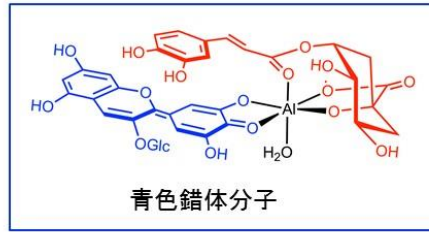
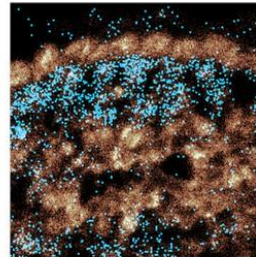
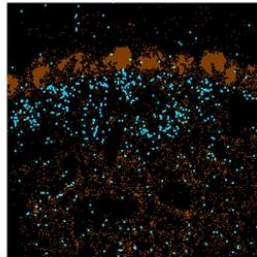
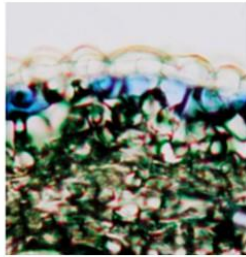




ガク片切片的の光学画像



質量分析イメージング像



■ 青色錯体分子

■ アルミニウムイオン

アジサイの青色色素の可視化に成功

～試験管内で得られた青色錯体分子をガク片から直接検出～

この度、名古屋大学大学院生命農学研究科の青木 弾 講師と情報学研究科の吉田 久美 教授の研究グループは、アジサイのガク片に存在する青色錯体分子^{注1)}のイメージング^{注2)}に成功しました。

アジサイを酸性土壌で育てると花（装飾花で実際はガク片）が青くなることは古くからよく知られています。これは、酸性土壌で水に溶け出すアルミニウムイオンによると考えられてきました。これまでの我々の研究により、アジサイの青色は、アントシアニン単独で発色するのではなく、アントシアニンとアルミニウムイオンの錯体形成、さらには助色素^{注3)}の共存も必要であることがわかりました。しかし、3成分の比率や青色分子の化学構造は不明でした。試験管内でこれらの3成分を混合するとアジサイの青色が再現できます。これを分析することで、推定構造を導きましたが、アジサイの青色色素をそのまま取り出すことは難しく、この青色錯体分子が本当にアジサイガク片に存在し、花色を担うかどうかの証拠はありませんでした。

今回、青色のアジサイガク片を-160度で瞬間凍結し、その断面を低温-飛行時間型二次イオン質量分析計^{注4)}（共同研究者の生命農学研究科 福島 和彦 教授が開発）で測定しました。これは、凍結状態の組織表面から有機分子や無機物を飛ばして検出し、その分布をイメージングするものです。その結果、青色の細胞だけから青色錯体分子を検出することができました。アルミニウムイオンも同様に、組織の青色細胞の部分だけに局在していました。試験管内で再現した青色錯体分子と同じものが組織に存在したことにより、アジサイの青色発色機構を直接証明することができました。

この研究成果は、平成31年4月1日付（日本時間18時）Scientific Reportsに掲載されました。

【ポイント】

- ✓ アジサイの花の青色と同じ色を試験管内で発色させるには、1) アントシアニン色素、2) アルミニウムイオン、3) 助色素、の3種類の物質が必要であることがわかっていましたが、これら3種類の成分の比率や化学構造は長らく不明でした。
- ✓ アジサイガク片から直接青色色素を取り出すことは不可能だったため、ガク片にこの3成分から成る青色錯体分子が存在するかどうかは不明でした。
- ✓ ガク片を-160度で凍結して、その断面を低温-飛行時間型二次イオン質量分析計で測定することにより、青色の細胞が存在する場所だけに、3成分から成る青色錯体分子を検出することができました。これにより、アジサイの青色発色機構を証明することができました。
- ✓ 赤色の組織には青色錯体分子もアルミニウムイオンもほとんど存在しないこともわかりました。

【研究背景と内容】

アジサイを酸性土壌で育てると花（装飾花で実際はガク片）が青くなることは古くからよく知られています（図1）。これは、土壌が酸性になると水に溶け出すアルミニウムイオンが根から吸い上げられてガク片まで移動して、そこでアントシアニンと錯体を形成するためであると考えられてきました。

