

カロテノイド色素と花色の発現

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 花き研究所 大宮あけみ

1. はじめに

花色はポリネーターである昆虫を引きつけるように香りや形とともに長い年月をかけて進化してきた。また、花きの商品価値を決めるうえで花色は重要な要素であり、人間の嗜好性にあわせ、「育種」という作業によって人為的に様々な花色が創られてきた。

本稿では、アントシアニンやフラボノイドとともに重要な花色構成要素であるカロテノイドについて、その生合成制御や花色の発現機構について述べたい。

2. カロテノイドの生合成

カロテノイドは炭素数が40のイソプレノイド化合物で、5個の炭素からなるイソプレン単位が連続して結合した構造を有している。カロテノイドに分類される化合物は現在までに600種類以上が報告されており、生物界に広く存在し、多くの生物で重要な生理的役割を果たしている。植物において、花卉では黄色発現の中心的役割を担い、緑色組織では光合成の補助色素として吸収した光エネルギーをクロロフィルに伝える働きをしている。また、カロテノイド化合物のピオラキサンチン、アンテラキサンチン、ゼアキサンチンは、葉緑体の中で光合成と共役して相互転換することが知られている。この反応は「キサントフィルサイクル」と呼ばれ、カルビンサイクルや光呼吸をはじめとする代謝系で使

い切れないエネルギーを熱散逸し、光障害を防ぐ働きをしている。動物ではビタミンAの前駆体であり、近年はガン予防効果が高いことから機能性成分としても注目されている。

植物のカロテノイドの生合成経路を図-1に示した。イソプレノイド化合物の基本的な生合成前駆体であるイソペンテニルピロリン酸 (IPP) は、アセチルCoAを出発物質とするメバロン酸経路またはビルビン酸とグリセルアルデヒド3リン酸を出発物質とする非メバロン酸経路により合成される。炭素数5のIPPから一連の鎖延長反応により炭素数20のゲラニルゲラニルピロリン酸 (GGPP) が作られる。次に2分子のGGPPが縮合して最初のカロテノイドである無色のフィトエンが合成される。フィトエンは一連の不飽和反応によりフィトフルエン、 ζ -カロテン、ノイロスポレン、リコペンへと変換される。このリコペンから生合成経路は二手に分かれ二種類の環化カロテノイドが合成される。リコペン β -サイクラゼ (β -cyc) のみ作用した場合は両末端に β -イオノン環を有する β -カロテンが生成する。リコペンに β -cycとリコペン ϵ -サイクラゼ (ϵ -cyc) の2種類の酵素が作用した場合は、 β -イオノン環と ϵ -イオノン環を一つずつ有する α -カロテンが生成する。 β -カロテンは水酸基が付加されゼアキサンチンに、 α -カロテンはルテインに変換される。これらのカロテノイドはさらにケト基などが導

