HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	タマネギ鱗茎の品種間差に及ぼすフルクタン代謝メカニズムの研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	奥, 聡史
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13592号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74014
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Satoshi_Oku_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博　士（農学）　　氏名　奥　聡史

学 位 論 文 題 名

タマネギ鱗茎の品種間差に及ぼすフルクタン代謝メカニズムの研究

タマネギの鱗茎には、スクロースにフルクトースが重合結合したフルクトオリゴ糖、フルクタンが蓄積する。フルクタンはタマネギの食味やプロバイオティクス効果に関わる他、栽培面では貯蔵性、低温耐性、耐病性などの様々な性質に関わり、タマネギ栽培において有用な農業形質となっている。これまでに、国内で栽培される様々なタマネギ品種を用いて収穫したタマネギ鱗茎のフルクタン含量や重合度の違いを比較したところ、品種によってフルクタンの量や組成に大きな違いがあることが分かった。フルクタン代謝は合成と分解のバランスで調節されていると考えられるが、これまでに、タマネギにおけるフルクタン代謝の分子生物学研究は進んでおらず、鱗茎の多様なフルクタン組成やその動態がどのような遺伝子メカニズムで生じるのかはまったく分かっていない。本研究では、タマネギのフルクタン含量における品種間差を生じる分子メカニズムを明らかすることを目的として、タマネギ栽培期間中のフルクタン代謝酵素の活性評価を行い、それらと品種間差と関わりについて調べた。また、タマネギで発見されていなかったフルクタン分解酵素 1-FEH を単離し、その機能解析も行った。

１．タマネギ生育期間におけるフルクタン蓄積およびフルクタン代謝酵素活性の動態

これまでにタマネギのフルクタン動態を解析した研究では、鱗茎肥大直後から収穫時あるいは貯蔵期間中の調査例があるが、定植から収穫までの生育期間全体でフルクタン含量やフルクタン代謝酵素活性を調べた例はない。本研究では、収穫した鱗茎のフルクタン含量が高い‘北もみじ 2000’、鱗茎のフルクタン含量が低い‘ポールスター’というフルクタンの量や組成に違いがある代表的な 2 品種を用いて、定植から収穫までの生育期間全体における鱗茎のフルクタン含量およびフルクタン代謝酵素の活性を測定した。

2 品種の単糖およびフルクタン含量の変化を調べたところ、実生時から鱗茎肥大前までにフルクタン含量の品種間差はなく、この時期には‘ポールスター’も‘北もみじ 2000’と同程度のフルクタンを蓄積し、その重合度にも違いがないことが分かった。フルクタン含量の違いは鱗茎肥大が開始してから初めて現れ、この違いが収穫期まで維持されていた。‘ポールスター’は‘北もみじ 2000’と同程度のフルクタン合成能を持っているにも関わらず、収穫時には‘北もみじ 2000’ほどのフルクタンを蓄積できていなかったことから、生育初期に可能であったフルクタン蓄積が抑制される何らかの要因が‘ポールスター’の鱗茎肥大前後にあると考えられた。

鱗茎組織から粗酵素液を抽出し、フルクタン代謝酵素（合成酵素：1-SST、6G-FFT、1-FFT、分解酵素：1-FEH）およびスクロースの分解に関わるインベルターゼ（INV）の活性を‘北もみじ 2000’と‘ポールスター’で比較した。フルクタン合成に関わる酵素活性は、両品種とも生育期間中に同様の時期で増減し、似たような推移傾向を示した。しかし、生育時期ごとに 2 品種の活性の違いをみると、‘北もみじ 2000’よりも‘ポールスター’において、鱗茎肥大期間の 1-SST、6G-FFT、1-FFT 活性が高かった。合成酵素活性が高いにも関わらず‘ポールスター’はこの時期の鱗茎に多くのフルクタンを蓄積できていないことから、鱗茎のフルクタン蓄積の品種間差は、合成酵素の活性量よりも反応基質の量などが律速となって影響しているのではないかと考えられた。一方、鱗茎肥大開始前の 1 ヶ月半ほどの間、‘ポールスター’の 1-FEH および INV の活性は‘北もみじ 2000’よりも著しく高かった。本研究では地上部の葉身組織のフルクタン動態も解析

したところ、鱗茎肥大が起こるまでは葉身にもフルクタンが蓄積しており、鱗茎肥大開始後の葉身では単糖およびスクロースのみが検出された。葉身に蓄積していたフルクタンの量や組成にも2 品種間で大きな違いはなかったが、特に鱗茎肥大期間の葉身のスクロース量には違いがあり、‘北もみじ 2000’のスクロース量が‘ポールスター’よりも有意に高かった。スクロースはフルクタン合成の基質であることから、鱗茎肥大中、葉身から転流されるスクロース量の違いが鱗茎のフルクタン量に影響する可能性が示唆された。また、‘ポールスター’は‘北もみじ 2000’よりもインベルターゼ活性が高かったことから、フルクタン合成に必要となる十分量のスクロースを蓄積できないことも考えられる。これらのことから、フルクタン蓄積の品種間差には、フルクタン合成酵素の量よりも基質となるスクロース量が大きな影響をもち、スクロースを供給するフルクタン分解酵素やインベルターゼの活性の違いが大きく関わるのではないかと考えられた。

２．フルクタン加水分解酵素の同定

フルクタン合成に関わる 1-SST や 6G-FFT については、遺伝子同定や精製酵素の解析例がわずかにある。一方、タマネギのフルクタン分解酵素 1-FEH については全く報告例がなかった。本研究では、フルクタン代謝遺伝子の保存領域で作製したプライマーとタマネギ cDNA ライブラリを用いて 1-FEH の同定を試みた。候補遺伝子として選抜した Onion9132 遺伝子はタバコプロトプラスト一過発現系を用いて発現させ、抽出した粗酵素液を用いて様々な糖と基質として加えた場合の生成物を調べた。その結果、Onion9132 は 1-ケストース、ネオケストース、1&6G-kestotetraose を分解してフルクトースを生じる活性を示した。分解様式を詳しくみると、フルクトース-フルクトース間の β（2→1）結合だけでなく、フルクトース-グルコース間の β（2→6）結合も分解していたことから、Onion9132 は唯一アスパラガスでのみ報告がある 6G&1-FEH の活性を持つことが示された。既知のフルクタン代謝酵素と Onion9132 の系統解析の結果、興味深いことに、植物でみつかっているすべての FEH は細胞壁型 INV と同一クレードに分かれるのに対し、Onion9132 は液胞 INV や 1SST などのフルクタン転移酵素と同じクレードに分かれた。これまで、植物の FEH は細胞壁型 INV から進化したとされてきたが、Onion9132 は液胞型 INV から進化したことが示唆される初めてのフルクタン加水分解酵素であることが示された。今後は、共焦点顕微鏡観察などを行い、Onion9132 の局在性を詳細に調査する必要がある。

近年では、機能性付加を目的とした育種がタマネギでも行われており、ケルセチン含量を高めたり、硫化アリルによる催涙効果を減らしたりしたタマネギが開発されている。タマネギにおけるフルクタン含量の改変は、食味（甘み）の向上だけでなく、貯蔵性の向上や早晩性の改変などと関連づけることが可能であり、今後のタマネギ品種の展開に有望な着目点である。フルクタンの代謝機構の研究は、タマネギの様々な生理特性とフルクタンとの関連を明確にさせ、フルクタン代謝系をコントロールすることでタマネギの優良品種を育成するための基礎知見を得ることにつなげられる。本研究で得られたフルクタンの代謝機構の端緒も今後のタマネギ育種に有用な知見を与えるものである。