

【2022年日本ブドウ・ワイン学会 論文賞 受賞講演要旨】

‘甲州’ブドウの特性解明に関する研究

鈴木俊二・榎 真一

山梨大学 ワイン科学研究センター

2022 ASEV JAPAN JOURNAL AUTHOR'S AWARD Studies on the Characteristics of ‘Koshu’ grapes

Shunji SUZUKI and Shinichi ENOKI

The Institute of Enology and Viticulture, University of Yamanashi, Yamanashi, Japan

Koshu (*Vitis* sp. cv.) is an indigenous grape cultivar for white wine making, which has been grown for over a thousand years in Yamanashi, Japan. A berry of Koshu has certain characteristics that are exemplified by large bunch and berry sizes, pink skin color, and high total phenolic content, which differ from those of European wine grapes. At present, molecular studies of Koshu grape are still lacking. Here, we present the molecular characteristics of Koshu grape using omics data analyses. We hope that our findings will inspire more research and interest in this unique Japanese grape cultivar.

甲州について

甲州 (*Vitis* sp. cv.) の発祥については諸説展開されているが、いずれの説も甲州が日本の地に根付き1000年以上の歴史を持つことを示す。甲州ワイン醸造は、1874年に甲府市内で初めて行われ、現在まで脈々と山梨県内で受け継がれている。このような歴史を持つ甲州は、山梨県のワイン産業を支える醸造用ブドウとして重要な地位を占めている。甲州は、日本固有品種として初めて2010年にブドウ・ワイン国際機構 (OIV: Organisation Internationale de la Vigne et Vin) に国際品種登録された。これにより、甲州ワインのラベルに原料ブドウ品種名として「Koshu」を記載し、甲州ワインをヨーロッパへ輸出することが可能となった。現在では、甲州ワインの品質の高さが認められ、甲州ワインは国外からも注目を集めている。

甲州の形態的特性として、樹勢が強く、べと病に比較的弱い。また、果房は大きくなり、一般的

欧州種と比較すると果粒重量は2倍以上となり、果皮は薄い紫色を呈する。甲州の果実品質特性としては、果汁糖度が低く、ポリフェノール含有量が多い、ことなどが挙げられる。我々は、経験的に知られているこれら甲州の特性を「科学の言葉」で説明するために、甲州オミクス解析を実施している。オミクス解析とは、生物の構造や細胞機能を生体分子の定性・定量化により解析する研究手法である。オミクス解析で扱う主な分子は、遺伝子、転写産物、タンパク質、脂質、糖などの代謝産物であり、それらを網羅的に解析することで究極的には生物の根源を探究することが可能となる。本稿では、我々が実施した甲州オミクス解析の結果を説明し、甲州に関してどの程度分子レベルでの特性解析が進んでいるか紹介したい。

甲州トランスクリプトミクス (受賞対象論文1)

トランスクリプトミクスは、細胞内に存在するす

すべての転写産物を網羅的に解析することで、特定の状況下において細胞あるいは組織がどのように応答しているかを理解する研究手法である。遺伝子発現の変化を調べることで、果実成熟中に何が起きているのか、品種間の相違とは何か、などを調べることができる。我々は、甲州の特性解明を目的とし、研究開始当時ブドウで唯一全ゲノム解読されたピノ・ノワールを比較対象として、トランスクリプトミクス手法のひとつであるRNAシーケンス (RNA-seq) 解析を行った。

甲州およびピノ・ノワール新梢および葉を供試材料とし、各mRNAからcDNA libraryを作製した。HiSeq 2500(イルミナ)により、2000–3000万のクリーンリードを得た。これらのうち82.23–89.11%がブドウのリファレンスゲノムにマッピングされた。発現量解析により得られた発現変動遺伝子 (Differentially expressed genes, DEGs) を両品種間で比較した結果、葉で248のDEGsが、新梢で131のDEGsが検出された (Fig. 1)。発現量が異なったDEGsをエンリッチメント解析したところ、例えば、甲州の葉ではフラボノイド合成経路およびグルタチオン代謝経路が活性化されていることが証明された。また、甲州の新梢では、植物ホルモンのひとつで植物の茎伸長を司るブラシノステロイドの合成遺伝子 *Vv90D1* の発現量がピノ・ノワールに比べ高かった¹⁾。この結果は、甲州の樹勢の強さを間接的に証明するものである。

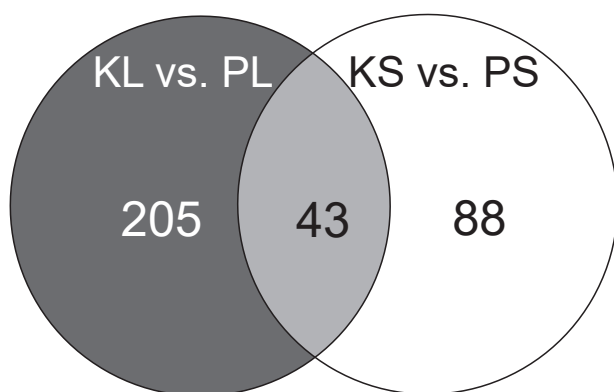


Fig. 1 The Venn diagrams of differentially expressed genes. The diagram shows DEGs in KL (Koshu leaf) vs. PL (Pinot noir leaf) and KS (Koshu shoot) vs. PI (Pinot noir shoot).

