

果実の成熟・品質の制御

— エチレン生成・作用制御機構 —

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所
果実鮮度保持研究チーム 立木美保

1. はじめに

エチレンは、炭素2つと水素4つから成る単純な構造をした、常温常圧ではガス状の植物ホルモンである(図-1)。エチレンが植物に対して示す作用としては、果実等における成熟・老化の促進が良く知られており、「成熟ホルモン」、「老化ホルモン」などと呼ばれることもある。しかしながら、エチレンの作用はこれに限らず、発芽の促進、伸長成長や花成の促進・抑制、器官離脱の促進など極めて広範囲にわたっており、植物の一生における様々な過程に影響を及ぼしている。

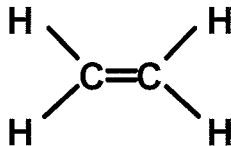


図-1 エチレンの構造式 (C:炭素、H:水素)

このようなエチレンの持つ多様な生理作用は、農作物の生産・流通において積極的に活用されており、緑色の未熟な状態で輸入したバナナの追熟、太くて短いモヤシの生産等ではエチレン処理が不可欠な技術となっている。また、植物生育調節剤のエチホンは植物体内において分解しエチレンを生じることから、カキ等の熟期促進剤、温州ミカン等の摘果剤、ブドウの落葉促進剤、ポンカン等の着色促進剤、ムギ類の節間伸長抑制剤、カボチャの雌花花成促進剤などと

して幅広く用いられている。

その一方で、エチレンは収穫前落果を助長したり、収穫後の果実・野菜類の老化を促進するなど農産物の生産・流通上マイナスとなる作用も示すことから、エチレンの生成や作用を抑制するための技術開発も求められている。

以上のように、エチレンは、植物生理学的に大変興味深いだけでなく、農業生産にとっても非常に重要な植物ホルモンである。ここでは、エチレンに関わる技術開発の基礎となる遺伝子レベルにおけるエチレンの生成・作用機構について詳説する。

2. 植物におけるエチレン生成の仕組み

高等植物では、あらゆる組織・器官でエチレンが生成されるが、生成量は組織・器官の種類や生育段階によって異なる(Abeles et al., 1992)。例えば、植物体全体のエチレン生成量は、発芽から芽生えまでの生育初期では比較的多いが、栄養成長の後期になると次第に減少する。これに対し、葉や花弁におけるエチレン生成量は老化時期に増大し、特に葉柄や花弁の基部に形成される離層では一過的に多量のエチレンが生成され、落葉・落弁が起こる。また、果実におけるエチレン生成量は、未熟な段階では少なく、成熟に伴って増大する。このように、植物体のエチレン生成は遺伝的にプログラムされて

おり、生育過程で発生する内在的刺激によって制御されている。一方、エチレン生成は外的な刺激によっても変化する。エチレンは、葉や果実が病原体の感染や傷害等の物理的ストレス、オゾン重金属などの化学的ストレスを受けた際に、ストレスを受けたことを他の組織に知らせるためのシグナル伝達物質として働き、傷害等を受けた周りの組織においてはエチレン生成量が増大する。生成されたエチレンは植物が受けたストレスによる被害を最小限に抑えるためにプログラム細胞死（不要となった細胞が積極的に死んでしまう現象）を引き起こしたり、防御タンパク質と呼ばれるタンパク質を誘導するなど、植物にストレスに対する抵抗性を付与する。このように、植物は、生育過程で発生する内在的刺激や、外部からの刺激によってエチレンの生成量を増減させることで、多種多様な生理現象を制御している。

高等植物における主要なエチレン生成経路を図-2に示した(Adams and Yang, 1979)。このうちメチオニンからS-アデノシルメチオニン(SAM)を合成する経路は全ての生物に共通する反応である。一方、SAMから1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)を経て、エチ

レンに至る経路は高等植物に固有でACC経路と呼ばれ、ACC合成酵素(ACC synthase, ACS)がSAMをACCに変換し、ACC酸化酵素(ACC oxidase, ACO)がACCを酸化的に分解しエチレンを合成する。通常、植物の組織内にはSAMが大量に存在しているため、ACC合成酵素の遺伝子発現量が増加し、本酵素が合成されると、速やかにSAMからACCが合成される。ACC合成酵素タンパク質は不安定で代謝回転が速いため、本酵素の活性はmRNA発現およびタンパク質合成速度に依存している。一方、ACC酸化酵素mRNAはエチレン生成量の少ない組織においても発現が認められることから、エチレン生成速度は主に組織内のACC含量に依存しており、SAMからACCへの変換がエチレン生成の律速段階となる。このため、エチレン生成を抑制するには、SAMからACCへの変換を担うACC合成酵素活性を抑制するアミノエトキシビニルグリシン(AVG)やアミノオキシ酢酸(AOA)が有効である。

