Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-09

栽培環境におけるイチゴメジャーアレルゲンFra a 1の生理的応答

石橋，美咲

(Degree)
博士（農学）
(Date of Degree)
2019-03-25
(Date of Publication)
2024-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第7526号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007526

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

別紙様式３（博士論文審査等内規第２条関係）

博士論文内容の要旨

氏　　名　石橋　美咲

専攻・講座　資源生命科学専攻　応用植物学講座

論文題目（外国語の場合は，その和訳を併記すること。）

栽培環境におけるイチゴメジャーアレルゲン Fra a 1 の生理的応答

指導教員　宇野　雄一

（氏名：　石橋美咲　　NO. 1 ）

イチゴ（*Fragaria × ananassa*）は、口腔アレルギー症状（Oral Allergy Syndrome: OAS）を引き起こすアレルゲンを含んでいる。メジャーアレルゲンは Fra a 1 タンパク質であり、シラカバ花粉のアレルゲン Bet v 1 のオルソログである。これらは、生物/非生物ストレスや植物ホルモンに応答して発現が変化する病害応答性タンパク質の PR-10 ファミリーに属する。そのため、イチゴアレルゲンの低減化にあたっては、Fra a 1 の生理的機能を理解した上で果実における発現を適切に制御する必要がある。*F. × ananassa* には複数の Fra a 1 アイソフォームが存在しているが、生理的な応答性が解明されていないため、植物体において重要となるターゲットの取捨選択ができない。本研究では Fra a 1 の特性を把握するために、特に果実の成熟過程におけるオーキシンと、栽培時期によって変動する環境条件の応答性を調査した。

はじめに *Fra a 1* パラログの情報を整理し、植物体におけるメジャーパラログの推定を行った。*F. × ananassa* のゲノムデータベースから新たに 15 種類の推定アミノ酸配列が見つかり、合計 39 種類の遺伝子によってコードされる 30 種類の Fra a 1 タンパク質が存在すると推定された。その情報をもとに、イチゴ器官における遺伝子およびタンパク質の発現解析を行った。RNA シーケンスに適応する Total RNA の抽出条件を検討し、器官別に方法を最適化した。それらを用いて転写量を比較したところ、*Fra a 1.01* および *Fra a 1.02* が果実で主に発現しているパラログであることが明らかになった。一方イムノブロットで検出されたタンパク質は、栄養器官・花・果実にわたる広範囲にかけて、Fra a 1.01 が他のアイソフォームより顕著に蓄積しており、特に果托で多く蓄積していた。Fra a 1.02 は葉・根・果托特異的に蓄積していた。各器官における mRNA の発現量とタンパク質の蓄積量は相関せず、Fra a 1 の用量反応に基づくアレルゲン性は、タンパク質の蓄積量で評価する必要があることが示唆された。さらに、組換え Fra a 1 タンパク質とヒト IgE の反応性においては、Fra a 1.01 がシラカバ陽性ヒト IgE に対して最も強く反応した。植物体におけるタンパク質の局在性と蓄積量から、最も主要なパラログがコードするタンパク質は Fra a 1.01 であり、次いで Fra a 1.02、その他の Fra a 1 であることが示唆された。

次に、収穫前後のイチゴ果実に外生オーキシンおよびオーキシン阻害剤を投与し、果実が成熟する期間の *Fra a 1* 遺伝子およびタンパク質の発現量を比較した。収穫前の緑色果実から、あらかじめ痩果を除去して合成オーキシン 1-naphthaleneacetic acid（NAA）を投与した場合、果実の着色と Fra a 1 タンパク質の蓄積が誘導された。一方、収穫前後の果実にそのままオーキシンを投与しても、Fra a 1 の発現は転写・翻訳ともに変化しなかった。また、オーキシン阻害剤は果実の成熟を遅延させ、それによって *Fra a 1* 遺伝子の発現が制御された。これらのことから、*Fra a 1* 遺伝子の発現や Fra a 1 タンパク質の蓄積に対しては、オーキシンが直接的に制御するのではなく、果実の成熟過程が間接的に影響を及ぼしていることが示唆された。特に、*Fra a 1.01* の転写発現は果実の成熟とともに減少し、*Fra a 1.02* は増加したことから、パラログごとに異なる制御を受けていることが明らかになった。

さらに、いくつかの白色系統を含む品種を用いて、*Fra a 1* 遺伝子や Fra a 1 タンパク質の発現における品種間差と季節変動性を調査した。同一環境で栽培した果実において、冬季から春季を通して Fra a 1 の品種間差は確認されなかった。果実色は Fra a 1 に基づくアレルゲン性の指標とはならず、品種間差を調査する際は同一環境の果実を用いるべきであることが示された。Fra a 1.01 タンパク質の蓄積量は春季に比べて冬季で高かったため、冬季に Fra a 1 の発現を制御している環境要因を知るために、太陽光と気温に着目した。遮光処理は Fra a 1.01 タンパク質の蓄積量に影響しなかった。日内変動性については、1 月に限り、低温状態にある夜間から早朝にかけて収穫したときに、昼間に収穫した果実と比べて Fra a 1.01 タンパク質の蓄積量が増加した。このため、Fra a 1.01 は低温等の環境条件によって制御されることが示唆された。

以上の結果から、イチゴの低アレルゲン化に向けた総合考察を行い、果実内の Fra a 1 の発現を適切に制御するための提案を次のように行った。Fra a 1 によるイチゴのアレルゲン性を評価するためには、遺伝子の発現量や果実色を指標とせず、タンパク質の蓄積量を用いるべきである。低アレルゲン性のイチゴの育種については、形質転換体の作出が有効であり、

可能な限り全てのパラログを欠損させ、厳格な環境制御による栽培管理を行う必要がある。また Fra a 1 抑制発現体の設計にあたっては、Fra a 1 の生理的機能を維持させるために果実特異的、もしくは果実の発達段階を限定できるプロモーターが効果的に利用できる。栽培条件によって Fra a 1 タンパク質の蓄積を制御する場合、PR-10 の機能を保持するために、各パラログに対応した適切な発達段階や器官で *Fra a 1* 遺伝子の発現を制御することが重要である。特に、Fra a 1.01 タンパク質の低温による誘導を避けるには、積算温度等を指標にして作型を改変することで、果実品質の維持と Fra a 1 タンパク質の蓄積抑制を両立できる可能性がある。