

## ベタレイン合成経路導入による新規花色アサガオ作出に関する研究

澁谷 美乃里 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 小野 道之 (筑波大学 生命環境系)

## 背景・目的

アサガオ(*Ipomoea nil*)は日本独自に発展した園芸植物である。江戸時代にはさまざまな色や形をしたアサガオが作られ、現在のナショナルバイオリソース(NBRP)にも保存されている。一方で、江戸時代の文献には残されているが、現存しないものもある。黄花のアサガオもその一つで、図版は多数見られるが現存しない。そのため、黄花のアサガオの作出は育種家の夢となっている。

植物色素はフラボノイド、カロテノイド、ベタレイン、クロロフィルの4種の化合物に分類することができる。クロロフィル以外の3種の色素は黄色の化合物を含む。フラボノイドは最も広く植物界全体にみられる色素であり、アサガオは赤から紫色を呈するフラボノイドの一種のアントシアニンを花卉で合成する。先行研究において、フラボノイドの一種であるオーロンの合成やカロテノイドの蓄積による黄花アサガオの作出が行われたが、薄い黄色にとどまっている。

ベタレインはチロシンを出発物質として合成される二次代謝産物であり、黄色のベタキサンチンと赤色のベタシアニンに分類される。2016年までに主要な合成経路とその酵素遺伝子が明らかとなった。理論的にはベタキサンチン合成には2つの遺伝子、ベタシアニン合成には3つの遺伝子を導入することで合成経路の導入が可能である。ベタレインはナデシコ目の限られた植物のみで合成される。アントシアニンとベタレインの合成はナデシコ目においては互いに排他的であり、両方の色素を合成する植物は自然界に存在しない。そのため、ベタレインとアントシアニンの両方を花卉で合成させることで、新規花色花卉作出が期待できる。本研究では、アサガオが本来合成しないベタレインの合成経路を遺伝子組換え技術により導入することで新規花色アサガオの作出を目的とする。

## 材料

植物材料はアントシアニン合成に関わる酵素 *DFR-B* (*dihydroflavonol 4-reductase*)の変異体で白花のアサガオ系統 AK77 を用いた。ベタキサンチン合成にはビート(*Beta vulgaris*)由来の *BvCYP76AD6* とオシロイバナ(*Mirabilis jalapa*)由来の *MjDOD(DOPA 4,5-dioxygenase)*、ベタシアニン合成には *MjDOD* とビート由来の *BvCYP76AD1*、オシロイバナ由来の *MjcDOPA5GT(cyclo-DOPA-5-O-glucosyltransferase)* を、それぞれカリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターで恒常的に発現させた。また、形質転換体選抜のためにカナマイシン耐性遺伝子を用いた。さらに、アントシアニン合成に関わる *DFR-B* よりも上流の酵素や、転写因子の変異体である白花のアサガオ系統 Q0260, Q0261, Q0263, Q1211 を用いて、得られた形質転換体と交配を行った。

## 方法

アサガオの組織培養した不定胚に対してアグロバクテリウム法により目的遺伝子を導入した。アサガオの不定胚はアグロバク

テリウムと2日間共存培地で培養した後、カナマイシン等を含む選択培地に移植し、2-3週間後にサイトカニン等を含むシュート誘導培地に移植した。個体が再生したらPCR解析によって目的遺伝子の導入を確認した。目的遺伝子の導入が確認できた個体は順化させ、短日条件下での栽培による開花を誘導して表現型を確認した。必要に応じて、形質転換体と他のアサガオ系統との交配を行った。

## 結果

## 1. 形質転換体の表現型

詳細は発表会にて報告する。

## 2. 他のアサガオ系統との交配

現在、交配により得られた種子を播種し、F1を栽培中。

## 考察・展望

HPLC解析により花卉で合成された色素の定性、定量を行う。色素の合成量の増加を目指し、形質転換体に導入したコンストラクトの改良を行う。

## 謝辞

ベタレイン合成経路のコンストラクトを提供いただいた、岩手生物工学研究センター 西原昌宏博士、ベタレインのHPLC解析を行っていただいた、東洋大学 佐々木伸大博士、アサガオの種子を提供いただいた、NBRP 九州大学 仁田坂英二博士に御礼申し上げます。