を有する人工光源からの光に前記植物細胞または植物組織を暴露する、カバー下で植物細胞または植物組織を収集する方法。

20

## 【請求項 25】

前記選択された光の波長が赤色光もしくは青色光または場合によって白色光と組み合わせた赤色光と青色光の組み合わせである、請求項24に記載の方法。

## 【請求項 26】

請求項1から25のいずれかの1つに記載の方法によって得られる収集された植物材料または植物細胞。

## 【請求項 27】

可視スペクトル内に認められ、400nmから700nmにある少なくとも1種の波長の人工光源からの光を生きた植物細胞に照射することを含む食品加工法によって得られる加工食品。

30

## 【請求項 28】

請求項1から25のいずれか一項に記載の方法によって得られる処理された植物材料または植物細胞を含む加工食品。

## 【請求項 29】

植物細胞または収集された植物組織をカバー下で加工する方法における、人工光源からの可視スペクトル(冷光)内に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の光の利用。

## 【請求項 30】

前記少なくとも1種の波長の光が赤色光、青色光、または赤色光と青色光との組み合わせから選択され、前記選択された波長の光が場合によって白色光と組み合わせて選択される、請求項29に記載の利用。

40

## 【請求項 31】

暴露チャンバを定める囲いと、複数の方向からの光への暴露を可能にするための様式および位置において、植物材料を支持するためのチャンバ内に設けられた支持手段と、少なくとも1種の所定の波長の光を生成し、かつ所定の時間にわたって複数の方向から前記生成された光を前記支持された植物材料に適用することで、2つ以上の側面から前記材料の前記光への暴露をもたらす光生成および適用手段とを含む、請求項1から25のいずれか一項に記載の方法を実施するための装置。

50

## 【請求項 3 2】

前記囲いとその少なくともいくつかの側面で閉じられるハウジングの形態をとる、請求項31に記載の装置。

## 【請求項 3 3】

前記装置がベンチトップ式家庭電化製品である、請求項32に記載の装置。

## 【請求項 3 4】

前記囲いが壁、床および天井によって境界づけられる構造を含み、少なくともこれらの一部が建築物の一体型、または取り付け式内部要素によって提供される、請求項31に記載の装置。

## 【請求項 3 5】

少なくとも大部分の方向における光路長が、前記光生成および適用手段の操作エネルギーの所与の最低限の消費量で、所定の光度を有する光に対する前記材料の暴露を可能にするように前記暴露チャンバが寸法化される、請求項31から34のいずれか一項に記載の装置。

10

## 【請求項 3 6】

前記材料の領域の所定の最小限の部分にわたって前記光に暴露する場合に前記材料のいくつかの側面に前記光が到達できるように前記支持手段が配置される、請求項31から35のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 3 7】

前記支持手段が、前記材料が配置できる表面を具備する部材を含む、請求項31から36のいずれか一項に記載の装置。

20

## 【請求項 3 8】

前記部材が光透過性のある材料および/または構造を有する、請求項37に記載の装置。

## 【請求項 3 9】

前記支持手段および囲いが相互に対して移動可能である、請求項31から38のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 4 0】

前記光生成および適用手段が光を異なる方向に放射するための複数の光源を含む、請求項31から39のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 4 1】

前記光生成および適用手段が光を光源から異なる方向に反射するための単一の光源および複数の反射器を含む、請求項31から39のいずれか一項に記載の装置。

30

## 【請求項 4 2】

前記光生成および適用手段が異なる方向にそれぞれ光を放射しかつ光を反射する複数の光源および複数の反射器を含む、請求項31から39のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 4 3】

前記または各々の光源が発光ダイオードを含む、請求項40から42のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 4 4】

前記光生成および適用手段が前記囲いの複数の側面に配置される光放射および/または光反射素子を含む、請求項31から43のいずれか一項に記載の装置。

40

## 【請求項 4 5】

前記光生成および適用手段を操作することで、白色光中に認められる青色、赤色、または赤色および青色の波長内に認められる波長の光が放射可能である、請求項31から44のいずれか一項に記載の装置。

## 【請求項 4 6】

前記光生成および適用手段を操作することで、白色光が放射可能である、請求項45に記載の装置。

## 【請求項 4 7】

前記所定時間操作した後、前記光生成および適用手段の電源を切るためのスイッチ手段

50

を含む、請求項31から46のいずれか一項に記載の装置。

【請求項48】

前記所定時間を選択するための計時手段を含む、請求項31から47のいずれか一項に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、植物細胞内および/または植物組織内の植物化学物質濃度を変更するための方法およびそのための手段に関する。特に、本発明は、収集された植物細胞内および/または植物組織内の植物二次代謝産物などの植物化学物質の濃度を白色光または可視スペクトルから選択された光の波長を適用することによって変更するための方法、ならびにそのための手段に関する。

【背景技術】

【0002】

UV-BおよびUV-CなどのUVスペクトルからの光の適用によって、例えば「精油」および植物全体の二次代謝産物における濃度の上昇が促進できることが知られている。しかしながら、UV-BおよびUV-Cはヒトへの利用に対して問題を抱え、癌性疾患の過程に著しく関与する。したがって、UV-B光およびUV-C光は、健全な哺乳動物組織に潜在的に有害であると考えられ、かつ使用に危険を伴うと考えられている。

【0003】

「精油」の大半は、香花および料理用ハーブなどのハーブを含む植物など多くの植物に関連する芳香族性に関与する。精油は、主にテルペノイドからなり、1,8-シネオール、リモネン、リナロールおよび -オシメンとして上記化合物を含む可能性がある。精油中に認められうる他の化合物、すなわちテルペノイド以外の油は、メチルカビコール、桂皮酸メチル、オイゲノール、メチルオイゲノールなどのフェニルプロパノイド誘導化合物を含む可能性がある。したがって、「精油」という用語は、芳香装飾物、料理用ハーブなどの植物の芳香族性に寄与する、本明細書において示される化合物を包含するという質的な意味で用いられる。

【0004】

紫外光(および特にUV-B)は、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ(Kuhn, D.N.ら(1984年) Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81, 1102~1106頁)やカルコンシンターゼ(Batschauer, A.ら(1996年) The Plant Journal 9, 63~69頁とChristie, J.M.およびJenkins, G.I.(1996年) The Plant Cell 8, 1555~1567頁)などの主要な調節酵素に対する作用を介して、植物のフェニルプロパノイド経路の第二化合物の濃度に対して効果を発揮することで知られている。表面フラボノールおよびフラボノイド(Cuadra, P.およびHarborne, J.B.(1996年) Zeitschrift fur Naturforschung 51c, 671~680頁とCuadra, P.ら(1997年) Phytochemistry 45, 1377~1383頁)、アントシアニン(Yatsushashi, H.ら(1982年) Plant Physiology 70, 735~741頁とOelmüller, R.およびMohr, H.(1985年) Proc. Natl. Acad. Sci., USA 82, 6124~6128頁)、ベタシアニン(Rudat, A.およびGoring, H.(1995年). J. Expl. Bot. 46, 129~134頁)などを含むフェノール化合物を対象とするUV-B刺激に関して公開された多くの報告があり、これらの化合物は、植物防御において(Chappell, J.およびHahlbrock, K.(1984) Nature 311, 76~78頁とGuevara, P.ら(1997年) Phyton 60, 137~140頁)、ならびにUV-光に対する防御として(Lois, R.(1994年) Planta 194, 498~503頁; Ziska, L.H.ら(1992年) Am. Jnl. Bot. 79, 863~871頁とFiuseillo, N.ら(1985年) Allionia (Turin) 26, 79~88頁)、その両方に関与している。

【0005】

植物細胞内部における特定の植物化学物質の濃度を変化させ、典型的には上昇させることに関する、特定の帯域のUV光および赤外光の効果について観察結果が報告されているが、植物の細胞または組織に他の波長の光を照射する場合の効果に関しては実用化された技術が存在していないようである。