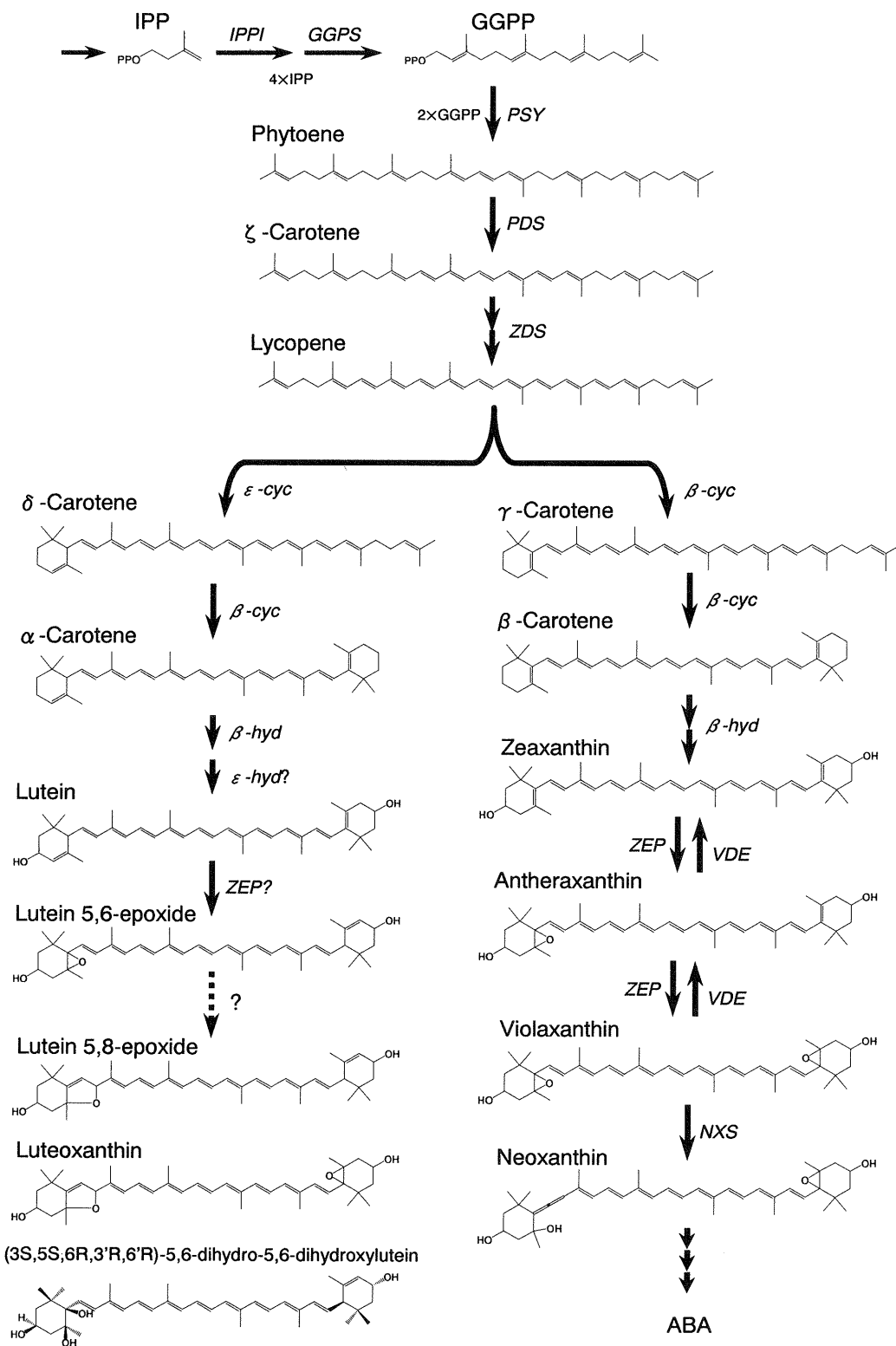


図-1 植物におけるカロテノイドの生合成経路

入され、ピオラキサンチンやネオキサンチン、ルテインエポキシドなどが合成される。これら水酸基やケト基をもつカロテノイドはキサントフィルと総称される。

カロテノイドは生体内で重要な役割を果たしている生理活性物質と生合成経路を共有しているのが特徴である。たとえば、IPPまではサイトカイニンと、GGPPまではジベレリンと共通である。さらにゼアキサンチンから数ステップを経てアブシジン酸 (ABA) が合成される。

カロテノイドの生合成に関与する酵素は膜酵素のため、活性を維持したまま単離することが難しく、タンパク質レベル、遺伝子レベルでの研究が困難だった。1992年、三沢らは、植物病原菌 *Erwinia uredovora* のカロテノイド生合成遺伝子群を大腸菌で発現させ、大腸菌に蓄積したカロテノイドを解析する、という独自の手法を用いてカロテノイドの生合成酵素を遺伝子レベルで明らかにすることに世界で初めて成功した¹⁾。この成果を契機に様々な生物からカロテノイド生合成酵素の遺伝子が単離されるようになった。

3. 花卉の黄色の発現

葉や茎など緑色組織に存在するカロテノイドは比較的植物の種を越えて共通しており、ピオラキサンチン、ルテイン、 β -カロテン、ネオキサンチン、アンテラキサンチン、ゼアキサンチンなどが含まれている。一方、花や果実など非緑色組織ではカロテノイドをほとんど含まないものから大量に蓄積するものまで様々である。その組成も単一のカロテノイドを多量に蓄積するものから多くの種類のカロテノイドを含むものまでである。また、カロテノイドの種類も植物によって大きく異なる。エポキシ化されたキサ

