

特集 とうがらし・わさび

I とうがらし【品種・栽培】

トウガラシの辛味成分に関する遺伝育種

岡山大学 環境生命科学研究科 田中 義行

はじめに

トウガラシは、ナス科トウガラシ (*Capsicum*) 属の植物である。辛味品種は香辛料として、辛味の少ない品種は野菜として広く利用されている。トウガラシの顕著な特徴は果実が有する激しい辛味である。トウガラシの辛味成分はカプサイシノイドと総称されるもので、カプサイシン、ジヒドロカプサイシン、ノルジヒドロカプサイシン、ホモカプサイシン、ホモジヒドロカプサイシンなどの同族体が知られている。トウガラシ品種によって異なるが、カプサイシンとジヒドロカプサイシンは辛味成分の約70%を占めており、それにノルジヒドロカプサイシンが続いている。カプサイシノイドには、体熱産生作用や脂肪代謝促進作用など様々な生理作用があることが知られており、香辛料として利用されるだけでなく健康機能性食品としても注目されている。

トウガラシには世界に数千という多様な品種が存在しているが、辛味の有無によって辛味品種と非辛味品種に大別されている。しかし、辛味品種の中には‘ハバネロ’や‘ジョロキア’のような激辛味品種から、僅かにしか辛味を呈さない低辛味品種まで様々な辛味程度のものが存在している。また‘シシトウ’のように環境条件によって辛味を発現する品種もある。このようにトウガラシの辛味発現は遺伝的要因と環境要因が関わり複雑であり、体系的な育種は困難であった。近年の分子遺伝学的研究により、トウガラシ辛味発現機構の一端が明らかになり、辛味性に関する効率的な遺伝育種が可能になってきている。ここでは、著者らの結果も含めて、辛味成分に関する遺伝育種に関する最近までの知見を紹介する。

1. カプサイシノイド生合成とその関連遺伝子

辛味成分カプサイシノイドは、開花後20日あたりの果実の胎座または隔壁の表皮細胞で生合成される。カプサイシノイドの生合成には、フェニルアラニンからフェニルプロパノイド合成経路を介し、バニリンを経てバニリルアミンが合成される経路とバリンやロイシンなど分枝アミノ酸から脂肪酸が合成される経路の2つの経路が必要である(図1)。これら2つの経路の最終産物であるバニリルアミンと脂肪酸が脱水縮合することにより、カプサイシノイドが合成される。これまでにカプサイシノイド合成経路に関わる遺伝子がクローニングされている(Aza-Gonzalezら, 2011: 図1)。フェニルアラニンからバニリルアミンの合成に関わる遺伝子としては、*PAL* (*phenylalanine ammonia-lyase*)、*C4H* (*cinnamic acid 4-hydroxylase*)、*COMT* (*caffeic acid O-methyl transferase*)、*pAMT* (*putative aminotransferase*)などが単離され、分枝脂肪酸の合成に関わる遺伝子としては*Kas* (β -*ketoacyl ACP synthase*)、*Acl* (*acyl carrier protein*)、*Fat* (*acy-ACP thioesterase*)などが単離されている。また辛味品種と非辛味品種の遺伝子発現の比較により、辛味品種で特異的に発現するアシルトランスフェラーゼ遺伝子がクローニングされている。*Pun1* 遺伝子と名付けられたこの遺伝子は、バニリルアミンと脂肪酸の縮合というカプサイシノイド生合成の最終段階に関わっていると考えられている。このように構造遺伝子の単離は進んでいるが、これら生合成関連遺伝子の発現がどのような因子によって制御を受けているのかは不明である。昨年トウガラシの全遺伝子情報が解読された(Kimら, 2014)。今後ゲノム情報を利用した研究が進み、カプサイ

