

メロン日持ち性の分子機構解析は メロン生産・消費の回復にどのように貢献できるか？

江 面 浩

筑波大学農林学系・遺伝子実験センター

Can Molecular Dissection of Melon Fruit Ripening Contribute to the Recovery of Melon Production and Consumption?

Hiroshi EZURA

Gene Research Center Institute of Agriculture and Forestry
University of Tsukuba

Summary

Melon production and consumption is gradually decreasing in Japan, and recovery is a major issue for melon researchers and the breeders. In this connection, extensive studies on molecules involved in melon fruit development and ripening are in progress and a variety of information on genes accounting for these processes is accumulating. In this study, the current status of studies on genes that are responsible for melon fruit development and ripening and the possible roles of these genes on these processes will be summarized, and how this information can contribute to the recovery of melon production and consumption will be discussed.

キーワード：メロン，日持ち，分子機構，追熟黄

1 はじめに

メロンの日持ち性は、生産、流通および消費のそれぞれの場面において重要な形質である。メロンの日持ち性には植物ホルモンであるエチレンが関与していることが知られており、追熟パターンにより3つに類別される。1つめは、自ら生成するエチレンにより果実の追熟が急激に進行するクレマクテリック型果実で品種 Vedrantaïs などに代表される *cantaloupensis* メロンである。もう1つは、果実の追熟期間を通じてエチレン生成が少なく、追熟がゆっくりと進行するノンクレマクテリック型果実で品種 Honey Dew などに代表される *inodorus* メロンである。これら2つのグループを交配して得られたF₁系統は、クレマクテリック型の追熟特性を示す。さらにその自殖後代は、クレマクテリック型とノンクレマクテリック型の系統が単純な分離比を示し、果実の追熟特性が比較的少ない遺伝子座により制御されていることや *inodorus* 型の日持ち性はエチレン生合成系に欠陥があることが示唆されている¹⁾。最後は、アールスフェボリッ

トに代表されるように、日持ち性に関して中間型の追熟特性を示す *reticulatus* メロンである。追熟に必要なエチレンガスの発生は見られるが、*cantaloupensis* 型に比べて追熟の進行が遅く、これらの形質はエチレン感受性の低下によることが示唆されている（江面，私信）。現在、これらの日持ち特性の異なる系統が組み合わされて、様々な程度の日持ち性を示す品種が育成されている。一方、これらの日持ち性についての分子生物学的解析が行われ、メロン果実追熟に関する分子機構が明らかになりつつある。

メロンは、国内の経済成長や国民の消費嗜好の変化に支えられて生産・消費を順調に伸ばしてきた。しかし、1990年以降、経済状況の悪化や果実類の消費形態の変化により生産・消費とも減少傾向にある。現在、これらの状況を打破しようと新規需要を拡大するような画期的な新品种の開発、用途拡大など様々な努力が払われている。