10

20

30

40

50

## 【0006】

収穫された野菜または収穫された野菜部分に関連して認識された問題は、収穫のほぼ直後に植物二次代謝産物などの植物化学物質の濃度が低下し始めることである。例えば、収穫野菜が、凍結および/または缶詰のために加工される、または消費者によって後の食事に短時間、冷蔵庫や家電機器などの中に、もしくは単に室内の開放面上に置かれるだけで、その内部に認められる植物化学物質の濃度についていえばそれら野菜の栄養含量の大部分が失われる。「植物化学物質」という用語は、植物の二次代謝産物などの、また植物中に天然に存在することが認められうる任意の化合物を包含する。上記の植物化学物質は、例えばビタミンCおよび/またはEといったビタミンなどの抗酸化物質、シニグリン、スルフォラファン、4-メチルスルフィニルブチルグルコシノレート、および/または3メチル-スルフィニルプロピルグルコシノレート、プロゴイトリン、グルコブラシニンなどのグルコシノレート、イソチオシアン酸塩、インドール(グルコシノレート加水分解産物)、グルタチオン、カロチン、リコピン、ルテイン、ゼアキサントニンなどのキサントフィルカロテノイドなどのカロテノイド、フラボノール(例えば、ケルセチン、ルチン)、フラバン/タンニン(クマリン、プロアントシアニジン、カテキン、アントシアニンなどを含むプロシアニジンなど)、フラボン(例えば、朝鮮アザミ由来のルテオリン)などのフラボノイド、クメスタン、リグナン、レスベラトロール、イソフラボン(例えばゲニス테인)、ダイゼイン、グリシテインなどの植物エストロゲンを含むフェノール類、リゾルシル酸ラクトン類、有機硫黄化合物、フィトステロール、カルノソール、ローズマリー酸、グリシルリジン、サポニンなどのテルペノイド、クロロフィルおよびクロロフィルリン、糖、およびアントシアニン、バニラなどの他の食品、他の果物や野菜の風味、テクスチャー変性剤などを含む。特定の植物化学物質の抗酸化に関する諸特性により、哺乳動物、特にヒトにおける老化や癌、心臓血管疾患などの慢性疾患に関する影響に対して防御が促進できることが研究により示されている。

## 【0007】

植物化学物質はヒトなどの哺乳動物において医薬品化合物そのものとしてさらに寄与できる。すなわちそれ故に薬学的に活性な誘導体が、植物中に認められ、かつ植物から単離できる他の中間体化合物から合成できる。したがって、実質上医薬品としては不活性でありうる「植物化学物質」によって、癌などの疾患の治療のためかつ/もしくは疾患を患うヒトなどの哺乳動物における疼痛管理において、作用物質の合成を意図した中間体の提供または存在における使用が認められる場合がある。したがって、本明細書における、かつ医薬品としての作用化合物の設計および/または供給において有用であることが知られている「植物化学物質」の定義下に該当する植物における化学物質は、カサランツスロセウス(*Catharanthus roseus*)由来のピンクリスチンおよびピンブラスチン、米国特許第5665576号に記載されたようなタクサン、例えば、アメントタクサス(*Amentotaxus*)属、アウストロタクサス(*Austrotaxus*)属、シュードタクサス(*Pseudotaxus*)属、トレヤ(*Torreya*)属および、例えば、*T. プレピフォリア*(*brevifolia*)、*T. バッカタ*(*Baccata*)、*T. xメディア*(*media*)(例えば、タクサスメディアヒックスイ(*Taxus media hicksii*)、タクサスエックスメディアレーダー(*Taxus x media Rehder*))、*T. ワリチアナ*(*wallichiana*)、*T. カナデンシス*(*Canadensis*)、*T. クスピダータ*(*cuspidata*)、*T. フロリジアナ*(*floridiana*)、*T. セレビカ*(*celebica*)、*T. xフンネウェリアナ*(*hunnewelliana*)、*T. カナデンシス*(*Canadensis*)などのタクサス属の植物由来のタクサス(*taxus*)属植物などのイチイ科(*Taxaceae*)植物由来のタクソール(パクリタキセル)、バックチンIII、10-デサセチルバックチンIII、10-デサセチルタクソール、キシロシルタクソール、7-エピタクソール、7-エピバックチンIII、10-デサセチルセファロマニン、7-エピセファロマニン、タクソテル、セファロマニン、キシロシルセファロマニン、タキサジフィン、8-ベンゾイルオキシタキサギフィン、9-アセチルオキシタクスシン、9-ヒドロキシタクスシン、タイワンキサム、タキサンIa、タキサンIb、タキサンIc、タキサンId、GMPパクリタキセル、9-ジヒドロ13-アセチルバックチンIII、10-デサセチル-7-エピタクソール、およびカナビスサティバ(*Cannabis sativa*)、カナビスインディカ(*Cannabis indica*)、カナビスルデラリス(*Cannabis ruderalis*)

などの大麻植物由来のテトラヒドロカナビノール(THC)とカンナビジオール(CBD)、ならびにゲニステイン、ダイゼイン、コデイン、モルヒネ、キニーネ、シコニン、アジマリシン、サーペントインなどの他の医薬品を含む。

【非特許文献1】Kuhn, D.N.ら(1984年) Proc. Natl. Acad.Sci., USA, 81, 1102~1106頁

【非特許文献2】Batschauer, A.ら(1996年) The Plant Journal 9, 63~69頁

【非特許文献3】Christie, J.M.およびJenkins, G.I.(1996年) The Plant Cell 8, 1555~1567頁

【非特許文献4】Cuadra, P.およびHarborne, J.B.(1996年) Zeitschrift fur Naturforschung 51c, 671~680頁

10

【非特許文献5】Cuadra, P.ら(1997年) Phytochemistry 45, 1377~1383頁

【非特許文献6】Yatsushashi, H.ら(1982年) Plant Physiology 70, 735~741頁

【非特許文献7】Oelmuller, R.およびMohr, H.(1985年) Proc. Natl. Acad. Sci., USA 82, 6124~6128頁

【非特許文献8】Rudat, A.およびGoring, H.(1995年). J. Expl. Bot. 46, 129~134頁

【非特許文献9】Chappell, J.およびHahlbrock, K.(1984) Nature 311, 76~78頁

【非特許文献10】Guevara, P.ら(1997年) Phyton 60, 137~140頁

【非特許文献11】Lois, R.(1994年) Planta 194, 498~503頁

【非特許文献12】Ziska, L.H.ら(1992年) Am.Jnl. Bot. 79, 863~871頁

【非特許文献13】Fiuseello, N.ら(1985年) Allionia (Turin) 26, 79~88頁

20

【特許文献1】米国特許第5665576号

【非特許文献14】Taylors Guide to Herbs 1995, Eds. Buchanan R. & Tenebaum F. Houghton Mifflin Co. New York

【非特許文献15】Yoshimura, K.ら(2000年) Plant Physio.123, 223~233頁

【非特許文献16】Karpinski, S.ら(1997年) Plant Cell, 9, 627~642頁

【非特許文献17】Creissen G.ら(1999年) Plant Cell, 11, 1277~1291頁

【非特許文献18】D.A.C.Hallardら(2000年) PhD thesis:Transgenic Plant Cells for the Production of Indole Alkaloids、ライデン大学

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0008】

白色光を構成する波長から選択される特定波長をクロロフィルを含む緑色植物器官もしくは植物細胞などの収集された植物材料上に暴露するかまたは方向づけることにより、それらの中の植物化学物質濃度が一時的に上昇可能であることが現在では観察されている。かかる植物化学物質は、本明細書において記載の二次代謝産物および本明細書において示唆されるように医薬品として使用するための他の植物化学物質を含む。その結果、所望の植物における例えば抗酸化物質といった植物二次代謝産物などの植物化学物質の濃度は、かなり短時間で冷光内すなわち可視光内に認められる波長すなわち帯域から選択される光の波長を適用するだけで収集された植物材料内で上昇できる。

【課題を解決するための手段】

40

【0009】

本発明によると、クロロフィルを含む植物細胞内またはクロロフィルを含む植物組織内に存在する少なくとも1種の植物化学物質の濃度を、該植物細胞または該植物組織に400nmから700nmの波長範囲から選択される少なくとも1種の波長の光を照射することによって変更する方法が提供される。

【0010】

用いられる光の波長は、単一の波長または400nmから700nmの範囲内で選択される少なくとも2種の波長の組み合わせであってもよく、いずれにしても植物細胞または植物組織において認められる植物化学物質の濃度を変更する、典型的には適切な時間間隔にわたっておよび適切な光度において暴露する際にこれらの中に含有される植物化学物質の濃度を上

