

リンゴ果実は外側ほど甘い、その謎に迫る

～スクロース生合成活性が果皮近傍の果肉組織で高いことを解明～

ポイント

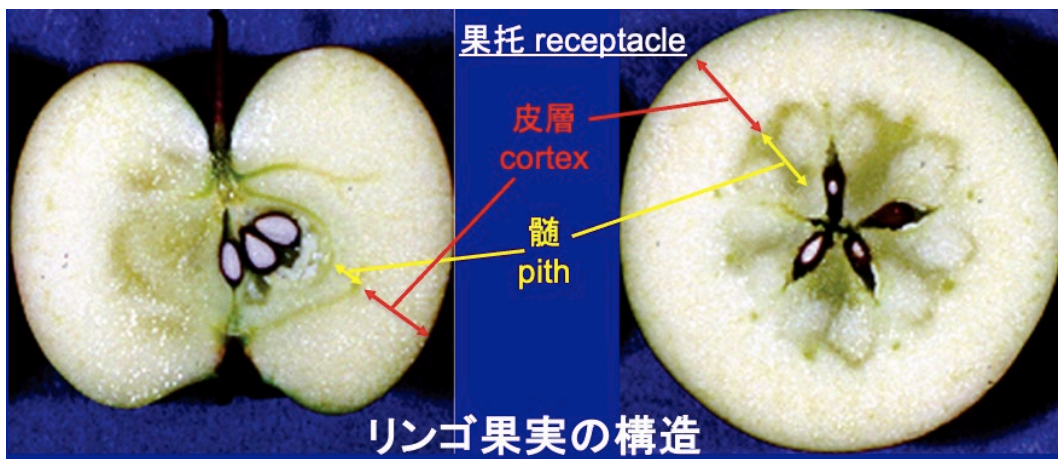
- ・リンゴ果肉組織で ^{13}C 標識ソルビトールから生合成されたスクロース分布の可視化に成功。
- ・果実の可溶性炭水化物分布に偏りが生じる原因の一端を解明。
- ・果実の発育及び成熟機構の理解が深まる。

概要

北海道大学大学院農学研究院の鈴木 卓特任教授らの研究グループは、リンゴ果実内部のスクロース生合成活性に部位間差があり、果皮部に近い果肉組織でスクロース生合成活性が高いことを、安定同位体 (^{13}C) で標識した基質の外与、及び質量分析イメージング (MALDI-TOF MSI) 技術を用いて、初めて明らかにしました。

メロンやスイカなどの果実は内部ほど甘味を強く感じます。一方、リンゴ果実の場合、果皮部に近いほど甘味が増します。これは、果芯部から果皮部に向かってスクロース濃度が徐々に高まるのが理由です。しかし、何故このような濃度勾配が生じるのか、その原因は不明でした。そこで、研究グループは、リンゴの転流形態であるソルビトールに着目し、安定同位体 (^{13}C) で標識したソルビトールを組織培養によりリンゴ果実片に取り込ませ、果肉組織中で生合成された ^{13}C 含有スクロースの果実内分布を、質量分析イメージングにより可視化しました。その結果、 ^{13}C -スクロース (^{13}C を 1 または 2 個内包するスクロース分子) 濃度が、果芯部から果皮部に向かって徐々に高まり、特に果皮近傍組織で最も高いことを確認しました。この結果は、ソルビトールからヘキソースを介したスクロース生合成活性が、果芯よりも果皮側で高いことを示しており、これがリンゴ果実内部でスクロース濃度の段階的上昇 (グラデーション) を生み出す要因になっていると考えられます。

なお、本研究成果は、2024 年 12 月 18 日 (水) 公開の Food Chemistry 誌でオンライン掲載されました。



【背景】

リンゴ果実では、果芯部から果皮部に向かって徐々にスクロース濃度が高くなります。しかし、何故このような濃度勾配が生じるのか、その原因は不明でした。そこで、研究グループは、リンゴ樹における可溶性炭水化物の転流形態であるソルビトールに着目し、スクロース合成の基質となるソルビトールを安定同位体 (^{13}C) で標識して果肉組織に外与し、果実内で生合成される ^{13}C 含有スクロース (^{13}C -ソルビトール由来) の分布を質量分析イメージング技術を用いて可視化することで、果肉組織におけるスクロース生合成活性の部位による違いを明らかにしようと考えました。

【研究手法】

リンゴの品種「こうとく」の未成熟果 (7月26日に採取) を表面殺菌し、クリーンベンチ内 (無菌条件下) で縦に二分割後、各々を縦または横 (赤道面) に切断し、その一方を 0.5M [^{13}C]ソルビトールを含む Murashige & Skoog 培地*¹ に、縦・横断面が培地に接するように置床し、25°C、1日16時間照明 (白色LED、60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) で72時間培養しました。この場合、培地に添加した ^{13}C -ソルビトール濃度 (0.5M) は、リンゴ成熟果における可溶性炭水化物の濃度 (0.48M) を参考に決定しました。切断したもう一方の果実片 (対照) 及び培養後の果実片は、直ちに-80°Cで保存しました。果実切断面に沿って厚さ100 μm の凍結組織切片をクライオミクロトームで切削し、ITOスライドガラス*²に伸展・乾燥後、マトリックス*³溶液 (2, 5-dihydroxybenzoic acid 500mgを70%メタノール10mLに溶解) 1mLをエアブラシを用いて噴霧しました。イメージング分析は、飛行時間型質量分析計 (ultrafleXtreme、Bruker Daltonics) を用いてレーザー照射間隔400 μm で行い、得られたマススペクトラムから[Sorbitol + K]⁺+1 (m/z 222.0)、[Sucrose + K]⁺+1 (m/z 382.1)、及び[Sucrose + K]⁺+2 (m/z 383.1)の分子イオンピーク強度に基づき、各物質の果実組織切片における空間分布を可視化しました。

