

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

主論文の要旨

論文題目 チューリップ花卉の青色発色に関与する鉄イオンの輸送と蓄積に関する研究

氏名 桃井 千巳

論文内容の要旨

青色花の無い園芸植物は多く、たとえば、切り花ではキク、バラ、カーネーション、球根植物では、チューリップやユリがその代表例である。そのため、これらの花きにおける青色花の育種研究には、これまで多大な努力がなされてきた。富山県ではチューリップ(*Tulipa gesneriana*)の品種を数多く保存して、育種研究が盛んに行われており、青いチューリップの育種も目標の一つとなっている。しかし、全体が青い品種の育種は未だ達成されていない。チューリップの花色は、白、黄、オレンジ、ピンク、赤、紫、黒に近い紫など多種存在し、白色、黄色～橙色以外のほとんどの色はアントシアニンによる。花卉上部と花底部の花色が異なる品種も多数あり、富山県育成品種の一つである紫水晶は、上部が紫色で花底部が青色である。しかし、この青色発色機構は不明でこれが明らかにできれば育種に重要な知見が得られるものと考えた。申請者の所属した富山県農業技術センターで、本品種の青色発色機構の研究が行われ、2007年に、上部と花底部とで、アントシアニン成分とフラボノール成分が全く同じで

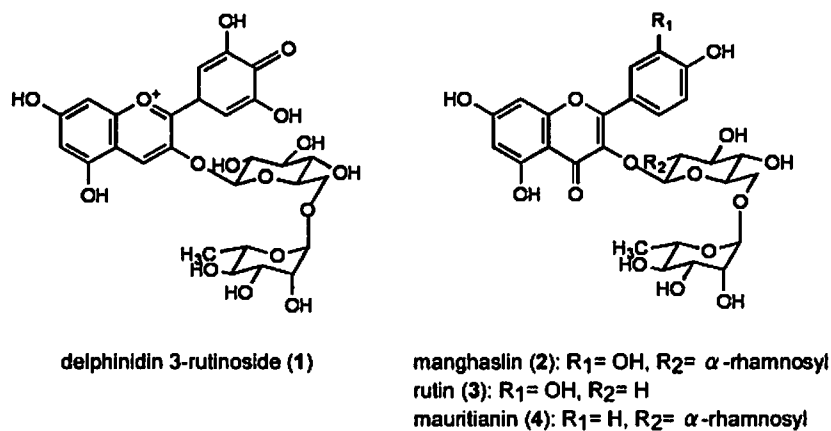


図1：チューリップ紫水晶花卉に含まれる構成アントシアニンとフラボノールの構造

あることに加え（図1）、青色細胞に上部の紫色細胞と比較して約25倍もの高濃度の鉄イオンが含まれることが明らかになった。そして、青色発色には鉄イオンが必須であることがわかった。しかしながら、花卉における特異的な鉄の蓄積機構や、紫水晶以外にも多数存在する花底部が青いチューリップの発色機構は、全く解明されていなかった。

本研究では、チューリップ紫水晶の花底部の青色細胞に特異的な鉄輸送システムが存在するのではないかと考え、原因遺伝子の単離と輸送体タンパク質の機能解析を行った。花底部の青色細胞だけに発現する鉄輸送体遺伝子(*TgVit1*)を取得することができた。さらに、本鉄輸送体タンパク質(*TgVit1*)が液胞膜上に局在して、青色細胞だけに発現することを証明した。その結果、チューリップ花卉の青色発色には *TgVit1* の発現が必須であり、このタンパク質が青色細胞の液胞膜上に存在して鉄イオンを液胞内へ輸送することにより、花卉細胞が青色になることを証明することができた。

さらに、紫水晶以外の花底部が青い品種、計12種類と黄色および白色品種のチューリップ花卉の鉄蓄積と鉄輸送体の発現を解析した結果、チューリップ花底部には、花色にかかわらず上部の5~10倍の鉄イオンが蓄積し、これに特異的な鉄輸送体が普遍的に関与することを明らかにできた。

