

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 ブドウにおける二次代謝産物蓄積機構解明に向けた
PDR型ABCトランスポーターの解析およびマルチオミクス

氏名 鈴木 真実

論文内容の要旨

ブドウ (*Vitis vinifera* L.) は世界中で栽培されている重要な作物の一つである。ブドウの果皮は、アントシアニン、カテキン、レスベラトロールなど多種多様な二次代謝産物を豊富に含んでいる。これらの二次代謝産物は、果実やワインの品質を決定する重要な要素であるため、その蓄積機構を理解することは、高品質なブドウの育種や栽培に重要である。ブドウは2007年にゲノムが解読されたのち、2012年には情報量が増加しアセンブル方法が改善された12X version 1が発表され、ゲノム情報が整備された。一方で、植物分野においても、生体内に存在するタンパク質や代謝産物を網羅的に研究する、オミクスの発展が目覚ましい。オミクスは、モデル植物では当たり前の技術となりつつあるが、園芸作物ではまだ始まったばかりである。本研究では、ブドウの果皮に蓄積する二次代謝産物の蓄積機構の解明のため、ゲノム情報やオミクスを利用した解析を実施した。

まず、細胞内で二次代謝産物の輸送に働くことが知られているABCトランスポーターに着目した。ブドウのゲノム情報をもとに、主要なサブファミリーであるフルサイズABCG (PDR) サブファミリー32種を見出した。その中でもVvABCG44にターゲットをしぼり、VvABCG44の全長cDNAのクローニングおよび遺伝子の発現解析を行った。その結果、果皮に紫外線を照射するとレスベラトロールの蓄積やレスベラトロール合成の鍵酵素であるSTSの発現とともにVvABCG44の発現が誘導されたことから、VvABCG44がレスベラトロールの蓄積に関与することが示唆された。

次に、果皮に紫外線を照射したときの代謝変化に着目し、ブドウの全遺伝子をカバーしたマイクロアレイを使用したトランスクリプトーム解析と、高性能のLC-QTOF-MSを使用したメタボローム解析の両方を組み合わせた、マルチオミクスを実施した。トランスクリプトーム解析の結果について、Gene Ontology (GO) によるエンリッチメント解析を行ったところ、レスベラトロール合成の鍵酵素である

stilbene synthase (STS) を示すターム trihydroxystilbene synthase activity が、紫外線照射区における特異的なタームとして見つかった。一方、メタボローム解析では、2,012 種の代謝産物ピークの中から、主成分分析 (PCA) により紫外線照射区に特有の代謝産物を抽出し、標品との照合により、その代謝産物がレスベラトロールであることを同定した。ブドウの KEGG システムの遺伝子情報が、ゲノム情報に基づいた遺伝子情報を反映していなかったため、この情報を更新し、さらに代謝マップを描画するためのウェブツール KaPPA-View 4 KEGG のシステムを更新した。更新した KaPPA-View 4 KEGG により、両オミクスデータを一つの代謝マップに統合したところ、ブドウ果皮に紫外線を照射すると、レスベラトロール代謝系が他の代謝系に比べて際立って誘導されることが示された。

さらに、果実成長における成熟への転換点 (ベレーゾン) 前後に蓄積する二次代謝産物に着目したメタボローム解析も実施した。ベレーゾン前後のブドウの果皮におけるメタボローム解析の結果、1,197 種の代謝産物ピークを検出した。標品との照合により同定された代謝産物の中で、果実の成熟時にはアントシアニン的一种であるマルビジン 3 グルコシドの蓄積量が最も多かった。またカテキンの蓄積量はベレーゾン前に多く、成熟時に減少した。PCA を実施したところ、成熟に関わる代謝産物 7 種を見出した。7 種のうち未同定化合物について、MS/MS フラグメントをもとにデータベースと照合したところ、果実やワインの旨味に関わるアミノ酸であると推定できた。

本研究では、ブドウの二次代謝産物をターゲットとしたマルチオミクスを実施し、その代謝変化の詳細をプロファイルすることに成功した。紫外線照射時の果皮のマルチオミクスからは、レスベラトロールの特異的な誘導を明確に示すことができた。またブドウのゲノム情報やトランスクリプトーム情報から、VvABCG44 をはじめレスベラトロール輸送体の候補を見つけることができた。本研究においては、ブドウの KEGG システムと KaPPA-View 4 KEGG のシステムの更新や、MS/MS フラグメントのデータから代謝産物を推定する作業も実施し、今後の園芸作物のオミクス研究の発展につながるツールや手法を提案することができた。