



キク科植物の花弁におけるカロテノイドに関する研究

岸本, 早苗

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2006-04-21

(Date of Publication)

2014-10-10

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2884

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002884>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 3 4 1 】

氏 名・(本 籍) 岸本 早苗 (福島県)

博士の専攻分野の名称 博士(農学)

学 位 記 番 号 博ろ第72号

学位授与の 要 件 学位規則第5条第1項該当

学位授与の 日 付 平成18年4月21日

【 学位論文題目 】

キク科植物の花弁におけるカロテノイドに関する研究

審 査 委 員

主 査 教 授 稲垣 昇
教 授 中西 テツ
教 授 安田 武司
助教授 金地 通生

(別紙様式3)

論文内容の要旨

氏名 岸本 早苗

論文題目 キク科植物の花弁におけるカロテノイドに関する研究

キク花弁中に存在する色素は主にカロテノイドとアントシアニンである。カロテノイドとアントシアニン両方を含む橙色品種はアントシアニンの発現が環境条件に対して不安定であるため橙色を安定させることが難しいという生産者側の理由と、花弁の明度が低く、特に蛍光灯下ではくすんで見えるために好まれないという消費者側の理由から普及していない。従って、アントシアニンの関与しないカロテノイドのみによる鮮やかな橙色品種を作ることができればこれらの問題を解決することができると考えられる。また、キクの黄色品種は仏事での需要が多いため重要であるが、一般的に黄色品種は白色品種よりも性質が劣る傾向があり、高品質な黄色品種が求められている。黄色花色と白色花色を決定する要因を明らかにし、白色品種の性質を変えずに花色のみを黄色にすることが可能になれば今後の品種開発に大きく貢献する。そこで、本研究ではキクを含むキク科植物のカロテノイド構成を明らかにし、さらにカロテノイドによる花色発現を制御する遺伝的要因を明らかにすることを試みた。

第1章ではキク花弁におけるカロテノイド成分、総カロテノイド量、および総アントシアニン量と花色との関係を分析した。

淡黄色～濃赤色のキク12品種の花弁中に含まれるカロテノイド成分をHPLCにて分析を行ったところ、構成成分に品種間差はなかった。また、それぞれのカロテノイド成分の色調には差がなく、含まれている成分の割合の差がカロテノイド全体の色調に影響を及ぼすことはないため、キク花弁においてカロテノイドが関与する色調は総量の違いによって作り出される淡黄色から濃黄色までの範囲であると推測された。これらの成分とカロテノイド標品との比較をおこなったが、同定できた成分は lutein のみであった。橙色～濃赤色の品種にはいずれもアントシアニンおよびカロテノイドが含まれており、これらの品種の色調はすべて両色素の重なりによって作られていた。

キク花弁に含まれるカロテノイド成分を NMR 分析に供試し、16種のキサントフィル類を同定した。これらのうち、(3S,5S,6R,3'R,6'R)-5,6-dihydro-5,6-dihydroxylutein はこれまでに天然物として報告のない新規カロテノイドであった。また、様々なシス構造を持つ化合物が検出された。Lutein-5,6-epoxide のシス体である (9Z,13'Z)-, (13Z,9'Z)-, (9'Z,13'Z)-, (9Z,13Z)- および (9Z,9'Z)-lutein-5,6-epoxide は天然物として新規カロテノイドであった。植物の光合成器官では β,β -carotenoid 類である violaxanthin や zeaxanthin などが一般的に主要な成分として検出されるが、キク花弁に含まれるカロテノイドは(9Z)-violaxanthinを除き92%以上が β,ϵ -carotenoid類であった。以上のことから、キク花弁に含まれるカロテノイドは非常に特徴的な構成であることが明らかになった。

