

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：87110

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02952

研究課題名（和文）イチジク遺伝資源を用いた果実の味・香り制御遺伝子の網羅的解析と食味科学への展開

研究課題名（英文）Comprehensive analysis of fruit taste and aroma regulator genes using fig genetic resources and its expansion to the science of taste

研究代表者

池上 秀利（IKEGAMI, HIDETOSHI）

福岡県農林業総合試験場・豊前分場・研究員

研究者番号：40502414

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、果実の食味やおいしさを制御する分子制御基盤の全体像の解明を図ることを目的として、多様な食味特徴を持つイチジクの果実を対象に「味」と「香り」に関する複数のオミクス情報を取得して、これを用いた遺伝解析およびオミクス横断的な解析を実施した。その結果、ゲノム情報を起点としてオミクス各層の分析・評価結果を統合的に紐づけることにより、食味関連成分（要素）と遺伝要因との関係性を推定可能な情報基盤を構築できた。本情報基盤はイチジク果実の品質・食味形質の制御と同形質をターゲットにした育種に役立つと同時に、果実類に共通する品質・食味制御機構の理解を進める上で有用であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米国等では消費者の満足度や評価を製品（農産物）開発にフィードバックさせる循環サイクルを想定する消費者発信型育種システム概念が知られているが、本システムの運用では「味」「香り」等の食味を構成する要素の制御系の理解が鍵となる。本研究は多様な食味特徴を有するイチジク果実を対象に「味」と「香り」に関する各種オミクス情報を参照して食味の総合的な解明を試みると同時に、ヒトの化学感覚の全般を考慮した高度な食味デザイン育種の可能性を提示するものであり、イチジク果実あるいは果実類の食味制御に関わる包括的な情報体系としての価値は大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）： The aim of this study is to elucidate the overall molecular regulatory basis for controlling fruit flavor and deliciousness. We collected omics information on "taste" and "aroma" of fig fruits, which have diverse eating characteristics, and conducted genetic analysis and cross-sectional omics analysis using the omics information. Finally, we were able to construct an information infrastructure that can estimate the relationship between taste-related components (elements) and genetic factors by integrating the analysis and evaluation results of each omics layer starting from the genomic information. This information infrastructure will be useful for controlling quality and taste traits of fig fruits and for fig breeding, as well as for advancing our understanding of the quality and taste control mechanisms common to fruit species.

研究分野：園芸科学、遺伝子工学、果樹育種

キーワード：果実 味 香り おいしさ 食味科学 統合オミクス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

食品の「食味」や「おいしさ」(以下「おいしさ」)は様々な要因が関連して成立するヒトの総合的な感覚であり、食品の魅力を高める重要要件の一つである。「おいしさ」を構成する要因は食べ物側の要因と食べる側(ヒト側)の要因とに分けられる。前者は一般に制御可能な領域であるが、食品市場で消費者の満足度を高め認知を獲得するプロセスにおいて、新たな「おいしさ」を持つ食品を創造して消費者に提供する、あるいは消費者の嗜好性を的確に捕らえそれを食品品質(食べ物側の要因)に反映することの重要性は近年高まっている。

Drewnowski(1997)によれば一般的概念としての食べ物の「味」(taste)(広義の味=「食味」)には、味覚(taste)(狭義の味)及び嗅覚(olfaction)による化学感覚と、食感の口腔知覚(texture)が含まれるとしている。また、山野(2012)は「おいしさ」について以下のように定義する。『食品成分が口中の舌の上にある味藪(みらい)へ吸着することによって感じる狭義の「味」と、食品から漂う揮発性成分が鼻の中の嗅粘膜への吸着により感じる「匂い(香り)」と、歯、歯茎、口蓋(こうがい)喉、舌などで感じる力学的刺激である「テクスチャー(食感、温度等)」の3要素が複合したものが「おいしさ」である。』以上の定義から、食品の「食味」や「おいしさ」には基本的にこれらの3要素が関与していると理解できる。このうち「味」と「匂い」を合わせた化学感覚(=フレーバー:風味)は、ヒトの感覚に与える影響が大きく、作物(特に嗜好性の高い果物や果実類等)の「おいしさ」においても大きな影響を与えることが知られている。