ントフィルを多く含むことも特徴の一つにあげられる。

花ではカロテノイド単独で黄色の花色が構成されることはまれで、フラボノイド色素が共存している場合が多い。しかし、フラボノイドが示すのは淡い黄色で、カロテノイドと共存することによりマスクされてしまっている。花きのなかで花卉の黄色が主にカロテノイドによるものは、キク、バラ、ユリが挙げられる。フラボノイド色素によるものはキンギョソウ、ボタン、ペチュニア、トルコギキョウ、ツツジなどがある。黄色花卉はベタレイン類によってもたらされる場合もあるが、マツバボタンなどアカザ目 (ナデシコ科の植物を除く) とサボテン目の植物に限られている。

4. キク科植物の花色の発現

キクの花色は主にアントシアニンとカロテノイドが単独または共存して黄白色から橙、赤、褐色など広い範囲の花色を作り出している。アントシアニンとカロテノイドの量的バランスにより鮮やかな橙色になる場合もあれば、両者が多量に蓄積した場合は全体的に光の吸収が多くなり褐色を帯びることもある。

筆者らは、種々のキク科花きの橙色品種と黄色品種を材料として色調と色素成分との関係を調べ興味深い結果を得た (表-1)²⁾。黄色と橙色の色調の差が生じる要因として、1) アントシアニン含量の違い、2) カロテノイド含量の違い、3) カロテノイドの種類の違いの3つのケースに分けることができた。例えばキクやガーベラでは、カロテノイド抽出液の吸収極大やカロテノイド含量に差はなかったが、アントシアニン含量が橙色品種で黄色品種より有意に多く、それが花色の違いをもたらしているものと考え

表-1 キク科植物におけるカロテノイド含量, アントシアニン含量と色調の関係

品種名	花色	カロテノイド粗抽出液の 吸収極大値 (nm)	総カロテノイド量 ^a ($\mu\text{g/g f. w.}$)	総アントシアニン量 ^b ($\mu\text{g/g f. w.}$)
キク	ドラマティック	橙	435	291.5
	カナリア	黄	435	180.5
キンセンカ	アリスオレンジ	橙	444	1652.1
	アリスイエロー	黄	417	1352.9
ガーベラ	ジャガータンジェリン	橙	435	241.8
	ジャガーイエローダークセンター	黄	435	259.0
マリーゴールド	マーチオレンジ	橙	442	2764.7
	マーチイエロー	黄	442	305.9

a: 生花卉1gあたりルテイン等量

b: 生花卉1gあたりシアニン等量

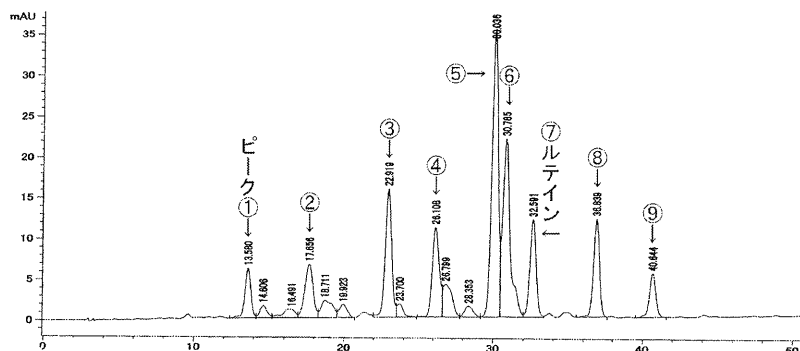


図-2 キク花卉のカロテノイドのHPLC分析

られた。一方、マリーゴールドではカロテノイド含量が黄色品種より橙色品種のほうが著しく高い値を示していた。キンセンカの場合、橙色品種ではカロテノイド抽出液の吸収極大値が黄色品種に比べて27nm長波長側にシフトしているため、黄色品種より赤みを帯びて見えるものと考えられた。

