

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05616

研究課題名(和文) 日本原産種ワサビにおける辛味成分の成立機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of establishment of pungent taste components in wasabi, native to Japan

研究代表者

山根 京子 (Yamane, Kyoko)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：00405359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では「ワサビはなぜ辛いのか」の解明を目指した。中国のワサビ近縁野生種が辛くないという研究報告に基づき、この違いがうまれた進化的背景を理解するために、日本の豊富な遺伝資源を用いて比較解析した。その結果、日本のワサビ属植物には非常に多様なグルコシノレート産物が存在することが明らかとなった。生育環境、部位、季節、種による成分の違いを調べたところ、日本のワサビは日本海側の多雪地帯に適応する際に、シニグリン(辛味成分の前駆体物質)と長鎖グルコシノレートを根茎に蓄積する機構を進化させた可能性があることがわかった。ワサビの辛味は多雪地帯特有のストレスへの応答物質といえるかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ワサビは日本固有種であり、日本で栽培化された数少ない経済植物として重要である。にもかかわらず、ワサビの特徴的な辛味が成立した進化的背景や遺伝基盤情報は不明な点が多かった。ワサビの辛味がどのようにして日本で成立し、栽培化に至ったのかを明らかにすることは、ワサビ生産に有用な基盤情報となりえるだけでなく、日本列島の自然環境を理解し、持続的に植物資源を利用し、保全するためにも重要である。本研究によりワサビの辛味成分が環境適応形質である可能性が示されたことは、遺伝進化的や農学研究にとどまらず民族植物学や食文化など高い波及効果が見込める。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to elucidate "Why is wasabi spicy? Based on the previous report that wild relatives in Chiba which have no spicy condiment, we conducted a comparative analysis for Japanese Eutrema species using abundant genetic resources in Japan to understand the evolutionary background that led to this difference. As a result, we found that there is a great diversity of glucosinolate products in Japanese wasabi and its relatives. The differences among components by growing environment, site, season, and species indicate that wasabi may have evolved a mechanism to accumulate sinigrin (a precursor substance of pungency) and long-chain glucosinolates in the rhizome when adapting to the heavy snowfall on the Sea of Japan coast. The pungency of wasabi may have been a response substance to stresses unique to high snowfall areas.

研究分野：植物遺伝資源学

キーワード：ワサビ 辛味成分 グルコシノレート UPLC 栽培化 香辛料 進化 遺伝資源

1. 研究開始当初の背景

ワサビ[*Eutrema japonicum*(Miq.) Koidz.]は日本固有種であり、日本で栽培化された数少ない栽培植物である。独特な辛味が特徴であり、和食文化に欠かせない重要な経済植物でもある。同じく香辛料として広く利用されているトウガラシについては、カプサイシンの生合成機構、辛味受容体 TRPV や鳥類と種子散布の関係など、民俗学、遺伝進化学的な研究も含めて多数報告がなされている(Kim et al., 2014 他)。ところがワサビに関しては、遺伝学的な研究は皆無であり、辛味成分の生合成に関わる遺伝子群も明らかにされてこなかった。一方、ワサビの辛味成分の本体と考えられるイソチオシアネート[ITC, isothiocyanate]は、食害などにより細胞が破壊され、前駆体であるグルコシノレート(カラシ油配糖体)[GSL, glucosinolate]がミロシナーゼ(酵素)と加水分解反応を起こすことで得られる物質であることが知られており、他のアブラナ科植物では分子遺伝学的な知見も蓄積されつつある。近年、ワサビに特徴的な辛さと風味の正体が、イソチオシアネートの一種である、allyl isothiocyanate, 6-MTITC, 6-MSITC である可能性が示された。このうち、長鎖 GSL は機能性成分として注目されている。興味深いことに、これら3種類の成分は、中国に自生するシャンユサイや他のワサビ属植物ではほとんど蓄積がみられない成分であることが示された(Hao et al., 2016)。このことから、これらのワサビに特徴的な成分は、ワサビとシャンユサイが共通祖先から分化したと推定される約100万年の間に日本で独自に進化した産物である可能性が高いことが示された。

2. 研究の目的

本研究の主目的は、「ワサビはなぜ辛い?」という基本的かつ重要な問いに関して知見を得ることである。当グループの先行研究である、日本のワサビ属植物がどのようにして日本で成立したのかを明らかにした葉緑体ゲノム解読の成果により、日本のワサビ属植物の遺伝的多様性がどのように維持されてきたのかが示された。本研究では、これらの結果をもとに、日本のワサビ属植物の辛味関連成分の多様性を分析し、日本固有種ワサビが、独特の辛味をどのように獲得したのか、その進化的機構を解明することを目的とし、辛味関連成分の多様性が維持された機構を明らかにすることを試みた。約100万年という、植物の進化時間としては比較的短い時間において、氷河期のなかで、日本のワサビ属植物がどのように分布を拡大し、適応的に進化したのかについて考察した。具体的には、日本のワサビ属植物における GSL 多様性を明らかにし、種、成育環境、部位、季節などの違いによって、どのような類似性(または独自性)が存在するか、プロファイリングを行うことで、成分の多様性が維持されている機構を明らかにし、その背景に存在する要因の特定を試みた。