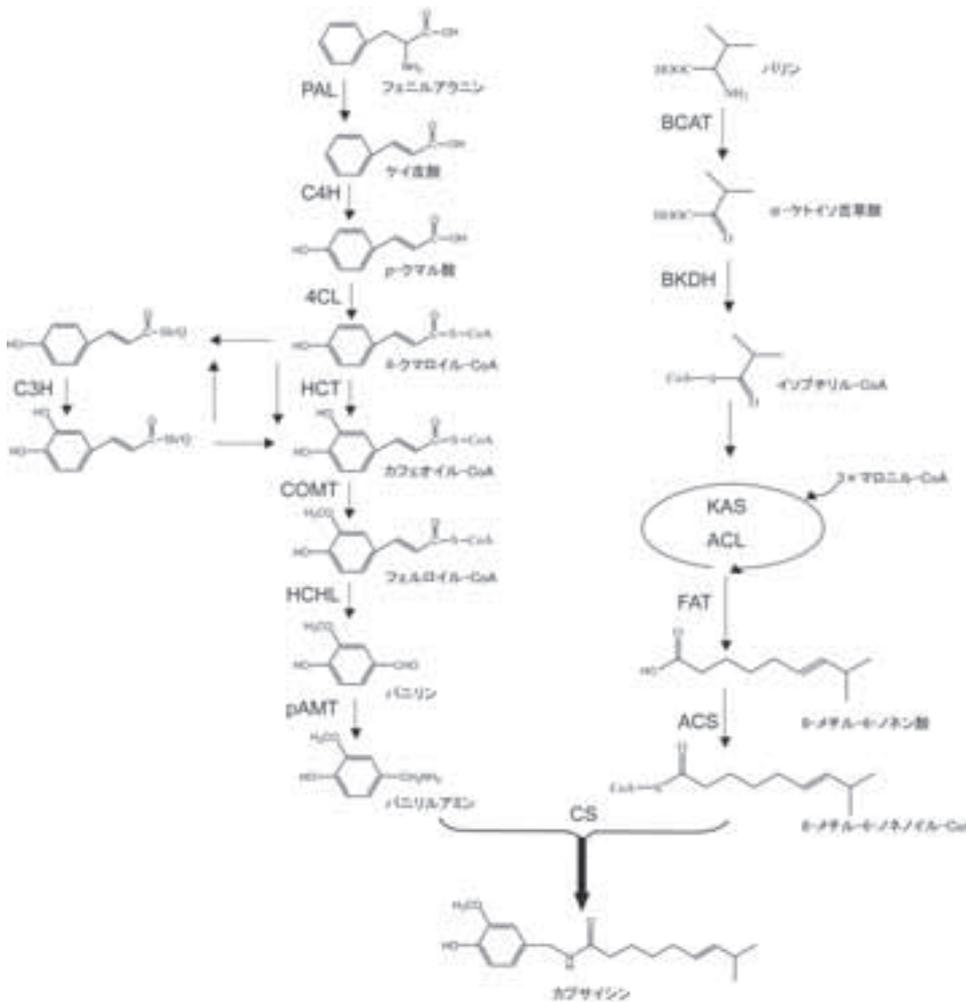


図1 辛味成分カプサイシンの生合成経路
 4CL:4-coumaroyl-CoA ligase
 ACL : acyl carrier protein
 ACS: acyl-CoA synthetase
 CS: capsaicin synthase
 BCAT: branched-chain amino acid transferase
 BKDH:3-methyl-2-oxobutanoate dehydrogenase
 C3H: coumaric acid 3-hydroxylase
 C4H: cinnamic acid 4-hydroxylase
 COMT: caffeic acid O-methyl transferase
 CS: capsaicin synthase (Pun1)
 FAT: acyl-ACP thioesterase
 HCHL: hydroxycinnamoyl-CoA hydratase/lyase
 HCT: hydroxycinnamoyl transferase
 KAS: β -ketoacyl ACP synthase
 PAL: phenylalanine ammonia-lyase
 pAMT: putative aminotransferase
 図は田中ら (2012) から引用した