甲州リピドミクス (受賞対象論文2)

リピドミクスは、脂質や脂肪酸など生体内の脂質総体を網羅的に解析することで、生命現象を理解する研究手法である。脂質は、すべての生物の細胞膜の構成成分であり、また生体エネルギー源、ホルモン、細胞内および細胞間シグナル伝達物質として機能する。アロマ化合物およびその前駆体の中には脂質から生成されるものも存在する。例えば、甘いフルーティーな洋ナシ様アロマを呈する酢酸ヘキシルはリノール酸からリポキシゲナーゼ経路を経由し生成される²⁾。我々は、科学的指標に基づいた甲州果実品質の向上に向け、アロマ化合物の合成に深く関与する脂肪酸に着目し、解析を実施した。

実験材料として、収穫適期の甲州およびピノ・ノワール果実(果汁および果皮)を供試した。ガスクロマトグラフィータンデム質量分析 (GC-MS/MS) によるリピドーム解析を実施し、全脂肪酸を定性・定量した。結果として、ピノ・ノワール果皮で23分子種を、甲州果皮で22分子種を定量することに成功した。果皮に比べ含有量が少なかったものの、ピノ・ノワール果汁から20分子種、甲州果汁で19分子種を検出することにも成功した。両品種の脂肪酸1分子あたりの二重結合数を算出したところ、果皮および果汁とも甲州に比べピノ・ノワールで有意に二重結合数が多かった。脂肪酸中に二重結合が多い植物は、脂肪酸の融点が高くなるためより冷涼な気候での生育に適している。本結果は、甲州は比較的温暖な地域が、ピノ・ノワールは冷涼な地域が栽培適地であることと一致している。

次に、両品種の果実に多量に含有するC18脂肪酸について更なる解析を実施した。C18不飽和脂肪酸 (C18:1, C18:2, C18:3) の含有量は甲州で有意に低かった。C18:1をC18:2に変換するomega-6 fatty acid desaturase (ω 6 FAD) およびC18:2をC18:3に変換するomega-3 fatty acid desaturase (ω 3 FAD) をコードする遺伝子の発現量は、ベレゾン後2週間および収穫期において甲州で高かった。C18:3をアロマ化合物である(Z)-hex-3-enalに代謝するlipoxygenase (LOX) およびhydroperoxide lyase (HPL) をコードする遺伝子の発現量もまたベレゾン後2週間の甲州で有意に高かった。すなわち、甲州果実においては、脂肪酸不飽和化酵素によりC18不飽和脂肪酸代謝が進

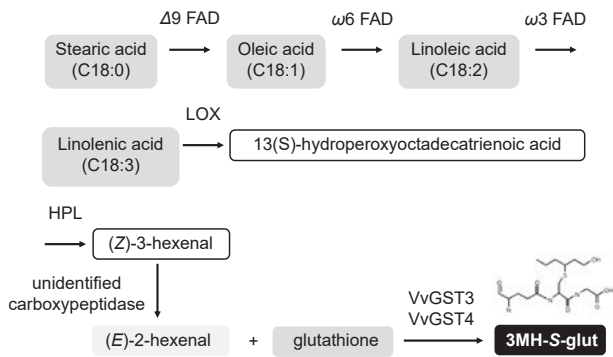


Fig. 2 Hypothetical pathway for the biosynthesis of 3-mercaptohexanol precursor in grapevine

み、更にリポキシゲナーゼ経路を経由し(Z)-hex-3-enalに代謝されることで、グレープフルーツ様アロマを呈する3-mercaptohexanol (3MH) 前駆体がより多く生成されることが明らかとなった (Fig. 2)。

甲州ゲノミクス (受賞対象論文3)

ゲノミクスは、生物がもつすべての遺伝情報「ゲノム」を解読することで、その生物がその生物たらしめている原理を解明する研究手法である。併せて、比較ゲノミクスは、異なる生物間でゲノム上のDNA配列を比較することにより、それらの進化上の関係や進化の過程を推定する研究手法であり、進化上近い生物間でも遺伝子の構造の違いから形態的、生理的相違を説明することを可能とする。甲州のルーツとして、シルクロードを経由して日本に渡来する間に欧州種と中国野生種が交雑し、その子孫がさらに欧州種と交雑して甲州が誕生したという説が有力である³⁾。我々は、甲州のゲノミクス解析および欧州種との比較ゲノム解析を実施することにより、甲州の子での特性付けを目指した。

