

報告番号	※甲	第	号
------	----	---	---

主論文の要旨

論文題目 Chemical study on flavonoid components
involved in the color changes in planta
(植物の色変化に関与するフラボノイド成分の化学的研究)

氏名 TEPPABUT Yada

論文内容の要旨

植物は様々な色を持ち、それらは独自の機能性を有する。花色素として知られるアントシアニンは、花のみならず、果実や野菜にも含まれるフラボノイド系色素であり、花においては虫媒作用、植物の地上部では紫外線防御作用、果実や豆の種皮では抗酸化作用を発揮する。したがって、植物の色変化、すなわち、色素の生合成や分解機構の理解は、植物の生理とも密接に関わる表現型の一つとして重要である。その上、現在アントシアニンは、合成着色料に代わる安全な着色料としての利用も増加し、ヒトの生活習慣病の予防にも効果を持つことが明らかとなり、その生産や利用の拡大を視野に入れた場合、生合成の機構解明研究には意義がある。

アントシアニンの生合成は、前半部のフェニルアラニンから発色団であるアントシアニジンが出来上がるまでと、発色団が糖やアシル基の修飾を受けて構造多様性を持つことになる後半部とに分けられる。そのうち前半部は、1990年台以降、分子生物学の発展とともに全ての生合成遺伝子がクローニングされて酵素タンパク質の機能解明も進み、すでにその経路には疑問の余地は無いものと認識されていた。しかし、詳細に実験方法などを調べると、疑義の持たれる反応段階があることがわかった。

本研究では、ツキミソウ花卉が萎む際の白色からピンク色への変化、及び黒ダイズ種皮が登熟する際の緑色から黒色への変化の2例の色変化を対象に、アントシアニンの生合成関連フラボノイド類の化学研究を行なった。いずれも、アントシアニンの中でもっとも単純な構造を持ち、普遍的に分布するシアニジン 3-グルコシドが生合成されることによる色変化であった。ツキミソウ花卉のフラボノイド類の分析としては初めての報告であった。さらに、黒ダイズ種皮色素の生合成においては、従来とは異なる新しい経路を見出した。

本論文は全5章からなる。

第1章では、アントシアニンの生合成に関するこれまでの研究を紹介し、残された問題点について述べた。

第2章では、具体的な実験方法について記載した。

第3章では、ツキミソウ並びに、同属種であるコマツヨイグサの花色変化に関わるフラボノイド成分の変化について研究した結果を記述した。ツキミソウは、アカバナ科マツヨイグサ属の多年草で、夕方、18時以降に開花する。咲いた時の花弁は白色であるが徐々にピンク色へ変化し、翌朝萎む時には濃いピンク色となる。コマツヨイグサでは、黄色に開花した花弁が、萎む際には橙色に変化する。この色変化が何に寄るかを、花弁の色変化の測定、成分の単離と構造同定、及び経時的に花弁の成分の定量分析により明らかにした。

その結果、開花時(0時間)には花弁にシアニジン3-グルコシドは全く検出されなかったが、両方の萎んだ花弁にはシアニジン3-グルコシドが含まれることがわかった。花びらの老化に伴ってその含有量は増加し、ツキミソウ花弁では12時間後には0.97 mol/g 新鮮重量(FW)、コマツヨイグサ花弁では、1.82 mol/g FWであった。アントシアニンとともに、それぞれの花びらの主要フラボノイド成分も同定した。ツキミソウ花弁からはケルシトリンが検出された。ケルシトリンの含有量は花弁の老化に伴った変化は認められなかった。コマツヨイグサからは、フラボノイド成分を単離し、質量分析と核磁気共鳴スペクトル解析により、イソサリプルポシドの存在を同定した。本物質は、マツヨイグサ花弁にも含有されていた。コマツヨイグサ花弁中のイソサリプルポシドの含有量は0時間では3.4mol/g FWであったが、12時間後の4.8mol/g FWには増加していた。

第4章では、黒ダイズの種皮色の変化に関与する成分に関する化学研究の結果を記述した。完熟した黒ダイズ種皮の黒色は、多量にシアニジン3-グルコシドが含まれることによるもので、その量は、1gの乾燥種皮あたり15mgにもなる。莢が緑色の時には豆は緑色で、完熟した黒色の豆になるまでに、およそ1.5ヶ月から2ヶ月かかる。ところが、緑色の豆を莢から出し明所に置くと、ほぼ1日で黒くなり、シアニジン3-グルコシドが貯まることがわかった。そこで、様々な条件で種皮色を変化させ、種皮成分を分析した。すると、従来生合成中間体と考えられていたシスロイコシアニジンは全く検出されず、テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドを含むことがわかった。さらに、種皮色の黒化に伴い、テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドが減少し、それと同量のシアニジン3-グルコシドが増加することを明らかにした。すなわち、黒ダイズの種皮にはまだ緑色の時にすでに色素前駆体が存在し、これが、莢の中では徐々に酸化されて2ヶ月ほどかけてゆっくりシアニジン3-グルコシドが生合成されるのに対し、莢から出すと一気に酸化反応が進み、1日で黒くなることがわかった。この経路では、無色の分子に先にグルコースが結合し、後で酸化されることになる。テトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドは、これまでに全く報告のない、新しい色素生合成経路の中間体であり、黒ダイズ種皮色素は、新規経路で生合成されることを明らかにした。

第5章では、本研究を総括し、今後の研究課題とその展望について述べた。本研究では、最も単純な構造のアントシアニンの一つである、シアニジン3-グルコシドの生合成に関わる植物の色変化を研究した。ツキミソウ並びにコマツヨイグサでは、花弁の色変化が、花の老化に伴うシアニジン3-グルコシドの生合成に寄ることを明らかにした。なぜ、夜咲く花において、アントシアニンを萎む際に生合成するのか、その意義及び生合成経路については、今後明らかにする必要がある。一方、黒ダイズの種皮については、通常莢の中では2ヶ月ほどかかる登熟と緑色から

黒色への色変化が、莢から出すとほぼ1日で起きる観察に基づき、種皮成分の分析を行なった。非常に不安定な色素前駆体であるテトラヒドロフラブ-2-エン-3-グルコシドを経由した新規のシアニジン 3-グルコシドの生合成を見出した。シアニジン 3-グルコシドは、生合成経路において、前半部と後半部とのちょうど中間に位置する重要な化合物である。今後は、この新規生合成経路に関わる遺伝子や酵素タンパク質の解明、並びに、本経路が黒ダイズに特異的なものか、他の植物にも存在するかを明らかにする必要があると考える。今回得られた結果は、アントシアニンの生合成に新たな知見を加えたことに加え、今後、機能性分子としてこれらを利用するための植物における生産にも寄与するものと考ええる。