50

昇させる能力がある。したがって、当業者であれば、本発明の方法によると、収穫された野菜、緑の葉の物質または例えばヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) 細胞といったコケ細胞などの緑色植物細胞培養物などの植物材料に対して本発明で用いられる光の波長が構成するのは、白色光を形成する光のすべての波長ではなく、選択された波長であることを認識するであろう。さらに、本発明で用いられる光の1種または複数種の波長は、いわゆる「冷光」の波長から選択される、すなわち本発明で用いられる光はUV波長を含まず、かつ赤外線波長を構成することなく、いずれの形態も使用に際して潜在的に危険を伴うことは理解されるべきである。好ましい実施形態では、用いられる光の波長すなわち帯域は、設計やこの場合の植物化学物質に応じて、420nmから700nm、好ましくは450nmから700nmの範囲内、またはこれら範囲内における光の波長のいずれかの組み合わせの中にある。植物組織内の特定の植物化学物質の濃度に影響を与えることが認められている適切な波長の組み合わせは、420nm~700nmであり、上方からすなわち葉の腹側に向けて最大2000  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の容量を伴い、側面および背側(裏面)からで最大700nmである。例えば、650nm~700nmでは600  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の容量を伴い、またはこれらの波長のうちの2もしくは3種類の波長の任意の組み合わせにおける時間は、設計、光度および用いられる植物材料に応じて最大で180分以上に及ぶ。可視スペクトルの赤色部および/または青色部において認められる1種の波長または複数種を組み合わせた波長の光は、光合成能を有する1個または複数個の植物細胞からなる植物組織内部の植物化学物質の濃度を変更するのに特に適するよう見えることは現在認められている。赤色波長は、600nm~700nm、好ましくは620nm~690nm、より好ましくは625nm~680nmの範囲内、および一般には約650nm $\pm$ 15nmの波長から選択できる。青色光の波長は、典型的には420nm~490nm、好ましくは430nm~470nm、より好ましくは435nm~465nmの範囲内、および一般には約450nm $\pm$ 15nmの波長から選択される。任意の所定のエネルギー比における赤色光または青色光または赤色光と青色光の両方の組み合わせは、本発明の方法において利用できる。例えば、青色光:赤色光のエネルギー比率は、7:1から1:7、6:1から1:6、5:1から1:5など、5:2から2:5、5:3から3:5、または5:4から4:5などの範囲内から選択できる。他の青色光:赤色光の比率は、4:1から1:4、3:1から1:3、2:1から1:2、1:1および設計に応じたこれらの範囲内の任意の組み合わせなどの範囲内から選択できる。実際の赤色光、青色光または青色光:赤色光または赤色:青色光の選択されるエネルギー比率は、種、植物器官の年齢、この場合の植物化学物質および設計に左右される場合がある。典型的には、青色光に対するエネルギーの1単位は、約50~150  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$   $\pm$  30  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ 、例えば100  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$   $\pm$  30  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  である。典型的には、赤色光に対するエネルギーの1単位は、約50~100  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$   $\pm$  10  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ 、例えば75  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$   $\pm$  10  $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  である。上記の値および近似値から、葉の表面などの植物材料の上に照射される、例えば単独使用の場合の赤色光、単独使用の場合の青色光、または青色光:赤色光の比率における併用の場合の青色光および赤色光における光度は算出可能である。当然のことながら、当業者であれば、利用される植物細胞または植物組織に応じて、植物細胞または組織が本明細書において略述される波長の光に暴露される時間の長さは設計に伴い変化することを認識するであろう。適切なことに、観察されるべき植物化学物質の濃度に対する効果において、植物細胞または植物組織が本発明において用いられる波長に暴露可能な時間の長さは、最大で180分の範囲内にある。好ましくは、暴露は最大で100分である。より好ましくは、暴露は最大で60分であり、さらに好ましくは最大で45分である。さらにより好ましくは、暴露は最大で30分であり、さらにより好ましくは5分から15分である。典型的には、植物化学物質濃度は、本明細書で示唆されるような短い時間間隔にわたり植物組織または植物細胞培養物へ光を適用する際に上昇する。

#### 【0011】

さらなる局面では、本発明は、本明細書において略述される波長の光への暴露すなわちこれによる照射に回答可能な任意の植物組織において利用できる。好ましくは、植物組織は光合成能を有する組織を含む。本発明の方法において使用できる植物材料は、例えばエンドウ豆、グリーンピース、ホウレンソウといったすべての緑色野菜および緑の種、ブ

10

20

30

40

50

ロッコリ、白菜、緑キャベツ、赤キャベツ、もやし、コールラビ、カリフラワー、白キャベツなどのブラシカオレラシア (*Brassica oleracea*)由来の種、ならびに本明細書において記載される400nmから700nmの範囲から選択される光の波長に应答できる、例えばクロロフィル、緑の茎、萼、葉などを含む細胞といった緑色植物材料などのすべての植物材料を含む。本発明の方法によって処理できる他の植物材料は、本明細書で記載のイチイ科、茶の葉、ならびにヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*)由来のコケ細胞および組織 (例えば原系体)などのバイオリクター内の植物細胞培養物および例えばカルス細胞培養物、レムノスポラ種の培養物、藻またはさらに体細胞胚集団といった他の植物細胞培養物の中で生育される細胞に関する植物などの非植物資源由来の緑色針葉などの緑色材料であってもよい。

10

**【0012】**

さらなる実施形態では、生きた植物細胞または植物組織を人工光源からの冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の光に暴露させることにより、ある環境における該植物細胞または組織の中の植物化学物質の含量を上昇させる方法が提供される。当然のことながら、当業者であれば、収集された組織は本発明の範囲内にあるものとして、本明細書において記載される、白色光は植物細胞または植物組織における植物化学物質の特性を変更する光において選択される1種もしくは複数種の波長に富むことを認識するであろう。好ましい実施形態では、この場合の植物組織は、白色光と赤色光の組み合わせ、赤色光自体、赤色光と青色光の組み合わせ、赤色光、青色光および白色光、青色光などで満たされた青色光または白色光などの、420nm~700nmの波長範囲から選択される複数の波長からなる光に暴露される。好ましくは、光源の組み合わせには、600nm~700nm、好ましくは620nm~690nm、より好ましくは625nm~680nmの範囲内、および一般には約650nm $\pm$ 15nmにおける波長から選択できる波長の赤色光が含まれる。青色光の波長は、通常は420nm~490nm、好ましくは430nm~470nm、より好ましくは435nm~465nmの範囲内、および一般には約450nm $\pm$ 15nmにおける波長から選択される。本明細書において記載される任意の選択されたエネルギー比率における赤色光または青色光または赤色光と青色光の両方の組み合わせまたは赤色および/または青色光と白色光の組み合わせは、本発明の方法に利用できる。好ましい実施形態では、該植物細胞または該植物組織はカバー下に位置できる。「カバー下」とは、細胞または組織が、例えば、下記に示唆される、凍結、缶詰、加熱処理または調理などのさらなる加工に先立つ食品加工工程中に暴露される場合にカバー下に位置することを意味する。

20

30

**【0013】**

さらなる局面では、カバー下で植物細胞または植物組織を収集する方法が提供され、該植物細胞または該植物組織は、人工光源からの冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種類の波長の光に暴露される

**【0014】**

また、本発明の1つの局面として、本発明による方法によって入手可能で、かつ本発明の方法において用いられる波長の光に暴露されていない植物材料または植物細胞と比較した場合に、変更された植物化学物質濃度、典型的には上昇した植物化学物質濃度を有する収集された植物材料または植物細胞が挙げられる。

40

**【0015】**

「カバー」は、一般用語として理解されるべきであり、植物材料または植物細胞が配置できる容器、例えば所定の時間間隔にわたって要求時に作動可能な内蔵光源を含む冷蔵庫ユニットなどの内蔵光源を具備する閉じた容器を意味するように解釈してもよい。したがって、本発明の1つの局面として、本明細書に記載の光の波長から選択される光を放射できる光源を含む従来式冷蔵庫などの冷却手段が提供される。あるいは、「カバー下」は、収集された植物材料が、植物材料の缶詰、凍結などの加工処理過程における短時間において、または例えばピューレなどの缶詰用もしくはベビーフード製造用の食品そしてさらにスープ、野菜をベースにしたソースなどの加工食品における調理の直前において、適当な1種または複数種の波長の光を生成する1つあるいは複数の光源に暴露される場所である加

