

ロベリアの花色変化に及ぼすアントシアニン生合成遺伝子と修飾反応の解析

生物資源科学専攻 作物生産生物講座 園芸学 許揚昕

1. はじめに

ロベリア (*Lobelia erinus*) はキキョウ科の植物であり、野生型とされる青色のロベリア (アクアブルー) はロベリニンという高度に配糖化とアシル化修飾されたデルフィニジン型のアントシアニンを花弁に蓄積することが分かっているが、アクアブルー以外の他の品種では、蓄積アントシアニンの構成や花色の変異に関与している遺伝子など花色変化をもたらすメカニズムは分かってない。そこで本研究では、花育種に応用できる花色変化のメカニズムを明らかにするため、アクアブルー、水色のアクアスカイブルー及び藤色のアクアラベンダーを用いてこれらの花色の違いに影響するアントシアニン生合成遺伝子及び修飾関連酵素について解析を行った。

2. 方法

まず、3 品種におけるフラボノイドの種類と量を HPLC 及び UPLC-TOF/MS により分析した。また、顕微鏡で花弁組織内の色素蓄積の観察を行った。次に、花の発達ステージごとに RNA を抽出し、逆転写反応により得られた cDNA を用いて q RT-PCR により各アントシアニン生合成遺伝子の発現を調べた。また、アクアブルーとアクアスカイブルーの F3' 5' H から下流のアントシアニン生合成遺伝子の配列解析を行った。さらに、アントシアニンの修飾経路を解明するため、蕾からの粗タンパク質を用いてインビトロ酵素活性実験を行い、得られた生成物質は MALDI-TOF/MS で解析した。

3. 結果と考察

HPLC と UPLC TOF/MS の結果によると、530nm の検出では、アクアブルーではロベリニン A とロベリニン B が最も多く検出され、それ以外にも数種類のピークが検出された。アクアスカイブルーでもアクアブルーと同じピークが検出されたが、量は顕著に減少していた。また、アクアラベンダーでは、デルフィニジン-3-グルコシドが最も多く検出された。一方、340 nm のクロマトグラムをみると、アクアスカイブルーではアピゲニン派生物をアクアブルーより多く蓄積していることが分かった。q RT-PCR の結果、アクアブルーでは F3H と DFR の発現が最も高く、FNSII が一番低かった。また、アントシアニン生合成遺伝子の配列解析の結果から、アクアスカイブルーの F3' 5' H は、184 番目のセリンと基質認識領域の直前のアスパラギンが欠損していることが分かった。ラムノース転移酵素の候補配列はアクアラベンダーに塩基欠失による frame shift が生じていることが分かった。粗タンパク質を用いた酵素活性検出実験では、デルフィニジン-3-グルコシドの生成反応が検出された。また、デルフィニジン-3-ルチノシド以後の酵素反応もアクアブルーとアクアラベンダーの粗タンパク質を用いて検出することができた。

4. まとめ

水色のアクアスカイブルーでは、F3' 5' H の変異と F3H, DFR の遺伝子発現の低下によりロベリニンの合成量が減り、また、FNSII の発現上昇によるアピゲニン派生物の蓄積の増加によって、本来の濃い青色から水色へ花色が変化したと考えられた。また、アクアラベンダーではデルフィニジン-3-グルコシド以後の配糖化とアシル化修飾はみられなかった。ラムノース転移酵素はアクアラベンダーでは変異していることがわかったことから、アクアラベンダーではラムノース転移酵素欠損により、デルフィニジン-3-グルコシド以降のラムノシル化やアシル化の修飾反応が起きないために花色が藤色になったのではないかと考えられた。