

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05578

研究課題名（和文）ブドウ果実のメタボロミクスおよびトランスクリプトミクスによる成熟制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of Maturation Control Mechanisms in Grape Fruits by Metabolomics and Transcriptomics

研究代表者

高居 恵愛（TAKAI, Mei）

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：70589770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：非クライマクテリック型果実であるブドウの成熟制御機構を解明するため、成熟表現型の異なる果実を用いて代謝産物（特に植物ホルモン）のメタボローム解析および網羅的遺伝子発現のトランスクリプトーム解析（RNA-Seq）を行った。その結果、ブドウ果実成熟過程において各種植物ホルモン間でクロストークが存在し、アブシジン酸（ABA）は成熟に重要な役割を果たすことが示唆された。着色の進行パターンは品種間差が大きく、内生ABA含量の変動に関連し、これらの形質は遺伝する可能性が示唆された。また、果実にけるABAは少なくとも一部が他の組織から転流した可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果実の成熟はエチレンの制御による追熟型（クライマクテリック型）とエチレンが生成しない非追熟型（非クライマクテリック型）に大別される。ブドウのような非クライマクテリック型果実の成熟のメカニズムはまた解明されていない。本研究では、各種植物ホルモン（特にアブシジン酸（ABA）がブドウ果実成熟過程における機作を検討することにより、非クライマクテリック型果実の成熟制御機構の解明に知見を提供できる。一方、ブドウ果皮の色は市場価格に影響する重要な品質であり、本研究の成果は地球温暖化等による着色不良問題の解決に理論的および実用的な技術開発に役に立つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the maturation control mechanisms in non-climacteric grape fruits, we performed metabolome analysis of metabolites (especially plant hormones) and transcriptome analysis (RNA-Seq) of comprehensive gene expression using fruits with different maturation phenotypes. The results suggested that there is crosstalk between various plant hormones during the grape fruit maturation process, and abscisic acid (ABA) plays an important role in maturation. The progression patterns of coloration varied greatly between varieties, were related to fluctuations in endogenous ABA content, and these traits were suggested to be heritable. Additionally, it was suggested that at least part of the ABA in the fruits may have been translocated from other tissues.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：果実成熟 植物ホルモン アブシジン酸 遺伝子発現解析 メタボローム解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物ホルモンは果実の成熟過程に重要な役割を果たしている。エチレンの制御による追熟型(クライマクテリック型)果実の成熟メカニズムの研究が進んでいたが、非クライマクテリック型果実の成熟制御機構はまだ解明されていない。ブドウは非クライマクテリック型果実の代表として、その成熟特に着色のメカニズムの解明は重要な課題である。

ブドウ果皮の着色に関する分子制御機構が明らかされつつある。転写因子の MybA がアントシアニン生合成関与構造遺伝子の発現を誘導することが明らかにされた。しかし、MybA 遺伝子上流にある制御因子について知見は殆どない。植物ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) はブドウ果実成熟・着色のトリガーであると考えられているが、我々はこれまでの研究から内生 ABA 含量は着色の進行と必ずしも一致しないことを証明し、ABA 以外にもほかのアントシアニン生合成の制御因子が存在する可能性を示唆した。また、成熟・着色における植物ホルモン間のネットワーク制御が存在し、これら植物ホルモンは他器官から果実へ転送される可能性があると考えられている。そこで、ブドウ果実成熟の制御における植物ホルモンの役割、ホルモンネットワーク間および器官と組織間のクロストークはどのように稼働するか? ホルモン以外の果実成熟開始および着色の制御因子は何か? との問いを解明する必要がある。

### 2. 研究の目的

ブドウ果実の成熟開始と進行の制御機構に関する研究は近年注目されているが、メタボロミクスによる代謝物総体の解析や網羅的な遺伝子発現解析に関する研究はほとんどなかった。本研究は、メタボローム解析とトランスクリプトーム解析等手法により成熟表現型の異なる果実を比較し、成熟誘導および進行の制御因子の探索により成熟の制御機構を明らかにすることを目的とする。得られた知見はブドウの成熟・着色を人為的に制御するための技術開発や環境適応型品種の育種に応用できるだけでなく、植物生理学などの基礎生物学の発展にも貢献できると考えられる。