本論文は4章からなる。

第1章では、チューリップの花色研究を含めたアントシアニンによる青色発色機構の研究、および植物における鉄輸送機構の研究を概観し、研究課題について述べた。

第2章では、チューリップ紫水晶花卉の青色花底部からの鉄輸送体遺伝子(*TgVit1*)の取得研究とその遺伝子構造や他の植物の鉄輸送体遺伝子との相同性について述べた。シロイヌナズナの種子から単離された液胞型鉄輸送体遺伝子および酵母で報告されていた同遺伝子の塩基配列を参考にして、植物では2例目となる鉄輸送体遺伝子(*TgVit1*)を単離することができた。さらに、チューリップの組織および花卉の開花ステージにおける *TgVit1* mRNA の発現を調べ、本遺伝子が青色細胞だけに特異的に発現し、まだ花が色づく前のステージ1で最大であり、開花にともなって減少することや、アントシアニンの生合成系遺伝子とは異なる発現制御を受けていることを明らかにした。

第3章では、2章で単離した遺伝子の産物である *TgVit1* タンパク質の発現と機能解析を行った。本タンパク質は花底部の青色表皮細胞だけで発現し、それ以外の紫色細胞や葉、茎、根、球根などでは検出されないことを明らかにした。また、タンパク質の発現も花が色づく前のステージ1で最大であること、*TgVit1* が液胞膜に局在することを見出した。さらに *TgVit1* 遺伝子と同時に GFP も発現するように設計したベクターをパーティクルガンで紫水晶の上部の紫色花卉に打ち込んだ。すると、*TgVit1* が導入された証拠として蛍光を発する細胞が青色に変化した（図2）。細胞の青色化は、導入した遺伝子から鉄輸送タンパク質が生合成され、これが働いて鉄イオンが液胞へ運ばれた証拠である。さらに、液胞型鉄輸送体を欠損し鉄イオンの存在する培地では生育できない酵母へ *TgVit1* 遺伝子を導入したところ、耐性を復活して生育することも

わかった。これらの結果から、TgVit1 は青色細胞の液胞膜上に存在し、二価鉄イオンを液胞内へ輸送するタンパク質であること、この機能が花弁を青色化するのに必須であることを実証することができた。

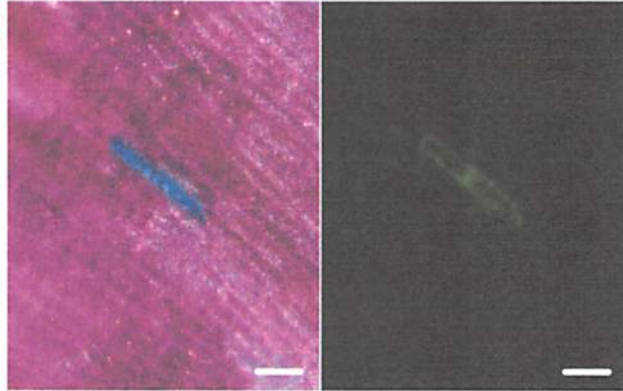


図2：紫水晶の紫色花弁上部への TgVit1-GFP 遺伝子の導入と細胞の色変化
左写真中央の青色に変化した細胞は右写真で緑色蛍光が認められた

第4章では、紫水晶以外の花底部の青いチューリップ12品種を含めた、15種類のチューリップの網羅的分析を行った。これら品種では、青色花底部のアントシアニンはすべてデルフィニジン 3-ルチノシド (1) であることを明らかにした。また、花弁の色に関わらず全ての分析した品種で、花底部の表皮細胞の鉄含量が上部に比べて高く、いずれも特異的に *TgVit1* mRNA が発現していることを明らかにした。このことは、花色と関係なく鉄蓄積機構が存在することを示唆する。さらに、今回得た分析値を元に青色花色の再現実験を行い、生理条件である 5 mM のデルフィニジン 3-ルチノシド (1) 存在下では、0.1 当量の鉄イオンと配糖化フラボノールの存在で十分に青色発色を実現することを明らかにした。このことはアントシアニンと鉄イオンの厳密なモル比で構成されているヤグルマギクのような超分子錯体形成とは異なるメカニズムの存在を示唆する。

第5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。植物ではシロイヌナズナに次いで液胞型鉄輸送体遺伝子の機能を明らかにすることができた。しかも、実際に目に見える青色発色という機能を鉄の組織特異的な蓄積と関連させて解明したものとしては初めてとなった。今回明らかにした知見は、今後の植物における鉄イオンの輸送と蓄積機構を明らかにする上でも重要なものと考えられる。