

第1章 緒論

Iris (アヤメ)属は、単子葉類のユリ目・アヤメ科に属し、本属植物は北緯 20°～60°にかけて広く分布している (Douglas 1959)。その種は 242 を数え (Lawrence and Randolph 1959)、園芸種としてはハナショウブ (*I. ensata* var. *ensata*)、カキツバタ (*I. laevigata*)、アヤメ (*I. sanguinea*)、ダッチアイリス (*I. hollandica*) およびジャーマンアイリス (*I. germanica*) などがよく知られている。これらの種のうち、ハナショウブは我が国においてノハナショウブ (*I. ensata* var. *spontanea*) から改良され、園芸種として発達したものである。本種は、庭園、鉢植えおよび切花にと幅広く栽培され、うっとりしい梅雨空に鮮やかな花色と変化に富んだ模様で多くの人々に愛好されている。

ハナショウブは三英、六英、八重咲き、台咲きなどの花型があり、その花色は紫を中心に青、白、赤などの方向に変化が広がり、絞り、編み目、覆輪、濃淡および無地といった模様も多様となっている。このような多様性にもかかわらず、本種の花色には青、赤、黄、オレンジなどを欠き、より一層の多彩化育種が望まれている。そのためには、ハナショウブの代表的な花色素であるアントシアニンの有用変異の探索やその生合成に関する基礎的知見の蓄積が極めて重要である。

アントシアニンはフラボノイド色素の一種であり、アグリコンであるアントシアニジンに一つまたはそれ以上の糖が結合した配糖体として液胞中に存在している。その合成は多くの植物種に共通に見られるアントシアニン生合成経路 (Fig. 1-1) で行われており、最初の安定な配糖体、anthocyanidin 3-glucoside (アントシアニジン 3G) が形成された後、その多くが植物種ごとに異なる修飾、すなわち配糖化、アシル化、メチル化を施され、多種多様な構造を持つアントシアニンがもたらされる (Heller and

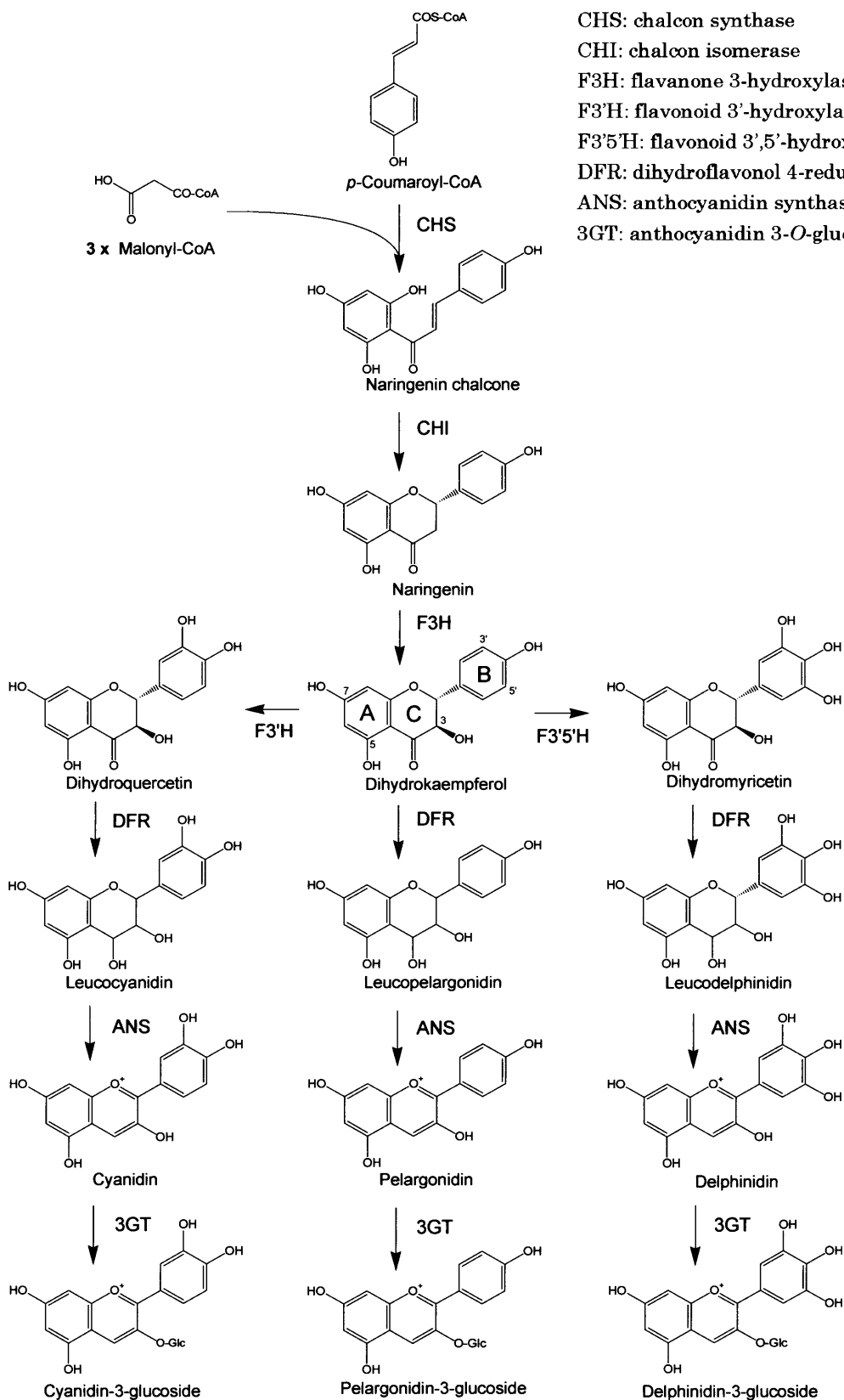


Fig. 1-1. The main pathway of anthocyanin biosynthesis.

