

## ベタレイン生合成経路遺伝子の導入によるアサガオの花色改変

檜垣 愛理 (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】

青いバラに代表されるように、近年遺伝子組換え技術によって本来その植物が持ち得ない色の花を咲かせる研究が盛んに行われている。アサガオ(*Ipomoea nil*)は日本独自に発達した園芸植物であり、全ゲノム解読、形質転換体・ゲノム編集方法が確立された花き研究におけるモデル植物である。さらに、江戸時代から様々な色や模様の変異系統が鑑賞され、現代まで維持されてきたこともアサガオの特徴である。一方で、江戸時代の図版には残されていても現存しないものもあり、中でも黄花のアサガオは「幻のアサガオ」と呼ばれ育種家・愛好家の夢とされている。本研究の最大の目標は、遺伝子組換え技術によって幻の黄花アサガオを現代に再現することである。

植物の花弁で黄色を発色する色素にはフラボノイド、カロテノイド、ベタレインの3種がある。先行研究において、フラボノイドの一種であるオーロンやカロテノイドの蓄積による黄花アサガオが作出されたが、それらは薄い黄色に留まっている。そこで、本研究室ではベタレインに着目した黄花アサガオの作出が試みられてきた。ベタレインとはナデシコ目の限られた植物でのみ生合成される色素であり、黄色のベタキサンチンと赤色のベタシアニンに大別される。これまでにベタキサンチン生合成経路に関わる2つの遺伝子を導入した薄黄色の花を咲かせる系統を得たが、色素濃度が低く、ベタキサンチンの構造決定には至っていない。さらにベタキサンチン生合成の中間産物であるL-DOPAの蓄積が原因と考えられる生育障害が問題となっている。そこで本研究では、導入するベクターの改良を行い、これらの問題をクリアした形質転換体の作出を目指した。

さらに、アサガオ花弁液胞内でのアントシアニンとベタレインの混色についても検証を行った。アサガオは元々フラボノイドの一種であるアントシアニンを花弁で合成する。アントシアニンとベタレインは共通の物質から生合成されて液胞に蓄積するが、両方の色素を生産する植物は自然界に存在せず、これらの2種の色素の液胞における共存は観察されてこなかった。しかし、本研究を通してベタキサンチンとアントシアニンの両者を生産するようになった形質転換体が得られており、その花弁のプロトプラストを単離し観察することで2種の色素が細胞内でどのように共存するのか検討した。

また、交配や遺伝子組換えによって自然界では出会わなかった2種の色素を混色させることで、黄色以外にもこれまでにない色調の花弁の作出を試みた。

## 【材料】

植物材料として、白花変異体系統 AK77[アントシアニン生合成系酵素 *DFR-B* (*dihydroflavonol 4-reductase*) のトランスポゾンによる変異体]を背景にビート (*Beta vulgaris*) 由来の *BvCYP76AD6* およびオシロイバナ (*Mirabilis jalapa*) 由来の *MjDOD* (*DOPA 4,5-dioxygenase*) を導入することで作出された形質転換体系統を用いた。

導入ベクターの改良にはビート由来の *BvCYP76AD6* および *BvDOD*、新たに *ADHa* (*alcohol dehydrogenase* の一種) を発現させる遺伝子 *BvADHa* を使用した。

## 【方法】

## (1) 黄花作出用ベクターの改良

ビート由来の3つのベタキサンチン生合成経路遺伝子を花弁特異的プロモーター *pInAP1*、*pInAP3*、*pInMYB1*、*pF3H* およびカリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターで発現させるベクターを設計した。作成には Invitrogen 社 MultiSite Gateway Three-Fragment Vector Construction Kit を使用した。

## (2) アントシアニンとベタキサンチンの細胞内共存の検証

アントシアニンの復帰変異系統 BX#3-6-5 の花弁よりプロトプラストを単離し、顕微鏡下で蛍光観察を行った。

## (3) 交配および遺伝子組換えによる色素の混色化

黄花系統と非形質転換体系統の交配による混色化および、園芸品種の不定胚に対するアグロバクテリウム法による形質転換による混色化を試みた。

## 【結果・考察】

## (1) 黄花作出用ベクターの改良

*pInAP1*、*pInAP3* および *pInMYB1* を用いた3種のベクターを完成させ、アグロバクテリウム法による形質転換に移った。

## (2) アントシアニンとベタキサンチンの細胞内共存の検証

結果は発表会にて報告する。

## (3) 交配および遺伝子組換えによる色素の混色化

交配で得られた種子を播種した F1 および形質転換によって得られた形質転換体2系統についても現在栽培している。

## 【展望】

改良したベクターを導入した形質転換体の作出、HPLC 解析による花弁の色素の定性、定量を行う。また、交配等によって得られた系統の花色を確認し、アサガオにおけるアントシアニンとベタキサンチンの混色と花色の関係性について考察を深める。

## 【謝辞】

cDNA の提供を頂いた Brockington 博士 (ケンブリッジ大学)、種子の提供を頂いた NBRP 「アサガオ」の仁田坂英二博士 (九州大学)、ベタシアニン定量試験でお世話になった佐々木伸大博士 (東洋大学) に深く御礼を申し上げます。