3. 研究の方法

ワサビの特徴的な辛味や風味の主成分は ITC であり、アブラナ科に特徴的な二次代謝産物であるグルコシノレートが加水分解されることで生成される。ワサビにおける GSL の調査は野生種に限られており、種内変異がどの程度存在するのかが不明であった。そこで本研究では、ワサビ属3種(ワサビ、ユリワサビ、オオユリワサビ)計約100系統(野生、在来、逸脱、品種を含む)の GSL を、高速液体クロマトグラフィー(UPLC)を用いて分析した。GSL 分析は、葉と根茎からメタノール抽出した GSL を脱硫化した後、超高速液体クロマトグラフィー(UPLC)により分析した。GSL の同定はマススペクトルの脱硫 GSL の分子イオン[M+Na]⁺の質量数と既知の溶出順序をもとに行った。全国から収集したサンプルは季節を開花期に統一した。また、部位ごとの成分の違いも調べた。各系統の遺伝的類縁関係は、当グループで構築した DNA マーカーを用いて、ネットワーク解析により明らかにした。

4. 研究成果

各系統間の遺伝的類縁関係を明らかにしたうえで、成分の違いを検証することを目的とし、葉緑体遺伝子間3領域(計約1.7kb)の配列を直接塩基配列決定法で決定し、ハプロタイプネットワーク推定を行った。これにより、日本のワサビ属植物がどのようにして移動したのか、人為的かどうかを見極めることができる。その結果、日本のワサビ属植物は種ごとにグループを形成せず、交雑と遺伝子浸透による複雑な進化的背景をもつことが示された。また、氷河期時代に複数回大陸から日本列島への移入が生じていたことがわかり、日本列島が遺伝的多様性を維持する機構が示唆された。その一方で、興味深いことに、今回調べた辛味関連成分のプロファイリングパターンは、種ごとに一致性がみられることがわかった。種分化や成立に、GSL が関与している可能性がある。一方、野生種で極めて多様な GSL の存在が明らかになった一方で、栽培系統では多様性が低いことが明らかとなった。この結果は聞き取りなどで構築したワサビ品種の系譜と矛盾しない。

ワサビの辛味のもととなる allyl ITC の前駆体 sinigrin は日本のワサビ属植物においてほとんどの系統で含有していることがわかった。その含有量は、葉よりも、根茎にもっとも多く含まれていることが明らかになった。本成分は大陸のワサビ属植物にはほとんど含まれていな

いことから、ワサビが日本で進化する際に、何等かの自然淘汰を受け、集団中に広がった可能性があると考えられる。また、ワサビ特有の爽やかな香りに関与するとされる 6-methylthiohexyl ITC の前駆体 6MTH は、ユリワサビとオオユリワサビには含まれず、ワサビでのみ特異的に含まれることがわかった。また、5MTP、5H もワサビに特異的であることがわかった。興味深いことに、野生集団においては、6-methylthiohexyl ITC の前駆体 6MTH は、多雪地帯ほど含有量が多い傾向がみられたことから、日本海側の多雪地帯への適応進化と何らかの関係がある可能性がある。一方、近年、機能性が注目される 6-methylsulfinylhexyl ITC の前駆体 6MSH は、ワサビだけでなくユリワサビやオオユリワサビにも含まれ、乾燥重量あたりの含有量はワサビよりも高い系統がいくつか存在した。本成分は大陸のワサビ属植物ではほとんどみられない成分であることから、長鎖 GSL は、日本のワサビ属植物が日本列島において分布を拡大するタイミングで何等かの淘汰を受け、広がった可能性が示された。現在、ゲノム支援によりゲノムを解読中である。辛味関連成分に関与する遺伝子の多型調査を行うことで、自然選択の有無なども推定できると考えられる。