これまで作物の「味」と「匂い」の解析に関しては、イネ、トマト、カンキツ、リンゴなど多くの作物で報告があり、良食味や甘味、酸味に関係する成分や遺伝子が多数同定されている。特にトマトにおいては主要代謝経路に関して詳細に解析が進められていた。しかし、多くの研究はいずれも特定の指標や成分あるいはその関連する群に着目したものであり、食べ物側の「おいしさ」に対して全体でどれだけの遺伝的要因が関与し、それらの発現の組合せの違いが作物の味や匂いの成分にどのように影響し、その結果どのように食味の多様性が表現され、最終的にどのようにヒトの「おいしさ」につながっているのかの全体像は十分に理解されているとは言えなかった。また作物側において「おいしさ」が成立する背景を分子遺伝学的に解明することは、作物の「おいしさ」を改良するための育種技術に大きく貢献すると考えられる。

本研究代表者らのグループは、国内最大級のイチジク遺伝資源と高精度に解読されたゲノム情報を通じて高度な遺伝情報基盤の構築に成功していたが、これらの材料や情報に基づいて食味に優れる品種の開発を進めていた中で、複雑な制御が想定される作物側の食味形質(量的形質)について発現の背景を理解する必要がある、かつ近年の分析技術の進展によりその課題解決が可能な状況にあった。

### 2. 研究の目的

本研究では、イチジク果実の「味」と「香り」に関わる各種オミクスデータの解析を通じて、果樹作物のゲノムシステムからヒトの感覚までの一貫した理解により、「おいしさ」の制御背景の全体を体系立てつつ、統合的な解明を図ることを目的とした。また得られた知見を活かして、イチジクの育種を進める上で有用な選抜育種技術の開発につなげることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 果実オミクス情報の収集

福岡県農林業総合試験場豊前分場が保有する全遺伝資源(約200品種・系統)のうち最大213の品種・系統(以下、品種・系統群)を対象に、ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、メタボローム解析、味分析を実施し、味と香りに関連するオミクス情報の収集を行った。

ゲノム情報については、分担者が別課題(16H04878)においてPacBioシステムやIrysゲノムマッピング手法等により取得した情報を利用した。別課題で構築済のアセンブル(雌株品種:蓬萊柿)の更新と、新たに別品種(雄株品種:Caprifig6085)のゲノムアセンブルを行い、それぞれの品種のpseudomoleculeを構築し遺伝子予測を行った。またこれらpseudomoleculeに対し、品種・系統群の全ゲノムリシーケンス情報をマッピングしSNPを網羅的に検出した。トランスクリプトーム情報は、品種・系統群の果実の可食部(小花と花托)を対象にRNA-seqを行い取得した。得られたリードを核およびオルガネラのゲノム配列にマッピングし、リードカウントの算出と標準化を行った。メタボローム情報は、品種・系統群の果実の糖・有機酸成分および香氣成分について、分析装置GCMS-QP2010Ultra(Shimadzu社)を用いてGCMS定量分析により取得した。

味覚情報については、品種・系統群の果実可食部(小花+花托)を対象に味覚分析装置(味覚センサー)により味覚8項目(酸味、苦味、雑味、渋味刺激、旨味、塩味、渋味、旨味コク)を測定して取得した。甘味については糖度計(PAL-1、アタゴ社)により可溶性固形分(Brix)を測定した。

#### (2) 食味官能評価試験

51品種・系統を供試してのべ55名による5回の食味官能評価試験を行った。評価項目は甘味、酸味、ジューシーさ、食感、外観、総合とし、蓬萊柿を基準品種として7段階で評価した。得られた評価結果について重回帰分析等の統計解析を行った。

### (3) 遺伝解析、関連解析

(1) で得られたオミクスデータのうちトランスクリプトームおよびメタボロームのデータを用いて、糖・有機酸成分、香り成分、味覚要素に關与する可能性のあるゲノム領域または遺伝子を網羅的に探索し、食味関連成分・要素との関連が予想される遺伝子の位置を高密度連鎖地図上で特定した。さらに eGWAS、TWAS を実施して有意な食味関連遺伝子および原因変異箇所の絞り込みを行った。