第2章ではキク花弁のカロテノイドによる花色発現を制御する遺伝的要因を明らかにすることを試みた。

キク白色品種および黄色品種における花弁と葉のカロテノイド成分、カロテノイド含量、およびカロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現について解析を行った。花弁では全カロテノイドの92%以上が β,ϵ -carotenoid類であったが、葉では43%であり、 β,β -carotenoid類が β,ϵ -carotenoid類よりも高い割合で含まれていた。生合成系酵素遺伝子の発現を見ると、葉ではLCYBの発現量がLCYEの発現量より多かったが、逆に花弁では発達初期からLCYEの発現量がLCYBの発現量より遙かに多く、このことが葉と花弁の β,β -carotenoid類と β,ϵ -carotenoid類の蓄積割合の差の原因となっていると考えられた。また、黄色品種と白色品種のカロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現を比較したところ、発現量の多少はあったもののいずれの遺伝子も花色に関わらず発現していた。イエローパラゴン(黄色)ではPSY, PDS, ZDS, CRTISO, LCYB, LCYE およびCHYB遺伝子の発現量が花弁の発達ステージ後半に増加した。これは花弁でのカロテノイド量の増加傾向と一致していた。一方、カロテノイドをほとんど蓄積しないパラゴン(白色)においてもこれらの酵素遺伝子は同様の傾向を示した。唯一パラゴン花弁でのカロテノイドの動態と一致した傾向を示したのはDXSであった。しかし、白色品種であるホワイトマーブルは調査を行った全ての遺伝子において黄色品種であるフロリダマーブル(ホワイトマーブルの枝変わり品種)と同等の発現量を示していた。このことから、カロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現量の多寡によって白色品種と黄色品種の花弁におけるカロテノイド蓄積量の違いを説明することはできなかった。

パラゴン(白色)とその枝変わり品種であるイエローパラゴン(黄色)の花弁を材料に用いたディフレンシャルスクリーニングにより、パラゴン花弁に特異的に発現している遺伝子として単離されたカロテノイド分解酵素ホモログ *CmCCD1* が、白色の形成に関わっている可能性が考えられた。そこで、*CmCCD1* の発現解析を行い、花色との関係を調査した。調査を行った全ての白色品種の花弁において *CmCCD1* は高い発現を示したが、黄色品種の花弁においては検出限界以下であった。また、*CmCCD1* の発現は花弁特異的であり、葉、茎、および根ではほとんど発現していなかった。以上のことから、白色品種ではカロテノイドが生合成されると同時に *CmCCD1* によって無色の物質に分解されるために白色花弁が形成されると考えられた。

第3章では鮮やかな橙色花色を示すキク科植物の鮮やかさの理由を明らかにするために、カロテノイド成分、総カロテノイド量、および総アントシアニン量と花色との関係を調査した。

鮮やかな橙色品種を持つキク科植物9種の橙色品種と黄色品種の花色の違いにはアントシアニン量の差、カロテノイドの量の差およびカロテノイド成分の差という3つの要因が関わっていることが明らかになった。キバナコスモスやガーベラの橙色品種はキク同様にアントシアニンとカロテノイドの重なりによって橙色花色を作り出していたが、明度が高く、鮮やかな花色であった。これらとキクを比較した結果、キク花弁はアントシアニンによる赤みの着色効率が悪く、橙色と認識されるためにはより多くの量が必要であるが、同時に、この多量のアントシアニンが明度の低下を引き起こすため、結果として不鮮明になっているということが明らかになった。従って、今後鮮やかな橙色のキクを目指すためには花弁に含まれるカロテノイド量を増加させるか、もしくはキンセンカのように赤みの強いカロテノイドを蓄積させるという方向に改良を行うことが適切であると考えられた。

そこでキンセンカの橙色品種および黄色品種に含まれるカロテノイド成分を同定し、橙色品種にのみ赤みの強いカロテノイドが蓄積する機構を明らかにすることを試みた。解析の結果、橙色品種および黄色品種から19種のカロテノイドが同定されたが、これらのうち10種は橙色品種にのみ存在する成分であった。このうち、6種類のカロテノイドが5位もしくは5'位にシス構造を持っていた。(5*Z*,9*Z*,5'*Z*,9'*Z*)-lycopene, (5*Z*,9*Z*,5'*Z*)-lycopene, (5*Z*,9*Z*)-lycopene, および(5'*Z*,9'*Z*)-rubixanthin は天然物として新規のカロテノイドであった。キンセンカ花弁には橙色品種のみに5位を異性化する酵素活性が存在し、橙色品種に特有なカロテノイドの蓄積に関与している可能性が示された。

(別紙1)