50

工工場を意味するものとして解釈してもよい。

【0016】

したがって、さらなる本発明の局面として、人工光源からの冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の光を生きた植物細胞に照射することを含む食品加工法によって得られる加工食品が提供される。適切な光の波長は、本明細書に記載される波長であり、そしてこれらは本明細書に記載される適切で所定の時間間隔の間に適用される。本発明のさらなる局面は、生きた植物細胞を人工光源からの冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の光に暴露させることを含む食品加工法を提供する。典型的には、1種もしくは複数種の波長の光は、本明細書に記載のように420nm~700nmの範囲から選択され、暴露された植物細胞および/または収集された植物組織における植物化学物質の特性を変更するのに十分な所定の時間にわたり適用される。

10

【0017】

「植物細胞」は、本発明の目的として本明細書内の「植物化学物質」の定義の中に含まれ、かつ植物器官を形成する上記の植物細胞が切断されるか収集される際にヒトの嗅覚によって検出できる揮発性植物化学物質の存在に起因して芳香族性を示す植物器官または組織をさらに含む。上記の植物は、例えば切断された葉由来のカットハーブの場合には自然に芳香族性を示すことがある。植物細胞、組織または器官は、広葉樹のハーブなどのシソ科の一員を含む。広葉樹のハーブの適切な例として、バジル、オレガノ、セージ、コリアンダー、ディル、マジヨラム、タイムなどが挙げられる。本発明によって処理されると効果を発揮しうるカットハーブなどの他のハーブとして、エゾネギ、ニンニク、ベイリーフ、レモンバーム、ミント、ラベンダー、パセリ、ブロンズフェネルやコモンフェネルなどのフェネルなどが挙げられる。本発明が適用できるコモンハーブのより完全なリストは、Taylors Guide to Herbs 1995, Eds. Buchanan R. & Tenebaum F. Houghton Mifflin Co. New York (ここで参照される手引書の教示内容は本明細書によって本明細書の教示内容中に援用される)に認められる。当然ながら、当業者であれば、該植物細胞または該植物器官は、本発明に従って光に暴露される際には生存し、冷光に誘導される光刺激の適用に応答できることを認識するであろう。

20

【0018】

植物細胞または植物器官は、収集された植物細胞または組織が本明細書内で略述された波長および持続時間を有する光の適用に応答できる限り、成長の任意のステージで収集できる。好ましい実施形態では、収穫された広葉樹のハーブの植物細胞または組織は、3から4葉期における本発明において、かつ最も好ましくはバジル、5葉期などの料理用ハーブの場合に用いられる光の波長に暴露できる。料理用ハーブや緑色野菜などの植物細胞および/または組織は、加工(例えば、凍結乾燥、ソース、スープ、缶詰製品などの加工食品への添加)直前に、すなわち例えば乾燥させたハーブとして加工するのに上記植物からの切片の収穫および/または若い植物の準備の後に、本明細書に記載されるように暴露される場合に最も有用である。収穫直後に短時間にわたり、本明細書で略述されるように光で処理された乾燥させたハーブ、特に5葉期で測定されたものは、本明細書に記載されるように、光に暴露されない対照と比較して、芳香族性の亢進を示すように考えられる。

30

【0019】

人工光源は、発光ダイオードまたはさらに所望の1種もしくは複数種の波長の光を通過させるフィルタを含む白色光源などの任意の適切な従来式光源でありうる。使用される光エネルギーは、光化学系II反応中心で酸素の発生に影響を与える、例えばそれを誘発するまたは飽和させるのに、かつ/または一時的な光酸化ストレスおよび/または適度な光合成電子伝達阻害を誘発するすなわち開始させるのに十分であるという条件で、光源は収集された材料からいくらか距離を設けて配置できる。光エネルギーおよび光組成の最適化は、(例えばHansatech Instruments Ltd., King's Lynn、英国の使用説明書およびソフトウェアに準じる)従来の方法は、例えば酸素の発生およびクロロフィルの蛍光を監視することによって実施できる。収集された植物材料の二乗単位(例えばcm<sup>2</sup>、m<sup>2</sup>など)当たりの照射量を最大にさせる位置に光源を位置させることが好ましい。カバー面積の大きさ、例えば

40

50

加工工場内の加工区域領域あるいは冷蔵庫または電子レンジもしくはマグネトロンなどの他の容器の大きさに適切に依存し、例えば本明細書において示されるおよび本明細書において記載される計時手段の搭載やそれにより複数種の波長の光を放射することによって手動もしくは自動で稼働できる適切な光源が備わっている。あるいは、特に植物器官または細胞を本明細書に記載の波長の光に暴露するように専用設計された独特な容器を利用してよい。さらなる代替案では、光源の数は、例えば食品加工工場の環境で直列にかつ/または並列に配置された光源全体に相当する「電池」に対してわずか1個であってもよい。この場合、本明細書に記載の波長の光に対する植物材料の暴露を有効にすることで、これらの中に認められる植物化学物質濃度が大幅に変更される、好ましくは所望の植物化学物質の増大を招くような様式で、各光源は互いに適切な間隔で適切に離して設けられる。

10

**【0020】**

さらなる本発明の実施形態では、植物細胞またはカバー下で収集された植物組織を加工する方法において、人工光源からの冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の使用について提供される。好ましくは、該波長は、420nm~700nmの範囲内に認められるおよび本明細書において記載される光の波長から選択される。

**【0021】**

さらなる実施形態では、収集された生きた植物材料内の植物化学物質の含量を増大させるための方法において、冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長の使用について提供される。好ましくは、該植物材料はカバー下に位置する。

**【0022】**

さらなる本発明の実施形態では、冷凍野菜(例えばブラシカ(Brassica)種由来のホウレンソウもしくは植物器官)または種(例えばエンドウ豆)、例えば精肉、魚および鶏肉の料理用ソースといった瓶詰または缶詰の香辛料、例えばタブナードといった香味、サラダ用ドレッシング、オリーブ油、ひまわり油などの食用油、スープ、パスタ、チーズなどのヒト用食材の製造において冷光に認められる波長の光から選択される少なくとも1種の波長に暴露される植物器官の使用について提供される。

20

**【0023】**

本発明のさらなる局面によると、前記局面のいずれかに準ずる方法を実施するための装置が提供される。該装置は、複数の方向から光への暴露を可能にするための上記の様式および位置において植物材料を内部で支持するためにチャンバー内に配置される暴露チャンバ、支持手段を定める囲い、ならびに少なくとも1種の所定の波長の光を生成しかつ生成された光を支持された植物材料に所定の時間かつ複数の方向から適用する、および2つ以上の側面からの光に対して材料の暴露を可能にする光生成および適用手段を含む。

30

**【0024】**

囲いは、好ましくは、例えばその部位の少なくとも一部は閉鎖される立方形といった任意の適切な容量を有するハウジング形態をとる。上記ハウジングは、例えば概念的には電子レンジに類似する屋内使用に適合する比較的小規模なペンチトップ式家電機器の種類から、例えばレストランなどの市販食品の調理施設における使用に適する中規模な機器、そして食品加工工場などの産業的背景におけるバルク材料処理に適する大規模な設備にまで及ぶ可能性がある。大規模な応用の場合、囲いは、壁、床および天井によって結合される構造の形態をとってもよく、少なくともこれらの一部は、構造物の一体型またははめ込み式である内部要素によって提供される。

40

**【0025】**

囲いによって定められる暴露チャンバは、同様に任意の適切な容積を有することができるが、好ましくはあまりに寸法化されるために、少なくともほとんどの方向における光路長は、所定の光度への材料の暴露を、光生成および適用手段のエネルギーを操作する場合の所定の最小限の費用で可能にする。したがって、囲いは、支持される植物材料に至るまであらゆる意図した方向に導かれる光路を収容するために十分に大規模である可能性があるが、好ましくは、必要な光度の適用を確実にするのに必要とされる、過剰なエネルギー消費によって光路が長くなるほど大規模でない。