### 3. 研究の方法

果実成熟メカニズムの研究は、通常変異体を用いた解析が必要であるが、ブドウにおいて成熟表現型の異なる変異体が見つかっていない。そこで本研究では、我々が独自に作出した成熟・着色表現型の異なる同品種の接木系統や各種の処理による成熟異なる果実、また、成熟表現型の異なる品種を対象とし、植物ホルモン、アミノ酸、有機酸、糖類、および代謝中間体などの網羅的解析(メタボローム解析)および網羅的な遺伝子発現解析(トランスクリプトーム解析)を行い、同一品種の異なる処理による成熟・着色の違いの原因を分子レベルで探索する。また、着色パターンの異なる品種間の比較により、着色および ABA 含量の品種間差の原因と遺伝特性を明らかにする。

### 4. 研究成果

(1) 樹勢の異なる 2 品種(‘5BB’ と ‘Hybrid Franc’) の二倍体と四倍体台木に接木した赤色系ブドウ ‘ルビーロマン’ 果実のメタボローム解析と RNA-Seq 解析を行った。その結果、5BB(4x)台木に接木した果実は、ベレゾン期にアントシアニン含量、糖、内生植物ホルモン (ABA、IAA、サイトカイニン) 代謝物総含量ともほかの台木より高かった[1, 2]。果皮内生 ABA 含量は、DAF48 (ベレゾン期) に 5BB(4x) で最も高く(図 1)、VviNCED3 (VIT\_219s0093g00550) の発現も高かった(図 2)。しかし、成熟後期の ABA の蓄積は別の NCED 遺伝子 (VviNCED6 と VviCCD4b) の作用か、あるいは他器官から転流する可能性が示唆された。

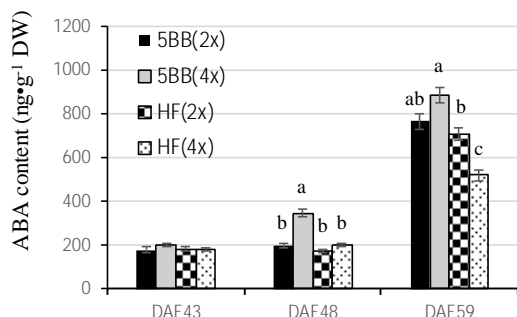


図 1. 果皮内生 ABA 含量

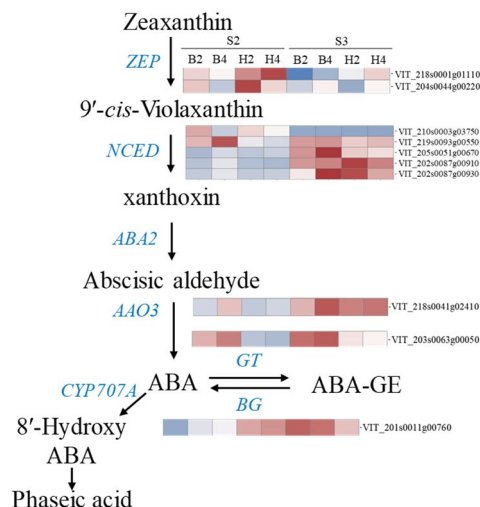


図 2. ABA 代謝関連遺伝子の発現解析

(2) 4種類の台木に接木した‘ルビーロマン’樹の環状剥皮処理で得られた果実について、メタボローム解析とRNA-Seq解析を行った。台木品種に関わらず対照区に比べて剥皮処理の果実では、ベレゾン期から成熟後期にかけてアントシアニン含量が著しく高く、果皮内生ABA含量も高かった。RNA-Seqの結果 *VviMYBAs* を含むアントシアニン合成系関連遺伝子群の発現量は、対照区より剥皮区で高かったが、ABA代謝関連遺伝子群とは負の相関がみられた。つまり、成熟後期の内生ABAはABA合成関連遺伝子の発現と一致しなかった(論文準備中)。この結果から成熟後期のABAは果皮のみで合成されるものではないことを示唆した。