論文審査の結果の要旨

氏名	岸本 早苗		
論文 題目	キク科植物の花弁におけるカロテノイドに関する研究		
審査 委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	稲垣 昇
	副 査	教授	中西 テツ
	副 査	教授	安田 武司
	副 査	助教授	金地 通生
要 旨			
<p>キク花弁中に存在する色素は主にカロテノイドとアントシアニンである。カロテノイドとアントシアニン両方を含む橙色品種はアントシアニンの発現が環境条件に対して不安定であるため橙色を安定させることが難しいという生産者側の理由と、花弁の明度が低く、特に蛍光灯下ではくすんで見えるために好まれないという消費者側の理由から普及していない。従ってアントシアニンの関与しないカロテノイドのみによる鮮やかな橙色品種を作ることが出来ればこれらの問題を解決できる。また、キクの黄色品種は仏事での需要が多いため重要であるが、一般的に黄色品種は白色品種よりも耐病性などの形質が劣る傾向があり、高品質な黄色品種が求められている。黄色花色と白色花色を決定する要因を明らかにし、白色品種の性質を変えることなく花色のみを黄色にすることが可能ならば今後の品種開発のための大きな貢献となる。そこで、本研究ではキクを含むキク科植物のカロテノイド構成を調査し、カロテノイドによる花色発現を制御する遺伝的要因を明らかにすることを試みた。本論文は3章から構成されている。</p> <p>第1章では、淡黄色から濃黄色にわたるキク品種の花弁の色調と、カロテノイド成分、総カロテノイド量、および総アントシアニン量との関係を解析した。</p> <p>淡黄色～濃赤色を示すキク12品種の花弁のカロテノイド成分をHPLCにて分析を行ったところ、構成成分に品種間差はなかった。また、それぞれのカロテノイド成分の色調には差がなく、含まれている成分の割合の差がカロテノイド全体の色調に影響を及ぼすことはないため、キク花弁においてカロテノイドが関与する色調は総量の違いによって作り出される淡黄色から濃黄色までの範囲であると推測された。これらの成分とカロテノイド標品との比較をおこなったが、同定できた成分はluteinのみであった。橙色～濃赤色の品種にはいずれもアントシアニンおよびカロテノイドが含まれており、これらの品種の色調はすべて両色素の重なりによって作られていた。そこで、NMR分析により不明な成分の構造決定を行ったところ、16種のキサントフィル類を同定した。これらのうち、(3<i>S</i>,5<i>S</i>,6<i>R</i>,3'<i>R</i>,6'<i>R</i>)-5,6-dihydro-5,6-dihydroxyluteinはこれまでに天然物として報告のない新規カロテノイドであった。また、様々なシス構造を持つ化合物が検出された。Lutein-5,6-epoxideのシス体である(9<i>Z</i>,13'<i>Z</i>)-, (13<i>Z</i>,9'<i>Z</i>)-, (9'<i>Z</i>,13'<i>Z</i>)-, (9<i>Z</i>,13<i>Z</i>)-および(9<i>Z</i>,9'<i>Z</i>)-lutein-5,6-epoxideは天然物として新規カロテノイドであった。植物の光合成器官ではβ,β-carotenoid類であるviolaxanthinやzeaxanthinなどが一般的に主要な成分として検出されるが、キク花弁に含まれるカロテノイドは(9<i>Z</i>)-violaxanthinを除き92%以上がβ,ε-carotenoid類であった。以上のことから、キク花弁に含まれるカロテノイドは非常に特徴的な構成であることが明らかになった。</p> <p>第2章では、キク花弁のカロテノイドによる花色発現を制御する遺伝的要因を明らかにすることを試みた。キク白色品種および黄色品種における花弁と葉のカロテノイド成分、カロテノイド含量、およびカロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現について解析を行った。花弁では全カロテノイドの92%以上がβ,ε-carotenoid類であったが、葉では43%であり、β,β-carotenoid類がβ,ε-carotenoid類よりも高い割合で含まれていた。生合成系酵素遺伝子の発現を見ると、葉では<i>LCYB</i>の発現量が<i>LCYE</i>の発現量より多かったが、逆に花弁では発達初期から<i>LCYE</i>の発現量が<i>LCYB</i>の発現量より遙かに多く、このことが葉と花弁のβ,β-carotenoid類とβ,ε-carotenoid類の蓄積割合の差の原因となっていると考えられた。</p>			

