

[2005 年 日本ブドウ・ワイン学会 特別講演要旨]

ブドウのアントシアニン合成制御に関わる転写因子について

小林省藏

(独)農業・生物系特定産業技術研究機構 果樹研究所 遺伝育種部

(〒305-8605 茨城県つくば市藤本 2-1)

Myb-like Transcription Factor Genes Regulate Anthocyanin Biosynthesis in Grape

Shozo KOBAYASHI

National Institute of Fruit Tree Science

(Fujimoto 2-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan)

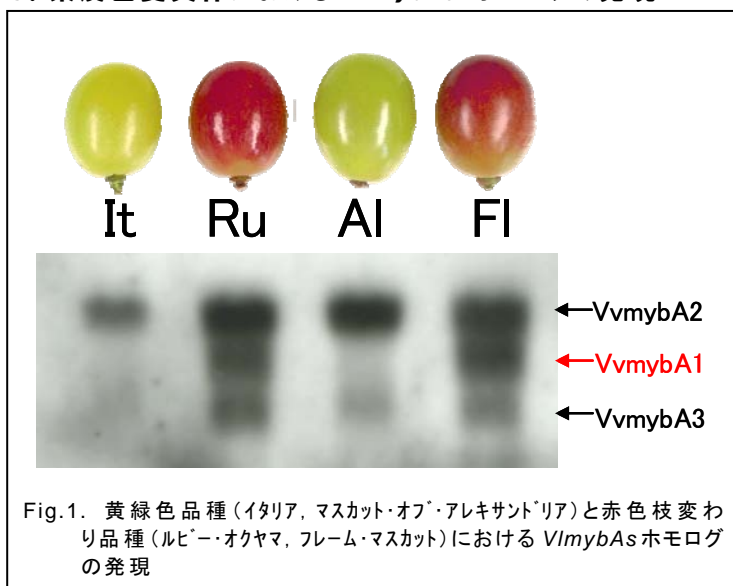
1. はじめに

ブドウの果皮色はアントシアニンによるが、UDP glucose-flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase (UFGT) がアントシアニン合成のキイ・エンザイムであると言われている(1)。これまでに、我々は黄緑色品種の‘イタリア’とその赤色枝変わり品種である‘ルビーオクヤマ’では、*UFGT* 遺伝子の発現に差はあるが、遺伝子のコード領域・プロモーター領域の両方で塩基配列に差がないことを示した(2)。この結果は、赤色枝変わり品種では *UFGT* 遺伝子の発現を制御する上位の遺伝子に変異が起こったことを示唆する。アントシアニン合成系酵素遺伝子の発現制御には *MYB* および *MYC* と呼ばれる転写因子が重要な役割を果たすことが知られており、ブドウについても同様の転写因子の関与が予想された。このため、これら転写因子遺伝子の単離と解析を試みた。

2. 転写因子 *Myb* の発現・機能解析

‘巨峰’から *Myb* の部分長 cDNA を8種類単離して、‘巨峰’果実発育中の遺伝子発現を調べた。その結果、*MybA* は果皮の着色期に発現が急増すること、また、その発現は果実特異的であることが明らかとなった。そこで、*MybA* について完全長の cDNA (*VlmybA1-1*, *VlmybA1-2*, *VlmybA2*) を単離し、ベクターに組み込んで‘巨峰’の体細胞胚(白色)に遺伝子銃により導入した。その結果、体細胞胚にアントシアニンによる赤色細胞が形成された(3)。また、もとの体細胞胚では *UFGT* 遺伝子の発現は認められなかったが、赤色細胞が形成された体細胞胚では *UFGT* 遺伝子の発現が誘導されていた。さらに、体細胞胚にベクターに組み込んだ *UFGT* 遺伝子を導入して *UFGT* 酵素タンパク質を過剰発現させても同様に赤色細胞が形成された。つまり、*VlmybAs* は *UFGT* 遺伝子の発現を誘導して、転写・翻訳された *UFGT* がアントシアニンを合成するということである。