本稿では、メロンの日持ち性の分子機構に関する最近に至るまでの研究成果を概説し、それらの結果得られた

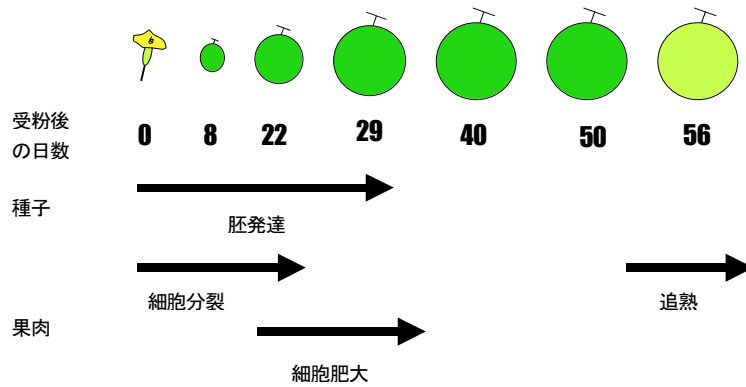


図1 メロンの果実発達過程

情報がメロンの生産・消費の回復を促すような品種の開発や技術の開発に役立つかどうかについて議論する。

2 メロンの日持ち性と追熟に関する遺伝子の研究

メロンの果実発達過程を図1に示した。受粉後、果肉組織で細胞分裂が活発に行われ、引き続いて細胞肥大が起こり、果実の最終的な大きさが決定される。その後、果肉内部では、エチレンの作用により成熟が進行する。一方、受粉後から胚発生が始まり、果実肥大が終了するとともに胚の発達が完了し、成熟期に向かって乾燥耐性を獲得し、種子が完成する。メロンでは、主にトマトの例を参考に果実発達に関連した遺伝子が単離・解析されている(表1)。現在までに26種類の遺伝子の機能が明らかになっている。それらの中には、追熟に関連した遺伝子が多く、エチレン生合成遺伝子、エチレン感受性調節遺伝子、果実の軟化、追熟に伴う香りの生産などに関連した遺伝子が含まれる。以下にそれぞれの遺伝子について紹介する。

2.1 エチレン生合成遺伝子

エチレン生合成と情報伝達経路を図2に示した。メチオニンを材料にYang回路によりS-アデノシルメチオニン(SAM)が合成される。続いて、SAMは、ACC合成酵素(ACS)の働きにより1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)に変換される。メロンでは、現在までに3種類のACS遺伝子が単離され、*Cm-ACS1*、*Cm-ACS2*、*Cm-ACS3*と命名されている。さらにACCは、ACC酸化酵素(ACO)の働きによりエチレンに変換される。現在までに3種類のACO遺伝子が単離され、*Cm-ACO1*、*Cm-ACO2*、*Cm-ACO3*と命名されている。それぞれの遺伝子は、植物体において組織特異的、発達時期特異的な発現制御を受けている。これらの中で、*Cm-ACS1*と*Cm-ACO1*が果実成熟期に強く発現しており、この時期の急速なエチレン生合成に関与する。さらに、エチレン生合成系を負に制御する遺伝子として*Cm-E8*

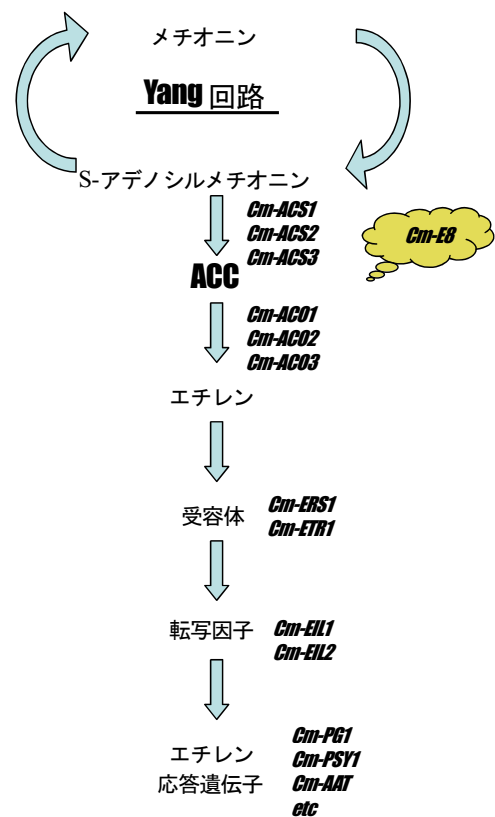


図2 メロンのエチレン生合成と情報伝達系およびその関連遺伝子

遺伝子が単離されている²⁾。この遺伝子は、ジオキシゲナーゼに相同性があるタンパク質をコードしているが、詳細な解析は今後である。

2.2 エチレン感受性制御遺伝子

植物のエチレン感受性は、エチレンの情報伝達系に関連する様々な遺伝子により制御されている。生合成されたエチレンは、エチレン受容体により受容され、その情報は情報伝達系を使って果実軟化、果実の黄化、香りの生成など追熟現象を直接的に引き起こす遺伝子に伝えら