また、黄色品種と白色品種のカロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現を比較したところ、発現量の多少はあったもののいずれの遺伝子も花色に関わらず発現していた。イエローパラゴンでは *PSY*, *PDS*, *ZDS*, *CRISO*, *LCYB*, *LCYE* および *CHYB* 遺伝子の発現量が花卉の発達ステージ後半に増加した。これは花卉でのカロテノイド量の増加傾向と一致していた。一方、カロテノイドをほとんど蓄積しないパラゴンにおいてもこれらの酵素遺伝子は同様の傾向を示した。唯一パラゴン花卉でのカロテノイドの動態と一致した傾向を示したのは *DXS* であった。しかし、白色品種であるホワイトマーブルでは *DXS* だけでなくその他の酵素遺伝子もフロリダマーブル（ホワイトマーブルの枝変わり品種）と同等の発現量を示していた。このことから、カロテノイド生合成系酵素遺伝子の発現量の多寡によって白色品種と黄色品種の花弁におけるカロテノイド蓄積量の違いを説明することはできなかった。パラゴン（白色）とその枝変わり品種であるイエローパラゴン（黄色）の花弁を材料に用いたディファレンシャルスクリーニングにより、パラゴン花弁に特異的に発現している遺伝子として単離されたカロテノイド分解酵素ホモログ *CmCCD1* が、白色の形成に関わっている可能性が考えられた。そこで、*CmCCD1* の発現解析を行い、花色との関係を調査した。調査を行った全ての白色品種の花弁において *CmCCD1* は高い発現を示したが、黄色品種の花弁においては検出限界以下であった。また、*CmCCD1* の発現は花卉特異的であり、葉、茎、および根ではほとんど発現していなかった。以上のことから、白色品種ではカロテノイドが生合成されると同時に *CmCCD1* によって無色の物質に分解されるために白色花弁が形成されると考えられた。

第3章では鮮やかな橙色花色を示すキク科植物の鮮やかさの要因を明らかにするために、カロテノイド成分、総カロテノイド量、および総アントシアニン量と花色との関係を調査した。鮮やかな橙色品種をもつキク科植物9種の橙色品種と黄色品種の花色の違いにはアントシアニン量の差、カロテノイドの量の差およびカロテノイド成分の差という3つの要因が関わっていることが明らかになった。キバナコスモスやガーベラの橙色品種はキク同様にアントシアニンとカロテノイドの重なりによって橙色花色を作り出していたが、明度が高く、鮮やかな花色であった。これらとキクを比較した結果、キク花弁はアントシアニンによる赤みの着色効率が悪く、橙色と認識されるためにはより多くの量が必要であるが、同時に、この多量のアントシアニンが明度の低下を引き起こすため、結果として不鮮明になっているということが明らかになった。従って、今後鮮やかな橙色のキクを目指すためには花弁に含まれるカロテノイド量を増加させるか、もしくはキンセンカのように赤みの強いカロテノイドを蓄積させるという方向に改良を行うことが適切であると考えられた。そこでキンセンカの橙色品種および黄色品種に含まれるカロテノイド成分を同定し、橙色品種にのみ赤みの強いカロテノイドが蓄積する機構を明らかにすることを試みた。解析の結果、橙色品種および黄色品種から19種のカロテノイドが同定されたが、これらのうち10種は橙色品種にのみ存在する成分であった。このうち、6種類のカロテノイドが5位もしくは5位にシス構造を持っていた。このうち、(5*Z*,9*Z*,5'*Z*,9'*Z*)-lycopene, (5*Z*,9*Z*,5'*Z*)-lycopene, (5*Z*,9'*Z*)-lycopene, および (5*Z*,9'*Z*)-rubixanthin は天然物として新規のカロテノイドであった。キンセンカ花弁には橙色品種のみに5位を異性化する酵素活性が存在し、橙色品種に特有なカロテノイドの蓄積に関与している可能性が示された。

以上のように、本研究は、キクの育種にとって重要な花色発現、なかでもキクが有する多様で鮮やかな色彩を演出するカロテノイド系色素の花色発現の分子機構を生化学、分子生物学および分子遺伝学的な面から明らかにし、実際栽培および育種にとって重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。

よって、学位申請者 岸本早苗は、博士(農学)の学位を得る資格があると認める。

- ・特記事項
- ・特許登録数 0 件
- ・発表論文数 12 編