我々は、アジサイの花色がなぜ変わるのかに興味を持ち研究を行ってきました。青色と赤色の花色の違いによって成分がどう異なるかを分析した結果、アントシアニン成分（デルフィニジン3-グルコシド^{注5)}）は全く同じであるのに対して、アルミニウムイオンの含有量と、3種類の助色素のうち、キナ酸の5位にアシル基を持つ助色素^{注6)}が青色細胞では多いことを見出しました。実は、アジサイの青色は、単純にアントシアニンだけで発色するのではなく、色素にアルミニウムイオンが錯体形成し、さらに、助色素が共存して、これも錯体形成することが必要であるとわかりました（図2）。しかし、3成分の比率や化学構造は長らく不明でした。試験



アルカリ性土壌 ← → 酸性土壌

図1. 土壌の酸性度とアジサイの花色の関係。

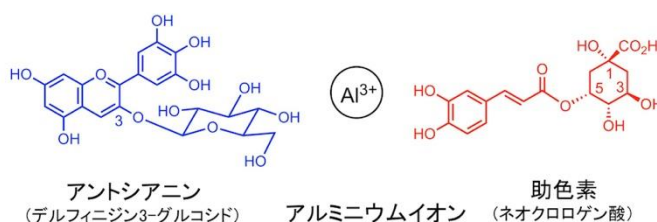


図2. アジサイの青色錯体分子の成分。

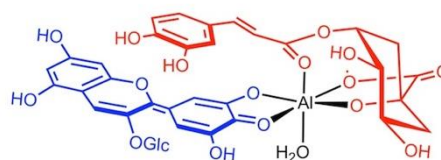
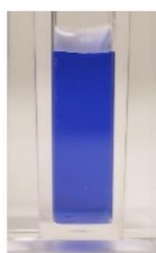


図3. 3成分を混合したアジサイの青色の再現(左)と錯体分子の推定構造(右)。

管内で3成分を混合すると、アジサイの青色を再現することができます。そこで、得られた青色水溶液を化学分析したところ、3成分の比率が1:1:1であることを昨年突き止めました(図3)。しかし、アジサイガク片から直接青色色素を取り出すことは不可能だったため、ガク片にこの青色色素が存在するかどうかは不明でした。

今回、アジサイのガク片組織を-160℃で瞬間凍結し、凍ったままで組織表面の物質を分析できる手法、低温-飛行時間型二次イオン質量分析により、青色錯体分子やその他の有機分子、無機物のイメージングを行いました。(この装置は共同研究者の生命農学研究科 福島和彦教授が開発) その結果、青色細胞の存在する場所と、青色錯体分子の存在イメージがぴったり一致するデータが得られました。さらに、アルミニウムイオンの所在もこれと一致しました。一方、カリウムイオンは組織全体に分布し、表層の無色の細胞には、助色素が多く存在することもわかりました(図4)。

次に同様の方法で赤色のアジサイガク片組織を測定したところ、青色錯体分子もアルミニウムイオンもほとんど存在しないことがわかりました。一方、カリウムイオンや助色素は、青色組織と同様に検出されました。

これらの結果から、青色アジサイの発色は、アントシアニン(デルフィニジン 3-グルコシド)、アルミニウムイオン、助色素(ネオクロロゲン酸^{注7)})が1:1:1から成る青色錯体分子が担っていることを直接証明することができました。

