

(様式 3)

農業研究成果情報

No. 815 (平成 30 年 5 月) 分類コード 12-40 熊本県農林水産部

### レタスにおけるポリフェノールオキシダーゼ (PPO) アイソザイムの発現特性

レタス PPO には複数のアイソザイムが存在しており、その中には恒常的に活性が認められるものや、カット (外因性の組織障害) した後に活性が認められるものが存在する。この障害誘導性 PPO 活性の経時的変化と褐変の経時的変化とは同様の変化を示す。

農業研究センター農産園芸研究所バイオ育種研究室 (担当者: 野田孝博)

#### 研究のねらい

加工・業務用野菜として需要が伸びているカットレタスではカット断面の褐変が課題となっている。その褐変は基質 (*o*-ジフェノール) がポリフェノールオキシダーゼ (PPO) によって酸化されることが主な要因とされている。なお、レタス PPO は複数のアイソザイムの存在が示唆されるが、それらの発現と褐変との関係は明らかとなっていない。

そこで PPO アイソザイムの存在様式及び発現特性と褐変との関連を明らかにする。

#### 研究の成果

1. レタスは pH5~9 の幅広い領域で活性が認められる PPO (図 1 のバンド I) や、アルカリ性領域でのみで活性が認められる PPO (図 1 のバンド II 及び III) など、複数の PPO アイソザイムを有している。
2. PPO アイソザイムのなかにはカット (外因性の組織障害) に関わらず恒常的に活性が認められるもの (図 2 (a) のバンド I 及び III) と、カット後に活性が認められるもの (障害誘導性 PPO) (図 2 (a) のバンド II) が存在する。
3. 障害誘導性 PPO の活性はカット後 2 日目に認められはじめ 4 日目以降明確に認められる。同様にカットレタスの褐変化においてもカット後 2 日目から褐変しはじめ 4 日目以降に褐変程度が高まる。すなわち、障害誘導性 PPO 活性の経時的変化とレタス褐変の経時的変化は同様の変化を示す (図 2)。

#### 普及上の留意点

1. レタス PPO は複数種類存在することが明らかとなり、褐変化には複数の PPO 遺伝子の関与が考えられる。低褐変性レタス開発には褐変との関連が示唆された障害誘導性 PPO 等関連遺伝子の変異獲得が必要と考えられるが、現段階では遺伝子情報が不明である。そのため今後関連遺伝子の同定を行う必要がある。
2. 詳細な実験条件等については公表論文を参照。

・ Noda et al.(2017) Biosci. Biotechnol. Biochem. 81(8):1484-1488

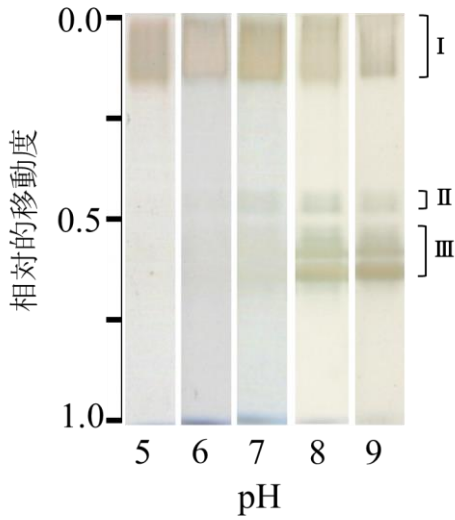


図 1. 種々の pH 条件による PPO の検出  
 PPO はレタス可食部 (茎を除く) 全体を細断し, 6 日間保存 (7°C) した組織から調製. 相対的移動度はプロモフェノールブルーの移動度を 1.0 として算出. Native-PAGE (10%分離ゲル) 後, 個々のレーンに切り分け基質カテコール 10mM を含む 0.1M リン酸バッファー (pH5-9) で染色.

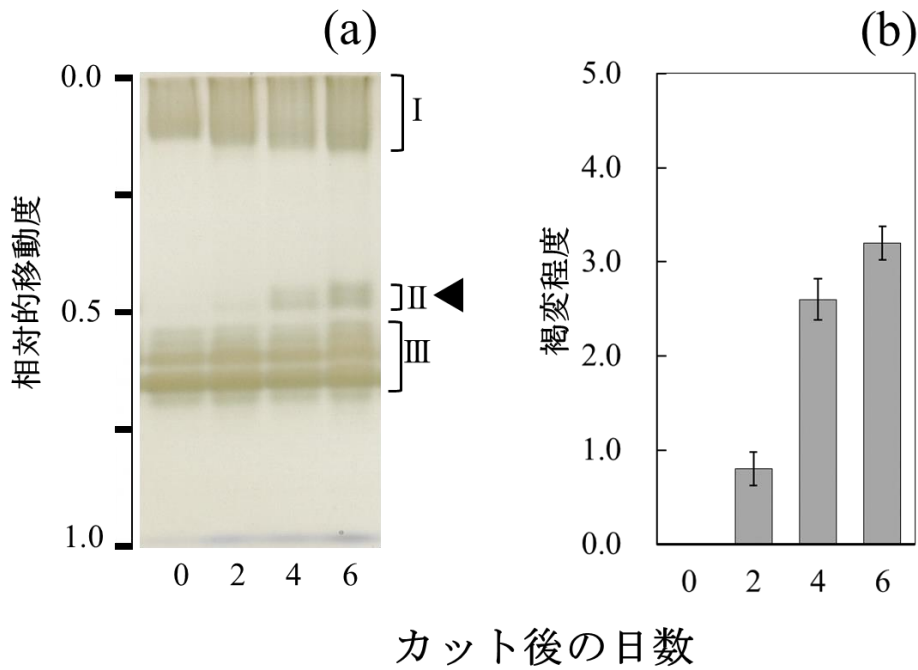


図 2. カット後の PPO アイソザイム発現の経時変化(a)並びにカットレタス褐変化の経時変化(b)

PPO はレタス可食部 (茎を除く) 全体を細断し, 0-6 日間保存 (7°C) した組織から調製. 相対的移動度はプロモフェノールブルーの移動度を 1.0 として算出. Native-PAGE (10%分離ゲル) 後, 基質カテコール 10mM を含む 0.1M リン酸バッファー (pH 8.0) で染色. 黒三角で示したバンドはカット調製後に発現する障害誘導性 PPO を示す. 褐変程度は無~甚 (組織全体が赤桃色に変色) の 6 段階で遠観的に評価 (データは平均±S.E. (n=5))