

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06006

研究課題名（和文）MRI画像解析およびNMRメタボロミクスによるジャガイモの新規貯蔵生理機構の解明

研究課題名（英文）MRI and NMR-based metabolic profiling to examine physiology of potato tuber storage

研究代表者

関山 恭代（Sekiyama, Yasuyo）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・高度分析研究センター・上級研究員

研究者番号：60342804

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ジャガイモ塊茎の休眠・萌芽および代謝の制御は、育種や栽培、流通において考慮すべき重要な課題である。これまでに様々な品種について、休眠特性（休眠期間や萌芽条件）や貯蔵中の成分変化が明らかにされてきたが、その生理機構には不明な点が多い。本研究では、貯蔵中のジャガイモ塊茎について、磁気共鳴画像法（MRI）による画像解析と核磁気共鳴（NMR）法による代謝物の一斉分析（メタボロミクス）を実施し、「水の挙動」と「代謝変化」という切り口から新たな貯蔵生理機構の解明を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ジャガイモの休眠と貯蔵に関する研究への関心と需要は世界的に見ても高く、学術論文と特許文献を合わせて数百件以上の解析事例が報告されているが、その生理機構には未解明な点が多く、現在の貯蔵技術には課題も多い。本課題で水と代謝の視点からジャガイモの新たな貯蔵生理機構を明らかになれば、植物生理学研究における学術的意義があるほか、育種戦略や萌芽制御技術および貯蔵技術を開発するための新規シーズ創出につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Regulation of potato tuber dormancy, sprouting and metabolism is an important issue in breeding, cultivation and distribution. Although the dormancy characteristics, such as dormancy period and sprouting conditions, and metabolic changes during storage of various potato cultivars have been studied, the physiological mechanisms remain unclear. In this study, we performed magnetic resonance imaging (MRI) and nuclear magnetic resonance (NMR)-based metabolomics to investigate water behavior and metabolic changes during sprouting of potato tubers.

研究分野：核磁気共鳴（NMR）法，磁気共鳴画像法（MRI）および天然物有機化学を活用した農業・食品研究

キーワード：ジャガイモ メタボロミクス NMR MRI 休眠 水 代謝 貯蔵生理

1. 研究開始当初の背景

ジャガイモ塊茎の休眠・萌芽および代謝の制御は、育種、栽培、流通において考慮すべき重要な課題である。これまで様々な品種について休眠特性（休眠期間の長さや萌芽条件）や貯蔵中の成分変化が明らかにされてきたが、これらの形質の発現は栽培中や収穫後の環境条件によって複雑に変化するためその生理機構には未解明な点が多い。申請者らは、ジャガイモ貯蔵中の新たな生理機構を解明できれば、育種戦略や萌芽制御技術および貯蔵技術を開発するための新規シーズを創出できると考え、塊茎の「組織構造」「代謝」「生体内において代謝反応の場であり物質輸送の媒体となる水」の挙動に着目した。

2. 研究の目的

ジャガイモの休眠と貯蔵に関する研究はこれまで多数報告されており、休眠覚醒に伴うデンプンおよび還元糖含量の変化、頂芽部におけるアミノ酸類やビタミンCなどの蓄積、呼吸系代謝の変化、関与するホルモンが明らかにされているほか、貯蔵中の温湿度制御、エチレンや薬剤による化学物質処理、ガンマ線照射、熱水処理など様々な萌芽制御技術が開発されている。最近では、メタボロミクスによる複数のマーカー代謝物を用いたジャガイモの萌芽予測モデルも検討されている(Fukuda et al. 2019)。しかし、ジャガイモの休眠期間は品種によって異なるだけでなく、同じ品種であっても気温などの栽培環境にも左右されるため予測が難しく、萌芽や貯蔵中の品質の制御は現在も育種や生産の現場における大きな課題である。また、ごく最近になり、ゲノム編集によってステロイドアルカロイドの生合成を抑制したジャガイモが休眠期間を過ぎても萌芽しないことが明らかとなり、一見関係ないように思われる二次代謝経路が休眠に関与することが示唆されるなど、未解明の機構がまだ多く存在する可能性が改めて示された(Umemoto et al. 2016)。以上の背景から、本課題では、新たな側面からジャガイモ貯蔵中の生理機構を明らかにすることで、育種戦略や萌芽制御技術、貯蔵技術の開発に貢献することを目的とした。具体的には、これまで知見のなかった水と代謝の挙動に着目し、(1)ジャガイモ塊茎の水の分布や運動性が貯蔵中にどのように変化するか？(2)ジャガイモ塊茎の代謝が貯蔵中にどのように変化するか？(3)水分動態と代謝が休眠・萌芽にどのように関与するか？の3つを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

