

# 青いバラの誕生を紐解く

千葉大学 環境健康フィールド科学センター

松原紀嘉

## 不可能の代名詞「青いバラ」誕生まで

2009年11月3日にサントリーフラワーズ(株)から青いバラの販売が開始された。自然界では決して存在することの無かった青色のバラは遺伝子組換え技術を用いて創り出された。開発から販売までの期間にはほぼ20年間を要している。本稿では、その20年の歳月を要した研究での試行錯誤、青いバラ誕生までの研究の一部を2007年にKatsumotoらによって発表された論文(Engineering of the Rose Flavonoid Biosynthetic Pathway Successfully Generated Blue-Hued Flowers Accumulating Delphinidin, *Plant Cell Physiol.*, 48, 1589-1600)を参考に紹介する。

まず、花の色が青になるための基礎情報について触れよう。花が青色になるには当然、青色の色素が必要となる。様々な植物の花色を構成している色素は主にフラボノール、カロテノイド、ベタレインなどがあるが、青色となるためにはフラボノールに属するアントシアニンが必要である。アントシアニンは赤～ピンク、そして紫～青など様々な色合いを示す色素であるが、その基本的な色合いはアントシアニンに結合する糖や有機酸の種類や数にはあまり関係がなく、アントシアニンの基本骨格のB環に結合している水酸基(-OH)とメトキシ基(-OCH<sub>3</sub>)の数で変化することが一般的である(第1図)。水酸基の数が多くなればなるほど、赤色から青色を帯びるようになり、これがメトキシ基に換わると赤味を帯びるようになる。特に青色色素と呼ばれているのは、アントシアニンの基本骨格のB環の3カ所に水酸基が結合したデルフィニジンと呼ばれる色素である。つまり、青いバラを創るためにはデルフィニジンを花に蓄積する必要がある。バラの品種の中には1957年に作られた藤色系品種‘スターリングシルバー’を祖先として、‘マダムビオレ’、‘ラバンデ’、‘ブルームーン’、‘青龍’などの藤系品種が生みだされている。しかしながら、その藤色を構成している色素は、

赤色色素のシアニジン系アントシアニンとフラボノールのみであり、青色色素をもっていない。つまり、バラは青色色素(デルフィニジン)を創り出す能力を持っておらず、これを解決しないことには青いバラを創り出すことができないのである。バラで青い色素デルフィニジンを創り出すためには、青色の鍵遺伝子であるフラボノイド3',5'水酸化酵素遺伝子(*F3'5'H*遺伝子)を導入しなければならない(図1)。そこで、ペチュニア、リンドウ、チョウマメ、パンジーから取り出した青色遺伝子*F3'5'H*をバラに導入したところ、パンジーの遺伝子だけがバラでデルフィニジンを創り出すことに成功した。さらに、青い花であるリンドウ、キキョウ、シネリリアでは、芳香族アシル基が結合したアシル化アントシアニンを蓄積する特徴があり、アントシアニンをアシル化することによってより花の青味が増すことが知られている。そこで、トレニア由来のアシル基転移酵素遺伝子(*5AT*)をパンジーの*F3'5'H*遺伝子と同時にバラに導入した。この組換え体ではアシル化による青色発色への効果はみられなかったが、デルフィニジンは花卉で合成されていた。また、このうちの数系統では、交雑育種では得られない新しい青味のある

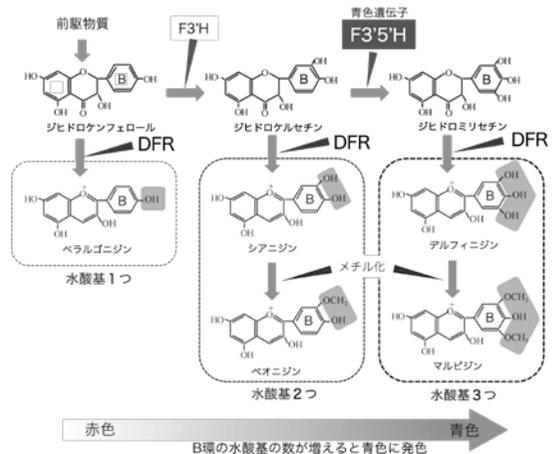


図1 アントシアニン生成経路

バラが得られた。この遺伝子組換え系統のうちから2個体の組換えバラが選抜され、温室と圃場での試験栽培が行われた。今現在の青いバラ 'APPLAUSE™' は、このうちの1系統から選抜されて市販されたものであるが、遺伝子組換え植物を販売するには大きな関門がある。それは2000年に国連で採択された「カルタヘナ議定書」に基づく「カルタヘナ法」である。この法律を通過するためには、この遺伝子組換えバラが生物多様性へ悪影響を及ぼさないこと、つまり環境中にこの組換え体の遺伝子が飛散しないことを証明しなければならない。幸いなことに、この遺伝子組換えバラを調べると花弁の表皮細胞には組換え遺伝子が存在しているのに、花粉には存在していないという現象が生じていた。このため生態系に影響が無いと判断されて販売に至ることができた。