50

## 【0026】

好ましくは、材料領域の所定の最小限の部分にわたって光に暴露する場合に材料のいくつかの側面に光が到達できるように支持手段が配置される。基本的な形態では、それは上部に植物材料が配置できる表面を形成する棚などの部材を含むことができる。その場合の部材は、ガラスもしくはクリアプラスチックなどの透明材料の使用によっても、または例えば格子、メッシュもしくは開口部を備えた板といった光路開口部を具備する、例えば本質的に不透明な材料もしくは不透明材料から作られる構造物によっても光透過性がある必要がある。植物材料の種類によって支持手段が、例えば、安定な形態であれば材料の末端部の下に係合可能なストリップ、材料を固定してかつ引き伸ばすもしくは懸垂させるためのクランプもしくはクリップ、材料を点状に支持するもしくはさらに材料を串刺しにするための1個または複数個のピン、または材料、特に束ねていない材料の受け皿になる(透明であろうとせん孔されてであろうと)容器といったといった他の形態をとる可能性が等しく存在する。

10

## 【0027】

さらに、支持手段は、植物材料が固定位置でチャンバー内に備わっているかまたはチャンバーを貫通して移動するかに依存して静止したり移動することができる。材料が移動する場合には、支持手段は静止することができ、かつ囲い自体は、光生成および適用手段を含めて、支持手段および支持された材料に相対的におそらくは往復様式で運動するように移動可能である。支持手段が移動するまたは囲いが移動する場合には、囲いは、入口および出口または組み合わされた出口/入口を定める1つあるいは複数の開口部で形成されてもよく、この場合、唯一のまたは各々の開口部は場合によって、ドアもしくは他の閉鎖手段によって閉鎖可能である。

20

## 【0028】

光生成および適用手段は、好ましくは光を異なる方向に放射する複数の光源、光源から異なる方向に光を反射する複数の反射器を具備する単一の光源、または光を放射しかつ光を反射するのがそれぞれ異なる方向である複数の光源および複数の反射器を含む。唯一のまたは各々の光源は、例えば発光ダイオードを含む可能性がある。本明細書において以前に定義されたように、光生成および適用手段は、好ましくは赤色、青色、または場合によっては白色光もしくは可視スペクトル光と組み合わせた赤色および青色の波長で光を送信する。反射器の使用により、光度を一部減衰させてエネルギーコストは削減される。このことは、暴露チャンバの大きさや処理されるべき植物材料の質によるが重要かどうかかわからない。したがって、光源および反射器の数と配置は、好ましくは装置の構造上のパラメータに加えて特有の処理方法に関するパラメータに基づいて選択される。好ましくは、光生成および適用手段における光放射および/または光反射部品は、囲いの複数の側面に配置される。小規模の家電機器では、光源は、電源供給における利便性のために、例えばチャンバーの天井やチャンバーの床の領域において提供される反射器と同じ領域全体にマウントしてもよい。光源の光出口表面および反射器の反射する表面の平面に指向性を与えることで、選択された1種もしくは複数種の波長の光を直接、支持された植物材料の上端、下端および側面に確実に当てることができる。上記の光源は、発光ダイオードは別として、例えば白熱電球、蛍光チューブライトといった単一のランプもしくはアレイ状のランプでありうる。反射器は、例えば、ミラー、研磨された金属パネルまたは適切な指向性をもつ囲いの内部表面に塗布された単なるミラーコーティングもしくは被覆剤でありうる。400から700nmの好ましい波長範囲における光の放射は、選択された特異的な波長のみの光を通過させる伝導フィルタを介して前記または各々の線源によって放射された光を送信することによって実現される。同様に、支持された植物材料へ光を適用する持続時間は、所定の時間作動後、1個もしくは複数個の光源の作動電圧を切ることによるなど、光生成および適用手段の電源を切るためのスイッチ手段によって制御できる。好ましくは、その制御は、所定の時間を選択するための時間選択機能を具備する計時手段を介してなされる。しかしながら、光への暴露における持続時間の制御は、植物材料の選別または遮蔽、1個もしくは複数個の光源および反射器の選別または遮蔽、ならびに選択的な反射面の操作によ

30

40

50

って光透過性を示すようになるなどの他の光学的手段によって等しく十分に達成できる。あるいは、静止状態における滞在時間後の排出によってか、または所定の時間内にチャンパーを通り抜けて移動した後のチャンパーからの放出によって、処理された植物材料は、所定の時間の終了時に暴露チャンパからの取り出しが可能である。この場合の移動は、材料を支持する支持手段の移動および1個もしくは複数個の光源やいくつかのそれに伴う反射器を含めた囲いの移動の両方を包含する。

【0029】

本明細書で挙げられるすべての参照に関する教示が本明細書の中に援用されることは理解されるべきである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0030】

本発明は、以下の実施例および添付の図面(図1)を参照して記載されることになる。図1に示される例および情報が本発明の範囲を制限するものとして決して見なされるべきではないことは理解されるべきである。

【0031】

(実施例)

植物材料 切断した白菜(チンゲン菜)、緑色ブロッコリ、およびホウレンソウをスーパーマーケットから入手した。シロイヌナズナ Col-0 植物をノッチングムシロイヌナズナ保存センターから入手した。

【0032】

光処理 植物器官/葉に上方から  $1400 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  および下方から  $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の光度の光を照射した。植物器官/葉を透明皿上に保持し、水で噴霧し、植物器官/葉の乾燥を防止するのに役立つ  $\text{CO}_2$  で満たし、光へ暴露する間、光合成用に余分の  $\text{CO}_2$  を供給した。

【0033】

$1400 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ : 光源は、2種の Futur LED 赤色型 R210R2-MF、Swarco Austria(全体で  $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の  $680\text{nm} \pm 20\text{nm}$ ) から成った。すなわち一方が  $>650\text{nm}$  および  $<700\text{nm}$  の伝導フィルタを用いて  $300 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の赤色フィルタを通した光 (General Electric Quartzline EHJ、250W、24V 光) で、他方 ( $920 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ ) が白色ハロゲン光 (General Electric Quartzline EHJ、250W、24V 光) であった。

【0034】

$180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ : 光源は2種の Futur LED 赤色型 R210R2-M、Swarco Austria 光 (全体で  $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$  の  $680\text{nm} \pm 10\text{nm}$ ) から成った。

【0035】

環境条件: 温度  $20^\circ\text{C}$ ; 湿度 80%.

【0036】

植物材料の分析: 上記のように各植物タイプ由来の植物材料 20~50 グラムを種々の光度への暴露に用いた。3x1 グラムの試料を分析に使い、分析を3回繰り返した。

【0037】

アスコルビン酸量の測定: Yoshimura、Kら (2000年) Plant Physiol. 123、223~233頁

【0038】

グルタチオン濃度の測定: Karpinski、S.ら (1997年) Plant Cell、9、627~642頁; Creissen Gら (1999年) Plant Cell、11、1277~1291頁

【0039】

結果

【0040】

10

20

30

40

【表 1】

白菜

抽出物中 μ モル	組織 g FW	組織濃度 μ mol/g FW	平均濃度 μ mol/g FW	標準偏差	
0,116	0,200	0,58	0,49	0,08892681	
0,114	0,250	0,46			
0,103	0,190	0,54			
0,118	0,200	0,59			
0,171	0,340	0,50			10
0,087	0,220	0,40			
0,120	0,320	0,37			
0,099	0,170	0,58			
0,078	0,200	0,39			
0,236	0,200	1,18	1,20	0,16252455	
0,333	0,250	1,33			
0,256	0,190	1,35			
0,198	0,200	0,99			
0,317	0,340	0,93			
0,310	0,220	1,41			20
0,363	0,320	1,13			
0,222	0,170	1,31			
0,240	0,200	1,20			

【 0 0 4 1 】

【表 2】

ブロッコリ

抽出物中 μ モル	組織 g FW	組織濃度 μ mol/g FW	平均濃度 μ mol/g FW	標準偏差	
0,100	0,200	0,50	0,69	0,15479792	30
0,181	0,230	0,79			
0,164	0,170	0,97			
0,295	0,400	0,74			
0,246	0,400	0,62			
0,177	0,340	0,52			
0,167	0,200	0,84			
0,224	0,350	0,64			
0,059	0,100	0,59			
0,149	0,100	1,49	1,23	0,16203449	
0,245	0,200	1,23			40
0,313	0,250	1,25			
0,185	0,150	1,23			
0,377	0,300	1,26			
0,282	0,200	1,41			
0,228	0,200	1,14			
0,155	0,150	1,04			
0,196	0,200	0,98			