ACC合成酵素およびACC酸化酵素には複数のアイソザイム、つまり同一の機能を持つが化学的構造の異なるタンパク質が存在しており、種々の植物からこれらをコードする複数の遺伝子が単離されている。これらの遺伝子については、発現部位、発現時期、刺激に対する発現様式が詳細に解析されており、エチレンを生成する組織や生成を引き起こす刺激が異なると、働くアイソザイムも異なることが明らかにされている(森・立木, 1998; 佐藤・水野, 2003)。このため、植物が示すエチレン生成パターンの多様性は、エチレン生成に関わる酵素に複数のアイソザイムが存在し、各々が別々の役割を担っていることに起因するものと考えられる。

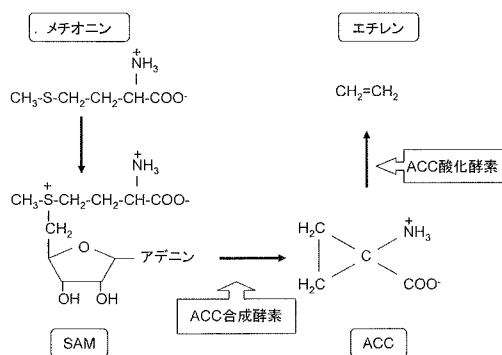


図-2 エチレン生成経路

3. エチレン生成のフィードバックレギュレーション

エチレン生成は様々な要因によって制御されており、その仕組みは非常に複雑であるが、エチレン自身によっても制御されるという特徴がある。成熟果実等におけるエチレン生成はエチレンによって促進され、エチレン生成量が幾何級数的に増加することから「自己触媒的なエチレン生成」と呼ばれ、このような制御を「ポジティブフィードバックレギュレーション」という。一方、栄養成長期などにおけるエチレン生成の多くは反対にエチレンによって抑制されるため「自己抑制的なエチレン生成」と呼ばれ、このような制御を「ネガティブフィードバックレギュレーション」という。

果実のエチレン生成量は、未熟な段階では極微量であるが、成熟過程では急増する。このような果実の生育に伴うエチレン生成の変化は、二段階に制御されていると考えられている (McMurchie et al., 1972)。未熟果実で認められるような生成量が増大しないエチレン生成はシステム1と呼ばれる。これに対し、成熟果実における活発なエチレン生成はシステム2と呼ばれ、システム1によって生成される微量のエチレンによって誘導されると考えられている (McMurchie et al., 1972; Lelièvre et al. 1997)。トマトの未熟果実や緑熟果実ではACC合成酵素アイソザイムの一つであるLeACS6が機能していることから、これがシステム1のエチレン生成を担うと考えられている (Nakatsuka, et al., 1998; Barry et al., 2000)。一方、システム1から2への移行期にはLeACS4、果実成熟後期におけるシステム2のエチレン生成にはLeACS2がそれぞれ機能するというモデルが提唱されている (Barry et al., 2000)。一般的に

システム1のエチレン生成は「自己抑制的なエチレン生成」であり、トマトのLeACS6の発現はエチレンにより抑制されることが明らかになっている。これに対し、システム2は「自己触媒的なエチレン生成」であることが多い。トマトの成熟果実におけるシステム2のエチレン生成を担うLeACS2の発現はエチレンにより促進されるため、生成量が急増するものと考えられる。

トマトを含め、クライマクテリック型果実の多くは、成熟期に「自己触媒的なエチレン生成」を示すが、代表的なクライマクテリック型果実の一つであるバナナは、特異的なエチレン生成特性を示す。緑色の状態で輸入されたバナナは、エチレンを処理することにより、自らエチレン生成をするようになり、成熟進行する。しかし、エチレンと同様の作用を持つプロピレンを緑色バナナに処理すると、処理濃度が高いほど、エチレン生成を開始する時期は早くなるものの、生成量は少ないことから、バナナのエチレン生成はネガティブフィードバックレギュレーションを受けていると推測された (Inaba et al., 2007)。プロピレンを処理した緑色バナナにエチレン作用阻害剤を処理すると、果肉の軟化や果皮色の変化は抑制されるが、エチレン生成量は増加することも、このような推測を裏付けるものである。更に、バナナを果皮と果肉に分けてエチレンに対する反応を検討したところ、ACC合成酵素アイソザイムの一つが果肉ではエチレンによりネガティブフィードバックレギュレーションを受けているが、果皮ではポジティブフィードバックレギュレーションを受けていることが明らかになった (Inaba et al., 2007)。このように、果肉と果皮でエチレン生成に対するエチレンの影響が逆であるという事実は興味深い