表1 各種ネットハウス下における葉菜類の生育(小寺 2002)

遺伝子記号	Gene accession	(予想される) 機能	発現時期と役割
<i>Cm-AAT</i>	AB075227	Alcohol acetyltransferase	果実の追熟に従って発現し、香り生成に関与
<i>Cm-AAT2</i>	AF468022	''	''
<i>Cm-ACO1</i>	X95551	ACC oxidase	果実追熟期に強く発現する
<i>Cm-ACO2</i>	X95552	''	黄化した実生でわずかに発現が認められる
<i>Cm-ACO3</i>	X95553	''	花で発現が認められる
<i>Cm-ACS1</i>	AB025906, AB032935	ACC synthase	受粉後には全く発現が認められないが、果実の追熟期のエチレン発生と相関して増加する。追熟に関連
<i>Cm-ACS2</i>	D86242, AB032936	''	受粉後に強く発現する。その後果実の追熟に先立って強くは発現するが、 <i>Cm-ACS1</i> の発現に従って減少する。IAA誘導型
<i>Cm-ACS3</i>	D86241	''	<i>Cm-ACS2</i> と同様に発現パターンを示すが、発現レベルは非常に低い。IAA誘導型
<i>Cm-AGPP-msf1</i>	AF030382	ADP-glucose pyrophosphorylase small subunit	果実発達に強く発現し、成熟に従って減少する。役割は不明
<i>Cm-AGPP-mlf2</i>	AF030383, AF030384	ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit	果実発達に強く発現し、成熟に従って減少する。役割は不明
<i>Cm-AOI</i>	AF233593	Ascorbate oxidase	追熟前の果実で強く表現
<i>Cm-AO3</i>	Y10226	''	不明
<i>Cm-AO4</i>	AF233594	''	発達初期の果実と胚珠で発現
<i>Cm-E8</i>	AB071820	Regulator of ethylene synthesis	果実の追熟期に強く発現し、エチレンの生合成制御に関与
<i>Cm-EIL1</i>	AB063191	Transcription factor	エチレン感受性調節に関与
<i>Cm-EIL2</i>	AB063192	''	''
<i>Cm-ERS1</i>	AF037368, AB049128	Ethylene receptor	果実肥大時期に強く発現
<i>Cm-ETR1</i>	AF054806, AB052228	''	果実の追熟開始期に強く発現
<i>Cm-GAS1</i>	AY077642	Galactinol synthase	葉および発達中の胚で発現し、炭素の転流や胚の乾燥耐性に関与
<i>Cm-GAS2</i>	AY077641	''	葉で発現し、炭素の転流に関与
<i>Cm-HMGR</i>	AB021862	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase	果実の発達初期に強い活性を示し、受粉直後の果肉の細胞分裂に関与
<i>Cm-PG1</i>	AF062465	Polygalacturonase precursor	果実の追熟期に強く発現し、ペクチン分解を通して軟化に主に関与
<i>Cm-PG2</i>	AF062466	''	果実の追熟期に弱く発現、役割は不明
<i>Cm-PG3</i>	AF062467	''	果実の追熟期にわずかに発現し、役割は不明
<i>Cm-PSY1</i>	Z37543	Phytoene synthase	果実の追熟期に強く発現し、カロチノイド合成に関与
<i>Cm-PGIP</i>	AY288911	PG-inhibiting protein	Cantaloupe から単離されたタンパク質でPG活性を抑制する

*本表は、NCBIのデータベースと関連文献によって作成。関連文献は省略しているが、NCBIデータベースを利用してGene accession番号から関連情報の入手が可能。NCBIのURLは<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>である。

