

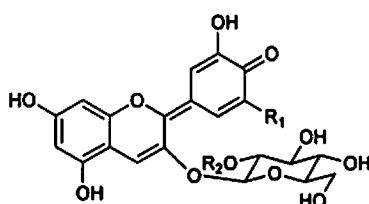
| | | | |
|------|----|---|---|
| 報告番号 | ※甲 | 第 | 号 |
|------|----|---|---|

主論文の要旨

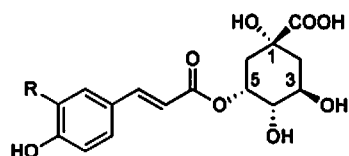
論文題目 単一細胞分析によるアジサイの花色素発現機構の化学的研究
氏名 伊藤 大輔

論文内容の要旨

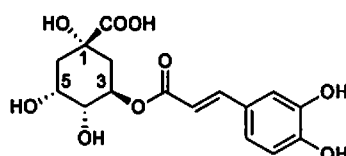
アジサイ (*Hydrangea macrophylla*) は日本原産で、原種の花（正確にはガク片）は青色である。現代のアジサイは品種改良によりピンクや赤色のものもあり、これらは西洋アジサイと呼ばれる。アジサイの花色素研究は 19 世紀から行われ、青色発色と土壌の pH やアルミニウムイオン (Al^{3+}) との関係は既に 20 世紀はじめに報告がある。1950 年代にはアントシアニン成分としてデルフィニジン 3-グルコシド (Dp3G, 1) が、助色素成分として 5-O-カフェオイルキナ酸 (5CQ, 2)、5-O-p-クマロイルキナ酸 (5pCQ, 3) および 3-O-カフェオイルキナ酸 (3CQ, 4) が含まれていることが明らかにされた (図 1)。しかも、アントシアニン成分



- $R_1=OH, R_2=H$: デルフィニジン 3-グルコシド (1)
 $R_1=OH, R_2=\beta\text{-xylopyranosyl}$: デルフィニジン 3-サンブピオシド (5)
 $R_1=H, R_2=H$: シアニジン 3-グルコシド (6)
 $R_1=H, R_2=\beta\text{-xylopyranosyl}$: シアニジン 3-サンブピオシド (7)



$R=OH$: 5-O-カフェオイルキナ酸 (2)
 $R=H$: 5-O-p-クマロイルキナ酸 (3)



3-O-カフェオイルキナ酸 (4)

Al^{3+}

アルミニウムイオン

図 1. アジサイの花色素に関与する成分.

はガク片の色に関わらず同一の 1 と 5 である。それでは何故、一種類のデルフィニジン系発色団によりアジサイは赤から青までの多色を発現できるのか。この現象の本質に迫る化学的研究はこれまでほとんどなされていなかった。わずかに、Dp3G (1)、5-O-アシル化キナ酸 (2, 3) および Al^{3+} を混合すると安定な青色溶液が得られるとする報告と、青色と赤色のアジサイでは青色細胞の液胞 pH が有意に高いこと、および 5-O-アシル化キナ酸類が Dp3G (1) - Al 錯体の可溶化と青色化を担っていることが明らかにされた。しかし、色の变化する機構については不明であった。

本研究はこのような背景のもと、アジサイの花色変化の化学的機構の解明を目的に行ったものである。まず、色の異なる組織間あるいは細胞間で発色に関与する成分の違いを明らかにできる fmole のスケールの超微量化学分析法を開発した。次にこの手法を用いて経時的に色の变化するガク片の成分分析、ならびに 1 つの組織の中で異なる色の細胞を持つガク片よりプロトプラストを調製して、一細胞での化学分析を行った。さらに、得られた分析結果をもとにして成分を試験管内で混合することによりガク片や細胞の色の再現実験を行った。これらによりアジサイの花色が変化する化学的な機構を明らかにすることができた。

本論文は 4 章から成る。

第 1 章はこれまでのアジサイの花色研究を概観し、残された課題とその解決法について述べた。

第 2 章では、無色 (ステージ 1) から青色 (ステージ 2)、緑色 (ステージ 3)、赤色 (ステージ 4) へと特異な色変化を示すカメレオンアジサイ (*H. macrophylla* cv. *Hovaria*TM 'Homigo') を用いて、その色変化の機構をガク片に含まれるアントシアニンと助色素成分の分析と色再現実験により解明した研究を述べた。

ガク片の色がステージ 2 の青色から緑色を経てステージ 4 の赤色に変化する時に、アントシアニン成分がデルフィニジン 3-グルコシド (1)、デルフィニジン 3-サンブピオシド (5) からシアニジン 3-グルコシド (6) とシアニジン 3-サンブピオシド (7) へ変化すること、そしてこれは一旦 1 と 5 が消失し、新たに 6 と 7 が生合成されるためであることを明らかにできた (図 1)。さらに、ステージ 2 およびステージ 4 のガク片を分析して得た成分組成を参考にした青色と赤色それぞれの色再現実験により、ステージ 2 の青色は従来の報告と同様に、配糖化デルフィニジン、5-O-アシル化キナ酸、 Al^{3+} の組み合わせにより発現していることを明らかにしたと共に、ステージ 4 の赤色はそれとは異なることを見いだした。

すなわち、シアニジン 3-グルコシド (6) が助色素 (2-4) の存在下、 Al^{3+} が共存することで赤色となる仕組みを解明した。

第 3 章では単一着色細胞の色と液胞 pH、アントシアニン、助色素成分および Al^{3+} 含有量を 1 対 1 で対応させる「単一細胞分析法」の確立と、これを用いた、アジサイガク片から得た単一着色細胞の化学分析について述べた。さらに、得られた分析値をもとにアジサイ細胞の色再現実験を行い、多彩な発色の機構を解明した結果を記述した。

青色、赤色品種からそれぞれ調製した青色細胞と赤色細胞では液胞 pH は青色細胞で 3.6 と赤色細胞の 3.1 より有意に高く、アントシアニン (1, 5) の含有量は赤色細胞で高いこと、さらに総アントシアニン量に対する 5-O-カフェオイルキナ酸 (2, 3) および Al^{3+} の当量のいずれも青色細胞で有意に高いことを明らかにした。さらに青色、紫色、赤色細胞が混在している紫色のアジサイガク片を用いてこの単一細胞分析を行い、細胞の色が青くなるほど、5-O-カフェオイルキナ酸 (2)、5-O-p-クマロイルキナ酸 (3) および Al^{3+} のアントシアニンに対する当量が有意に増加することを明らかにした。

得られた単一着色細胞の分析値をもとに色の再現実験を行い、青～赤のいずれの花色も再現できること、さらに pH 条件と 2、3 の含有量ならびに Al^{3+} 量のいずれかをわずかに変えることで発色が連続的に変化することを見いだした。以上により、アジサイの発色は多種の要因の微妙なバランスにより決定されるため容易に変わることを明らかにできた。

第 4 章では、本研究を総括し、今後の研究課題とその展望について述べた。