

# カーネーション白色花におけるアントシアニン生合成の制御

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者名	間藤,正美
発行元	農林水産技術情報協会
巻/号	22巻12号
巻号補足	
掲載ページ	p. 22-26
発行年月	1999年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## カーネーション白色花における アントシアニン生合成の制御

間藤 正美

秋田県農業試験場

カーネーションの象牙色がかかった白色花枝変わり品種および純白色に近い枝変わり品種について、フラボノイド分析、フラボノイド生合成にかかわる酵素遺伝子について、ノーザンハイブリダイゼーションおよびRT-PCRを行った。その結果、カーネーションの象牙色がかかった白色花品種と純白色に近い品種とでは、アントシアニン生合成の制御機構が異なり、フラボノイド成分の違いにより、それぞれ異なった色調の白色花品種となったと考えられた。さらにピンク花色についても、白色花に関連した知見が得られたので紹介する。

### 1. はじめに

花きの育種において、白色花の育成は有色花の育成とともに重要な育種目標になっている。白色花といっても純白色から象牙色まで存在している。冠婚葬祭の飾り花として白色花は需要が高く、純白色から象牙色まで用途によって使い分けられる。一般に白色花は赤色素のアントシアニンを蓄積せず、その中間産物の無色の色素や黄色味を帯びた色素を蓄積している。白い色素は存在しないが、組織内で起きている光の錯乱現象によって、花卉が白く見え、蓄積しているアントシアニン生合成中間産物の違いによって白色の質が異なる(齊藤, 1990)。従って、花色の異なる白色花を育種するために、さまざまな植物における白色花のアントシアニン生合成の制御について知る必要がある(図1)。白色花におけるアントシアニン生合成の制御機構については、キンギョソウ、ペチュニアおよびストックなどで詳細に調べられている(Martin and Gerats, 1992)。アントシアニン生合成にかかわる酵素(CHS, F3HあるいはDFR)の活性を

測定あるいはアントシアニン生合成の中間産物(ジヒドロフラボノールあるいはフラバン3,4-ジオール)を白色花に供与して、アントシアニンが合成されるかどうかをみる補足実験などにより、白色花におけるアントシアニン生合成のブロック位置が推定されている。さらに近年分子生物学の発展から、アントシアニン生合成にかかわる酵素をコードしている酵素遺伝子(CHS, F3H, DFRおよびANS)およびこれら遺伝子の働きを制御している転写調節因子などが単離されている。これら遺伝子をプローブに用いたノーザンハイブリダイゼーションおよび遺伝子の解析などにより、白色花のみならずピンク花および赤と白の複色花におけるアントシアニン生合成の制御機構について明らかになってきている。アントシアニン生合成の制御機構はさまざまで、アントシアニン生合成にかかわる酵素遺伝子(CHS, F3H, DFR, およびANS)自体に異常がみられる場合、これら酵素遺伝子の発現を調節している転写調節因子に異常があり、複数の酵素遺伝子の発現が抑制される場合などである。

しかし、キク、バラおよびカーネーションのような日本の三大消費花きの白色花におけるア

アントシアニン生合成の制御機構については研究が遅れている。本研究ではカーネーションの白色花、特に純白色に近い花色の‘ホワイトマインド’および‘カリー’と象牙色に近い花色の‘ホワイトシム’および‘ユーコンシム’について、フラボノイド（アントシアニン生合成の中間産物で無色から黄色の色素）分析およびフラボノイド生合成にかかわる酵素遺伝子（*CHS*, *F3H*, *DFR*および*ANS*）についてノーザンおよびRT-PCR解析を行い、カーネーション白色花のアントシアニン生合成の制御機構について明らかにしようとした。同様な方法で、カーネーションのピンク花についても、得られた知見を紹介する。