れる(図2)。これらの情報の受容と伝達に関連する遺伝子が、受容体遺伝子とそれに続く転写因子である。メロンでは、エチレン受容体遺伝子として*Cm-ETR1*と*Cm-ERS1*の2種類が単離されている^{3), 4)}。発現解析の結果、*Cm-ETR1*が果実の成熟期に強く発現しており、日持ち性制御に重要な役割を果たしていると考えられる。*Cm-ERS1*は、細胞分裂期から肥大期にかけて強く発現しており、果実の肥大に重要な役割を果たしていると考えられる。一方、これらの受容体遺伝子の下流の遺伝子として、*Cm-EIL1*と*Cm-EIL2*の2種類が単離されている。エチレンの情報伝達系の転写因子の活性化に寄与し

ていると推定されている。

2.3 果実軟化関連遺伝子

果実の軟化に関連する酵素としてポリガラクトクロナーゼ(PG)が知られている。メロンにおいても3種類のPG遺伝子(*Cm-PG1*, *Cm-PG2*, *Cm-PG3*)が単離同定されている⁵⁾。発現解析の結果、いずれの遺伝子とも果実追熟期に発現しており、果実軟化への関与が示唆されている。特に、*Cm-PG1*は追熟期に強く発現し、ペクチン分解を通して果実軟化の主要な要因であると考えられる。一方、このPG活性を阻害するタンパク質をコード

する遺伝子 (*Cm-PGIP*) も単離されており、今後の解析が期待される。

2.4 果実の香り関連遺伝子

追熟に伴って顕著に現れる果実の変化として、香りの生成がある。香りは、嗜好品としての果物の重要な形質である。メロン果実からの香り合成に関与する遺伝子として2種類の遺伝子が単離されている。1つは Alcohol acetyltransferase 遺伝子 (*Cm-AAT*, *Cm-AAT2*)⁶⁾、1つは Phytoene synthase 遺伝子 (*Cm-PSYI*)⁷⁾ である。*Cm-AAT* はメロンの香り成分である揮発性のエステル合成に関与し、*Cm-PSY* はゲラニルゲラニルジフォスフェイト (GGPP) から phytoene への合成を触媒し、カロチノイドの合成に関与する。

3 遺伝子情報の利用法

以上のような日持ち性と追熟に関連した遺伝子の研究により得られた情報はどのように活用できるだろうか。私は2つの利用が可能ではないかと考えている。1つは日持ち性に優れた品種の開発や品種識別のための DNA マーカー開発への利用である。もう一つは遺伝子組換えにより日持ち性や香りを制御した品種の開発への利用である。

3.1 DNA マーカーの開発

エチレン生合成遺伝子の研究から日持ち性の異なるメロン品種においてエチレン生合成遺伝子の発現に大きな違いが見られることが報告されている⁸⁾。日持ち性の異なるメロン7品種について *Cm-ACO1* の発現量の比較を行ったところ、日持ち性の長短と *Cm-ACO1* の発現量の間に有為な相関が認められた。これらの発現制御の違いを引き起こす分子機構が解明できれば、日持ち性に直接連鎖した DNA マーカーの開発が可能であろう。しかし、ここに示したような日持ち性関連遺伝子の発現制御について、詳細な品種比較を行った研究は非常に稀である。DNA マーカー開発には多様な品種系統からの情報が必要であり、今後、これらの遺伝子の発現制御について、日持ち性の異なる多様な品種系統で解析を行い、情報を集積させて行く必要がある。その情報の蓄積に従って、日持ち性系統の識別の有効な DNA マーカーの開発が可能になるだろう。

3.2 遺伝子組換え

遺伝子組換えによりエチレンの生合成を抑制し、果実の日持ち性を大幅に向上させた組換えメロンが1996年にフランスで開発されている⁹⁾。その研究では、ACC 酸化酵素遺伝子 (*Cm-ACO1*) の発現をそのアンチセンス遺伝子を導入することで抑制し、果実からのエチレン発生を大幅に抑制することができた。その形質転換メロン