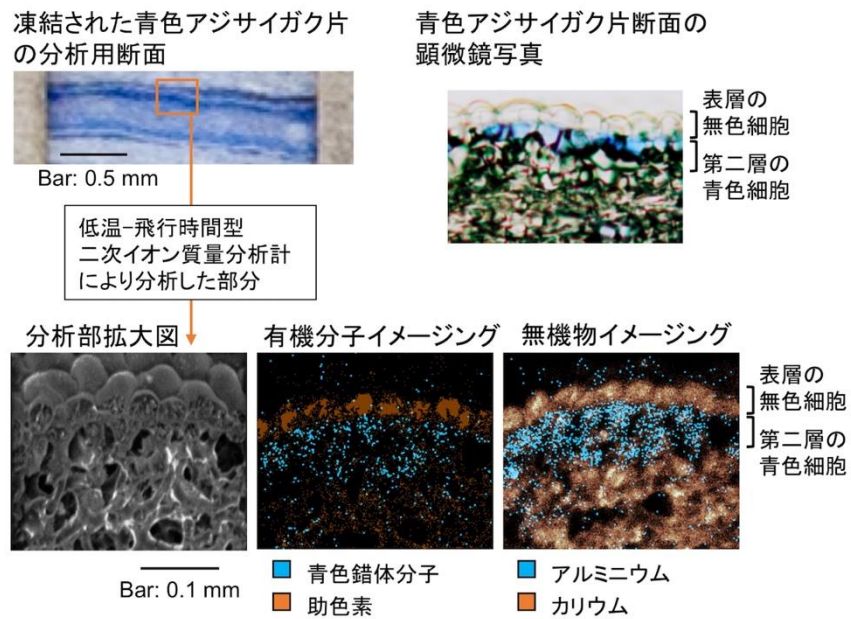


図4. 青色アジサイガク片断面における色素と無機物のイメージング。

【成果の意義】

アジサイの青色は、日本でも好まれる花色の一つです。しかし、これまで、土壌の酸性度と花色の関係はわかっていましたが、青色色素の化学構造は推定の域を出ませんでした。今回、試験管内でアジサイの青色を再現した青色錯体分子と全く同じ分子が、ガク片の青色細胞が存在する場所だけに分布することが確認できました。また、アルミニウムイオンの分布も、青色細胞内に限定されることが明らかになりました。一方、赤色ガク片の組織内にはアルミニウムイオンも青色色素もほとんど存在しませんでした。今回分析に用いた手法は、植物細胞における様々な有機分子、無機物の分布解析に極めて有効であることが明らかになりました。なぜ、植物は特定の金属を高濃度で貯蔵するのか、を解明する研究の進展にも寄与できるものと考えられます。

【用語説明】

- 1) 錯体とは、狭い意味では、有機化合物が金属と結合した構造のことである。アジサイの青色錯体分子の場合は、花色素であるアントシアニン（有機化合物）とネオクロロゲン酸（有機化合物、注 6 で後述）が金属イオン（この場合はアルミニウムイオン）と結合した構造を持つ分子のことで、構成成分の比率は 1 : 1 : 1 である。アントシアニンおよび助色素の酸素原子がアルミニウムイオンと錯体を形成し、青色を示すことと、2 種類の有機化合物が含まれることが特徴である。
- 2) 分子イメージングのことで、生体組織に存在する種々の有機分子や無機物などがどこに存在するかを、いろいろな手法で可視化し、場所を特定する方法である。今回は、MS イメージング（質量イメージング）という手法を用い、分子の重さ（分子量）の違いで観測して識別する手法を用いている。本研究で用いた二次イオン質量分析計では、最初に試料表面へ照射する一次イオンビームを非常に細く（0.001 mm 以下）することで、特定の一点だけを分析することができる。さらに一次イオンビームを少しずつずらしていくことで、「どこに何があるのか」を目に見える画像形式としてイメージング（可視化、マッピングとも呼び、物質の局在地図の作成を意味する）することができる。
- 3) 分子自体は無色であるが、アントシアニンと共存することにより、アントシアニンの発色を安定化させ、より青色にする効果を持つ物質のこと。一般的には芳香環を持ち、アントシアニンの発色団と分子会合することで、その効果を発揮することがわかっている。アジサイの青色錯体分子の場合は、助色素もアルミニウムイオンと結合を持っている。
- 4) 試料表面に一次イオン（今回は金イオン）を照射すると、そのエネルギーで表面に存在する様々な有機分子、無機物がイオン化して二次イオンが得られる。この二次イオンを飛行時間型の質量分析器で分析する装置のことを飛行時間型二次イオン質量分析計という。さらに本研究では凍結生体試料を取り扱うことのできる低温-飛行時間型二次イオン質量分析計を利用している。
- 5) アントシアニンと総称される花色素の 1 種で、図 2 左の化学構造を持つ分子。アジサイ以外に紫花豆の種皮などにも含まれる。
- 6) アジサイのガク片組織には主に 3 種類のキナ酸エステルと総称される分子が存在する（エステルとはある構造を持つ有機分子のことでアルコールと酸が縮合したもの）。キナ酸のどのアルコール部分と結合するか、その位置により 3-エステル、5-エステルと呼ばれており、酸の構造の違いで 2 種類の 5-エステルがある。これまでの研で、5-エステル分子が青色錯体分子を形成できることがわかっている。
- 7) アジサイの助色素のうちキナ酸の 5 位にコーヒー酸（カフェ酸）がエステル結合した分子をネオクロロゲン酸という。コーヒー豆などにも含まれる。

【論文情報】

雑誌名 : Scientific Reports

論文タイトル : Direct mapping of hydrangea blue-complex in sepal tissues of *Hydrangea macrophylla*

(アジサイ青色錯体色素のガク片組織内における直接的局在解析)

著者 : Takaaki Ito, Dan Aoki, Kazuhiko Fukushima and Kumi Yoshida

DOI: [10.1038/s41598-019-41968-7](https://doi.org/10.1038/s41598-019-41968-7)