種と *C. annuum* の非辛味品種の交雑後代を用いて、C 遺伝子のマッピングを行った結果、C 遺伝子座は第2染色体にマッピングされた。その後、アシルトランスフェラーゼ遺伝子 *Pun1* がC 遺伝子座に座乗することが明らかになった。劣性遺伝子 *pun1* を解析すると、プロモーター領域から第1エクソンにかけて欠損領域が発見された (Stewart ら, 2005)。劣性遺伝子 *pun1* をホモにもつと、バニルアミンと脂肪酸が縮合されずカプサイシノイドを合成することができない。この *pun1* 遺伝子の機能欠損を DNA マーカーとして用いることで、幼苗段階でも非辛味個体を効率的に判別することが可能である。機能欠損型 *pun1* はピーマンやパプリカと呼ばれる非辛味品種の多くに存在していることが分かっており、*pun1* マーカーは広く非辛味性の選抜育種に適用可能であると考えられる。

シノイド生合成に関わる転写因子などが明らかにされていくことが期待される。

2. 非辛味性の原因遺伝子 *Pun1*

古くからの遺伝学研究により、トウガラシ果実の辛味発現は、単一の優性遺伝子 C によって質的に支配されているが、その辛味発現は他の遺伝要因や環境要因で量的に修正されうると考えられている。Blum ら (2002) は、*C. frutescens* の辛味品

3. 新規カプサイノイド類似物質・カプシノイドの生合成に関する研究

3-1. ‘CH-19甘’からの低辛味カプサイシノイド類似物質・カプシノイドの発見

1979年に矢澤はタイから食用の辛味品種‘CH-19辛’ (*C. annuum*) を導入し、これを栽培している中で辛味の少ない個体を発見し、ほとんど辛味のない品種として分離・固定し、これを

‘CH-19甘’ と名付けた。矢澤ら(1989)は、‘CH-19甘’ の辛味発現の遺伝様式を調査すると同時に、果実中の成分分析も行った。‘CH-19甘’ 果実中の成分を逆相薄層クロマトグラフィーで分析するとカプサイシノイドとは Rf 値の異なるスポットがいくつか見出され、それぞれ CLS-A、CLS-B₁、CLS-B₂ と名付けられた。これらを単離・構造解析したところ、CLS-A はバニルアルコールと同定された。CLS-B₁、B₂ はそれぞれカプサイシン、ジヒドロカプサイシンと化学構造のよく似た新規物質であることが判明し、それぞれカプシエイト、ジヒドロカプシエイトと名付けられた (Kobata ら, 1998)。後にノルジヒドロカプシエイトも同定され、これら同族体の総称はカプシノイドと命名された (図2)。カプシノイドは無色のペースト状の物質であり、カプサイシノイドの1000分の1程度しか辛味を呈さないが、カプサイシノイドと同様の生理作用がある。カプシノイドの生理作用としては、エネルギー代謝促進作用、体熱産生促進作用、脂肪代謝促進作用、抗酸化作用、抗がん作用などが報告されている。生理作用がありながらも非辛味であることから、カプシノイドには多量に摂取できるという利点がある。これまでにも非辛味でカプサイシノイドと同様の生理作用をもつカプサイシノイド類似物質はいくつか報告されているが、いずれも人工合成物であり天然物質ではなかった。カプシノイドは ‘CH-19甘’ に多量に含まれる天然物質であることから、健康機能性食品への利用が期待され、カプシノイドを含む健康食品や医薬品の実用化に向けていくつかの食品関連企業と共同研究が行われ、現在カプシノイドを含む商品が開発され市販されている。

3-2. *pAMT* 遺伝子の機能欠損がカプシノイドの生合成を引き起こす

カプサイシノイドとカプシノイドの推定合成経路はバニリンから分岐していることから、筆者らはバニリンからバニルルアミンの合成を行う *pAMT* 遺伝子に注目し、*pAMT* の機能欠損がカプシノイドを合成する低辛味品種の原因であるという可能性を検証した。‘CH-19甘’ と辛味品種で、*pAMT* 遺伝子の発現量に違いは認められな