600種類以上カロテノイド化合物がある中で、キク花卉にはどのようなカロテノイドが含まれているのだろうか？ キク花卉のカロテノイド抽出液をYMC-carotenoidカラムを用いてHPLC分析すると、9つの主要なピークが認められた(図-2)。これらのピークを分取し、NMRやFABMSを用いて構造決定を行った³⁾。その結果、これらの9つのピークはルテインおよびルテイン誘導体であった(表-2)。すなわち、キク花

卉は β -イオノン環を2つ持つカロテノイド(β, β -カロテノイド)をほとんど含まず、 β -イオノン環と ϵ -イオノン環を1つずつ持つカロテノイド(β, ϵ -カロテノイド)によって占められていることがわかった。ルテイン誘導体のひとつ(3*S*, 5*S*, 6*R*, 3'*R*, 6'*R*)-5, 6-dihydro-5, 6-dihydroxyluteinは天然物としてはこれまで報告のないカロテノイドだった。 β, ϵ -カロテノイドを特異的に集積し、しかもこれだけ多種類のルテイン誘導体を含む例は極めて珍しく、キクは天然物化学的に興味深い材料であるといえる。ルテインは白内障や加齢黄斑変性症といった眼病予防に効果があるとされ、マリーゴールドから抽出されたルテインがサプリメントとして販売されている。キクは食用としても栽培されているが、ルテイン豊富なキクの花を

表-2 キク花卉より同定されたカロテノイド化合物

ピーク番号	同定されたカロテノイド名
1	(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
2	9 <i>Z</i> , 13' <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide/ 13 <i>Z</i> , 9' <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide/ 9' <i>Z</i> , 13' <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide/ 9 <i>Z</i> , 13 <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide
3	all- <i>E</i> -lutein 5,6-epoxide
4	9 <i>Z</i> , 9' <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide/ 9 <i>Z</i> -violaxanthin/ (8 <i>S</i>)-lutein 5,8-epoxide/ (8 <i>R</i>)-lutein 5,8-epoxide/ 9 <i>Z</i> -(8' <i>R</i>)-luteoxanthin
5	9' <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide
6	9 <i>Z</i> -lutein 5,6-epoxide
7	all- <i>E</i> -lutein
8	9 <i>Z</i> -lutein
9	9' <i>Z</i> -lutein

食することで眼病予防が期待できそうである。

キクの他にマーガレットやタンポポも同様に β , ϵ -カロテノイドを特異的に集積していた。これはキク属およびその近縁属の特徴であるようで、同じキク科の植物でもガザニア、マリーゴールド、キンセンカ、ガーベラはルテインやルテイン誘導体の他に、ピオラキサンチンや β -カロテンなどの β , β -カロテノイドもわずかながら含まれていた。それでは、何故キク属植物の花弁は β , ϵ -カロテノイドを特異的に蓄積するのだろうか？ ここでもう一度カロテノイド生合成経路を示した図-1を見ていただきたい。リコペンの環化反応が β , β -カロテノイドと β , ϵ -カロテノイドの生合成の分岐点となる。 ϵ -イオノン環の生成を触媒する ϵ -cycの活性が β イオノン環の生成を触媒する β -cycにくらべて非常に高い、 β -cycのリコペンに対する親和性が低い、または合成された β , β -カロテノイドが分解されやすく花弁内に蓄積しない・・・といったいくつかの可能性が考えられる。今後遺伝子レベル、タンパク質レベルでこれらの可能性を検討していきたいと考えている。

5. カロテノイドのメタボリックエンジニアリング

カロテノイドの生合成酵素遺伝子が種々の生

物から単離されるようになって、それらの遺伝子を導入してカロテノイドの生合成を改変しようとする試みがなされている。

ノルフルラゾンやフルリドンは植物のフィトエンデサチュレース (PDS) を標的とする除草剤として知られている。これらの除草剤で処理するとカロテノイドの生合成がフィトエンで止まり、葉は光酸化的障害を受けて白化し、植物体は死に至る。そのためこれらの除草剤は白化型除草剤 (bleaching herbicide) と呼ばれている。微生物から得られた PDS (crtI) は植物型の PDS と異なり、フィトエンから一気にリコペンを合成する。植物の PDS とは機能や構造が異なる微生物の crtI を高発現させることにより白化型除草剤に対して耐性の形質転換タバコが得られている⁴⁾。