3. 果皮色変異体における *VlmybAs* ホモログの発現



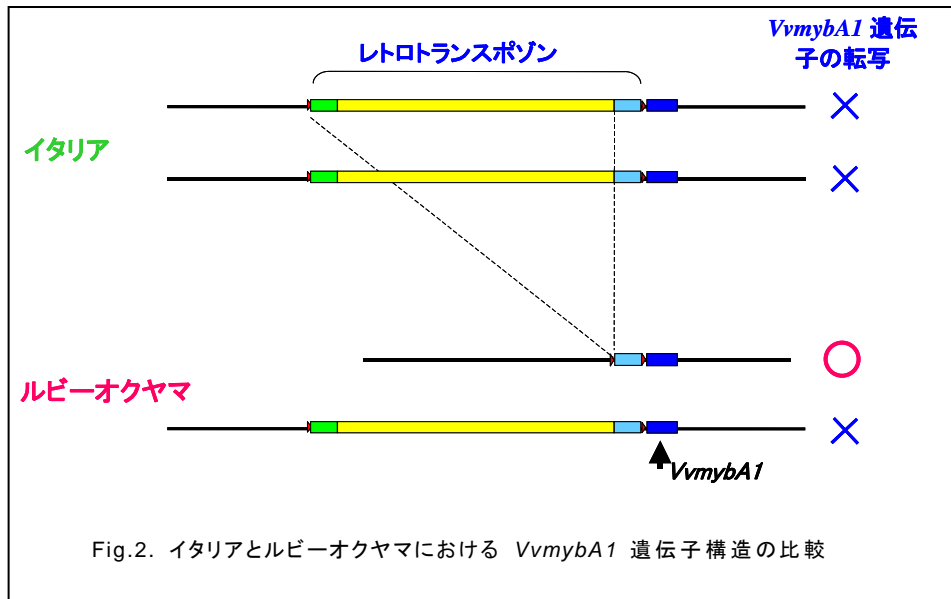
VlmybAs のホモログの発現を黄緑色品種の‘イタリア’とその赤色枝変わり品種である‘ルビーオクヤマ’および黄緑色品種の‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’とその赤色枝変わり品種である‘フレーム・マスカット’について調べたところ、赤色枝変わり品種では黄緑色品種では発現していない遺伝子 *VvmybA1* が発現していることが判明した (Fig.1)。また、この *VvmybA1* cDNA を‘マスカット・オブ・アレキサンドリア’の果皮に導入すると、アントシアニンを生産する赤色細胞が形成された(4)。さらに、その他の品種についても黄緑色品種では *VvmybA1* 遺伝

子が発現しておらず、赤色品種では発現していた。このことは、黄緑色品種では *VvmybA1* 遺伝子が発現していないため *UFGT* 遺伝子も発現せず、アントシアニンも合成されないが、赤色品種では *VvmybA1* 遺伝子が発現しているため *UFGT* 遺伝子が発現し、アントシアニンが合成されるということを示す。このように、*VvmybA1* 遺伝子はブドウのアントシアニン合成制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

4. レトロトランスポゾンが果皮色の変異に関わっていた

次に、なぜ‘イタリア’では発現していない *VvmybA1* 遺伝子が‘ルビーオクヤマ’で発現するようになったのかを明らかにしようとした。‘イタリア’および‘ルビーオクヤマ’から *VvmybA1* 遺伝子のゲノミック・クローンをそれぞれ4クローン単離し、その塩基配列を調べたところ、‘イタリア’の4クローンではすべて *VvmybA1* の5'上流にレトロトランスポゾン(*Gret1*)が存在していた。一方、‘ルビーオクヤマ’では *Gret1* が存在しているクローンの他、一方のLTRのみを残して *Gret1* の大部分が消失しているクローンがあった

(Fig.2)(5)。*‘イタリア’*で *VvmybA1* 遺伝子が発現していないのは *Gret1* の存在によると考えられた。また、‘ルビーオクヤマ’で *VvmybA1* 遺伝子が発現しているのは *Gret1* が抜けたためであると考えられた。



5. レトロトランスポゾンがブドウの果皮色の進化に果たした役割

黄緑色品種は黒色の野生種から突然変異により出現したとされているが、どのような機構で黄緑色化が起こったかは不明である。ブドウの多くの品種を用いた解析から、黄緑色品種は *Gret1* の挿入がある遺伝子をホモでもっており、赤色・黒色品種は *Gret1* の挿入がある遺伝子とない遺伝子をヘテロでもっていることが判明した。それで、我々は、進化の過程で野生種的一方の *VvmybA1* 遺伝子に *Gret1* が入り込み、自然交雑によりその遺伝子をホモでもつようになったものが黄緑色品種になったと考えている。その後、黄緑色品種の *VvmybA1* 遺伝子から *Gret1* が抜け出すことによって、赤色に戻った枝変わり品種ができたというわけである(黒色になるか赤色になるかは、独立した別の遺伝子が関与していると考えている)。

VvmybA1 遺伝子は、上述したようにブドウにおけるアントシアニンの生合成制御に重要な役割を果たしていることから、果実の着色不良の原因を究明するための指標遺伝子として、また、遺伝子工学的にブドウの果皮色を改良するための着色遺伝子として、あるいは、ブドウの果皮色の進化を探る道具としても有用であると考えられる。

文献

1. Boss ら Plant Mol. Biol. 32:565-569 (1996).
2. Kobayashi ら Plant Sci. 160:543-550 (2001).
3. Kobayashi ら Planta 215:924-933 (2002).
4. Kobayashi ら J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74:196-203 (2005).
5. Kobayashi ら Science 304:982(2004).