【研究成果】

縦断面及び横断面を問わず、果肉組織切片における ^{13}C -ソルビトール (m/z 222.0) の分布は均一であり、培地に添加した ^{13}C -ソルビトールが、偏りなく果肉組織へ浸透していたことが確認されました。また、培養後の果肉組織から ^{13}C -ヘキソース (グルコース及びフルクトースを含む単糖類) も検出されましたが、組織内の濃度分布に大きな差は認められませんでした。一方、 ^{13}C を1または2個内包するスクロース (m/z 382.1 及び 383.1) の分子イオン強度は、果托の髓部から皮層部側へと徐々に高まり、特に果皮近傍組織において最も高くなりました (図1)。

この事実は、リンゴの果肉組織におけるスクロース生合成能が、果芯から果皮側に向かって高いことを示しており、これがリンゴの成熟果におけるスクロース濃度のグラデーションを生む要因になっているものと考えられます。

【今後への期待】

スクロースは、果実内部でアントシアニン生合成などの基質となるほか、果実成熟を促すシグナル物質として機能するという最近の報告もあり、果実成熟に果たすその役割に注目が集まっています。本研究結果は、スクロース生合成活性が果実内の部位間で異なることを明確に示しており、この発見は、今後果実成熟機構の解明及びその人為的制御技術の開発、並びに果実の甘味に特徴を持つリンゴ品種の育成などに役立つものと考えられます。

また、本研究は、安定同位体で標識した基質の外与と質量分析イメージング技術を組み合わせることで、植物組織における物質代謝の一面を可視化できることを実証した点でも価値があり、今後可溶

性炭水化物以外の成分についても、生合成あるいは代謝過程に関する研究に応用されることが期待されます。

論文情報

論文名	Visualization of sucrose distribution biosynthesized <i>in vitro</i> from external [^{13}C]sorbitol in apple (<i>Malus domestica</i>) fruit utilizing MALDI-TOF MSI (リンゴ果実内で外与の ^{13}C 標識ソルビトールから生合成されたスクロース分布の MALDI-TOF MSI による可視化)
著者名	山下瑠花 ¹ 、藤木卓巳 ¹ 、堀川謙太郎 ² 、実山 豊 ³ 、春日 純 ⁴ 、上野敬司 ⁵ 、鈴木 卓 ³ (1 北海道大学大学院農学院、 ² 北海道総合研究機構上川農業試験場、 ³ 北海道大学大学院農学研究院、 ⁴ 帯広畜産大学、 ⁵ 酪農学園大学)
雑誌名	Food Chemistry (食品化学の専門誌)
DOI	10.1016/j.foodchem.2024.142545
公表日	2024 年 12 月 18 日 (水) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院農学研究院 特任教授 鈴木 卓 (すずきたかし)

T E L 011-706-4937 F A X 011-706-4937 メール suz-tak@agr.hokudai.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

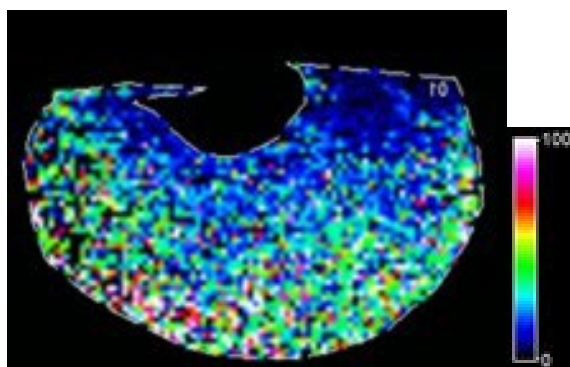


図 1. ^{13}C 標識ソルビトール添加培地で 72 時間培養したリンゴ果実縦断組織における ^{13}C を 1 個内包する (外与の ^{13}C ソルビトールから生合成された) スクロースの分布。スケールバーは、0 (黒) から 100 (白) に向けて濃度が高いことを示す。

【用語解説】

- * 1 Murashige & Skoog 培地 … 植物組織培養で用いられる最も一般的な培地。
- * 2 ITO スライドガラス … 酸化インジウムスズ (Indium tin oxide) をコーティングした導電性スライドガラスのこと。質量分析では、化合物のイオン化に際し、レーザー照射した試料表面に電場が生じる必要があるため、これが用いられる。
- * 3 マトリックス … 化合物のイオン化をアシストする試薬。