### 更なる青いバラを求めて

青いバラとして最新の技術からついに販売まで達することができたが、その創り出された「青色」はまだ色鮮やかな本当の青色とはいえない。そのため、その後もより鮮やかな青色を生み出すための研究が続けられている。これまでの研究から青味の程度やデルフィニジンの蓄積程度は遺伝子導入に使われるバラ自体の性質に大きく影響することがわかってきた。これは、花弁のpHが低いバラではデルフィニジンが蓄積してもpHの影響を受けて深紅色の花になるという問題や、*F3'5'H*を導入しても花弁に含まれるアントシアニンがすべてデルフィニジンにならず、シアニジンも含まれるという問題として浮び上がっていた。つまり、より青い花を作るためにはpHの高い系統でシアニジンの蓄積を抑制して、デルフィニジンのみが蓄積するようにしなければならない。そこで次に鍵となったのがDFR（ジヒドロフラボノール4-還元酵素）遺伝子である（図1）。DFRは無色のジヒドロケンフェロール、ジヒドロケルセチン、それからジヒドロミリセチンの3種類のジヒドロフラボノールからアントシアニンへの合成を進める酵素である（図1）。このDFRは植物種によっては特定のジヒドロフラボノールしか基質として反応することができない基質特異性という性質を持っている場合がある。例えばペチュニアのDFRはジヒドロケンフェロールを基質として反応することができないため、ペチュニアの花にはジヒドロケンフェロールから合成されるペラルゴニジンが含まれていない。バラのDFRはデルフィニジンを合成するためのジヒドロミリセチンを基質とすることもできたが、その特異

性は低く、同時にジヒドロケンフェロールやジヒドロケルセチンも基質としてしまうため、ペラルゴニジンやシアニジンが同時に蓄積していた。そこで、ジヒドロケンフェロールを基質として反応せず、ジヒドロミリセチンとの反応性がよいダッチアイリスのDFR遺伝子をパンジーの*F3'5'H*遺伝子と同時に藤色バラ 'ラバンデ' に導入した。この2つの遺伝子を導入した系統では、*F3'5'H*遺伝子のみを導入した系統に比べて、デルフィニジン含量が増加したが、まだシアニジンが合成されてしまい青の花にはならなかった（図2）。ダッチアイリスのDFRがデルフィニジンの合成に効果的であることがわかったが、合成されたシアニジンにはバラ自身も持っているDFRが関与している可能性があった。そのため、バラのDFR遺伝子を機能させないようにしなければならなかった。そこで次に行った遺伝子操作がRNAi法という特定の遺伝子の機能を破壊する方法である。つまり、このRNAi法でバラのDFR機能を取り除いてデルフィニジンだけを蓄積するように遺伝子操作をしたのである。ダッチアイリスのDFR遺伝子とパンジーの*F3'5'H*遺伝子、それからバラのDFR遺伝子のRNAiの3種類の遺伝子を同時にバラに導入して、花の色素成分を分析したところ、ほとんどのアントシアニンがデルフィニジンで構成されるようになり、これまでの遺伝子組換えバラの中で最も青い色合いとなった（図2）。さらにこの遺伝子組換え系統を交配親として使った場合、後代でデルフィニジンの蓄積が優性形質として遺伝するため、青花品種の作出以外でもデルフィニジンの蓄積を利用することができ、バラの色彩の幅を広げることも可能になると考えられている。