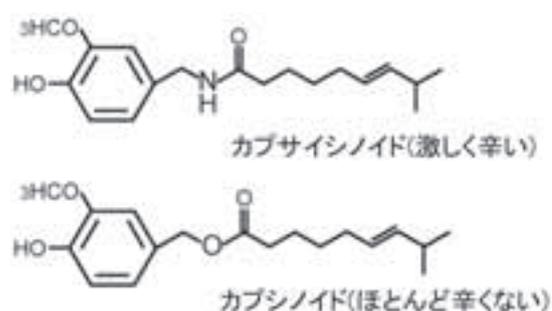


図2 辛味成分カプサイシノイドと低辛味成分カプシノイドの化学構造

図は田中ら (2012) から引用した

かったが、*pAMT* の ORF の1290番目と1291番目の塩基の間に T が一つ挿入されることで終止コドンが生じていた。その結果 ‘CH-19甘’ では C 末端側が短い不完全なタンパク質が翻訳されると考えられる。‘CH-19甘’ の変異型 *pamt* を判定する DNA マーカーを作成し、*pAMT* 遺伝子型とカプサイシノイド/カプシノイド合成の関係を調査した。変異型 *pamt* をホモでもつ個体すべてがカプシノイド含む低辛味個体になった。この結果より、変異型 *pamt* が ‘CH-19甘’ でカプシノイド合成能を決定する単一の劣性遺伝子であることが明らかになった (Lang ら, 2009)。

さらに、‘CH-19甘’ 以外にもカプシノイドを含む低辛味品種が存在しうると考え、世界のトウガラシ属植物の中からカプシノイド合成品種をスクリーニングした。その結果、新たに4系統のカプシノイド合成品種を発見した。一つは奈良県の在来品種 ‘ひも’、残りの3品種は ‘ハバネロ’ と同じ *C. chinense* に属する ‘Zavory Hot’、‘Aji Dulce strain2’、‘Belize Sweet’ であった。これらは辛味が少ない品種としか認知されていなかった品種であった。これら品種の *pAMT* を解析したところ、それぞれ ‘CH-19甘’ とは異なる固有の機能欠損型アレルをもっていることを明らかにしている (Tanaka ら, 2010a, b)。

以上のように、すべてのカプシノイドを含む低辛味品種で *pAMT* 遺伝子の機能欠損となる変異が認められたこと、および *pAMT* 遺伝子型とカプシノイド合成能が対応したことから、*pAMT* の機能欠損がカプシノイドを引き起こす原因であると考えられる。*pAMT* の機能が低下するとバニルルアミンを合成する経路が停止しバニリンがバ

ニリルアルコールへと代謝されることで、その結果カプサイシノイドを含まずにカプシノイドを高含量で含む個体となると考えられる (図3)。

3.3. DNA マーカーを用いたカプシノイドを含む生食用品種の育成

カプシノイドは水や熱に不安定であるという特性がある。またカプシノイド含量は未熟果実で高く成熟果では大きく減少する。そのため、カプシノイドを摂取するには未熟果実を生食することが望ましい。しかし、既存のカプシノイド含有品種