## 2. カーネーション白色花におけるアントシアニン生合成の制御

これまでにカーネーション白色花におけるアントシアニン生合成の制御については、白色花の‘バージニー’について調べられている (Stich et al., 1992)。*‘バージニー’*では*DFR*の酵素活性の欠損によって、アントシアニンが生成されず、白色花になっていることが知られている。さらに、カーネーションの白色花でも純白色に近い花色の‘ホワイトマインド’および‘カリー’と象牙色がかった花色の‘ホワイトシム’および‘ユーコンシム’が存在するため、キンギョソウ、ペチュニアおよびストックのように、異なったアントシアニン生合成の制御機構の存在する可能性がある。そこで、分子生物学的手法を用いて、以下の実験を行った。

### 1) 象牙色に近い白色花 ‘ホワイトシム’ および ‘ユーコンシム’

象牙色がかった白色花の‘ホワイトシム’および‘ユーコンシム’についてフラボノイド分析を行った結果、これらの品種にフラボノールの蓄積が認められた (図1) (Onozaki et al., 1999, Mato et al., in press)。この結果より、‘ホ

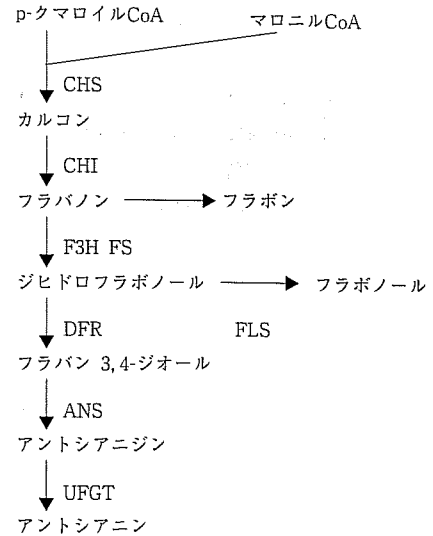


図1 アントシアニン生合成経路

ワイトシム’および‘ユーコンシム’はアントシアニン生合成酵素遺伝子の*DFR*か*ANS*の一方もしくは両方の欠損あるいは抑制が考えられた。

これを明らかにするために、赤色品種の‘スケニア’をコントロールに用い、‘ホワイトシム’および‘ユーコンシム’について、ステージを追ってノーザンおよびRT-PCR解析を行った (図2, 3) (Mato et al., in press)。ノーザン解析の結果、‘スケニア’では蕾発育ステージの全期間を通じて、*CHS*および*F3H*遺伝子の発現が認められ、蕾発育ステージ3以降*DFR*および*ANS*遺伝子の発現が認められた。一方象牙色がかった白色花2品種では*DFR*および*ANS*の発現は蕾発育ステージの全期間を通じて検出できず、さらに蕾発育の後期ステージで、*CHS*および*F3H*遺伝子の発現の抑制が認められた。象牙色がかった白色花で*DFR*および*ANS*遺伝子自体が欠損しているのか、転写調節因子によって抑制されているのかを推定するために、これらの遺伝子についてRT-PCR解析を行った (図3)。その結果、蕾発育の後期ステージで*DFR*および*ANS*遺伝子の発現が認められ、これら遺伝子がわずかながら発現していると考えられることから、これらの遺伝子は象牙色がかった白色花で