(3) 着色決定遺伝子座の構成が同じである赤色系ブドウ‘ルビーロマン’と‘安芸クイーン’では、ベレゾン後の果実着色の様相が異なる。この2品種の成熟過程におけるアントシアニンの蓄積と内生植物ホルモンと代謝物を経時的測定し、関連遺伝子の発現解析を行った。その結果、‘ルビーロマン’では‘安芸クイーン’より成熟後期にアントシアニンの蓄積が進むことは、前者では成熟後期にABA含量が高いレベルに維持されることと関連すると考えられた(図3)。*VviNCED1(VviNCED3)*の発現が‘ルビーロマン’でDAF60まで維持された(図4)[3]。さらに、両品種およびそれらの種子親である‘藤稔’と‘巨峰’を用いた分析結果より、アントシアニンおよびABA蓄積パターンに品種間差があり、これらの着色に関わる形質は遺伝する可能性が示唆された。

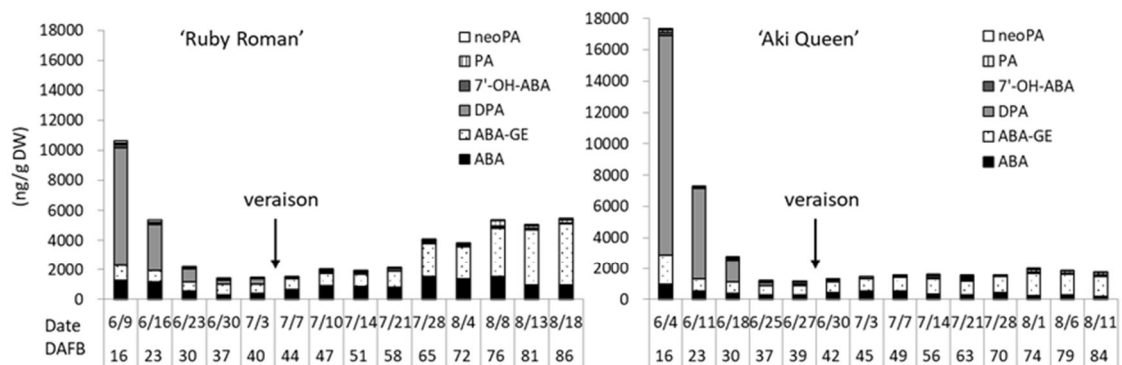


図3 ABA代謝産物の経時的な変化 (2014年)

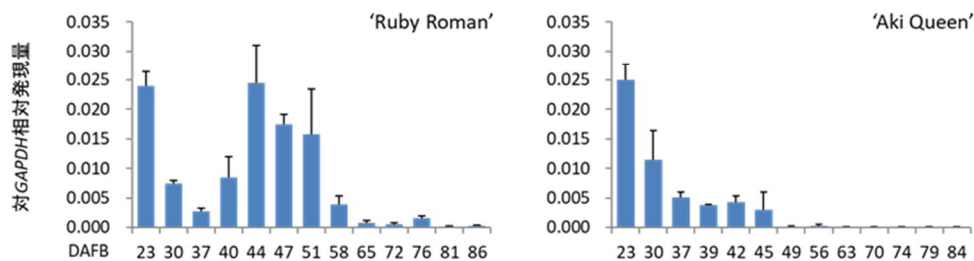


図4 ABA合成に関わる*VviNCED1*の経時的な発現量の変化 (2014年)

