

ダツタンソバにおけるルチノシデースの生理学的研究

ならびに品種識別法の開発

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 作物生理学 岡内 丈

1. はじめに

ダツタンソバ(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)の種子には、高血圧予防や抗酸化作用などの効果があるとされるルチンが、フツウソバ(*Fagopyrum esculentum* Moench.)に対しおよそ 30~150 倍含まれている。しかし、製麺工程において、種子中のルチンにルチノシデースが作用することで苦みの原因となるケルセチンが生じ、麺の食味を悪化させる。近年、従来品種と比べてルチノシデース活性が著しく低下した新品種「満天きらり」が育種され、栽培面積が増加している。ルチノシデース遺伝子 (*RUT*) には、種子で特異的に発現する *RUT1*、花で特異的に発現する *RUT2* が存在し、「満天きらり」では *RUT1* に一塩基置換が存在している。従来品種と「満天きらり」の間で種子発達過程の *RUT1* 転写量に差はないが、ルチノシデース活性には差が見受けられるなど、ルチノシデースに関して不明な点があり、本研究ではこれらの解明を目指した。

2. 方法

実験材料として「北海 T8 号」及び「満天きらり」を供試した。種子及び花から粗タンパク質を抽出し、Native-PAGE による活性染色、SDS-PAGE によるウエスタンブロッティングを行った。また、「北海 T8 号」型 *RUT1* (*H8RUT1*)、「満天きらり」型 *RUT1* (*MKRUT1*)、*RUT2* を導入した酵母から粗タンパク質を抽出し、UV 励起によるルチノシデース活性の検出、SDS-PAGE によるウエスタンブロッティングを行った。

3. 結果と考察

ダツタンソバ両品種の花の分画においてルチノシデース活性が検出された。また、ウエスタンブロッティングでは、種子でのバンド (60 kDa) と異なる位置 (66 kDa) にバンドが検出された。さらに、*RUT2* 導入酵母においてルチノシデース活性が検出された。これらの結果とルチノシデース遺伝子の発現様式から、花に存在するルチノシデースは *RUT2* である事が示唆された。

供試する「満天きらり」種子の粗タンパク質を、「北海 T8 号」種子の 50 倍量で活性染色を行うことでルチノシデース活性が検出された。ウエスタンブロッティングでは、両品種の種子でルチノシデースが検出され、「満天きらり」では「北海 T8 号」の 0.1 ~1% 程度のルチノシデース量を示した。*MKRUT1* 導入酵母では、ルチノシデース活性はほとんど示されず、ウエスタンブロッティングではバンドが検出されなかった。「満天きらり」種子と *MKRUT1* 導入酵母においてルチノシデース活性がほとんど示されないのは、種子内や酵母内でのルチノシデース量が少ないためであることが示唆された。「満天きらり」における *RUT1* 転写量が従来品種と比べて同程度であることから、「満天きらり」では、*RUT1* の一塩基置換によるアミノ酸変異によって翻訳過程あるいは翻訳後で *RUT1* の安定性が低下し、ルチノシデースの存在量が少なくなっていると考えられる。