### (4) オミクス横断解析

(1) で得られたデータのうち、トランスクリプトーム層およびメタボローム層（糖・有機酸、香り成分）の全ての因子の量的データを供試し、金平糖アルゴリズム（尾形・鈴木、2017）に基づくプログラム ConfeitoGUIJar\_1.3.3 を用いた解析を行った。最初に FP0 (False-Positive-Out) 解析を実行後、FNI (False-Positive-In) 解析を実行し、付属の機能によりネットワーク図および抽出遺伝子群を描画した。

## 4. 研究成果

### (1) オミクス情報の取得と整備

本研究で対象としたオミクス各層について 1~3 年分の情報を収集することができた。

ゲノム層では雌株（蓬萊柿）アセンブルを更新するとともに、雌株（Caprifig6085）のアセンブルを新たに構築した。また葉緑体とミトコンドリアのアセンブルを新規に構築した。これらのゲノムを参照して品種系統群に由来する約 461 万 SNP を検出し、後の解析に供試した。

トランスクリプトーム層では RNA-seq を実施し、遺伝子予測結果に基づき最大 45,900 遺伝子の標準化された発現データを取得した。メタボローム層では 41 種の糖・有機酸成分、最大 195 種の香り成分および 7 種のアントシアニン成分を同定し定量できた。味覚層では味覚 9 項目の 3 年分の情報が得られた。

### (2) 食味官能評価試験

各食味評価項目について、のべ 3300 の評価データを取得した。分散分析では、甘味、ジューシー、外観、総合評価において 1% 又は 5% 水準で有意な系統間差が認められ識別性を確認した。標準偏回帰係数は甘味が 0.52、酸味が 0.21、ジューシーさが 0.09、食感が 0.34、外観で 0.25 であり、甘味、食感、外観の 3 項目で有意性を示した。この結果からイチジク果実の食味には甘味による影響が大きく、食感と外観も一定の影響があることが推察された。

### (3) 味、香気形質に関する遺伝解析

(1) で得られたデータのうち糖・有機酸成分（2 年分）と香り成分（2 年分）のデータセットを用いて高解像度な GWAS を行った。その結果、41 種の糖・有機酸成分、188 種の香り成分、9 種の味覚要素において相関 SNP を検出することができ、食味に関わる広範な成分及び要素に関連する多数の有意な SNP 多型および遺伝子候補の網羅的な同定に成功した。また追加的に実施した TWAS および eGWAS の結果と GWAS の結果で共通する SNP を探索したところ、イチジクの主要糖であり食味への影響が想定されるグルコース等に関連する SNP 多型および遺伝子が検出され、有意性の高い遺伝子の絞り込みができることを確認した。

### (4) その他果実形質の遺伝解析

育種上の重要形質であり食味にも影響するその他の果実形質についても遺伝解析を実施した。可食性を決定する雌性形質に関する高解像度な GWAS の結果、過去に同定していた FcRAN1 (Mori et al., 2017) の多型と雌雄の表現型に矛盾がないことをあらためて確認した。果実糖度と逆相関関係にある果実重形質についても雌雄性と同様の GWAS を行ったところ、果実重と関連し形質選抜用 DNA マーカーとしても利用可能な 6 種の SNP を特定した。合わせて果実重の高精度な形質分離予測モデルも作成した。外観による官能評価に影響する果皮色形質に関する GWAS では、chr06 に強いシグナルが認められ、Myb 遺伝子を含む果皮色原因候補遺伝子を複数特定した。これら遺伝子の多型は 3 種類（緑系、赤系、黒系）の果皮色大分類と関連があり、各遺伝子型で測定したアントシアニン検出量（C3R、C3G）とも関係が認められた。さらに雌花色、果梗長、果肉密度等についても解析を実施し、各形質に関連の強いゲノム領域を特定した。

### (5) 統合的オミクス解析

トランスクリプトーム由来の 45,900 遺伝子、メタボローム由来の糖・有機酸成分 41 種、香り成分 195 種を合わせた計 46,136 因子を用いて FP0 解析と FNI 解析を実施した。その結果、最大で全因子数と等しいノード数から構成される 120 以上のモジュールと、偽陰性を考慮した 329 の要素群が得られ、遺伝子・成分間の関係をネットワークで可視化することに成功した。さらに味覚要素の因子を統合して、味覚と遺伝子・成分ネットワークとの関係も明らかにした。