作物の栄養価を高めることを目的に、カロテノイドの蓄積を図る試みがなされている。多くの植物でカロテノイドの生合成系の律速段階がフィトエン生成であることが示されている。トマトにおいてカロテノイド生成を増大させる目的で GGPP からフィトエンの生成を触媒するフィトエン合成酵素 (PSY) 遺伝子を導入した形質転換体を作られた⁵⁾。しかし、前述のようにカロテノイドは生体内で重要な役割を果たす物質と生合成経路を共有している。フィトエンの生成

の際にはジベレリンと前駆体を取り合う形となる。そのため内生ジベレリ量が減少し、野生型と比較してわい化した形質転換体を得られた。したがって果実や花弁など目的の器官のカロテノイドの生合成系を改変する場合、器官特異的にかつ生育時期特異的なプロモーターを用い、導入遺伝子が目的の器官の目的の時期にのみ発現するような工夫が必要である。また、フィトエン合成酵素を導入したトマトは、フィトエン含量は増加したものの、総カロテノイドに大きな変化は認められず、多段階にわたる生合成系の改変の難しさを示す結果となった。

複数遺伝子を導入することにより、カロテノイドをほとんど含まない器官にカロテノイドを蓄積させることに成功した例もある。Potrykusらはフィトエン合成酵素とリコペン β サイクラゼ、微生物から得たcrtIの3つの遺伝子をコメに導入した⁶⁾。得られた形質転換体の胚乳は黄色を呈し（ゴールデンライスと呼ばれている）、ビタミンAの前駆体である β -カロテンをコメ1gあたり1.6 μ g蓄積していた。ビタミンA欠乏症に苦しむ子供が全世界に一億人以上存在し、毎年100万～200万人がビタミンA欠乏のために死亡していると言われている。ゴールデンライスプロジェクトは、ビタミンA欠乏症の子供を救うために、フィリピンの国際イネ研究所（IRRI）において2006年の市場化を目指し実用化研究が進められている。

花きの色調を変えることを目的としてカロテノイド生合成系を制御する試みはこれまでほとんど報告がない。その理由として、カロテノイドの量や組成を変えたところで黄色は黄色、面白みに欠けるという考えがあるのかもしれない。しかし、カロテノイドも前述のようにその組成や含有量の違いによって異なる色調を作ること

は可能である。たとえば生合成系を途中で止めてリコペンを蓄積させることによってトマトやスイカのような鮮やかな赤色を作り出すことができる。また、カロテノイドの生合成系全体を抑えてカロテノイド含量を減らすことによって、褐色の花弁が鮮やかな赤に生まれ変わる。ペチュニアやトルコギキョウのように、カロテノイドがほとんど蓄積しないために鮮やかな黄色の品種が存在しない花きにカロテノイドを作らせることが出来れば、画期的な新品種の作出が可能になる。筆者らも現在キクの花色を改変すべくカロテノイドの生合成系の改変に取り組んでいる。現在遺伝子導入したキクは寒天培地の上で育成中で、どのような花を咲かせるかは鉢上げしてからのお楽しみである。

参考文献

- 1) Misawa, N, Nakagawa, M, Kobayashi, K, Yamano, S, Yazawa, K, Nakamura, K and Harashima, K (1990) J. Bacteriol. 172: 6704-6712
- 2) 岸本早苗・八木雅史・大宮あけみ (2003) 園芸学会雑誌 72 (別2) : 214
- 3) 岸本早苗・眞岡孝至・中山真義・阿久津雅子・間竜太郎・大宮あけみ (2003) 園芸学会雑誌 72 (別2) : 469
- 4) Misawa, N, Masamoto, K, Hori, T, Ohtani, T, Boeger, P and Sandmann, G (1994) Plant J. 6: 481-489
- 5) Fray, R, Wallace, A, Fraser, P, Valero, D, Hedden, P, Bramley, P and Grierson, D (1995) Plant J. 8: 693-701
- 6) Ye, X, Al-Babili, S, Kloti, A, Zhang, J, Lucca, P, Beyer, P and Potrykus, I (2000) Science 287: 303-305