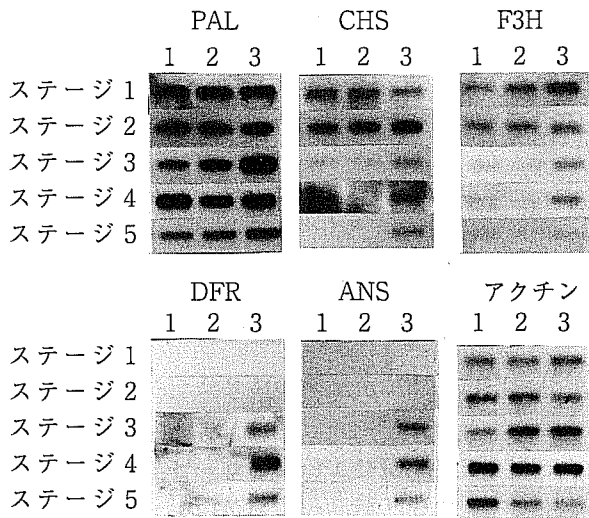


図2 蕾生育ステージにおけるPAL, CHS, F3H, DFRおよびANSのcDNAをプローブに用いたノーザンブロット分析

ステージ1: 萼が開く前の20mmの蕾, ステージ2: 萼が開いた25mmの蕾, ステージ3: 萼から1mm花弁が出た蕾, ステージ4: 萼から5mm花弁が出た蕾, ステージ5: 萼から10mm花弁が出た蕾, レーン1: 'ユーコンシム', 2: 'ホワイトシム', 3: 'スケニア', PAL: フェニルアラニンアンモニリアーゼ(アントシアニン合成)より前のフェニルプロパイド合成に関与, アクチン: コントロール



図3 蕾生育ステージ4におけるRT-PCR解析

レーン1: 'ユーコンシム', 2: 'ホワイトシム', 3: 'スケニア'

抑制されていると考えられた。この結果より、象牙色がかかった白色花においては蕾生育ステージ後期のフラボノイド合成遺伝子の発現を調節している転写調節因子に異常があり、*CHS*, *F3H*, *DFR*および*ANS*遺伝子の発現が蕾生育ステージの後期に抑制されていると推定された。従って、これら象牙色がかかった白色花品種では、*CHS*, *F3H*, *DFR*および*ANS*遺伝子の発現が蕾生育ステージの後期に抑制され、とくに全生育期間を通じて*DFR*および*ANS*遺伝子がほとんど発現していないために、赤色色素のアントシ

アニンが生成されずに、淡い黄色色素のフラボノールが蓄積し、象牙色がかかった白色花になったと考えられた。この結果は、'バージニー'で報告されている*DFR*の酵素欠損とは異なったアントシアニン合成の制御であった。

## 2) 純白花色に近い品種 'カリ' および 'ホワイトマインド'

象牙色がかかった白色花品種同様に純白色に近い白色花についても、フラボノイド色素分析を行った。その結果、純白色に近い花色の 'カリ' では、象牙色がかかった白色花品種で蓄積していたフラボノールが減少し、代わりにフラバノンが蓄積していた。一方、純白色に近い花色の 'ホワイトマインド' ではフラボノイドの蓄積がほとんど認められなかった (図1) (Onozaki et al., 1999, Mato et al., in press)。この結果より、'カリ' では*F3H*遺伝子の欠損あるいは抑制、'ホワイトマインド' では*CHS*遺伝子あるいはフラボノイド合成以前の酵素遺伝子が欠損あるいは抑制されていると考えられた。

これを明らかにするために 'カリ' および 'ホワイトマインド' についてもノーザンおよびRT-PCR解析を行った (図4, 5) (Mato et al., in press)。ノーザン解析の結果、'カリ' では象牙色がかかった白色花同様*CHS*, *DFR*および*ANS*遺伝子の発現が、蕾生育ステージの後期で抑制され、それに加えて*F3H*遺伝子の発現が蕾生育ステージの初期および後期ともに認められなかった。これが*F3H*遺伝子の欠損によるのか抑制によるのかを明らかにするためにRT-PCR解析を行った (図5)。その結果、*F3H*遺伝子の発現が認められなかった。従って、'カリ' では*F3H*遺伝子が発現していないために、無色のフラバノンが蓄積し、淡い黄色色素のフラボノールが蓄積しなくなったために、純白色に近い花色になったと考えられた。*F3H*の変異についてはピンク花色の 'ノラ' で翻訳レベルで制御されている例や、白色に赤色のストライプの

