

ロベリアのカルコンイソメラーゼ遺伝子の解析 および発現抑制による黄色花作出の試み

作物生産生物学講座 園芸緑地学分野
出野由貴

【背景と目的】 ロベリア(*Lobelia erinus* L.)はキキョウ科の一年草で、花色は青・桃・白色系品種が存在するが、黄色系は存在しない。本研究では、ロベリアにおける黄色系品種の作出を目的とし、アントシアニン生合成に関与する酵素であるカルコンイソメラーゼ(CHI)の遺伝子を単離し、CHI抑制個体を作った。CHIはアントシアニン生合成経路で働く6'-テトラヒドロキシカルコン(6'-THC)をナリンゲニンへと変換する酵素で、CHIを抑制するとナリンゲニンの生合成が抑制され、その結果、6'-THCを蓄積すると予想される。6'-THCは黄色系色素なので、CHIの抑制によりロベリアの黄色系品種を作出することが出来ると考えられる。

【方法】 1. **クローニング** 播種後約2ヶ月の植物体より、開花前の花芽をランダムに採取しtotalRNAを抽出した。次にmRNAを逆転写し、RACE法を用いて目的とする全長のcDNAを得た。得られたcDNAをサブクローニングし塩基配列を決定した。これを基にアミノ酸配列を決定し、他植物のCHI遺伝子と比較した。2. **発現解析** リアルタイムPCRを用い、葉・茎・根・花芽ステージごとのCHI遺伝子の発現解析を行った。3. **形質転換および色素分析** RNAiによりCHI遺伝子を抑制するベクターを作成した。これをアグロバクテリウム法を用いて青色花ロベリア‘アクアブルー’へ形質転換し、CHI抑制個体を作成した。スクリーニングはGUS遺伝子のPCRによって行い、得られた形質転換体の花芽に含まれるアントシアニンを、HPLCを用いて分析した。

【結果および考察】 1. 4種のCHI全長遺伝子が得られたが、アミノ酸配列はすべて同じであった。他植物との比較により、得られた遺伝子はアントシアニン生合成で働くType 1 CHIということが分かった。また、CHIで特に重要な活性部位も保存されていた。2. ロベリアCHI遺伝子は植物体全体において発現していることが分かった。また、花芽においては開花直前において特に活性化することが分かった。花芽の成長段階において、発現のピークが前半と後半に分かれることから、ロベリアは初期段階でフラボンを、後期でアントシアニンを合成していることが示唆された。3. 61個体中45個体の形質転換体を得られた。花色については、Type I. 少し薄い青色、Type II. 少し薄い青、蜜腺の白色が広い、Type III. 淡い青色、Type IV. モザイク状の4つの新たな形質を得られた。HPLCの結果、Type IではControlよりもアントシアニンのピークが低く、Type IIIではさらに低くなった。今後、各ピークに対応する化合物の同定とカルコンの変化についても調査する必要がある。



(図)ロベリア‘アクアブルー’のControlと各形質転換体の花芽の比較。A:Control、B:Type I、C:Type II、D:Type III、E:Type IV。