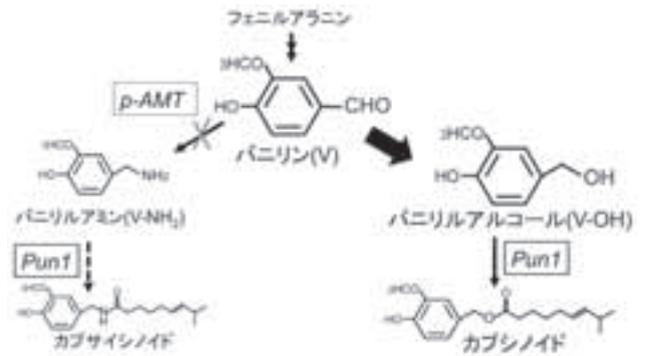


図3 pAMT 遺伝子の機能欠損がカプシノイド合成を引き起こす

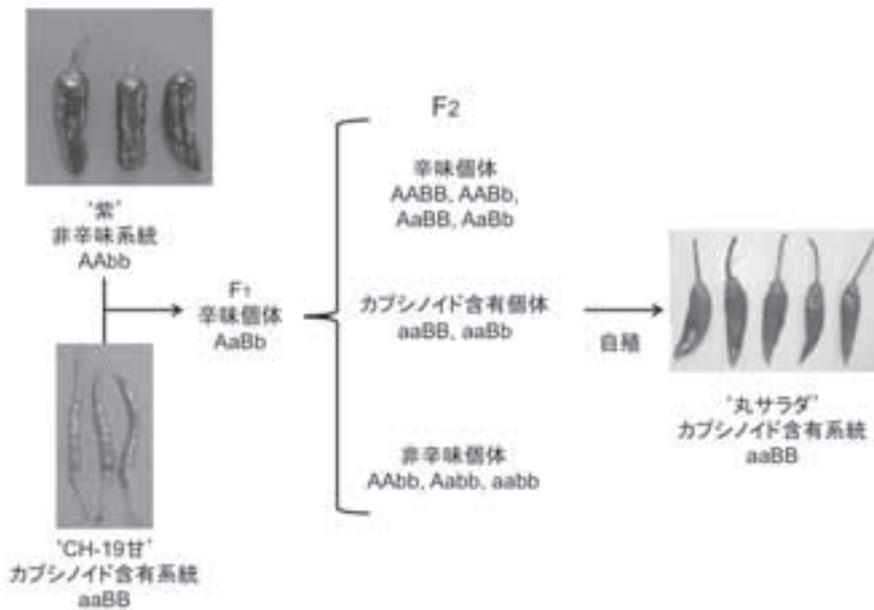


図4 カプシノイドを含む生食用品種「丸サラダ」の育成過程

A, a は pAMT 遺伝子型を、B, b は Pun1 遺伝子型を示す。aaBB または aaBb がカプシノイド含有個体になるので、これらを DNA マーカーで選抜した。

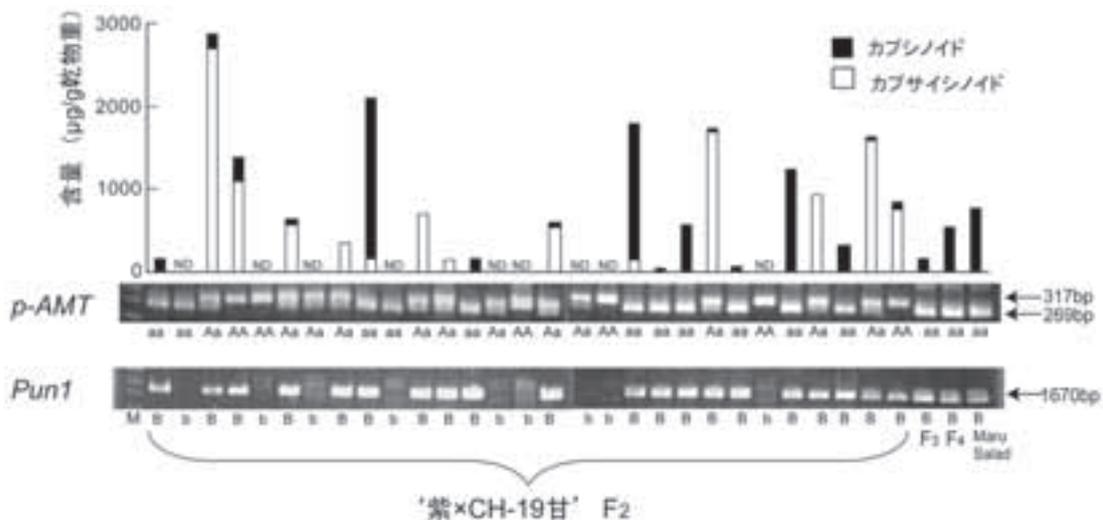


図5 DNA マーカーを用いたカプシノイド含有個体の選抜

上図は HPLC 分析によって決定したカプサイシノイドおよびカプシノイド含量である。ND は検出限界以下を示す。pAMT マーカー：317bp のみが検出された個体は pAMT/pAMT (AA), 257bp のみが検出された個体は pamt/pamt (aa), 両方が検出された個体は pAMT/pamt (Aa) と判定される。Pun1 マーカー：1670bp のバンドが増幅された個体は Pun1/Pun1 (BB) もしくは Pun1/pun1 (Bb) と判定される。M は分子量マーカーを示す。