【 0 0 4 2 】

【表 3】  
ハウレンソウ

抽出物中 $\mu$ モル	組織 g FW	組織濃度 $\mu$ mol/g FW	平均濃度 $\mu$ mol/g FW	標準偏差	
0,093	0,215	0,43	0,47	0,07651205	
0,127	0,279	0,45			
0,120	0,250	0,48			
0,112	0,200	0,56			
0,150	0,457	0,33			10
0,151	0,340	0,44			
0,131	0,270	0,49			
0,108	0,220	0,49			
0,089	0,150	0,59			
0,224	0,270	0,83	1,04	0,19301555	
0,306	0,215	1,42			
0,345	0,319	1,08			
0,123	0,100	1,23			
0,228	0,210	1,09			
0,188	0,200	0,94			20
0,306	0,300	1,02			
0,207	0,250	0,83			
0,260	0,280	0,93			

【 0 0 4 3 】

【表 4】  
シロイヌナズナ

抽出物中 $\mu$ モル	組織 g FW	組織濃度 $\mu$ mol/g FW	平均濃度 $\mu$ mol/g FW	標準偏差	
0,193	0,150	1,29	1,03	0,17199289	30
0,215	0,200	1,07			
0,119	0,100	1,19			
0,102	0,100	1,02			
0,084	0,100	0,84			
0,219	0,200	1,09			
0,108	0,100	1,08			
0,110	0,150	0,73			
0,091	0,100	0,91			
0,197	0,090	2,19	2,40	0,40223793	
0,282	0,100	2,82			40
0,376	0,150	2,51			
0,337	0,150	2,25			
0,415	0,150	2,77			
0,282	0,100	2,82			
0,312	0,150	2,08			
0,243	0,150	1,62			
0,252	0,100	2,52			

【 0 0 4 4 】

PLP中の暴露の90分前および90分後における $\mu$ モル/グラムFWでのアスコルビン酸含量

【 0 0 4 5 】

【表 5】

白菜                      ブロッコリ                      ホウレンソウ                      シロイヌナズナ

0.5±0.1	0.7±0.15	0.47±0.07	1.03±17
1.2±0.16	1.2±0.16	1.05±0.19	2.4±0.4

【 0 0 4 6 】

【表 6】

白菜

10

全GSH 試料	白菜 面積	量 nmoles	nモル/ g/FW	平均値	標準偏差
	1	31654089	10,859	181,887	29,3206795
	3	41101872	13,447	225,244	
	4	27238531	9,649	161,623	
	5	27295469	9,665	161,885	
	6	29161120	10,176	170,446	
	7	36141765	12,088	202,482	
	8	21379688	8,044	134,736	
	9	36831972	12,277	205,649	
1*		39296546	12,952	216,959	281,096
3*		43822014	14,192	237,728	69,9886728
4*		48533904	15,483	259,351	
5*		34841563	11,732	196,515	
6*		50240901	15,951	267,185	
7*		69414709	21,204	355,176	
8*		78703191	23,749	397,803	
9*		61325543	18,988	318,054	

20

【 0 0 4 7 】

30

【表 7】  
ブロッコリ

全GSH 試料	ブロッコリ 面積	量 nmoles	nモル/ g/FW	平均値	標準偏差	
	1	41736924	13,621	228,159	232,174	31,9447456
	3	51946723	16,418	275,013		
	4	48612523	15,505	259,712		
	5	40125988	13,180	220,766		
	6	39622245	13,042	218,454		
	7	40026742	13,153	220,310		
	8	30111456	10,436	174,808		
	9	48711647	15,532	260,167		
1*	96714429	28,683	480,459	405,250		
3*	84627781	25,372	424,992			
4*	66388725	20,375	341,290			
5*	68466721	20,944	350,826			
6*	99927747	29,564	495,205			
7*	76245116	23,075	386,522			
8*	60224542	18,686	313,001			
9*	90013325	26,847	449,707			

【 0 0 4 8 】

【表 8】  
ハウレンソウ

全GSH 試料	ハウレンソウ 面積	量 nmoles	nモル/ g/FW	平均値	標準偏差	
	1	16715549	6,766	113,332	123,873	22,6697689
	3	19755348	7,599	127,282		
	4	25672399	9,220	154,436		
	5	24672953	8,946	149,849		
	6	10044238	4,938	82,716		
	7	16335627	6,662	111,588		
	8	20004652	7,667	128,426		
	9	18899746	7,364	123,355		
1*	53397468	16,816	281,671	271,408		
3*	58951541	18,337	307,159			
4*	40128664	13,180	220,778			
5*	37552495	12,475	208,956			
6*	40002342	13,146	220,198			
7*	42987689	13,964	233,899			
8*	56244911	17,596	294,738			
9*	80023341	24,111	403,861			

【 0 0 4 9 】

【表 9】

シロイヌナズナ

全GSH 試料	シロイヌナズナ 面積	量 nmoles	nモル/ g/FW	平均値	標準偏差	
	1	11072453	5,220	87,435	97,860	19,2025604
	3	10999341	5,200	87,099		
	4	15494428	6,431	107,728		
	5	20598562	7,830	131,151		
	6	9534478	4,798	80,377		
	7	9387374	4,758	79,702		
	8	11667236	5,383	90,164		
	9	17999245	7,118	119,223		
1*	41009363	13,422	224,820	215,027	41,0803789	
3*	27701187	9,776	163,747			
4*	25622298	9,206	154,206			
5*	42888934	13,937	233,445			
6*	36772672	12,261	205,377			
7*	50902445	16,132	270,221			
8*	37772453	12,535	209,965			
9*	48333874	15,428	258,433			

## 【0050】

PLP中の暴露の90分前および90分後におけるnモル/グラムFWでの低下したグルタチオン含量

## 【0051】

【表10】

白菜 ブロッコリ ホウレンソウ シロイヌナズナ

180±29	232±32	123±22	97±19
281±69	405±68	271±65	215±41

## 【0052】

エンドウ豆-ビタミンC濃度

植物材料 新鮮なグリーンピースをスーパーマーケットから入手する。

## 【0053】

光処理 エンドウ豆に上方から $1400 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ および下方から $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の光度の光を照射する。

## 【0054】

$1400 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ :光源は、2種のFutur LED赤色型R210R2-MF、Swarco Austria(全体で $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の $680\text{nm} \pm 20\text{nm}$ )から成った。すなわち一方が $>650\text{nm}$ および $<700\text{nm}$ の伝導フィルタを用いて $300 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の赤色フィルタを通した光(General Electric Quartzline EHJ、250W、24V光)で、他方( $920 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ )が白色ハロゲン光(General Electric Quartzline EHJ、250W、24V光)であった。

## 【0055】

$180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ :光源は2種のFutur LED赤色型R210R2-M、Swarco Austria光(全体で $180 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の $680\text{nm} \pm 10\text{nm}$ )から成った。

## 【0056】

環境条件:温度20 ;湿度80%

## 【0057】

10

20

30

40

50

植物材料の分析:上記のようにエンドウ豆を種々の光度に暴露する。処理済みエンドウ豆を分析に用いる。対照エンドウ豆、すなわち光処理を施していないエンドウ豆のビタミン含量も測定する。対照と処理済みエンドウ豆(3回反復)との間のビタミンCの濃度差を観察する。

【0058】

アスコルビン酸量の測定: Yoshimura、Kら(2000年) Plant Physiol.123、223~233頁

【0059】

もやし、緑キャベツ-ビタミンC濃度

植物材料 切断したもやしおよび緑キャベツをスーパーマーケットから入手する。

【0060】

光処理 植物器官/葉に上方から $1400\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ および下方から $180\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の光度の光を照射する。

【0061】

$1400\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ :光源は、2種のFutur LED赤色型R210R2-MF、Swarco Austria(全体で $180\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の680nm $\pm$ 20nm)から成った。すなわち一方が $>650\text{nm}$ および $<700\text{nm}$ の伝導フィルタを用いて $300\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の赤色フィルタを通した光(General Electric Quartzline EHJ、250W、24V光)で、他方( $920\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ )が白色ハロゲン光(General Electric Quartzline EHJ、250W、24V光)であった。

【0062】

$180\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ :光源は2種のFutur LED赤色型R210R2-M、Swarco Austria光(全体で $180\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の680nm $\pm$ 10nm)から成った。

【0063】

環境条件:温度20 ;湿度80%

【0064】

植物材料の分析:上記のように各植物タイプ由来の植物材料20~50グラムを種々の光度への暴露に用いる。3 $\times$ 1グラムの試料を分析に用い、分析を繰り返す。処理された植物材料と処理されていない植物材料(対照)との間のビタミンCの濃度差を観察する。