は、果実の日持ち性が優れ、収穫後に室温放置しても追熟がゆっくりと進行し、長期間の流通が可能であった。加えて、この組換えメロンは、外生のエチレングスの暴露により必要に応じて追熟をコントロールすることも可能であった。また、筆者らも、メロンの ACC 合成酵素遺伝子 (*Cm-ACO1*) のアンチセンス遺伝子を導入することで、組換えメロンからのエチレン生合成量を抑制し、日持ち性の向上した組換え体を作成している¹⁰⁾。一方、エチレン受容体遺伝子を用いてペチュニアやカーネーションの花持ち性やトマト果実の日持ち性が向上出来ることが報告されている^{11), 12)}。メロンにおいてもエチレン受容体遺伝子が明らかにされているので、同様の方法で日持ち性の改良が可能であろう。エチレン生合成遺伝子および受容体遺伝子を使って日持ち性の向上した組換えメロンを作成する具体的な手法については別稿を参考にしていただきたい¹³⁾。以上より、遺伝子組換えを用いてメロンの日持ち性を向上する基本技術は確立しているといえる。しかし、エチレン作用は多岐に渡っており、これまで述べてきた日持ち性のみならず、発芽、花芽の形成、茎や根の伸長、病原菌に対する抵抗性にも関与している。そのため、エチレン生成や感受性を恒常的に抑制してしまった場合に、日持ち性以外にこれらの形質に対して影響がでることも懸念され、組換えメロンを一般栽培して商業的に利用するには、果実の果肉で特異的に導入遺伝子を発現制御する技術が今後必要である。実際に、エチレン受容体遺伝子を導入し、構成的に遺伝子発現させた組換えペチュニアについて調査したところ、花持ち性は十分に向上していたものの、それ以外の形質にも影響が出ており、商業作物としては不十分で、花卉に特異的に遺伝子発現する必要があると報告されている¹⁴⁾。

4 おわりに

メロンの日持ち性の分子機構の解析で得られた情報に基づいて、日持ち性に直接連鎖した DNA マーカーの開発や日持ち性を向上させた組換えメロンの開発が可能であることを述べて来た。何れの技術とも今後益々研究が進展し、より実用的な技術として発展して行くものと予想される。特に、遺伝子組換え技術については、今後、社会的な認知が進めば、徐々に利用されるようになるだろう。

最後に、本稿の目的である“日持ち性の分子機構解析がメロンの生産・消費の回復に貢献できるか”という問いに対して私なりに答えてみたい。日本国内の生産・消費の回復ということを対象に考えれば、現時点の答えは“No”と考える。国内の人口増加が頭打ちになり、さらには高齢者人口の割合が増加している日本社会で、国内的に食料の消費量は減ることはあっても増えることは期待できない。そのような中でメロンの消費量だけを伸ばすことは、消費者にとって魅力的な形質が付与されな

い限り極めて困難であろう。鮮度保持技術が発達し、迅速な輸送システムの確立している日本では、“日持ち性”が良いという形質は、消費者にとってそのような魅力的な形質ではないといえる。メロンの生産・消費を回復するには、ダイエット効果があるとか、健康増進効果があるとか、従来の品種ではカーパー出来なかった形質を備えている必要があるだろう。一方、海外に目を向けると、鮮度保持技術や輸送システムが確立していない地域は多数有り、日持ち性の向上した品種が育成されれば、生産・消費の増大は十分に期待される。

摘要

日本国内のメロン生産と消費は1990年代以降徐々に減少しており、これを回復させることがメロンの研究開発に携わ技術者の重要なテーマである。一方、近年の分子生物学の発達により、メロン果実の発達、特に追熟過程に係る遺伝子の研究が活発に行われている。その結果、得られた情報に基づいて日持ち性に連鎖したDNAマーカーや日持ち性を向上させた組換えメロンの開発が技術的に可能になっている。本稿では、これらについて最近の知見を紹介し、さらにそれらの知見を活用することによって国内のメロンの生産・消費が回復できるかについて考察した。その結果、国内の人口数やその構成、食料の消費傾向を考えるとどのような技術を駆使して日持ち性を改良しても、もしくは鮮度保持技術を開発しても、それをもって国内のメロンの生産・消費の回復をはかることは困難であると考察した。メロンの生産・消費の回復には、日持ち性に加えて従来のメロンにはない新規の形質をもった品種の開発が急務である。