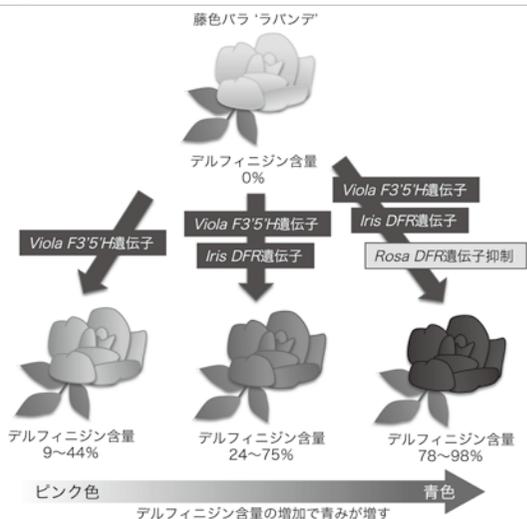


図2 遺伝子組換えに用いた導入遺伝子とデルフィニジン含量の関係

## デルフィニジン＝青色…とは限らない

ここまで、青色＝デルフィニジンという考え方で話を進めてきたが、そうならないケースも多々ある。例えば、アジサイの萼片の色合いについてだが、赤色の萼片は青色の萼片と同じ青色色素のデルフィニジンで構成されている。アジサイの赤色と青色の発色の違いにはアルミニウムが関与していることは良く知られているが、アジサイの青色はアルミニウムの存在だけでなく、有機酸との共存によるコピグメントも青色化の一助となっている。さらに、赤と青の液胞内 pH は 0.5 程度の差があり、この微少の pH の差だけで赤になったり青になったりと発色に大きく影響する (Yoshida *et al.*, 2003)。また、紫色のチューリップ ‘紫水晶’ は花の内側の底の部分だけが青色となり、他は紫色となる。この紫色と青色の色素はともにデルフィニジンであるが、紫か青かの発色を決定しているのは、色素成分でもなく、コピグメントでもなく、pH でもない、鉄イオンだということが報告されている (Shoji *et al.*, 2007)。青色部位は紫色部位と比較して鉄イオン濃度だけ約 25 倍多く含まれており、この青色化には鉄イオンが必須であることが証明されている。つまり、青色色素であるデルフィニジンが合成されて蓄積されれば、花の色が必ず青色になるとは限らないのである。デルフィニジン色素が蓄積された上でさらに様々な要因によって複雑に制御されることによって、青色の発色が生み出されるのである。

では逆に、主要色素がデルフィニジンでなければ青い花にならないのかというと、そうとも限らない。深い青色の花を咲かせるヤグルマギクの花色素は、赤色色素のシアニジンが主体である。この赤色色素がなぜ青色に発色するかというと、シアニジンだけでなくフラボンや鉄、マグネシウム、カルシウムなどの金属と複合体 (金属錯体) を形成することによって、赤色の色素でも鮮やかな青色に発色することができる (Shiono *et al.*, 2005)。また、青い花として代表的なヒマラヤの青いケシ、メコノプシスも見た目に反して赤色色素のシアニジンを主要色素としている。こちらは無色のフラボノールが同時に蓄積していて、アントシアニンと共存すること (コピグメント) によって青色化している (Yoshida *et al.*, 2006)。また、澄んだ空の色のような鮮やかな青色の花をさかせる西洋アサガオ ‘ヘブリーブルー’ の色素も赤色色素のシアニジン系アントシアニン (ペオニジン) が基本骨格となっている。この西洋アサガオは蕾の段階ではまだ赤紫色をしているが、

開花とともに鮮やかな青色となる。この開花の過程で青色化へ進むメカニズムは液胞内 pH が関わっており、蕾段階での pH が 6.6 に対して開花後は 7.7 へと上昇し、液胞内がアルカリ化することによって青色の発色となる (Yoshida *et al.*, 2005)。このように、青色色素のデルフィニジンを合成しない場合でも、青い花ができるのである。

販売まで結びついた青いバラは、まだ完全に青と呼べる色合いではない。それは完全な青い花が作られる過程は上述の様に複数の要因が関わるが必要であり、より完全な青いバラを創り出すためにはバラに合う青色化するための因子を探求しなければならない。その一方で「青」という表現は澄んだ空のような色を指すこともあれば、深い色合いの藍色や透き通った海のような色もあり、一概に「青」と表現するのはとても難しいことである。また、「青」の色が多様であるように、人の好みの「青」も各々の感性で異なってくるため、本当に求められている「青い」花を創り出す研究というのはまだまだ尽きないだろう。

## 【参考文献】

1. Katsumoto, Y. *et al.*: Engineering of the Rose Flavonoid Biosynthetic Pathway Successfully Generated Blue-Hued Flowers Accumulating Delphinidin, *Plant Cell Physiol.*, 48, 1589-1600 (2007)
2. Tanaka, Y. *et al.*: Recent Progress of Flower Colour Modification by Biotechnology, *Int. J. Mol. Sci.*, 10, 5350-5369 (2009)
3. Yoshida, K. *et al.*: Sepal Color Variation of *Hydrangea macrophylla* and Vacuolar pH Measured with a Proton-Selective Microelectrode, *Plant Cell Physiol.*, 44, 262-268 (2003)
4. Shoji, K. *et al.*: Perianth Bottom-Specific Blue Color Development in Tulip cv. Murasakizuisho Requires Ferric Ions, *Plant Cell Physiol.*, 48, 243-251 (2007)
5. Shiono, M. *et al.*: Structure of the Blue Cornflower Pigment, *Nature*, 436, 791 (2005)
6. Yoshida, K. *et al.*: Ferric Ions Involved in the Flower Color Development of the Himalayan Blue Poppy, *Meconopsis grandis*, *Phytochemistry*, 67, 992-998 (2006)
7. Yoshida, K. *et al.*: The Involvement of Tonoplast Proton Pumps and Na<sup>+</sup> (K<sup>+</sup>) /H<sup>+</sup> Exchangers in the Change of Petal Color During Flower Opening of Morning Glory, *Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue, *Plant Cell Physiol.*, 46, 407-415 (2005)
8. Honda, T. and Saito, N.: Recent Progress in the Chemistry of Polyacylated Anthocyanins as Flower Color Pigments, *Heterocycles*, 56, 633-692 (2002)