

2S3p02

アントシアニンによる花色発現：細胞内（液胞内）天然物化学による機構解明

○吉田 久美
(名古屋大院・情報)

【はじめに】花色は多彩で美しく、誰しもが心ひかれる自然現象であろう。この花色発現における中心的な色素がアントシアニンである。その研究の歴史は100年を越え、天然物化学研究がその重要な部分を担ってきた。アントシアニン色素の構造決定に関しては、様々な機器分析手法が進展し、現在では数mgの色素があれば可能となった。しかし現在においてすら多彩な花色、特に青色発色の機構の全てが解明されたとは言えない。そのもっとも重要な理由は、アントシアニンの発色が共存する助色素や金属イオン、細胞内 pH などにより影響されて、連続的に変化するためである。すなわち、単に色素の構造を決定しただけでは、花色は解明されない。アントシアニンは、花卉細胞体積の90%を占める液胞内に溶けており、液胞 pH は通常弱酸性である。従って、青い花は何らかの安定化機構により弱酸性の液胞内で青色を保っている。花卉では通常表と裏の両表層だけが着色している。青色花色のしくみの解明とは、着色液胞内での安定化機構を明らかにすることと言える。筆者らは近年、花卉の色を保ったまま有色プロトプラストを得て、化学分析と微小電極法による pH 測定、青色再現実験を組み合わせることで、青色発色の解明を進めてきた。この細胞内天然物化学手法を用いて最近明らかにした青色花色発現機構のいくつかを紹介したい。

【空色西洋アサガオの青色発色】空色西洋アサガオ (*Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue) は、ツボミは赤色で咲くと美しい空色となる。アントシアニンは一種類(ヘブンリーブルー)ア内微小 pH 電極を用いてツボミと開花花卉の液胞 pH を直接測定することによりこの花色変化は液胞 pH が 6.6 から 7.7 へと上昇するためであることが明らかになった。この液胞 pH のアルカリ化により発色団はアントヒドロ塩基アニオン型となり、同時に分子内の 3 残基のカフェ酸残基は発色団に分子内会合する。これにより発色団への水分子の攻撃が妨げられ、水和・退色反応が起きないので花は青色を保つ。さらに液胞のアルカリ化は、開花数時間前から液胞膜上に発現する Na⁺/H⁺ 対向輸送体の働きによることがわかった。しかもこの輸送体は、実際には K⁺/H⁺ 対向輸送体として働き、開花後半に着色細胞の液胞内へ急激に K⁺ が蓄積することがわかった。これは、液胞内にイオン性の浸透圧物質を蓄積することにより水を入れ、細胞を伸長成長させる仕組みであり、開花に向かうために必須のシステムであることがわかってきた。

【アジサイの青色発色】アジサイは栽培環境などにより容易に花色が変異することで知られる。実際に観賞しているのはガク片で、着色細胞は表層ではなく二層目に存在する。アントシアニンは単純な構造の delphinidin 3-glucoside でいずれの色のガク片にもこの色素しか含まれない。3 種のキナ酸エステル類が助色素として働き、Al³⁺ が青色発色に必須であることも、50 年以上前から明らかになっている。しかしなぜ同じ成分から異なる色が発色するのかについては、曖昧なままであった。ガク片のプロトプラストを得ると、紫色のアジサイから得られる細胞の色は単一ではなく、赤から紫色、青色までの混合物であった。そこで、この一つ一つの細胞の色、液胞 pH、ならびに液胞内のアントシアニンと助色素成分、さらに、Al³⁺ を分析した。細胞の色が青くなるほど特定の助色素 (5-アシル化キナ酸) が増加し、Al³⁺ も多くなることがわかった。この増加はわずかであるが、これがアジサイの色が変異しやすい理由と推測される。同一ゲノムを持つはずの一つのガク片中の細胞の表現型がなぜ異なるのかについては、遺伝子発現の制御も含め大変興味深い今後の課題といえる。

Flower color development of anthocyanins

○Kumi YOSHIDA
(Grad. Sch. Inf. Sci., Nagoya Univ.)

Key words anthocyanin, vacuolar pH, co-pigment, metal complexation

2S3p03

光合成生物のストレス応答反応の機能進化プロセスの解析

○平田 収正
(阪大院・薬)

1. 緒言

光合成生物は、30 数億年前に地球上に誕生したラン藻を起源として、緑藻を経て高等植物へと進化した。このような進化の過程で、光合成生物は様々な環境ストレスに対する優れた適応能力を獲得し、多様な環境条件における繁栄を可能にした。我々は、ラン藻や緑藻において環境ストレス応答を担う物質の生合成系酵素の機能や活性調節機構について、高等植物の酵素との比較解析を行っている。得られた知見は、光合成生物におけるストレス応答反応の機能進化プロセスの解明に向けた重要な基礎情報となり、また藻類の優れた機能を利用した様々な技術開発にも応用できる。今回は、重金属螯合ペプチド phytochelatins (PC) と、適合溶質 proline の生合成系の酵素について紹介する。

2. PC 合成酵素

PC は、(γ -Glu-Cys)n-Gly を基本構造とし、高等植物や緑藻、線虫などの真核生物において有害重金属の解毒を担う低分子ペプチドであり、重金属によって活性化される PC 合成酵素 (PCS) により GSH を基質として 2 段階の反応によって合成される。一方、原核生物では PC が合成されるという報告はなく、PCS 遺伝子は存在しないと考えられていたが、我々はラン藻 *Nostoc* sp. PCC7120 において、PCS 遺伝子と相同性の高い配列を持つ遺伝子 (aln7145) が存在することを見出した。本遺伝子がコードする NsPCS は、真核生物の PCS の N 末側の約半分の配列しか持たず、また PC 合成反応の 1 段階目の反応のみを重金属非依存的に触媒する。そこで、NsPCS の機能解析を行ったところ、低温ストレスによって発現が誘導され、その耐性上昇に関与することが明らかとなった。現在、NsPCS と真核生物の PCS の比較解析により、構造と機能の関連性に関する情報を集めている。

2. Proline 合成酵素

Proline は、L-glutamate から合成され、細菌から動物に至る広範な生物種において適合溶質として機能する。高等植物では、proline 合成系の最初の 2 段階の反応は pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS) によって触媒されるが、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* では、酵母や大腸菌と同様に、1 段階目は γ -glutamyl-5-kinase (γ -GK)、2 段階目は γ -glutamyl phosphate reductase (GPR) でそれぞれ触媒される。そこで *C. reinhardtii* の γ -GK の機能解析を行ったところ、P5CS と比較して活性が非常に高く、また proline によるフィードバック阻害を受け難いことが明らかとなった。さらに、酵母や大腸菌の γ -GK は GPR が存在しなければ活性がないのに対し、*C. reinhardtii* の γ -GK は単独でも活性を示すことが明らかとなった。現在、*C. reinhardtii* の γ -GK と高等植物の P5CS の構造と機能の比較により、その機能進化プロセスの解析を行っている。

Comparative analysis of stress response reactions in photosynthetic organisms

○Kazumasa HIRATA
(Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ.)

Key words phytochelatins, proline, stress response, photosynthetic organism