【研究材料】

北海道農業研究センターにおいて、休眠期間やデンプン価、加工特性などが異なる7品種のジャガイモ栽培し、収穫後、暗条件下18において約1ヶ月から数か月間に渡って貯蔵した塊茎をMRI画像解析およびNMRメタボロミクスに供した。供試品種を表1に示す。

表1. 本課題で使用した品種

品種	休眠期間	デンプン価	用途
インカのめざめ	短 (30日未満)	やや高 (18%程度)	生食用
コナユキ	やや短 (50日程度)	高 (20%程度)	デンプン用
ホッカイコガネ	中 (70日程度)	やや高 (16%程度)	フライドポテト用
男爵薯	やや長 (100日程度)	中 (15%程度)	生食用
コナフブキ	やや長 (100日程度)	高 (20%程度)	デンプン用
トヨシロ	長 (4~5カ月)	やや高 (16%程度)	チップ用
パールスターチ	長 (4~5カ月)	高 (20%超)	デンプン用

【MRI画像解析およびNMRメタボロミクス】

手法の概要を図1に示す。頂芽周辺を塊茎の長軸方向に円筒状にくり抜いてNMR試験管内に固定し、解像度200μmのマイクロイメージングを行った。休眠中から萌芽完了までの目または芽の状態を5段階の萌芽レベルで定義し、経時的にプロトン密度強調画像（水分含量の多い

組織を強調), T_2 強調画像(水の運動性が高い組織を強調), 横緩和時間(T_2)分布画像(水分子の運動性を定量的にマッピングする)を取得した。撮像は縦断方向の冠状面および矢状面の両方向から, ジャガイモ片全体を3次元的に網羅するスライス数で行い, 関心領域における輝度値や T_2 値の比較, ヒストグラム解析などの画像解析を行った。組織の同定は, 土屋らの報告および Fedec らの報告との比較により行った (Fedec et al. 1977; Tsuchiya et al. 1993)。続いて, MRI 画像取得後の塊茎から水溶性代謝物(糖, アミノ酸, 有機酸などの主要一次代謝物)を抽出し, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを測定し, 主成分分析や PLS 回帰分析などの多変量解析による代謝プロファイリングを行った。代謝物の同定は, データベースとの照合および2次元 NMR 法により行った。

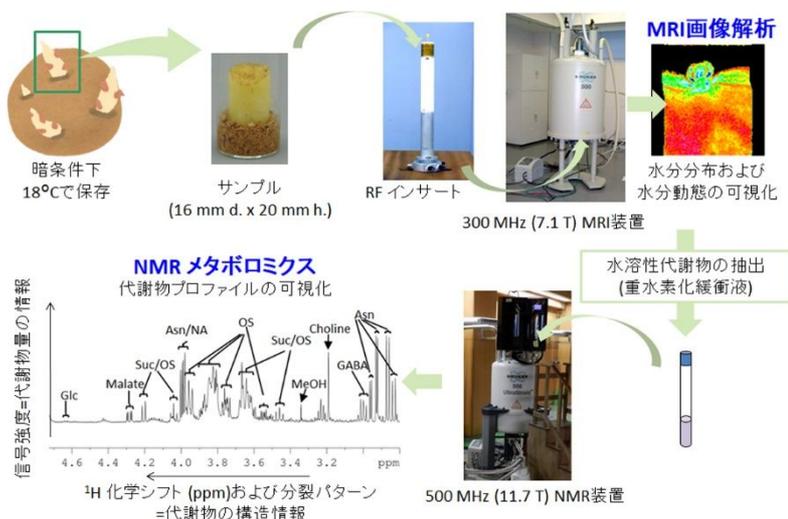


図1. 研究方法の概要

4. 研究成果

塊茎中の組織の同定にはプロトン密度強調画像を用いた(図2)。皮層や維管束環および髓などの組織構造が明瞭に観測され, T_2 分布画像の変化から, 萌芽が進むにつれて, 組織特異的に水の運動性が変化することが示唆された。また, NMR メタボロミクスでは, 糖類, アミノ酸, 有機酸を含む 30 種類以上の代謝物が同定され(表2), 萌芽が進むにつれて主要一次代謝物の含量の増加が見られた(図3)。さらに, 貯蔵中の T_2 緩和時間の変化や代謝変化は品種ごとに異なる特徴を示した。以上の結果について, 詳細は後日公開予定である。