が、その生理的な意味については不明である。

4. 他の植物ホルモンがエチレン生成に及ぼす影響

エチレン生成はオーキシン、サイトカイニンをはじめとする他の植物ホルモンの影響も受けるが、影響が促進的か抑制的かは植物の種類や組織、生育ステージなどによって異なる。例えば、トマトのACC合成酵素アイソザイムの一つである *LeACS3* は、栄養成長期の組織においてオーキシン処理をすると誘導され、エチレン生成が起こるが、成熟果実に処理をしても発現量は増加しない。植物生育調節剤の中にはオーキシン等植物ホルモン活性を有するものも多いが、使用時期や使用量を誤るとエチレン生成に影響し、想定外の作用を引き起こす可能性もある。

5. エチレン作用機構

植物がエチレンに対する反応を示すには、エチレンを感知し、そのシグナルが伝えられることが必要である。エチレンの存在は、エチレンが「エチレン受容体」と呼ばれるタンパク質に結合することで感知される。このタンパク質は花、葉、果実など植物のあらゆる組織・器官において細胞内の小胞体と呼ばれるオルガネラの膜に存在している。エチレンとエチレン受容体との結合には、小胞体膜に埋め込まれた部位の特定のアミノ酸残基が関与していることが明らかにされている(Wang et al., 2006)。

エチレン受容体の特徴は、エチレンジグナル伝達系を抑制する「ブレーキ」の役割を持つことである。果実の成熟を例に解説する。成熟前の果実はエチレンを生成していないため、エチレン受容体にはエチレンが結合していない(図-3 A)。この状態のエチレン受容体は「活動型」

で、エチレンジグナルが伝わらないように積極的に「ブレーキ」をかけている。したがって、果肉の軟化など成熟時に認められる生理的变化は進行しない。一方、成熟期になると果実ではエチレンが生成され、そのエチレンがエチレン受容体に結合する(図-3 B)。エチレンと結合したエチレン受容体は活動を休止するため、エチレンジグナル伝達系に対する「ブレーキ」がはずれ、エチレンジグナルが伝わることにより成熟に関わる様々な酵素等が活性化される。例えばクロロフィル分解酵素等が働くことにより地色の抜けや着色が進行し、細胞壁修飾酵素が活性化されることにより果肉が軟化する。このように、エチレンジグナルは、エチレン受容体という一点からスタートするが、伝達系の下流に行くにしたがって分岐することにより多様な生理的反応を制御している。即ち、エチレンの作用は、全てエチレン受容体を通じて制御されている。

このようなエチレン受容体の重要性について、その変異が果実成熟等と与える影響で説明したい。トマトには果実が肥大しても赤く熟さない

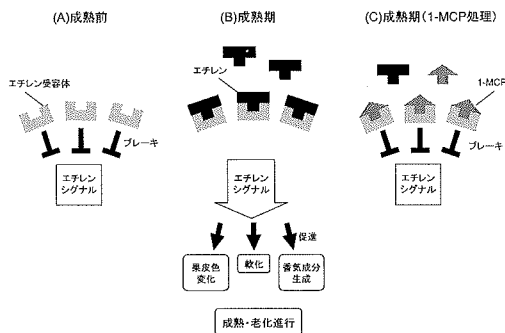


図-3 (A)未熟果実のエチレン受容体は「活動型」で成熟・老化を抑制。(B)成熟果実の受容体はエチレンと結合し「休止型」となるため成熟・老化に対する抑制は解除。(C)1-MCPを処理するとエチレンに優先して受容体に結合。受容体は1-MCPと結合しても「活動型」のため成熟・老化を抑制。

系統が幾つか知られている。その中の一つ、ネバーライプ Never ripe(Nr)は、エチレン受容体の一部に変異が生じ、エチレンとの結合能が低下していることにより、エチレンと結合できない受容体タンパク質が果実に存在し、そのため成熟しないことが明らかにされている。普通に成熟するトマトも、ネバーライプのエチレン受容体遺伝子を遺伝子組換え技術により導入すると成熟が抑制されるようになる。また、花きのペチュニアも、同様にネバーライプのエチレン受容体遺伝子を導入すると花持ち性が改善さ