【0065】

アスコルビン酸量の測定: Yoshimura、Kら(2000年) Plant Physiol.123、223~233頁

【0066】

セクション2:Catharanthus roseus葉の赤色光および白色光への暴露ならびにこれらのHPLC分析

【0067】

はじめに

【0068】

Catharanthus roseus葉中のビスインドールアルカロイド含量を測定するため、HPLC分析を実施した。かかる測定は、C.roseus植物において葉などの緑色材料中のアルカロイド含量に対する種々の処理の効果を判定するために行われた。

【0069】

用いられる方法は、D.A.C.Hallardら(2000年) PhD thesis:Transgenic Plant Cells for the Production of Indole Alkaloids、ライデン大学によって記載されたものである。

【0070】

方法

【0071】

材料

【0072】

植物成長条件:長い明期(13時間) $200\sim 400\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ 、温度22 -日中;18 夜間、および高い相対湿度(70% $\pm$ 5%)下で、温室内で植物Catharanthus roseusを成長させた。15週齢の開花期のCatharanthus roseus植物由来の葉(上端の葉および隣り合う葉)を本明細書で記載のように分離して以下の改良とともに処理した。葉の向軸(上面)上および背軸(下

10

20

30

40

50

面)上の両方に3時間、各面 $160 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$ の強度で赤色光を照射し、葉上に2時間、白色光を照射した。

## 【0073】

試料番号

生体重(mg)

(内部指定)

01	温室内対照	370
02	温室内対照	290
03	温室内対照	350

10

24	最初の2時間における光への暴露(赤色+白色)	360
25	最初の2時間における光への暴露(赤色+白色)	230
26	最初の2時間における光への暴露(赤色+白色)	230

R44	24~26時間からさらに1時間にわたる暴露(赤色)	360
R45	24~26時間からさらに1時間にわたる暴露(赤色)	290
R46	24~26時間からさらに1時間にわたる暴露(赤色)	490

## 【0074】

抽出

## 【0075】

植物材料がDr.S.Karpinski(ストックホルム大学、スウェーデン)によって凍結乾燥された葉材料として提供された。

20

## 【0076】

約10mgの材料の各試料を3通りに正確に秤量し(1つの試料-系02-2通り)、かつエッペンドルフ(Eppendorf)カップ内で0.50ml 0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)とともに完全混合した。次いでソニケーター(sonicor、Copiague NY、米国)を用いて試料を30分間超音波分解し、その後10分間、13000rpmの遠心分離によって葉の破片を沈殿させた。上清をHPLC分析に用いた。次いで試料を収集し、後の分析のために-80 で保存した。0.1~2mMの範囲においてピンクリスチンおよびピンラスチンの等モル混合物における4つの希釈物を用いることによって標準曲線を作成した。

30

## 【0077】

717オートサンプラーおよび990フォトダイオードアレイ検出器を具備したWaters 600E HPLCポンプを用いたフォトダイオードアレイ(PDA)検出とともに、すべての画分をHPLCによって分析した。

## 【0078】

HPLC

## 【0079】

表1によると、Vydac 218MS54カラム(250×4.6mmルーメン直径)、および水中の0.01% TFA中で線形アセトニトリル勾配を用いた。注入容量は50ulであった。

## 【0080】

40

## 【表11】

表1. HPLC逆相C-18カラム(RP-18)に対して用いられる勾配

0~20分:	1.00ml/分	15-23%	CH <sub>3</sub> CN
20~30分:	1.00ml/分	23-48 %	CH <sub>3</sub> CN
30~34分:	1.00ml/分	48%	CH <sub>3</sub> CN
34~35分:	1.00ml/分	48-15%	CH <sub>3</sub> CN

## 【0081】

200~350nmの波長範囲においてフォトダイオードアレイ検出器を用いて検出を達成した。

50

【 0 0 8 2 】

結果および考察

【 0 0 8 3 】

HPLC

【 0 0 8 4 】

HPLCクロマトグラムから、215nmの波長でピークを積分することによって以下の結果を得た(平均値に対して表12、すべての組み合わせ結果に対して表13を参照)。

【 0 0 8 5 】

検量線

【 0 0 8 6 】

(ピンブラスチンにおける最高値は極めて高いために計測されなかったが)ピンクリスチンとピンブラスチンの両方は、使用範囲において線形応答を示した。5ポイントを超える直線回帰(面積プロット対注入nモルにおける)は、0.041の係数および0.9978の $r^2$ に相関関係を与えた。

【 0 0 8 7 】

試料

【 0 0 8 8 】

【 表 1 2 】

表2. 試験された葉材料における一部のインドールアルカロイドの $\mu$ モル/g DW内濃度。3通りの測定の平均を示す。

	アジマリシン	ビンドリン	ピンブラスチン	?	AHVB
01	7.15	2.93	0.25	0.11	3.27
02	11.01	4.61	0.35	0.16	3.46
03	5.61	1.82	0.21	0.22	2.40
24	6.03	0.98	0.09	0.12	3.38
25	5.14	1.93	0.26	0.19	1.65
26	4.90	1.81	0.27	0.19	1.78
R44	1.46	0.42	0.13	0.77	0.23
R45	8.28	3.36	0.12	0.06	1.68
R46	2.46	0.55	0.22	0.82	0.77

【 0 0 8 9 】

植物のR44およびR46において注目すべきことは、アンヒドロピンブラスチン(AHVB)中含量の著明な低下である。これに伴い、「？」印の未同定のビスインドールアルカロイドという別物質が増加する。これらの2種の化合物に対するUVスペクトルはほぼ等しいことから、この未知のビスインドールはピンブラスチンに密接に関与していると考えられる。有望な候補化合物として、N-デメチルピンブラスチン、デアセトキシピンブラスチン、15'-ヒドロキシピンブラスチン、14'-ヒドロキシピンブラスチンなどが挙げられる。

【 0 0 9 0 】

ピンブラスチン(ビスインドール最終産物のモノマーの1つ)の含量も顕著に変化した。これらの濃度は、ビスインドール型アルカロイドの含量とではなくアジマリシン含量と相関するように考えられる。

【 0 0 9 1 】

10

20

30

40

## 【表 1 3】

表3. 試験された葉材料における一部のインドールアルカロイドの  
 $\mu$ モル/g DW濃度。3通りの測定の結果を示す(n.d.=検出不能、-=非測定)。

	アジマリシン	ビンドリリン	ピンブラスチン ?	AHVB	
01	6.35	2.42	0.20	0.18	2.52
	5.29	1.82	0.19	0.05	2.17
	9.80	4.56	0.36	n.d.	5.12
02	-	-	-	-	-
	10.69	4.53	0.39	0.17	3.77
	11.34	4.69	0.31	0.14	3.16
03	4.92	1.62	0.21	0.31	2.20
	5.71	1.87	0.20	0.20	2.54
	6.19	1.98	0.21	0.17	2.45
24	6.20	1.02	0.12	0.28	3.31
	5.72	0.97	0.06	0.05	3.23
	6.18	0.96	0.08	0.03	3.61
25	4.69	1.69	0.25	0.19	1.59
	5.13	2.01	0.30	0.17	1.94
	5.61	2.10	0.23	0.22	1.40
26	3.77	1.49	0.28	0.21	1.56
	5.69	2.11	0.30	0.15	2.16
	5.24	1.85	0.24	0.21	1.62
R44	1.56	0.37	0.15	0.96	0.12
	1.52	0.49	0.15	0.70	0.46
	1.31	0.41	0.10	0.67	0.11
R45	8.74	3.44	0.12	0.05	1.66
	6.65	2.87	0.15	0.08	1.84
	9.46	3.76	0.08	0.05	1.55
R46	1.92	0.59	0.18	0.79	0.53
	2.48	0.60	0.31	0.95	0.68
	2.97	0.47	0.18	0.72	1.10

## 【 0 0 9 2 】

## 結論

## 【 0 0 9 3 】

凍結乾燥された植物葉の調製物におけるインドールアルカロイド測定は、本明細書で記載される光処理方法の下での制御に対し、アジマリシン、ビンドリリン、ピンブラスチン、アンヒドロピンブラスチンおよび未同定のビスインドールアルカロイドの濃度が異なることを示した。