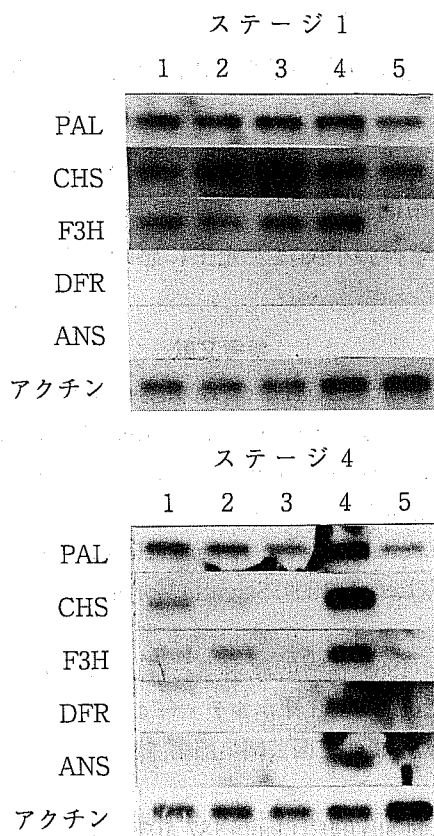


図4 蕾ステージ1および4におけるPAL, CHS, F3H, DFR およびANSをプローブに用いたノーザンブロット解析

入った‘アラジン’の転写レベルでの制御が知られている (Dedio et al., 1995)。「カリー」でのF3Hの変異はピンク花色の‘ノラ’およびストライプの‘アラジン’と異なっていた。一方、‘ホワイトマインド’では、象牙色がかった白色花同様CHS, F3H, DFRおよびANS遺伝子の蕾発育ステージの後期で抑制されていたが、その他の違いは見られなかった。フラボノイドの蓄積が認められなかったことから、CHSより前の生合成過程で制御されていると考えられたが、本研究からはこれ以上のことは分からなかった。

### 3. ピンク花色

ピンク花色についても赤色品種と比較するとアントシアニン含量の減少が見られることから、白色花同様、アントシアニン生合成でさま

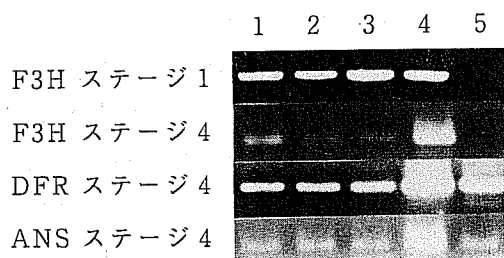


図5 蕾生育ステージ1および4におけるF3H, DFRおよびANSのRT-PCR解析

レーン1: ‘ホワイトマインド’, レーン2: ‘ユーコンシム’, レーン3: ‘ホワイトマインド’, レーン4: ‘スケニア’, レーン5: ‘カリー’

ざまな変異が存在すると考えられる。そこで、白色花と同様の研究を行った。その結果、ピンク花色の‘ロリータ’ではF3H遺伝子がノーザン解析では検出されず、RT-PCR解析では検出された。一方‘ダスティー’ではANS遺伝子の発現がノーザン解析では検出されず、RT-PCR解析では検出された。また、その他の品種でもノーザン解析で検出されたものの、かなりDFRおよびANS遺伝子の発現が抑制されている場合が多かった。これらピンク花色品種のアントシアニン生合成における制御は前の章で述べた‘ノラ’におけるF3H遺伝子の翻訳レベルでの抑制と異なっていた。また、ピンク花色でも質の違いがあり、サーモンピンク色、ライトピンク色、ラベンダー色およびライラック色では、アントシアニンの種類が異なっていることが報告されてる (山口, 1991)。それぞれ、ペラルゴニジン3-グルコシド, ペラルゴニジン3,5-ジグルコシド, シアニジン3-グルコシドおよびシアニジン3,5-ジグルコシドが対応しているとのことである。以上のように、ピンク花色においても白色花同様さまざまな変異が考えられ、今後の研究でさらに新たな変異体が見つかることが期待される。