れる。このように、植物体中にエチレンとの結合能が低いエチレン受容体が存在すると、その植物体はエチレンに対して非感受性になり、果実の成熟や花の老化等エチレンによる作用は抑制されることが明らかにされている。

6. エチレン作用阻害剤 (1-MCP) の作用機構

エチレンの作用を阻害するには、結合しても「ブレーキ」としての機能を失わせることのない物質をエチレン受容体に結合させればよい。このような物質としてはノルボルナジエン norbornadiene(NBD), 1-メチルシクロプロペン 1-methylcyclopropene(1-MCP)(図-4)等が知られている。このうち1996年に米国において開発された1-MCPはリング等の果実において高い鮮度保持効果を示すことが明らかにされている。

1-MCPは常温常圧下では無臭の気体であり、急性吸入試験や細胞毒性試験等において毒性は認められていない。1-MCPはエチレン受容体との親和性が極めて高いため、数ppb～数ppmという著しく低い濃度でエチレンと受容体との結合を拮抗的に阻害することができる。なお、エチレン受容体は1-MCPと結合しても活性を失うことはなく、エチレンシグナル伝達系に対して「ブレーキ」をかけ続ける(図-3C, 図-5A)。従って、1-MCPを処理した果実では、エチレンが存在していても、エチレンを感知することができず、エチレンシグナルの伝達が抑制されることから成熟・老化は進行せず、鮮度が高く保持される。

このように、1-MCPは非常に効果的にエチレンの作用を阻害するが、このことはエチレン受容体がエチレンシグナル伝達系に対して「スイッチ」ではなく「ブレーキ」として機能するこ

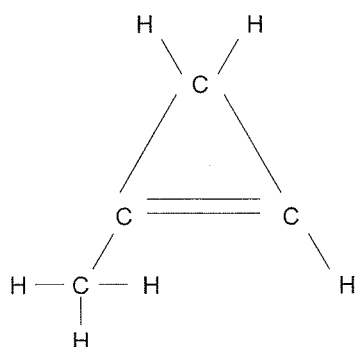


図-4 1-MCPの化学構造

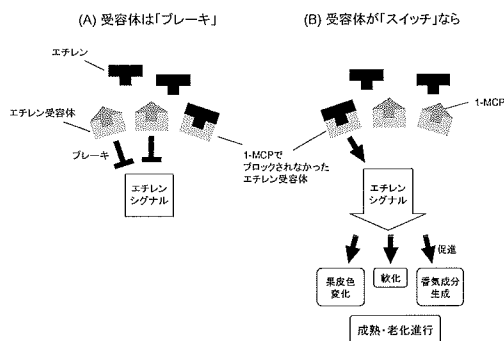


図-5 (A) エチレン受容体はエチレンシグナルの伝達を抑制する「ブレーキ」。1-MCPでブロックされた受容体は「ブレーキ」をかけ続けるため抑制効果は持続。(B) 仮に、エチレン受容体がエチレンシグナルを送る「スイッチ」とすると1-MCPでブロックされなかった受容体にエチレンが結合することによって成熟・老化が進行。

とに依存している。仮にエチレン受容体がエチレンジグナル伝達系の「スイッチ」として働くとすると、1-MCPで全てのエチレン受容体をブロックしない限り、エチレンと結合した受容体によってエチレンジグナルが伝えられてしまう(図-5B)。しかし、エチレン受容体は「ブレーキ」として機能するため、1-MCPにブロックされなかった受容体にエチレンが結合し、その受容体が「ブレーキ」をはずしても、1-MCPでブロックされた受容体が引き続きブレーキをかけ続けるため、エチレンジグナルの伝達は抑制され続ける(図-5A)。ただし、現在のところ、果実に存在しているエチレン受容体の何割をブロックすればエチレンジグナルを抑制できるのかは明らかにされていない。

なお、1-MCPによる果実の鮮度保持効果はこれまでに開発されたエチレン作用阻害物質よりも高い。その理由の一つは、1-MCPはエチレン受容体に一度結合したら離れにくいという性質にあると考えられる。NBD等1-MCP以外のエチレン作用阻害物質は、一旦エチレン受容体に結合しても容易に離脱するため効果が低い。