## 【 0 0 9 4 】

1. 葉表面の向軸面上および背軸面上に対して赤色光および青色光に暴露された植物葉材料

## 【 0 0 9 5 】

植物(Catharanthus roseus、白菜、エンドウ豆、ブロッコリ、ホウレンソウ、およびシロイヌナズナ)は、本明細書において上記のように成長し、植物葉材料をそこから取り出し、そして2時間にわたり、以下の比率(以下参照)で赤色光および青色光を施す。この場合、赤色光(640nm $\pm$ 15nm)を上面(向軸面)上に照射し、青色光(450 $\pm$ 15nm)を下面(背軸面)上に照射した。

## 【 0 0 9 6 】

上記のように植物から植物材料を選択し、標準的方法に従って凍結乾燥させる。

## 【 0 0 9 7 】

青色 ; 赤色光比率

5:1

5:2

5:3

5:4

5:5

4:5

3:5

2:5

1:5

10

## 【 0 0 9 8 】

本明細書において記載されるように、植物の二次代謝産物濃度を変更するために上記の赤色光:青色光比率において赤色光および青色光に暴露された処理済み植物を測定する。植物の二次代謝産物濃度における変更を観察する。

## 【 0 0 9 9 】

1. i) 葉表面の向軸面上および ii) 葉表面の背軸面上に対して赤色光および青色光に暴露された植物葉材料。

## 【 0 1 0 0 】

植物(Catharanthus roseus、白菜、エンドウ豆、ブロッコリ、ホウレンソウ、およびシロイヌナズナ)は、本明細書において上記のように成長し、植物葉材料をそこから取り出し、そして2時間にわたり、以下の比率(以下参照)で赤色光および青色光を施す。この場合、赤色光(640nm+/-15nm)および青色光(450+/-15nm)を葉の上面(向軸面)上に照射する。

20

## 【 0 1 0 1 】

同じ方法論を用い、葉表面の背軸面上で同一の波長で赤色光および青色光を照射する。

## 【 0 1 0 2 】

上記のように植物から植物材料を選択し、標準的方法に従って凍結乾燥させる。

## 【 0 1 0 3 】

青色:赤色光比率。

5:1

5:2

5:3

5:4

5:5

4:5

3:5

2:5

1:5

30

## 【 0 1 0 4 】

本明細書において記載されるように、植物の二次代謝産物濃度を変更するために上記の赤色光:青色光比率において赤色光および青色光に暴露された処理済み植物を測定する。植物の二次代謝産物濃度における変更を観察する。

40

## 【 0 1 0 5 】

装置

## 【 0 1 0 6 】

ここで添付の図面(図1)を参照すると、本発明を例示する方法の実施に適切な装置10の概略正面図を示す。装置10は、一実施例のみを介し、台所使用に適する屋内家電機器の形態を有し、かつ常に閉じた天井、床および3つの壁を有する略立方型のハウジング11を含む。ここで4番目の壁(図示しない)はハウジングのインテリアへの接近を可能にするドアとして機能する。

50

## 【0107】

ハウジングは、大体中央の位置で、チャンバー内で処理光に暴露される場合に植物材料13に対する支持として機能するガラス板12を有する暴露チャンバに結合する。上記光は、チャンバーの上部領域に配置され、かつ光板12の上端やチャンバーの床の方向の板の上および板の大体横方向に支持される植物材料の上部表面の方へ全体的に光を導くように方向づけられる光出口表面15を有する3個の相互に離れた光源14によって生成される。反射器16は、床の近くで横方向に方向づけられた光を妨害するような位置に配置され、入射光が板12の下面ひいては植物材料の下部表面の方へ方向づけられるように角度が設けられたミラーの形態である。この場合、下部表面は板の透明度に基づいて光に暴露される。反射器16の図示された位置およびそれに付随する反射光ビームは一例にすぎず、さらに反射器は、図面の面に対して斜方向へ、前方へ、かつ後方へビームを反射するように提供できる。したがって、板12上に支持された材料13は、その上部および下部表面の両方に、またその側面の表面に様々な角度で、光に暴露される。光源および反射器の上記の配置は、生成される光への支持された植物材料の効果的な暴露と稼動コストが経済的な簡単な構造との間の妥協点を提供することが認められている。

10

## 【0108】

光源は、選択された波長すなわち400から700nmの範囲において選択された波長の光のみを伝える伝導フィルタを含むことで、処理された植物材料の細胞または組織の植物化学物質における所望の一時的変化を達成するのに十分である所定の時間、光を放射する光源に対する給電機構18内のプログラム可能なタイマー17によって制御される。

20

## 【0109】

したがって、同装置は加工された材料の調理または消費の直前に、処理方法を実施する場合に便利に使用できる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0110】

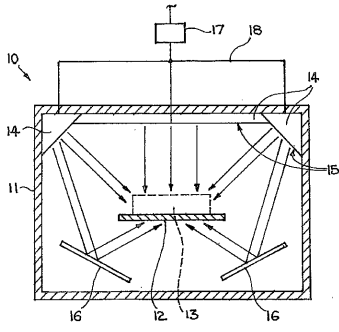
【図1】図1は、本発明の方法の実施に適切な装置を例示する図である。

## 【符号の説明】

## 【0111】

- 10 装置
- 11 ハウジング
- 12 ガラス板
- 13 植物材料
- 14 光源
- 15 光出口表面
- 16 反射器
- 17 プログラム可能なタイマー
- 18 給電機構

30



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/GB2004/002211
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A01G7/04 A01G9/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A01G  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 542 567 A (GTE LABORATORIES INC) 21 September 1984 (1984-09-21) abstract page 2, line 2 - line 6 page 2, line 18 - line 29 page 3, line 6 - line 8 page 4, line 17 - line 29 page 6, line 2 - line 7 page 8, line 4 - line 11 page 9, line 19 - line 22 page 24, line 2 - line 6  -/--	1-30
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
5 August 2004		25/08/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Mundel, C

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/GB2004/002211

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HIRATA KAZUMASA ET AL: "Stimulation of dimeric alkaloid production by near-ultraviolet light in multiple shoot cultures of Catharanthus roseus" JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, vol. 74, no. 4, 1992, pages 222-225, XP002291374 ISSN: 0922-338X	1-30
Y	page 223, left-hand column, last paragraph page 222, right-hand column, paragraph 3 page 222, left-hand column, line 23 - line 27 abstract table 1	31-48
X	KERCKHOFFS L H J ET AL: "Phytochrome control of anthocyanin biosynthesis in tomato seedlings: Analysis using photomorphogenic mutants" PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY, vol. 65, no. 2, 1997, pages 374-381, XP002291373 ISSN: 0031-8655	31,32, 34, 36-39, 45-48
Y	page 376, left-hand column, paragraph 2 - paragraph 6 page 374, right-hand column, line 1 - line 4 abstract	33,35, 40-44
Y	US 4 817 332 A (EZAKI KENJI ET AL) 4 April 1989 (1989-04-04) abstract figure 2 column 2, line 46 - line 51 column 2, line 57 - line 58 column 4, line 35 - line 38	31-48
Y	US 5 299 383 A (TAKAKURA TADASHI ET AL) 5 April 1994 (1994-04-05) abstract figure 1 column 2, line 67 - column 3, line 13 column 4, line 12 - line 21	31-48

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB2004/002211

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
FR 2542567	A	21-09-1984	CA 1243237 A1	18-10-1988
			DE 3409796 A1	29-11-1984
			FR 2542567 A1	21-09-1984
			JP 59179017 A	11-10-1984
US 4817332	A	04-04-1989	JP 60094024 A	27-05-1985
			JP 1675647 C	26-06-1992
			JP 3025123 B	05-04-1991
			JP 60094025 A	27-05-1985
			AT 67642 T	15-10-1991
			CA 1269538 A1	29-05-1990
			DE 3485108 D1	31-10-1991
			EP 0140361 A2	08-05-1985
			US 5174793 A	29-12-1992
US 5299383	A	05-04-1994	JP 3065128 A	20-03-1991
			GB 2234415 A ,B	06-02-1991
			NL 9001485 A	01-03-1991
			NO 902624 A	04-02-1991

---

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 2B022 AA01 AB11 AB20 DA05 DA08  
4B018 LB03 MD07 MD25 MD48 ME06  
4B029 AA01 AA27 BB12 CC03  
4B065 AA88X BC48 CA34 CA41