山梨県果樹試験場内で栽培されるOIV登録甲州ブドウ樹の葉からDNAを抽出し、Genome Analyzer IIx (イルミナ) に供試した。比較ゲノム解析により、甲州の系統関係は約130種の欧州種とは全く離れた独特なものであった (Fig. 3)。また赤ワイン醸造用品種Tannatおよび甲州同様に食用や加工用にも使用される欧州種Thompson Seedlessのゲノムと甲州ゲノムを比較した場合、甲州には機能性が異なると推定される複数の遺伝子が存在することが明らかと

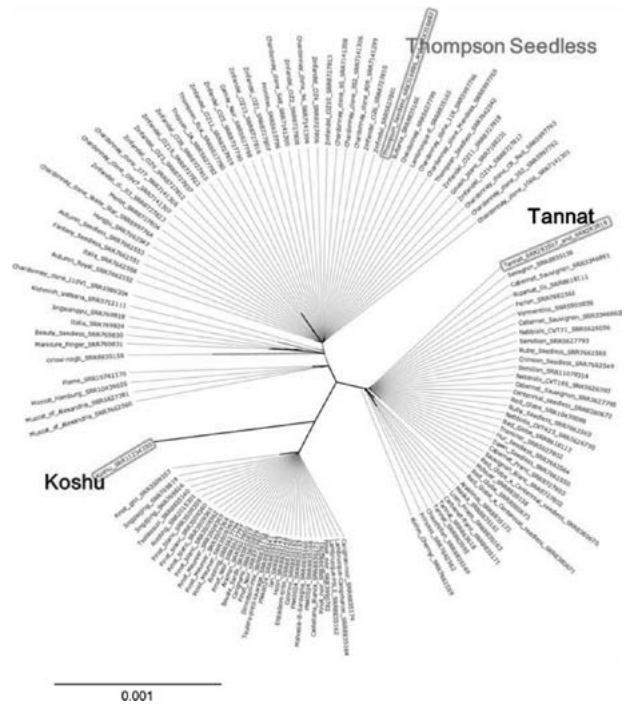


Fig. 3 Comparative genomic analysis between Koshu and European grapes

なった。例えば、ポリフェノール合成経路 (フェニルプロパノイド合成経路, フラボノイド合成経路) や3MH前駆体合成 (グルタチオン代謝経路, C18:3合成および代謝経路) に関与する遺伝子が挙げられ、これまで経験的に言われていた甲州果実の特性がゲノムレベルで科学的に裏付けられた。

最後に

本研究成果は、甲州ブドウ栽培および甲州ワイン醸造への展開に直結するものではないが、甲州とは何か? という根源的問いに答えるひとつの回答である。甲州オミクス解析は、遺伝子構造および配列、転写および代謝産物量を欧州種と比較することで、甲州の形態的および生理的特性を決定付けることができる。一方、現時点での甲州オミクス解析は、新梢および果実の生長過程で現れる表現型の一端を分子レベルで解明しただけであり、また新梢、果実といった一器官を見ているだけでブドウ樹全体を統合的には捉えていない。今後、甲州ブドウ樹全器官を対象にしたトランスクリプトミクスおよびメタボロミクス解析を実施することで、甲州の果実品質向上

および栽培技術への転換となる情報基盤を取得したい。

謝辞

論文賞の授与にあたり、大滝敦史会長をはじめ、推薦および選考に携わっていただきました諸先生方に厚く御礼申し上げます。本研究を実施するにあたり本当に多くの共同研究者に携わって頂いた。この場をお借りし感謝申し上げます。最後に、本受賞は、山梨大学ワイン科学研究センター果実遺伝子工学研究部門の卒業生、在校生および研究スタッフ諸氏の努力の賜物である。ここに改めて感謝の意を表す。

受賞対象論文

1. Enoki S., Hamaguchi Y., Suzuki S., Fujisawa H., Hattori T., Arita K., Yamaguchi C., Mikami M., Nagasaka S. and Tanaka K. 2018. Physiological characterization of leaf and internode after bud break in Japanese indigenous Koshu grape by comparative RNA sequencing analysis. *PLoS ONE* **13**: e0194807.
2. Arita K., Honma T. and Suzuki S. 2017. Comprehensive and comparative lipidome analysis of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir and Japanese indigenous *V. vinifera* L. cv. Koshu grape berries. *PLoS ONE* **12**: e0186952.
3. Tanaka K., Hamaguchi Y., Suzuki S. and Enoki S. 2020. Genomic characterization of Japanese indigenous wine grape *Vitis* sp. cv. Koshu. *Front. Plant Sci.* **11**: 532211.

引用文献

- 1 Enoki S. et al. 2023. Grape cytochrome P450 CYP90D1 regulates brassinosteroid biosynthesis and increases vegetative growth. *Plant Physiol. Biochem.* **196**: 993–1001.
- 2 Lin J. et al. 2019. The genetic basis of grape and wine aroma, *Hortic. Res.* **6**: 81.
- 3 Goto-Yamamoto N. et al. 2015. Genetic analysis of East Asian grape cultivars suggests hybridization with wild *Vitis*. *PLoS ONE* **10**: e0140841.