1-MCPは全ての樹種、品種で卓効を示す訳ではない。また、リンゴ等1-MCPが効果的に働くとされている果実においても、処理条件によっては十分な効果が得られない。一般的に1-MCPによる鮮度保持効果は品種、処理の温度と時間、処理時の果実の熟度、収穫後1-MCP処理をするまでの経過時間や貯蔵条件等によって大きく左右される。このように効果が異なる理由としては、エチレン受容体の特性(遺伝子の発現様式、1-MCPとの親和性、タンパク質の代謝回転速度等)や1-MCPの組織内への取り込み活性の違いなどが考えられるが、まだ詳細は明らかにされていない。ただし、これまでの研究から1-MCP

による鮮度保持効果の高いリンゴと効果の低いモモを比較すると、処理効果に関係すると思われる幾つかの相違点が見出されている。リンゴは収穫直後のエチレン生成量は少ないが、その後急激に増加する。しかし、1-MCPを処理するとエチレン生成量の増加が抑制される。1-MCPはエチレンの生成を阻害するものではないが、リンゴ成熟果実のエチレン生成は「自己触媒的なエチレン生成」であるため、エチレン作用の阻害はエチレン生成量の増加を抑制する。リンゴ成熟果実で働くACC合成酵素アイソザイムの一つ、MdACSIはエチレンによって発現が誘導されるため、1-MCP処理をするとエチレンの作用阻害により発現が抑制され、エチレン生成の増加も抑制される。1-MCP処理をした‘ジョナゴールド’、‘王林’等は20℃で貯蔵しても、エチレン生成は約1ヶ月以上もの間抑制され続ける。このように、リンゴでは処理によってエチレン生成も抑制されることが、1-MCPによる鮮度保持効果が高い理由の一つと推測される。一方、モモでは1-MCP処理によりエチレン生成量が一過的に増加することが認められており、これが1-MCPによる鮮度保持効果を低下させる原因の一つであると推測されている。これまでの基礎研究からエチレン受容体がブロックされているならば、エチレンが存在していてもエチレンを感受できないと考えられていたが、1-MCPの効果が低い樹種では、エチレン生合成と作用の両方を抑制することでより高い鮮度保持効果を得られる可能性が考えられる。

7. おわりに

エチレン生成経路が比較的単純だったこともあり、生合成の制御機構については多くの基礎的知見が得られている。一方、エチレンの作用

機構については、近年精力的に研究が行われているにも拘わらず、未解明な点が多く、1-MCPの効果が樹種等によって異なる原因についても明らかにされていない。効果的な作用制御技術の開発に向け、更なる研究進展が望まれる。

引用文献

- Abeles F. B., P. W. Morgan and M. E. Saltveit, Jr (eds.). 1992. Ethylene in plant biology, 2nd edn. Academic Press, San Diego.
- Adams, D. O. and S. F. Yang. 1979. Ethylene biosynthesis: identification of ACC as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76: 170-174.
- Barry, C. S., M. I. Llop-Tous and D. Grierson. 2000. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. *Plant Physiol.* 123 : 979-986.
- Inaba, A., X. Liu, N. Yokotani, M. Yamane, W.-J. Lu, R. Nakano and Y. Kubo. 2007. Differential feedback regulation of ethylene biosynthesis in pulp and peel tissues of banana fruit *J. Exp. Bot.*, (in press)
- Lelièvre, J. M., A. Latchè, B. Jones, M. Bouzayen and J. C. Pech. 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiol. Plant.* 101 : 727-739.
- McMurchie, E. J., W. B. McGlasson and I. L. Eaks. 1972. Treatment of fruits with propylene gives information about the biosynthesis of ethylene. *Nature* 237 : 235-236.
- Nakatsuka, A., S. Murachi, H. Okunishi, S. Shiomi, R. Nakano, Y. Kubo, and A. Inaba. 1998. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. *Plant Physiol.* 118 : 1295-1305.
- 森仁志・立木美保. 1998. エチレン生合成の制御機構. p.138-150. 秀潤社, 東京.
- 佐藤隆英・水野真二. 2003. エチレン生合成の調節機構. 植物の生長調節. 38 : 187-202.
- Wang, W., J. J. Esch, S.-H. Shiu, H. Agula, B. M. Binder, C. Chang, S. E. Patterson and A. B. Bleeker. 2006. Identification of Important Regions for Ethylene Binding and Signaling in the Transmembrane Domain of the ETR1 Ethylene Receptor of Arabidopsis. *Plant Cell* 18: 3429-3442.