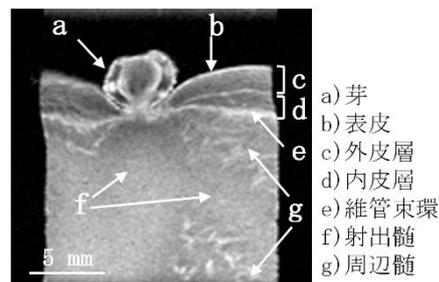


図2. ジャガイモ塊茎の代表的なプロトン密度強調画像

表2. 本課題で同定された代謝物

4-Aminobutyrate	Malate
Alanine	Methanol
Arginine	O-Phosphocholine
Asparagine	Oligosaccharide
Aspartate	Phenylalanine
Choline	Proline
Citrate	Pyroglutamate
Formate	Quinate
Fructose	Succinate
Fumarate	Sucrose
Glucose	Threonine
Glutamate	Trigonelline
Glutamine	Tryptophan
Histidine	Tyrosine
Isoleucine	Valine
Leucine	myo-Inositol

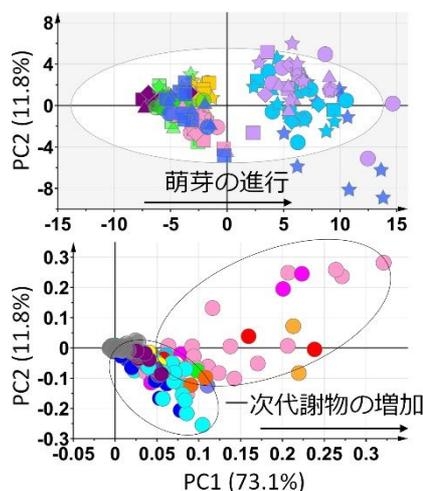


図3. $^1\text{H-NMR}$ スペクトルによるジャガイモ塊茎の主成分分析。

<引用文献>

- Fedec P, Oraikul B, Hadziyev D (1977) Can. J. Food Sci. Tech. J., 10: 295-306.
- Fukuda T, Takamatsu K, Bamba T, Fukusaki E (2019) J. Biosci. Bioeng., 128: 249-254.
- Tsuchiya T, Matsuda T, Chonan N (1993) Japanese J. Crop Sci., 62: 172-182.
- Umamoto N, Nakayasu M, Ohyama K, Yotsu-Yamashita M, Mizutani M, Seki H, Saito K, Muranaka T (2016) .Plant Physiol., 171: 2458-2467.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 0件）

1. 著者名 渡邊高志、関山恭代	4. 巻 68
2. 論文標題 磁気共鳴画像法	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本食品科学工学会誌	6. 最初と最後の頁 225
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 関山 恭代、池田 成志、浅野 賢治、岡崎 和之	4. 巻 91
2. 論文標題 NMRによる農業メタボロミクスの活用と展望 農業現場と分析現場のスムーズな連携に向けて	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本土壌肥科学雑誌	6. 最初と最後の頁 272～279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20710/dojo.91.4_272	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 関山恭代
2. 発表標題 農業・食品研究におけるNMRの活用
3. 学会等名 第25回NMRマイクロイメージング研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関山恭代
2. 発表標題 農業・食品産業・獣医畜産業における核磁気共鳴(NMR)法の活用
3. 学会等名 令和3年度家畜衛生研修会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関山恭代, 浅野賢治, 蔦 瑞樹
2. 発表標題 MRI画像解析とNMRメタボロミクスによるジャガイモ塊茎の解析 - 萌芽にともなう水と代謝の挙動について
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 関山恭代、根本直（監修 福崎英一郎）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 326
3. 書名 食品分野におけるメタボリックプロファイリング～成分、産地、品質評価・向上～	

1. 著者名 山口秀幸、関山恭代、菊地 淳（執筆者59名）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社技術情報協会	5. 総ページ数 676
3. 書名 NMRによる有機材料分析とその試料前処理、データ解釈	

1. 著者名 山口秀幸、関山恭代（監修 澤田 嗣郎）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 株式会社エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 1072
3. 書名 先端の分析法新訂第2版	

〔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	蔦 瑞樹 (Tsuta Mizuki) (80425553)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・上級研究員 (82111)	
研究分担者	浅野 賢治 (Aasano Kenji) (80547034)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター・主任研究員 (82111)	

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