引用文献

- 1) Ezura, H., Akashi, Y., Kato, K., Kuzuya, M.. 2002. Genetic characterization of long shelf-life in Honeydew melon fruit (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud.). *Acta Horticulture*. 588: 369–372
- 2) Fujimori, A., Pariasca, A. T., Iida, M., Uchiyama, S., Ozawa, T., Hirabayashi, T., Nakagawa, H., Sato, T.. 2002. Cloning and characterization of a melon *E8*-like gene. *Acta Horticulture*. 588: 363–367
- 3) Sato-Nara, K., Yuhashi, K., Higashi, K., Hosoya, K., Kubota, M., Ezura, H.. 1999. Stage- and tissue-specific expression of ethylene receptor homolog genes during fruit development in muskmelon. *Plant Physiology*. 120: 321–329
- 4) Takahashi, H., Kobayashi, T., Sato-Nara, K., Ezura, H.. 2002. Detection of ethylene receptor protein Cm-ERS 1 during fruit development in melon (*Cucumis melo* L.). *Journal of Experimental Botany*. 53: 415–422
- 5) Hadfield, K. A., Rose, J. K., Yaver, D. S., Berka, R. M., Bennett, A. B.. 1998. Polygalacturonase gene expression in ripe melon fruit supports a role for polygalacturonase in ripening-associated pectin disassembly. *Plant Physiology*. 117: 363–73
- 6) Yahyaoui, F. E., Wongs-Aree, C., Latche, A., Hackett, R., Grierson, D., Pech, J. C.. 2002. Molecular and biochemical characteristics of a gene encoding an alcohol acyl-transferase involved in the generation of aroma volatile esters during melon ripening. *European Journal of Biochemistry*. 269: 2359–66
- 7) Karvouni, Z., John, I., Taylor, J. E., Watson, C. F., Turner, A. J., Grierson, D.. 1995. Isolation and characterization of a melon cDNA clone encoding phytoene synthase. *Plant Molecular Biology*. 27: 1153–1162
- 8) Aggelis, A., John, I., Grierson, D.. 1997. Analysis of physiological and molecular changes in melon (*Cucumis melo* L) varieties with different rates of ripening. *Journal of Experimental Botany*. 48: 769–778
- 9) Ayub, R., Guis, M., Ben Amor, M., Gillot, L., Roustan, J. P., Latche, A., Bouzayen, M., Pech, J. C.. 1996. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits. *Nature Biotechnology*. 14: 862–866
- 10) Ezura, H.. 2001. Genetic engineering of melon (*Cucumis melo* L.). *Plant Biotechnology*. 18: 1–6
- 11) Wilkinson, J. Q., Lanahan, M. B., Clark, D. G., Bleecker, A. B., Chang, C., Meyrowitz, E. M., Klee, H. J.. 1997. A dominant mutant receptor from Arabidopsis confers ethylene insensitivity in heterologous plants. *Nature Biotechnology*. 15: 444–447
- 12) Bovy, A. G., Angenent, G. C., Dons, H. J. M., van Altvorst, A. C.. 1999. Heterologous expression of the *Arabidopsis etr 1-1* allele inhibits the senescence of carnation flowers. *Molecular Breeding*. 5: 301–308
- 13) 江面浩. 1999. 遺伝子組み換えを利用したメロン果実の日持ち性制御. *植物の化学調節* 34: 75–84
- 14) Gubrium, E. K., Clevenger, D. J., Clark, D. G., Barrett, J. E., Nell, T. A.. 2000. Reproduction and horticultural performance of transgenic ethylene-insensitive petunias. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 125: 277–281