は、小果で食味が悪く生食には不適であった。

そこで‘CH-19甘’と非辛味品種‘紫’の交雑後代から生食に適したカプシノイド含有個体を選抜した。カプシノイド含有個体を効率的に選抜するために前述の *pAMT* マーカーを用いた。その結果、カプシノイド含有個体を幼苗段階で確実に選抜でき、カプシノイドを700 μ g/g 乾物重程度に含む生食用品種‘丸サラダ’を育成した (Tanaka ら, 2014: 図4, 5)。ただし交雑親として‘紫’のような *pun1* 欠損系統を用いる場合は、*Pun1* 遺伝子がカプシノイド生合成に必要な遺伝子であるため、カプシノイド含有個体の選抜には *Pun1* と *pAMT* の両方の遺伝子型を判定する必要がある。

おわりに

辛味はトウガラシの重要形質である。近年の研究により、辛味個体と非辛味個体を決定する遺伝子 *Pun1* が同定され、これを DNA マーカーとして用いることにより、幼苗段階での非辛味個体の効率的な選抜が可能になった。またカプサイシノイドと同様の生理作用を有する類似物質カプシノイドが発見されており、*pAMT* 遺伝子の機能欠損を指標とした DNA マーカーを用いることで、カプシノイド含有個体を判定することが可能である。今後、さらに辛味成分の生合成を制御する遺伝子が明らかにされ、トウガラシの成分育種に活用されることが期待される。

参考文献

Aza-Gonzalez, C., H.G. Nunez-Palenius, N. Ochoa-Alejo. 2011. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Rep.* 30: 695-706.

Blum, E., K. Liu, M. Mazourek, E. Y. Yoo, M. Jahn and I. Paran. 2002. Molecular mapping of the C locus for presence of pungency in *Capsicum*. *Genome* 45: 702-705.

Kim, S., M. Park, S.-I. Yeom et al. 2014. Genome sequence

of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nat. Genet.* 46: 270-278.

Kobata, K., T. Todo, S. Yazawa, K. Iwai and T. Watanabe. 1998. Novel capsaicinoid-like substances, capsiate and dihydrocapsiate, from the fruits of a nonpungent cultivar, CH-19 Sweet, of pepper (*C. annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 46: 1695-1697.

Lang, Y., H. Kisaka, R. Sugiyama, K. Nomura, A. Morita, T. Watanabe, Y. Tanaka, S. Yazawa and T. Miwa. 2009. Functional loss of pAMT results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogs, in *Capsicum annuum* cv. CH-19 Sweet. *Plant J.* 59: 953-961.

Stewart Jr., C., B.-C. Kang, K. Liu, M. Mazourek, S. L. Moore, E. Y. Yoo, B.-D. Kim, I. Paran and M. M. Jahn. 2005. The *Pun1* gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J.* 42: 675-688.

Tanaka, Y., M. Hosokawa, T. Miwa, T. Watanabe, S. Yazawa. 2010a. Newly mutated putative aminotransferase in nonpungent pepper (*Capsicum annuum*) results in biosynthesis of capsinoid, capsaicinoid analogues. *J. Agric. Food Chem.* 58: 1761-1767.

Tanaka, Y., M. Hosokawa, T. Miwa, T. Watanabe, S. Yazawa. 2010b. Novel loss-of-function putative aminotransferase alleles cause biosynthesis of capsinoids, nonpungent capsaicinoid analogues, in mildly pungent chili peppers (*Capsicum chinense*). *J. Agric. Food Chem.* 58:11762-11767.

田中義行・細川宗孝・渡辺達夫・三輪哲也・矢澤 進. 2012. トウガラシの辛味成分カプサイシノイドおよびその類似物質の生合成を制御する遺伝子について. 京大農場報告21: 9-14.

Tanaka, Y., H. Yoneda, M. Hosokawa, T. Miwa, S. Yazawa. 2014. Application of marker-assisted selection in breeding of a new fresh pepper cultivar (*Capsicum annuum*) containing capsinoids, low-pungent capsaicinoid analogs. *Scientia Hort.* 165: 242-245.

矢澤 進・末留 昇・岡本佳奈・並木隆和. 1989. ‘CH19甘’を片親としたトウガラシ (*Capsicum annuum* L.) の雑種におけるカプサイシノイドならびにカプサイシノイド様物質の含量. 園学雑. 58: 601-607.