### 4. おわりに

色素分析および分子生物学的手法により、

カーネーション白色花におけるアントシアニン生合成における制御機構が推定された。

近年、アントシアニン生合成にかかわる酵素遺伝子をアンチセンスやセンス方向で有色花に導入し、花色を抑える試みがなされている(田中, 1998)。今後、目的の白色花(純白色あるいは象牙色)およびピンク花を遺伝子導入などで育成する場合、どのような遺伝子を導入すればよいのかなど考えるのに、今回のカーネーションで得られた知見は役立つと考えられる。

また、放射線照射やイオンビームによる突然変異育種なども行われている。この手法で有色花から目的の白色花を育成するのに、有色花に含まれるアントシアニン生合成中間産物を分析し、使用する有色花を選ぶのに今回カーネーションで得られた知見は役立つと考えられる。

また、有色花を育成する場合にもアントシアニンとその中間生成物の組み合わせにより、色調が異なってくる(斉藤, 1988)。有色花との交雑に白色花を用いる場合および白色花に遺伝子を導入し有色花を育成する場合にも、白色花のフラボノイド組成を知っておくことは重要と考える。

## 謝辞

本研究は科学技術特別研究員として野菜・茶業試験場、育種法研究室で行った研究で、ご指導いただいた柴田道夫室長に感謝いたします。また、技術的指導いただいた東京農工大学工学部生命工学科の小関良宏先生に感謝いたします。

## 参考文献

- Dedio, J. et al. (1995) Theor. Appl. Genet. 90:611-617.  
 Martin, C. and Gerats, T. (1992) Jordan, B. Ed., Molecular Biology of Flowering, CAB International, Wallingford, pp.219-255.  
 Mato, M., et al. (in press) Scientia Horticulturae.  
 Onozaki, T. et al. (1999) Scientia Horticulturae. 82: 103-111.  
 斉藤規夫(1988)植物色素, 林孝三編, 養賢堂, pp. 268-299.  
 斉藤規夫(1990)バイオホルティ4, 培養と変異 白色花の育種, 農耕と園芸編集部編, 誠文堂新光社, pp. 49-55.  
 Stich, K. et al. (1992) Planta 187, 103-108.  
 田中良和(1998)日本農薬学会誌, 23:322-328.  
 山口雅篤(1991)バイオホルティ7, 毛状根と形質転換 複色花の育種, 農耕と園芸編集部編, 誠文堂新光社, pp. 75-79.

〒010-1426 秋田県秋田市仁井田字小中島111

## コーヒーブレイク

### 「腹もち」を英語では？

「はらもち」は正統な日本語なのでしょう。広辞苑に「食物の消化がおそく、腹の中に長いあいだ保つこと」とあります。これを英語でなんというか、研究社の和英辞典をひいても出ていません。でも、あるのです。アフリカを歩いたとき、どうしてアフリカ特有の米 *Oryza glaberrima* が普通の *O. sativa* よりも好まれるのかを尋ねると、「belly-filling」がよいからとの答えが帰ってきました。1日に1食しか食べない大勢の人にとって、腹もちが良いかどうかは切実な問題なのです。スリランカでは、粳のまま蒸して乾かした後に脱穀精米したパーボイルドライスの前夜に調達して、朝食は冷えたその御飯を食べることが広く行われています。その方が重労働をする午前中空腹にならないのだそうです(ここでは

1日1食ではないのですが)。わずかな栄養でおなかがすかない御飯を「ダイエットに適している」と飽食の世代の方は考えられるかも知れません。でも私などは、「国民学校」の生徒たちが水道の蛇口に走って、水腹でひもじさをまぎらわした日々を思い出します。余っているように見えるお米は、本当に余っているのでしょうか。「はらもち」が稲育種の主要目標になるような日が来ないよう願うことしきりです。

ちなみに、友人たちに聞いても「みずばら」の英語は思い付かないそうです。少しの食物をお腹に入れて、あとは水を飲んでごまかすことは、南の国の貧しい人の間では、今も広く行われているようです。

(村田伸夫)