野生種ではこれまでワサビで報告がなかった GSL の存在が明らかになり、遺伝資源としての有用性があらためて示された。しかしながら、現在の栽培品種は遺伝的多様性も成分の多様性も野生種に比べると著しく乏しい。地球温暖化により、日本海要素植物である野生ワサビの自生環境は変化し、消滅の危機にある集団もある。日本の貴重な遺伝資源の消失を最小限にとどめるためにも、早急に適応策を検討すべきであると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Haga, N., Kobayashi, M., Michiki, N., Takao, T., Baba, F., Kobayashi, K., Ohyanagi, H., Ohgane, J., Yano, K., Yamane, K.	4. 巻 9
2. 論文標題 plete chloroplast genome sequence and phylogenetic analysis of wasabi (<i>Eutrema japonicum</i>) and its relatives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49667-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kyoko Yamane and Taihachi Kawahara	4. 巻 63(3)
2. 論文標題 Size homoplasy and mutational behavior of chloroplast simple sequence repeats (cpSSRs) inferred from intra- and interspecific variations in four chloroplast regions of diploid and polyploid <i>Triticum</i> and <i>Aegilops</i> species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genetic Resources and Crop Evolution	6. 最初と最後の頁 727-743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10722-017-0567-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山根京子	4. 巻 93(11)
2. 論文標題 ワサビの持続的利用に向けたリソース上の問題点と活動事例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 農業および園芸	6. 最初と最後の頁 783-792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山根京子, 小林恵子, 清水祐美	4. 巻 17(2)
2. 論文標題 日本の若者におけるワサビと辛味の嗜好性に関するアンケート調査結果	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 園芸学研究	6. 最初と最後の頁 219-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.17.21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ken-Ichi Tanno, Ayaka Takeuchi, Eri Akahori, Keiko Kobayashi, Taihachi Kawahara and Kyoko Yamane	4. 巻 16
2. 論文標題 Multiplex PCR effectively identifies tetraploid Triticum AABB or AAGG-genome species	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Genetic Resources	6. 最初と最後の頁 279-283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S1479262117000181	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山根京子	4. 巻 57
2. 論文標題 生ワサビの辛味および旨味の客観的評価方法の検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 山葵連合会報	6. 最初と最後の頁 16-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山根京子	4. 巻 115
2. 論文標題 ワサビ食文化考	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 vesta	6. 最初と最後の頁 24-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山根京子	4. 巻 58
2. 論文標題 ワサビの辛さを低減させる調味料調査	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 山葵連合会報	6. 最初と最後の頁 14-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 服部愛佳, 平海水緒, 山本祥平, 國島聡史, 小林恵子, 山根京子
2. 発表標題 官学連携型系統保存事業の展開 東京都三鷹市三鷹大沢ワサビの ルーツを解明する
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山根京子
2. 発表標題 葉緑体ゲノムからみたワサビの来た道～100万年の進化と起源の謎に迫る
3. 学会等名 日本進化学会第22回オンライン大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 羽賀夏子, 小林恵子, 馬場富二夫, 高島茂雄, 山根京子
2. 発表標題 日本のワサビ属植物の多様性の解明に向けた系統地理学的解析および辛味成分の プロファイリング
3. 学会等名 日本育種学会中部談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 服部愛佳, 國島聡史, 羽賀夏子, 山根京子
2. 発表標題 官学連携型系統維保存事業の展開 東京都三鷹市三鷹大沢ワサビを事例に
3. 学会等名 日本育種学会中部談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽賀夏子, 小林正明, 道木菜那, 高野知之, 小林恵子, 矢野健太郎, 山根京子
2. 発表標題 葉緑体全ゲノム比較による日本のワサビ属植物の系統解析および品種判別マーカーの作成
3. 学会等名 第26回育種学会中部地区談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田淳, 山根京子, 太田 敦士
2. 発表標題 コムギ近縁野生種 <i>Aegilops longissima</i> と <i>Ae. sharonensis</i> における穂の形態的二型のQTLマッピング
3. 学会等名 第26回育種学会中部地区談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 國島聡史, 山根京子
2. 発表標題 滋賀県における野生ワサビの保全事例とその活用に関する研究
3. 学会等名 第26回育種学会中部地区談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田淳, 山根京子, 太田 敦士
2. 発表標題 コムギ近縁のエギロプス属シトプシス節で見られる穂の形態的二型の遺伝解析
3. 学会等名 日本育種学会第134回講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 羽賀夏子, 馬場富二夫, 久松奨, 高島茂雄, 山根京子
2. 発表標題 日本のワサビ属植物における葉緑体 DNA の種内変異と辛味成分前駆体グルコシノレート組成の多様性
3. 学会等名 日本育種学会第135回講演会(千葉大学)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山根京子, 加藤朋恵, 石田 佳織, 羽賀 夏子, 奥西勲, 小林恵子
2. 発表標題 野生および栽培ワサビの辛味成分含有量比較
3. 学会等名 日本育種学会第135回講演会(千葉大学)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平海水緒・羽賀夏子・高島茂雄・山根京子
2. 発表標題 ワサビの地上部形態と辛味関連成分の季節変化
3. 学会等名 第28回育種学会中部地区談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平海 水緒, 森田 真菜, 羽賀 夏子, 高島 茂雄
2. 発表標題 ワサビにおける辛味関連成分グルコシノレートの季節変動
3. 学会等名 日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 山根京子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文一総合出版	5. 総ページ数 256
3. 書名 わさびの日本史	

1. 著者名 西川芳昭 編著(山根 京子分担)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 農山漁村文化協会	5. 総ページ数 267
3. 書名 タネとヒト	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	矢野 健太郎 (Yano Kentaro) (00446543)	明治大学・農学部・専任教授 (32682)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------