#### < 引用文献 >

- (1) M. Gao-Takai<sup>1</sup>, Z. Lin, Y. Sugiyama<sup>1</sup>, T. Katayama, A. Shinmura<sup>1</sup>, H. Naito and A. Katayama-Ikegami. 2022. Effect of Grapevine Rootstocks on Anthocyanin Biosynthesis, Sugar Contents, and Endogenous Hormone Contents During the Berry Maturation of ‘Ruby Roman’. Hort. J. 91:476-488.
- (2) M. Gao-Takai<sup>1</sup>, T.S. Li, Z. Lin, T. Segawa, H. Takagi, A. Katayama-Ikegami. 2024. Transcriptome analysis for ‘Ruby-Roman’ grapes grafted on diploid and tetraploid rootstocks. Acta Hort. (in Press)
- (3) Katayama-Ikegami, Y. Sugiyama, T. Katayama, A. Sakamoto, R. Shimada, C. Miyazaki and M. Gao-Takai. 2022. Difference Between Coloration and Endogenous Abscisic Acid Accumulation Patterns in Two Red Grape Cultivars, ‘Aki Queen’ and ‘Ruby Roman’ (*Vitis labruscana* Bailey) Berries. Hort. J. 91:312-321.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Gao-Takai Mei, Lin Zen, Sugiyama Yuta, Katayama Takane, Shimura Ai, Naito Hikaru, Katayama-Ikegami Ayako	4. 巻 91
2. 論文標題 Effect of Grapevine Rootstocks on Anthocyanin Biosynthesis, Sugar Contents, and Endogenous Hormone Contents During the Berry Maturation of 'Ruby Roman'	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 476 ~ 488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.utd-371	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 該当する

1. 著者名 Katayama-Ikegami Ayako, Sugiyama Yuta, Katayama Takane, Sakamoto Akiko, Shimada Ryo, Miyazaki Chiho, Gao-Takai Mei	4. 巻 91
2. 論文標題 Difference Between Coloration and Endogenous Abscisic Acid Accumulation Patterns in Two Red Grape Cultivars, 'Aki Queen' and 'Ruby Roman' (&lt;i>Vitis labruscana&lt;/i> & &lt;i>Bailey Berries	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 312 ~ 321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.utd-342	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 Kenichi Matsuda, Mei Gao-Takai, Ayaka Date, Takashi Suzuki	4. 巻 288
2. 論文標題 Suppression of red color development associated with anthocyanin accumulation in the epicarp of grape ( <i>Vitis labrusca</i> x <i>vinifera</i> cv. Ruby Roman) berries caused by air temperature in daylight periods higher than 33 degrees C during maturation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 SCIENTIA HORTICULTURAE	6. 最初と最後の頁 110381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scienta.2021.110381	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 M. Gao-Takai <sup>1</sup> , T.S. Li, Z. Lin, T. Segawa, H. Takagi, A. Katayama-Ikegami	4. 巻 -
2. 論文標題 Transcriptome analysis for 'Ruby-Roman' grapes grafted on diploid and tetraploid rootstocks.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Acta Hortic.	6. 最初と最後の頁 -
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 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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高居恵愛, 片山(池上)礼子, 片山(池上)礼子, 中嶋恭佑, 鈴木花野, 越野遼太郎
2. 発表標題 ブドウ果実着色とABA蓄積パターンの遺伝性
3. 学会等名 日本園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高居恵愛, 片山(池上)礼子, 松田賢一
2. 発表標題 温度処理がブドウ‘ルビーロマン’と‘安芸クイーン’果粒の着色と果皮における植物ホルモンに及ぼす影響
3. 学会等名 日本園芸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mei Gao-Takai, Tanshan Li, Zen Lin, Tenta Segawa, Hiroki Takagi, Ayako Katayama-Ikegami
2. 発表標題 Transcriptome analysis for ‘Ruby-Roman’ grapes grafted on diploid and tetraploid rootstocks
3. 学会等名 4th Asian Horticultural Congress
4. 発表年 2023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	及川 彰  (Oikawa Akira)  (50442934)	京都大学・農学研究科・教授    (14301)	

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
---------	---------