以上の成果により、イチジクの品種・系統群に由来するゲノム情報を起点としてそれぞれの分析・評価結果を統合的に紐づけることにより、食味関連成分（要素）と遺伝要因との関係性を推定可能な情報基盤を構築できた。本情報基盤はイチジクの品質・食味に関する制御機構の理解および品質・食味をターゲットとした育種に役立つと同時に、果実類に共通する品質・食味制御機構の解明を図る上でも有用であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ikegami Hidetoshi, Shirasawa Kenta, Yakushiji Hiroshi, Yabe Shiori, Sato Masaru, Hayashi Takeshi, Tashiro Kosuke, Nogata Hitoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Analysis of the Segregation Distortion of FcRAN1 Genotypes Based on Whole-Genome Resequencing of Fig ( <i>Ficus carica</i> L.) Breeding Parents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2021.647599	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 白澤健太
2. 発表標題 イチジク属ゲノム解析の現状
3. 学会等名 令和4年度園芸学会春季大会小集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池上秀利, 矢部志央理, 林武司, 白澤健太, 吉川郁恵, 石橋美咲, 白武勝裕, 佐藤大, 田代康介, 野方仁
2. 発表標題 高解像全ゲノム関連解析によるイチジク果皮色形質原因遺伝子候補の同定
3. 学会等名 令和3年度園芸学会秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池上秀利, 白澤健太, 薬師寺博, 矢部志央理, 佐藤大, 林武司, 田代康介, 野方仁
2. 発表標題 イチジクFcRAN1座アレルにおける分離比歪みの観察とその遺伝的要因の解析
3. 学会等名 日本育種学会第138回講演会（令和2年度秋季大会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikegami, Kenta Shirasawa, Hiroshi Yakushiji, Shuichi Himeno, Hitoshi Nogata
2. 発表標題 Development and Application of FcRAN1-Based SNP Marker for Fig Sex Identification
3. 学会等名 PAG ASIA 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenta Shirasawa, Hiroshi Yakushiji, Hidetoshi Ikegami, Takeshige Morita, Shota Jikumar, Atsushi Toyoda, Hideki Hirakawa, Sachiko Isobe
2. 発表標題 Genome sequence analysis on Ficus carica and F. erecta for the Ceratocystis canker resistance breeding programs in fig
3. 学会等名 VI International Symposium on Fig (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikegami, Hideyuki Suzuki, Masaru Sato, Kenta Shirasawa, Shuichi Himeno, Hitoshi Nogata
2. 発表標題 Gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatiles of two Japanese cultivars of fig for flavor breeding
3. 学会等名 VI International Symposium on Fig (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢部志央理, 白澤健太, 池上秀利, 姫野修一, 野方仁, 田代康介, 林武司
2. 発表標題 イチジクのゲノミック予測に基づくF1分離予測
3. 学会等名 日本育種学会 第136回講演会 (令和元年度秋季大会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	田代 康介 (Kosuke Tashiro)  (00192170)	九州大学・農学研究院・准教授  (17102)	
研究分担者	林 武司 (Takeshi Hayashi)  (70370674)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・ユニット長  (82111)	平成31年度～令和2年度
研究分担者	矢部 志央理 (Shiori Yabe)  (60767771)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・研究員  (82111)	令和3年度
研究分担者	白澤 健太 (Kenta Shirasawa)  (60527026)	公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究開発部・ユニット長  (82508)	
研究分担者	佐藤 大 (Masaru Sato)  (30454052)	公益財団法人かずさDNA研究所・ゲノム事業推進部・特任研究員  (82508)	

	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
研究協力者	白武 勝裕 (Shiratake Katsuhiro)	名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授  (13901)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	石橋 美咲  (Ishibashi Misaki)	京都大学・大学院農学研究科・助教  (14301)	
研究協力者	鈴木 秀幸  (Suzuki Hideyuki)	平田機工株式会社・上席研究員	

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