

ダツタンソバにおけるルチン分解酵素に関する研究

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 作物生理学 鈴木 智

1. はじめに

ダツタンソバ (*Fagopyrum tataricum*) はほとんどの器官にルチンを豊富に含み、特に、種子ではフツウソバ (*Fagopyrum esculentum*) に対しおよそ30~150倍ものルチンを含む。フラボノイド配糖体であるルチンは、人体に対しては毛細血管の補強や高血圧予防、抗酸化作用などに効果があるとされるため、ダツタンソバは機能性食品として注目されている。しかし、ダツタンソバの製麺工程で種子に含まれるルチンとルチン分解酵素(以降、ルチンシデースと称す)が作用することにより、苦みの原因となるケルセチンを生じ、麺の食味が悪くなる。当研究室では、これまでに、ダツタンソバのゲノムには相同性が非常に高い2つのルチンシデース遺伝子 (*RUT1*, *RUT2*) があることを見出した。本研究では、苦みの無いダツタンソバの作出のために、ルチンシデースの生理的役割の解明を目指した。

2. 方法

ダツタンソバ品種「北海 T8 号」を材料として供試した。植物体は人工気象庫内で、22°C 16時間日長の条件下で、ポット栽培した。植物体の茎頂からゲノム DNA を抽出し、インバース PCR 法により *RUT2* の未知領域を増幅し、*RUT2* のゲノム配列を解析した。次に、*RUT1*-GFP, *RUT2*-GFP の発現コンストラクトを作製し、これらをタマネギ貯蔵葉の表皮細胞及びダツタンソバ葉の表皮細胞にパーティクルガンにより導入し、*RUT1*-GFP, *RUT2*-GFP の細胞内局在性を観察した。*RUT1* 及び *RUT2* の発現様式を調べるために、各器官(子葉, 上位葉, 下胚軸, 根, 花, 実)を生育ステージ別に採取し、リアルタイム qPCR を行った。また、開花後10日目の未熟種子のパラフィン切片を作製し、組織内での *RUT* 遺伝子の発現部位を *in situ* ハイブリダイゼーションにより観察した。

3. 結果と考察

RUT2 のゲノム配列から、コード領域を類推した。予想される *RUT1* と *RUT2* のアミノ酸配列は91%の相同性を示した。*RUT1*-GFP, *RUT2*-GFP はタマネギ貯蔵葉の表皮細胞において、細胞周縁の細胞質に局在した。また、ダツタンソバ葉の表皮細胞においても、細胞の周縁に局在する様子が観察された。*RUT1*, *RUT2* の発現解析において、*RUT1* は開花後6日目から14日目の未熟種子において強い発現を示したが、他の器官では殆ど発現を示さなかった。*RUT2* は開花した花において強い発現を示し、本葉においても発現を示した。また、開花後10日目の未熟種子を用いた *in situ* ハイブリダイゼーションの結果、特に糊粉層で濃い発色を示し、子葉においても発色が観察された。開花後10日目の未熟種子のリアルタイム qPCR 法の結果では、*RUT1* は強い発現を示したのに対し、*RUT2* の発現は極めて弱かったことから、糊粉層及び子葉での *in situ* ハイブリダイゼーションにおける発色は *RUT1* に由来するものであると考えられた。

4. まとめ

RUT1 及び *RUT2* は相同性が非常に高く、細胞内で類似した局在性を示した一方で、*RUT1* 及び *RUT2* はそれぞれ異なる器官での発現を示した。特に、*RUT1* は糊粉層、*RUT2* は開花した花で強い発現を示した。ルチンシデースは種子内の糊粉層や子葉、植物体の本葉や花に蓄積し、傷害を受けた時にルチンを分解し抗菌作用をもつケルセチンを生じることで、病原菌の感染や感染部位の拡大を防ぐ役割を担っていることが考えられた。