Forkmann 1994)。

Iris 属植物ではハナショウブにおける花色素の研究がもっとも進んでおり、その研究は本種の主要なアントシアニンである **ensatin [malvidin 3-(*p*-coumaroyl)rutinoside-5-glucoside (malvidin 3*p*CRG5G)]** の単離・同定に関する林の報告 (1940a, b, 1941) より開始された。その後、林ら (1978) は 200 以上の品種を用いてアントシアニンの種内変異を明らかにし、また **Ishikura and Yamamoto (1978)** も肥後 (熊本) 系ハナショウブにおけるアントシアニンの特性を報告した。さらに、藪谷ら (1983) は、アントシアニンの有用変異を探索するために高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析を開始し、これまでにハナショウブの品種や野生系統 (ノハナショウブ) を主要アントシアニンの構成により分類している (**Yabuya 1991, Yabuya et al. 1994a**)。しかし、本種ではオレンジ赤の発現に重要な **pelargonidin** 系アントシアニンを有する品種は未だに発見されておらず、しかもこのアントシアニンは他の *Iris* 属植物においてもその存在が確認されていない (岩科・大谷 1998)。また、**delphinidin 3*p*CRG5G**、**cyanidin 3*p*CRG5G** および **peonidin 3*p*CRG5G** の脱アシル型を主要アントシアニンとする品種も発見されていない。

アントシアニン生合成経路における最初のアントシアニン、アントシアニジン 3G はアントシアニジン 3-*O*-グルコシルトランスフェラーゼ (3GT) により UDP-グルコースからアントシアニジンの 3-OH 基へのグルコースの転移が触媒されることで合成される (**Heller and Forkmann 1994**)。3GT の特性解明は、*Haplopappus gracilis* (**Saleh et al. 1976a**) の細胞培養およびハボタン (*Brassica oleracea*) (**Saleh et al. 1976b**) の実生苗における研究に始まり、種々の植物で明らかにされてきた (**Holton and Cornish 1995, Ogata et al. 1998, Tanaka et al. 1998**)。3GT cDNA クローンの単離と解析は、トウモロコシ (*Zea mays*) (**Fedoroff et al. 1984, Ralston et al.**

1988、Furtek *et al.* 1988)、オオムギ(*Hordeum vulgare*) (Wise *et al.* 1990、Kobayashi *et al.* 2001)、キンギョソウ(*Antirrhinum majus*) (Martin *et al.* 1991)、リンドウ(*Gentiana triflora*) (Tanaka *et al.* 1996)、シソ(*Perilla frutescens*) (Gong *et al.* 1997)、ブドウ(*Vitis vinifera*) (Ford *et al.* 1998)およびペチュニア(*Petunia hybrida*) (Yamazaki *et al.* 2002)において単離・解析されてきた。次いで、アントシアニンの5-OH基へUDP-グルコースからのグルコースの転移を触媒するアントシアニン 5-グルコシルトランスフェラーゼ(5GT)の特性は、Kamsteeg *et al.* (1978)により最初に *Silene dioica* で明らかにされ、その後も数種の植物で生化学的・分子生物学的解析が行われている(Jonsson *et al.* 1984、Teusch *et al.* 1986、Yamazaki *et al.* 1999、Ogata *et al.* 2001、Yabuya *et al.* 2002、Yamazaki *et al.* 1999、Yamazaki *et al.* 2002)。また、3GT および 5GT 以外の配糖化酵素の分子・生化学的的特性もケツルアズキ(*Vigna mungo*) (Mato *et al.* 1998)、ペチュニア(Kroon *et al.* 1994、Brugliera *et al.* 1994、Miller *et al.* 1999)、コガネバナ(*Scutellaria baicalensis*) (Hirotsani *et al.* 2000) およびリンドウ(Fukuchi-Mizutani *et al.* 2003)で明らかにされてきた。

さらに、芳香族有機酸によるアントシアニンのアシル化については、*p*-クマロイル-CoAとカフェオイル-CoAとからアントシアニン 3RG および 3RG5G へアシル基を転移するアントシアニン 3-アシルトランスフェラーゼ(3AT)が *S. dioica* で最初に報告され(Kamsteeg *et al.* 1980)、その後、他の植物種でも CoA-エステルを介して芳香族アシル基をアントシアニンの 3 位へ転移する酵素の生化学的、分子生物学的特性が明らかにされてきた(Teusch *et al.* 1987、Callebaut *et al.* 1996)。しかしながら、これらのアントシアニン修飾酵素に関する分子・生化学的知見は、その大部分が双子葉植物に由来するものであり、単子葉植物に関する知見は限られている。

そこで、*Iris* 属植物における花色の多彩化育種を促進する基礎的知見を蓄積するために、本研究を実施した。まず、ハナショウブを中心とした *Iris* 属植物の外花被含有アントシアニンについて HPLC 分析を行い、その新たな有用変異を探索するとともに、赤色花品種を育成するためにアントシアニンと花色の評価を行った。また、ハナショウブの外花被に存在するアントシアニン修飾酵素、5GT および 3AT の特性を調査し、本種におけるアントシアニン生合成系路の末端部を提案した。さらに、5GT および 3AT コードする cDNA の単離とその機能解析を行うために、ダッチアイリス花卉の cDNA ライブラリーからこれら遺伝子のクローニングを試みた。最後に、本研究で得られた成果を基に、ハナショウブを中心に今後の花色の多彩化育種について論じた。